



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Adsorción de aminoácidos en matrices  
inorgánicas y orgánicas.**

**TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA**

**PRESENTA:  
Magali Elizabeth Hernández Morales**



**México, D. F.**

**2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO**

<b>PRESIDENTE</b>	<b>Ma. De las Mercedes Meijueiro Morosini</b>
<b>VOCAL</b>	<b>María del Pilar Gutiérrez Amador</b>
<b>SECRETARIO</b>	<b>Enrique Jaime Lima Muñoz</b>
<b>1er SUPLENTE</b>	<b>María Elena del Refugio Villafuerte y Castrejón</b>
<b>2do SUPLENTE</b>	<b>Gustavo Tavizón Alvarado</b>

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA**

**Instituto de Investigaciones en Materiales,  
Universidad Nacional Autónoma de México**

**ASESOR**

**Dr. Enrique Jaime Lima Muñoz**

---

**SUSTENTANTE**

**Magali Elizabeth Hernández Morales**

---

## **Agradecimientos**

Investigación realizada gracias al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT con el proyecto No. IN-107110 y al financiamiento otorgado por Conacyt con el numero de proyecto 128299.

A **Gerardo Cedillo** (RMN) y **Adriana Tejeda** (DRX) por su asistencia técnica y su asesoría.

A el **Dr. Enrique Jaime Lima Muñoz** por su tutoría en el presente proyecto de investigación.

A los miembros del jurado asignado para la revisión de la tesis por sus comentarios y observaciones.

<b>Índice</b>	<b>Pág.</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Objetivos</b>	<b>2</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>3</b>
<b>2.1 La celulosa</b>	<b>3</b>
<b>2.2 La hidroxiapatita</b>	<b>6</b>
<b>2.3 Los aminoácidos</b>	<b>8</b>
<b>2.3.1 Alanina</b>	<b>9</b>
<b>2.3.2 Prolina</b>	<b>10</b>
<b>2.3.3 Fenilalanina</b>	<b>10</b>
<b>2.4 Funcionalización de la celulosa</b>	<b>11</b>
<b>2.5 Funcionalización de la hidroxiapatita</b>	<b>13</b>
<b>2.6 Generalidades de la zeolita</b>	<b>13</b>
<b>3. Metodología</b>	<b>15</b>
<b>3.1 Funcionalización de la celulosa (pulpa y microcristalina)</b>	<b>15</b>
<b>3.2 Degradación de la celulosa microcristalina y la celulosa microcristalina funcionalizada con los tres diferentes aminoácidos a ácido glucónico</b>	<b>19</b>
<b>3.3 Síntesis y funcionalización de la hidroxiapatita</b>	<b>21</b>
<b>3.4 Técnicas de caracterización</b>	<b>23</b>
<b>3.4.1 Difracción de rayos X (DRX)</b>	<b>24</b>
<b>3.4.2 Resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup>C en estado con giro a el ángulo mágico (<sup>13</sup>C CP MAS RMN)</b>	<b>26</b>
<b>3.4.3 Espectroscopía infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR)</b>	<b>29</b>
<b>3.4.4 Caracterización de la celulosa microcristalina (CE) y pulpa de celulosa (TCE) por la técnica de dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS)</b>	<b>30</b>

<b>4. Resultados y discusión</b>	<b>32</b>
<b>4.1 Difracción de rayos X de la celulosa</b>	<b>34</b>
<b>4.2 Espectroscopía infrarroja de la celulosa</b>	<b>36</b>
<b>4.3 Espectroscopía <sup>13</sup>C CP MAS RMN en estado sólido de la celulosa</b>	<b>41</b>
<b>4.4 Reactividad de la celulosa microcristalina y de la celulosa microcristalina funcionalizada con los tres diferentes aminoácidos (alanina, fenilalanina y prolina)</b>	<b>47</b>
<b>4.5 Difracción de rayos X de la hidroxiapatita</b>	<b>50</b>
<b>4.6 Espectroscopía infrarroja de la hidroxiapatita</b>	<b>53</b>
<b>4.7 Espectroscopía <sup>13</sup>C CP MAS RMN en estado sólido de la hidroxiapatita</b>	<b>54</b>
<b>4.8 Espectroscopía <sup>31</sup>P CP MAS RMN en estado sólido de la hidroxiapatita</b>	<b>56</b>
<b>5. Conclusión</b>	<b>57</b>
<b>6. Referencias</b>	<b>59</b>
<b>7. Glosario</b>	<b>64</b>

## 1. Introducción

Los materiales híbridos surgen de la combinación de materiales inorgánicos con moléculas orgánicas y/o biológicas. Con este tipo de materiales se ha abierto un campo de investigación muy amplio, con aplicaciones en diversas áreas como la óptica, la medicina, la biología y la industria de los pigmentos, entre otros [1,2].

La estrategia más sencilla y que más se ha desarrollado para la síntesis de materiales híbridos es la introducción de diversos compuestos orgánicos o biológicos (cromóforos, macromonómeros, enzimas, etc.) durante la hidrólisis y condensación de alcoxiorganosilanos ( $R-Si(OR)_3$ ). Así, los componentes orgánicos o biológicos, se entrecruzan con la red inorgánica ( $-Si-O-Si-$ ) [3-6].

La matriz que más se ha usado para preparar materiales híbridos es sin duda  $(SiO_2)_n$ . El hospedaje de moléculas biológicamente activas en matrices  $(SiO_2)_n$  ha permitido desarrollar sistemas potencialmente aplicables en el campo de sensores, elaboración de fármacos, etc [7,8]. Una biomolécula, sin embargo, no tiene una matriz receptora única, al contrario, puede estabilizarse en numerosos materiales, lo que da como resultado una amplia gama de materiales híbridos.

Con respecto a lo anterior, en los últimos años, los estudios se han enfocado en la protección de las biomoléculas por matrices inorgánicas para liberación controlada en un medio biológico o bien para conversión de energía [9-11].

Otras matrices, ya sean orgánicas o inorgánicas, son candidatas como receptoras de moléculas orgánicas. Por ejemplo, se ha usado satisfactoriamente a los hidróxidos dobles laminares como vectores para liberar ADN [12,13]. Otro caso es el entrecruzamiento de la colágena con polivinilpirrolidona para controlar su liberación dentro del cuerpo humano durante el tratamiento de algunos tipos de artritis [14,15].

Sin embargo, no solo macromoléculas son deseables para estabilizarlas dentro de redes orgánicas o inorgánicas, la interacción de moléculas pequeñas con matrices inorgánicas e incluso polímeros orgánicos puede generar grandes cambios en las propiedades de los materiales receptores [16,17]. Se sabe que debido al amplio uso de la celulosa se obtienen grandes cantidades de residuos celulósicos que generalmente no son reutilizables, y se ha pensado en sugerir procesos secundarios para su funcionalización y aprovechar esta materia prima altamente disponible. Es por eso que, en la presente tesis,

se funcionalizará la superficie de celulosa microcristalina y pulpa de celulosa con los aminoácidos alanina, fenilalanina y prolina. Posteriormente se realizará la conversión de la celulosa microcristalina a ácido glucónico con un catalizador de oro soportado en zeolita para evaluar su reactividad. Este ácido glucónico es un intermediario en la industria química. Modificar la reactividad de celulosa ayudaría aprovechar los residuos celulósicos como es el caso de la obtención de ácido glucónico.

La hidroxiapatita es muy utilizada en el campo de la medicina como sustituto de tejido óseo, la funcionalización de la hidroxiapatita con aminoácidos podría mejorar su desempeño, reactividad y promover sus aplicaciones no solo en el campo de la medicina sino que también presente algunas otras aplicaciones potenciales como son su uso en el diseño de adsorbentes, materiales de cromatografía y en el campo de la catálisis. Así, el presente trabajo propone explorar la funcionalización con aminoácidos de superficies con diferentes propiedades fisicoquímicas, a saber: celulosa que es un polisacárido y la hidroxiapatita que es un hidroxifosfato de calcio. Por funcionalización, se entiende la adición de grupos funcionales químicos a la superficie de un material. Los soportes propuestos son muy diferentes, por tanto se espera que las interacciones con los aminoácidos también difieran. Por ejemplo, una matriz de celulosa, que se compone mayoritariamente de polisacáridos, es un material hidrofóbico, pero se puede esperar que si a su superficie se le anclan algunos aminoácidos se convierta parcialmente en un material hidrofílico. Los aminoácidos usados son la alanina, fenilalanina y prolina, los cuales se seleccionaron por poseer grupos funcionales polares, además de ser moléculas con una función biológica.

La tesis se desarrolla principalmente en el marco de la modificación de las propiedades fisicoquímicas de las superficies de celulosa (microcristalina coloidal y pulpa) e hidroxiapatita, por lo tanto se enfatizará en la caracterización de los materiales para proponer una caracterización adsorbente-sorbato mediante las técnicas de espectroscopia infrarrojo (FTIR), difracción de rayos X (DRX) y resonancia magnética nuclear de carbono ( $^{13}\text{C}$  RMN) y se complementará el estudio con la técnica de dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS) para conocer la dimensión fractal de la superficie de celulosa microcristalina coloidal y pulpa de celulosa (desecho obtenido de la papelera Scribe). Por otra parte se realizará la conversión de la celulosa microcristalina coloidal y celulosa microcristalina coloidal funcionalizada con los tres diferentes aminoácidos a ácido glucónico utilizando un catalizador de oro suspendido en



zeolita con el fin de evaluar la reactividad de la celulosa funcionalizada, la evolución de la reacción se seguirá por resonancia magnética nuclear de protón ( $^1\text{H}$  RMN).

### **1.1 Objetivos**

- Modificar la reactividad de la hidroxiapatita y celulosa disponible (pulpa y microcristalina) funcionalizando superficies de hidroxiapatita y celulosa con los aminoácidos alanina, fenilalanina y prolina a fin de modificar las propiedades superficiales.
- Caracterizar la interacción soporte -aminoácido, en los materiales funcionalizados con aminoácidos.

## **2. Antecedentes**

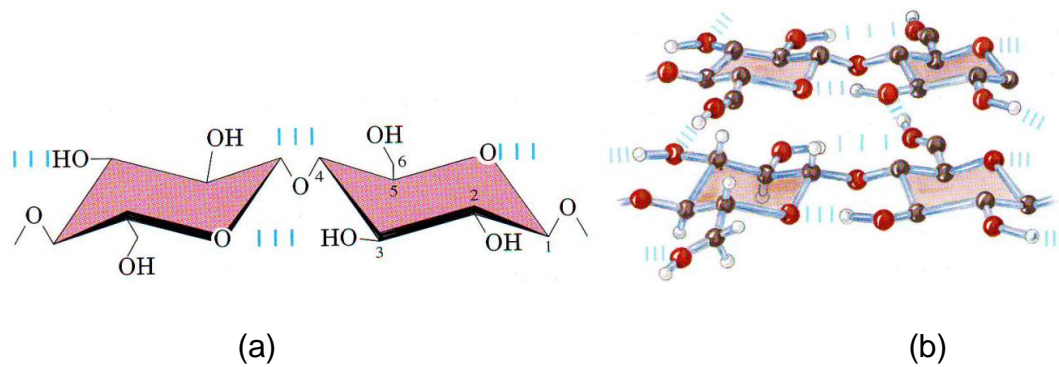
### **2.1 Celulosa**

La celulosa se encuentra en las paredes celulares de las plantas, en particular en cañas, tallos, troncos y en todos los tejidos vegetales leñosos. Constituye una gran parte de la masa de la madera, y el algodón es casi celulosa pura.

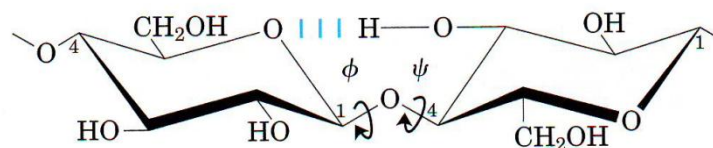
La celulosa es un polímero lineal no ramificado formado por unas 10000 a 15000 unidades de glucosa. Los residuos de glucosa de la celulosa tienen configuración  $\beta$ , estos residuos están unidos por enlaces glucosídicos ( $\beta 1 \rightarrow 4$ ), Figura 1.

La mayoría de los animales no pueden utilizar la celulosa como fuente de energía, pues no poseen una enzima capaz de hidrolizar los enlaces  $\beta$ .

La conformación más estable de la celulosa es aquella en que cada silla experimenta una rotación de  $180^\circ$  en relación con sus vecinas lo cual genera una cadena extendida. Todos los grupos  $-\text{OH}$  están disponibles para formar puentes de hidrógeno inter- e intracatenarios entre varias cadenas dispuestas paralelamente, Figura 2, produciendo fibras supramoleculares estables con gran resistencia a la tracción. Esta propiedad de la celulosa la ha hecho muy útil en el desarrollo de la humanidad [18-20].



**Figura 1.** Estructura de la celulosa. a) Dos unidades de una cadena de celulosa. b) Dibujo a escala de los segmentos de dos cadenas paralelas de la celulosa, donde se muestra la conformación de los residuos de glucosa y los enlaces de hidrógeno entrelazantes.



**Figura 2.** Conformación de los enlaces glucosídicos de la celulosa. Este polímero se representa como anillos rígidos de piranosa unidos por enlaces glucosídicos con rotación libre en torno a estos enlaces. Tanto  $\phi$  y  $\psi$  representan un giro de 180°.

El contenido de agua en la celulosa es bajo porque los numerosos puentes de hidrógeno satisfacen su capacidad de formación de puentes de hidrógeno.

Como se mencionó anteriormente, los grupos hidroxilo presentes en la celulosa son involucrados en la formación de puentes de hidrógeno intra e intermolecular lo que permite la formación de 4 diferentes polimorfos cristalinos:

Celulosa I: La más abundante en la naturaleza.

Celulosa II: Se prepara por dos rutas diferentes, a) Tratamiento alcalino, b) Regeneración (solubilización y recristalización)

Celulosa III<sub>I</sub> y III<sub>II</sub>: Puede ser formada partir de celulosa I y celulosa II respectivamente, mediante el tratamiento con amonio líquido.

Celulosa IV<sub>I</sub> y IV<sub>II</sub>: Puede ser obtenida del calentamiento de la celulosa III<sub>I</sub> y III<sub>II</sub> respectivamente.

Varios modelos de celulosa han sido propuestos, sin embargo, su estructura no ha sido entendida completamente debido a su complejidad. No obstante, se sabe que la

estructura cristalina de la celulosa I es una mezcla de dos distintas formas cristalinas  $I_\alpha$  (triclinico) y  $I_\beta$  (monoclínico). Las cantidades relativas de celulosa  $I_\alpha$  y  $I_\beta$  varían de acuerdo a la fuente de celulosa [21].

Los cristales de celulosa pueden ser imperfectos ya que una porción de la estructura de la celulosa esta menos ordenada a esta porción se le llama amorfa. Se ha descrito que las cadenas de celulosa contienen ambas regiones: cristalina y amorfa [22]. En el presente trabajo se utilizará celulosa microcristalina coloidal (con fines prácticos en ocasiones se referirá solamente como celulosa microcristalina) obtenida de sigma aldrich y pulpa de celulosa obtenida de los desechos de la papelera Scribe.

La celulosa microcristalina se define como una celulosa natural, derivada de pulpa de madera de alto grado de pureza, que se despolimeriza parcialmente mediante hidrólisis ácida, es un polvo blanco fino, libre de contaminantes orgánicos e inorgánicos, insoluble en agua, en ácidos diluidos y en la mayoría de los solventes orgánicos. Se dispersa en agua. Las formas en que se encuentra la celulosa microcristalina son en suspensión coloidal o en polvo [23].

La celulosa constituye la materia prima del papel y muchos productos manufacturados son derivados de la celulosa que se usan principalmente en la fabricación de explosivos, celuloide, barnices, seda artificial, como aislantes térmicos, etc. Como ejemplo, la nitrocelulosa, que tiene un alto contenido de nitrógeno, fue uno de los más importantes explosivos y también fue uno de los primeros materiales usados como plástico. En la actualidad, la nitrocelulosa es la única celulosa inorgánica de interés comercial. Otros productos de celulosa son metil-, etil-, o hidroxialquil esterres o acetato de celulosa y además productos con combinaciones de varios grupos funcionales. Además productos derivados iónicos de la celulosa son conocidos desde hace mucho tiempo por ejemplo la carboximetilcelulosa, éste se utiliza como componente de los detergentes y jabones, como pegamento para papel de tapicería, como aditivo alimenticio, como espesante y estabilizador en cosméticos, como adhesivo, recubrimiento de tabletas, etc. [20]. El amplio uso que se le da a la celulosa provoca que también se produzca una gran cantidad de desechos celulósicos que son muy estables químicamente y que generalmente son producto de desecho, así es necesario sugerir procesos secundarios en donde se pueda aprovechar esta materia prima altamente disponible. Las propiedades de los derivados de la celulosa están determinadas primariamente por su grupo funcional, pero puede ser

modificado por el ajuste en el grado de funcionalización y el grado de polimerización del esqueleto del polímero.

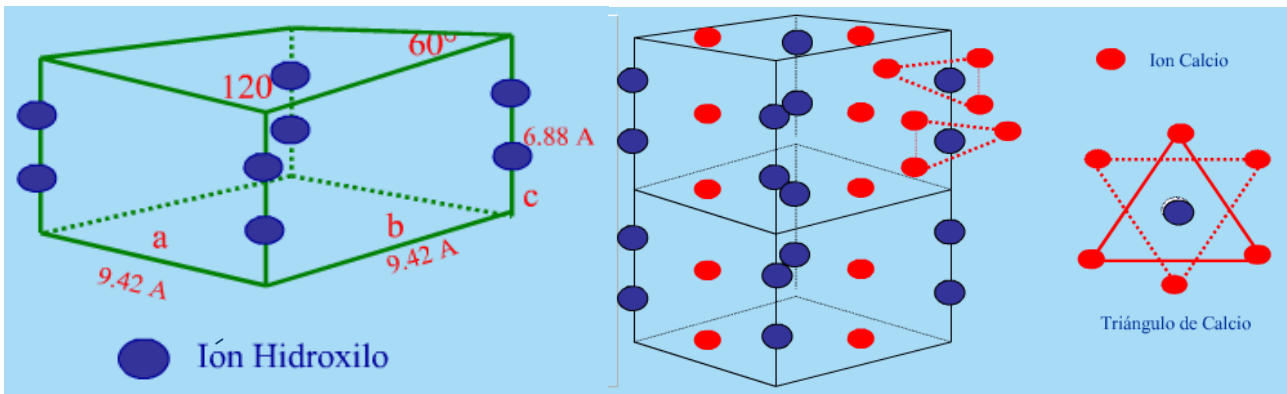
## 2.2 Hidroxiapatita

El término apatita se refiere a una familia de cristales que corresponden a la fórmula  $M_{10}(RO_4)_6X_2$ , donde M es habitualmente calcio, R fósforo y X un hidróxido o un compuesto halogenado como fluorina. La fase inorgánica del hueso es una apatita.

La hidroxiapatita ( $HA^1$ ) pertenece a la familia cristalográfica de las apatitas y está compuesta esencialmente por fósforo y calcio, su fórmula corresponde a  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ . Existen diferencias en la composición química de la hidroxiapatita natural (bovina, coralina o ficogena) y la producida sintéticamente. La  $HA^1$  sintética contiene  $Ca^{2+}$ ,  $PO_4^{3-}$  y  $OH^-$  y tiene una relación calcio/fósforo (Ca/P) estequiométrica de 1.67, la natural no sólo contiene iones de  $PO_4^{3-}$ ,  $Ca^{2+}$ , y  $OH^-$  sino que contiene también pequeñas cantidades de  $CO_3^{2-}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$  y trazas de elementos como  $F^-$ ,  $Cl^-$  y  $K^+$  y la relación calcio/ fósforo difiere del valor estequiométrico.

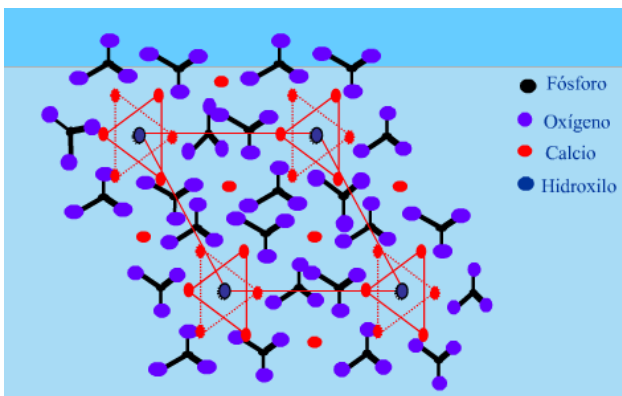
Actualmente, el término  $HA^1$  cubre una amplia gama de estequiometrias. El valor teórico de la relación molar calcio/fósforo de 1.667, sin embargo, se reportan desde 1.62 hasta 1.69 [24].

La  $HA^1$  fosfocálcica cristaliza en el sistema hexagonal (grupo espacial o de simetría=  $P6_3/m$ ) de acuerdo con los siguientes parámetros cristalográficos  $a=b=9.42 \text{ \AA}$  y  $c=6.88 \text{ \AA}$ , como se muestra en la Figura 3 [25].

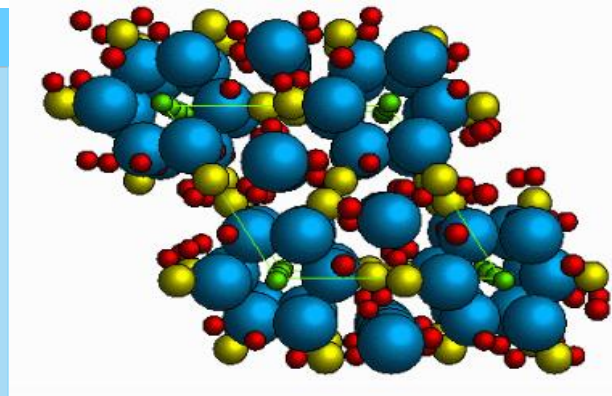


(a)

(b)



(c)



(d)

**Figura. 3.** (a) Representación tridimensional de la celda unitaria del cristal de hidroxiapatita. (b) Distribución de los iones calcio en la celda unitaria. (c) Distribución de iones hidroxilo, calcio y fósforo en un corte de la celda unitaria de hidroxiapatita. (d) Estructura tridimensional de un cristal de hidroxiapatita.

La hidroxiapatita consiste de un esqueleto de tetraedros  $\text{PO}_4^{3-}$ , dos átomos de oxígeno están en un plano horizontal; los otros dos están en un eje paralelo al eje C. donde se localizan los iones  $\text{Ca}^{2+}$ . En una celda unitaria, los tetraedros  $\text{PO}_4^{3-}$  están divididos en dos capas, a una altura de  $\frac{1}{4}$  y  $\frac{3}{4}$  de la celda, respectivamente.

La estructura cristalina de la  $\text{HA}^1$  está constituida de columnas de  $\text{Ca}^{2+}$  y átomos que pertenecen a los aniones fosfato  $\text{PO}_4^{3-}$ , donde estos átomos forman las paredes de canales paralelos al eje hexagonal. Los grupos hidroxilo,  $\text{OH}^-$ , están dentro de estos canales. La existencia de túneles, donde se sitúan los iones  $\text{OH}^-$ , confiere a las apatitas ciertas propiedades como intercambiador de iones. Incluso pueden recibir pequeñas moléculas como  $\text{H}_2\text{O}$  o glicerina [26].

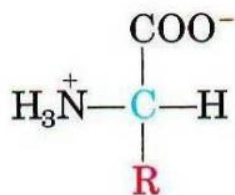
El carácter iónico de la  $\text{HA}^1$  la hace una cerámica dura, refractaria, con un punto de fusión mayor que  $1500^\circ\text{C}$ . Además, este carácter iónico le proporciona la capacidad de

sustitución parcial o completa de iones de la red por otros de tamaño similar ( $\text{PO}_4^{3-}$  por  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  por  $\text{K}^+$  o  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{OH}^-$  por  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ) y le proporciona su propiedad de insolubilidad en agua [24,27].

La  $\text{HA}^1$  es el primer componente inorgánico del hueso, conformando del 60 al 70 % del tejido; se encuentra también en la dentina y el esmalte dental. Presenta características de biocompatibilidad, estabilidad química, bioactividad, no toxicidad, y es capaz de unirse al hueso, permitiendo una verdadera osteointegración, estas propiedades hacen que el material funcione para usos médicos. Se puede usar como remplazo de partes pequeñas de hueso, relleno de cavidades en odontología y recubrimiento de superficies de metales para implantes. Sin embargo, sus aplicaciones no solo son en el campo de la medicina sino también presenta algunas otras aplicaciones potenciales como son su uso en el diseño de adsorbentes, sensores, materiales en cromatografía en el campo de la catálisis heterogénea y como liberador de medicamentos, entre otros [24, 28, 29]

### 2.3 Aminoácidos

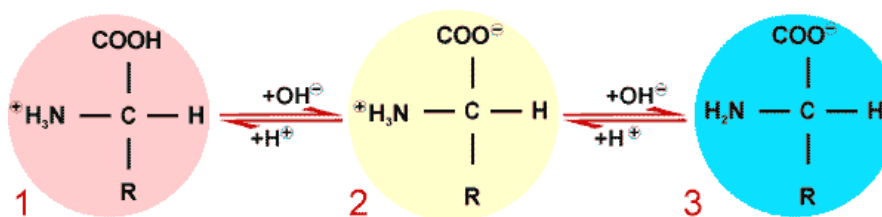
Un aminoácido es el monómero fundamental de las proteínas y su estructura consiste de un grupo amino y carboxilo unidos a un mismo átomo de carbono, llamado carbono alfa (centro quiral). Además tiene un grupo R que confiere a cada aminoácido sus propiedades particulares, entre ellas: su carga eléctrica, tamaño, estructura, solubilidad, etc. En la Figura 4 se muestra la estructura general de los aminoácidos.



**Figura 4.** Estructura general de un aminoácido. Esta estructura es general para todos los aminoácidos, con una única excepción. (La excepción es la prolina, un aminoácido cíclico). El grupo R o cadena lateral (en rojo) unido al carbono alfa (azul) es diferente para cada aminoácido.

El grupo R de los aminoácidos les confiere diferentes propiedades, una de ellas es la polaridad o tendencia a interactuar con el agua a pH biológico (pH=7). La polaridad de los grupos R varía enormemente desde totalmente apolar o hidrofóbico (insoluble en agua) hasta altamente polar o hidrofílico (soluble en agua).

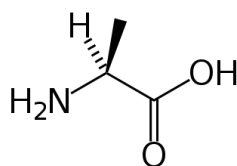
Como los aminoácidos contienen un grupo carboxílico (ácido) y un grupo amina (básico), se comportan como ácidos y como bases; es decir, son anfóteros. Pueden hallarse en distintos estados de ionización, según el pH de la disolución [18-19]. A pH's próximos a la neutralidad, tanto el grupo alfa- amino como el alfa- carboxilo están ionizados y la molécula es un ion dipolar o zwitterion. El pH en que la concentración de zwitterion es máxima (eléctricamente neutro) se le denomina punto isoeléctrico (pI), eso quiere decir que los aminoácidos nunca asumen la forma neutra en una solución acuosa (pH=7), debido a que todos los aminoácidos tienen punto isoeléctrico (pI) diferente al pH neutro [19]. En la figura 2 se muestra un zwitterion.



**Figura 5.** Estados de ionización de un aminoácido. La estructura sombreada de amarillo representa un zwitterion.

### 2.3.1 L-Alanina

La alanina (Ala) es el segundo aminoácido más pequeño después de la glicina. De acuerdo a su grupo R se clasifica como apolar alifático. En la figura 6 se muestra su estructura.



**Figura 6.** Estructura de la alanina (Ala).

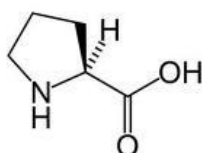
En las proteínas es uno de los aminoácidos más abundantes, ya que se encuentra en un 7.8%. Es un aminoácido no esencial, ya que el cuerpo humano lo puede sintetizar.

El grupo metilo que posee es hidrofóbico y eso le permite asociarse con otras proteínas con residuos hidrofóbicos. Tiene un  $pka_1=2.34$  y  $pka_2=9.69$ , un punto isoeléctrico de 6.01 y una solubilidad en agua de 167.2 g/L [18,19]. Interviene en el metabolismo de la glucosa, se encuentra en altas concentraciones en el tejido muscular; es uno de los

aminoácidos más usados en la construcción de proteínas. El exceso de alanina puede ser usado como fuente de energía para los músculos, el cerebro y el sistema nervioso. Puede inhibir o reducir la neurotransmisión en el sistema nervioso, además, ha mostrado ser capaz de estimular la producción de anticuerpos y de reducir el nivel de colesterol en pruebas realizadas con ratas. En general las proteínas de la carne de vacuno, cerdo, pescado, huevo y productos lácteos son ricos en alanina [30-32].

### 2.3.2 L-Prolina

La prolina (Pro) tiene una cadena lateral alifática cíclica distintiva, debido a que el propilo de la cadena lateral está covalentemente unido al carbono alfa y al grupo alfa-amino, formando un anillo. El grupo amino secundario de los residuos de prolina tiene una conformación rígida que reduce la flexibilidad estructural. Las proteínas contienen prolina hasta en un 5.2%. Tiene un  $pK_{a1}=1.99$  y  $pK_{a2}=10.96$ , un punto isoeléctrico de 6.48 y una solubilidad de 1620g/L [18,19].



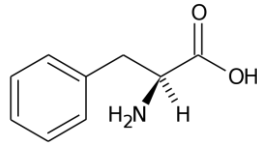
**Figura 7.** Estructura de la prolina (Pro).

La prolina participa en la producción y reparación de colágeno, el cual es un factor para la cicatrización de úlceras, lesiones, quemaduras y otras formas de alteraciones tisulares, así como para la regeneración de tejidos, mantenimiento de los músculos y hueso. Una excreción excesiva de prolina se relaciona con ciertos tipos de esquizofrenia, retraso mental y fallas en el crecimiento. Junto a la lisina y la vitamina C pueden reducir la posibilidad de adquirir cáncer. Puede ayudar a reducir los signos de hipertensión ingiriendo productos lácteos que contienen péptidos con prolina [30-32].

### 2.3.3 Fenilalanina

La fenilalanina (Phe) tiene una cadena lateral aromática, es relativamente apolar y por lo tanto participa en interacciones hidrofóbicas. Además, el grupo aromático le permite absorber la luz ultravioleta. Tiene un  $pK_{a1}=1.83$  y  $pK_{a2}=9.13$ , un punto isoeléctrico de 5.48 y una solubilidad de 27.6 g/L [18,19].





**Figura 8.** Estructura de la fenilalanina (Phe).

Este aminoácido actúa como estimulante cerebral, regula el ritmo cardiaco, ayuda a la memoria y aprendizaje, incrementa los niveles de endorfinas en el cuerpo, ayuda a resolver problemas de pigmentación en la piel, aliviar el dolor y tiene la habilidad de bloquear encefalinasas, las cuales degradan hormonas parecidas a la morfina. Reduce la sensación de apetito. Se usa como tratamiento de la depresión, su déficit genera alteraciones del ritmo cardiaco y falta de reflejos [30-32].

## 2.4 Funcionalización de la celulosa

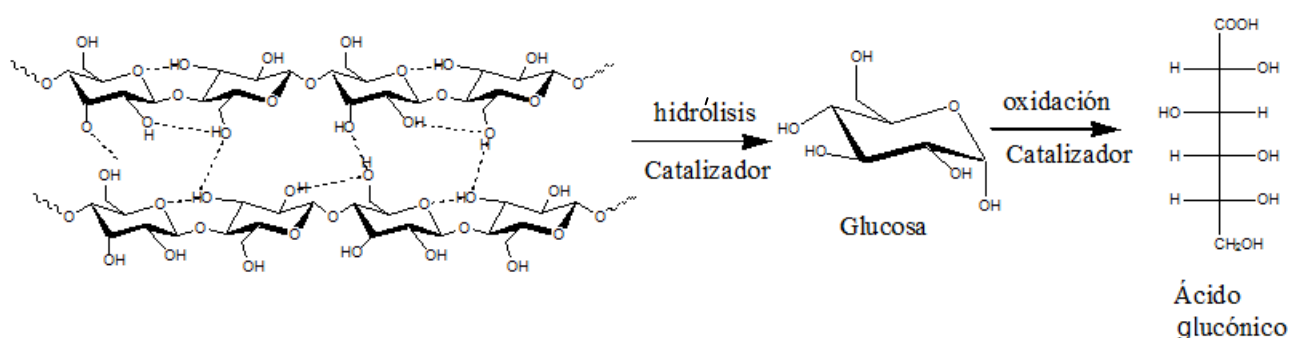
Algunos estudios recientes se han enfocado en nuevos polímeros basados en la celulosa. En particular, polímeros con uno o más grupos funcionales o combinaciones de estos, como cromóforos o fluoróforos, grupos activos redox, así como sustituyentes con propiedades ópticas o magnéticas o con actividad biológica [20].

La celulosa interesa a nivel industrial debido a que tiene las siguientes propiedades:

- Biocompatibilidad
- Hidrofobicidad
- Grupos hidroxilo reactivos
- Habilidad para formar superestructuras.

El interés de la celulosa radica en que es una de las materias primas fácilmente disponibles. Existen muchos desechos con alto contenido en celulosa que es deseable convertirlos en productos con un alto valor agregado [33,34]. No obstante, la celulosa es muy poco reactiva, y generalmente sólo se degrada a moléculas más pequeñas vía procesos anaeróbicos muy complejos [35-36]. Así, es aconsejable desarrollar nuevos procesos, que conduzcan a la conversión de la celulosa hacia productos aprovechables en la industria química o como energéticos. Una de las mejores rutas para lograr esto es la catálisis heterogénea. En este sentido, los actuales retos de la conversión de la celulosa son primeramente la despolimerización y segundo las reacciones catalíticas, por ejemplo la oxidación catalítica de celulosa a ácido glucónico, el cual es un intermediario que se usa ampliamente en las industrias farmacéutica y alimenticia [37-38]. La reacción

se esquematiza en la figura 9. La celulosa, sin embargo, como mencionado anteriormente es muy poco reactiva debido a su estabilidad conferida por la extensa red de puentes de hidrógeno. Es en este caso, su funcionalización con moléculas polares pequeñas, es decir aminoácidos, pudiera ser benéfico para modificar algunos puentes de hidrógeno y aumentar su reactividad química, sobre todo en su superficie. En la presente tesis se funcionalizará la superficie de la celulosa microcristalina con alanina, fenilalanina y prolina, posteriormente se evaluará la reactividad de la celulosa funcionalizada efectuando una reacción catalítica (catalizador de oro soportado en zeolita) para obtener ácido glucónico. Reacción presentada en la figura 9.



**Figura 9.** Reacciones para la degradación de celulosa a ácido glucónico.

Se ha estudiado la conversión catalítica de la celobiosa a ácido glucónico, sin embargo estos conocimientos también deben ser útiles para el desarrollo de rutas eficientes para la transformación de la celulosa. La conversión de celobiosa a ácido glucónico ha sido catalizada por oro en diferentes soportes los cuales se mencionan algunos a continuación: Au/SiO<sub>2</sub>, Au/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Au/MgO, Au/grafito y nanopartículas de oro soportadas en nanotubos de carbono, siendo este último, tratado con ácido nítrico, el que mostrara una mayor actividad en la conversión de la celobiosa a ácido glucónico [ 37].

Tomando en cuenta estos resultados, el presente trabajo no se limita a usar la celobiosa, un polímero de bajo peso molecular, sino que se utilizará directamente la celulosa microcristalina y la celulosa microcristalina funcionalizada para convertirla a ácido glucónico, utilizando como catalizador a partículas de oro soportadas en una zeolita de alta área superficial.

## 2.5 Funcionalización de la hidroxiapatita (HA<sup>1</sup>)

En estudios previos, se han realizado investigaciones sobre la adsorción de glicina y alfa-alanina sobre la superficie de bohemita motivada por el uso conocido de la alúmina en la preparación de articulaciones artificiales para hombro y cadera. También se ha investigado la adsorción de ciertas especies sobre la superficie de HA<sup>1</sup>. Esta presenta varios tipos de grupos P –OH en la superficie, los cuales son responsables de la adsorción de especies como H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub>OH. Incluso piridina, n-butilamida y el ácido acético. También se han realizados modificaciones de la superficie de hidroxiapatita con fosfatos de alquilo en acetona y en soluciones de acetona-agua.

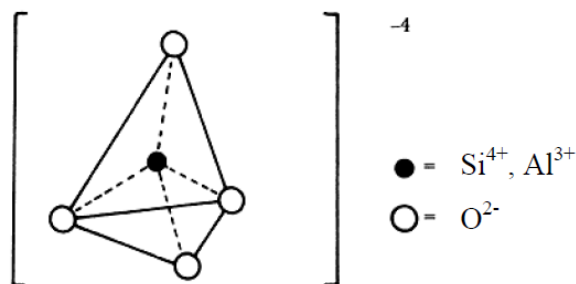
Debido a su importancia en la industria y en el campo médico y dental, las investigaciones no solo se han quedado en la adsorción de las especies antes mencionadas, sino que también se han tratado de adsorber aminoácidos como metionina, histidina y triptófano, en una HA<sup>1</sup> que fue sintetizada a través de un método hidrotermal y calcinada a 900 °C. Se observó que la adsorción de estos aminoácidos sobre la superficie de hidroxiapatita depende tanto de la superficie sólida, la química de las soluciones de los ácidos, así como la configuración de los grupos funcionales [28,38,39].

## 2.6 Generalidades de las zeolitas.

### 2.6.1 Zeolita.

Las zeolitas son cristales de aluminosilicatos contruidos por tetraedros con un átomo central de (Si o Al) y oxígenos alrededor. El ion Si<sup>4+</sup> se rodea tetraédricamente de 4 iones O<sup>2-</sup> para formar el ion ortosilicato con carga neta -4 (figura 2.1). Estos tetraedros se unen entre sí a través de sus vértices; es decir, compartiendo un átomo de oxígeno, formando anillos y cadenas que se ensamblan para formar estructuras tridimensionales con combinaciones geométricas y de simetría diferentes.

Cuando se reemplaza un Si<sup>4+</sup> por un Al<sup>3+</sup> se obtiene una carga negativa dentro del “armazón” de la zeolita, con lo cual, para mantener la neutralidad del material, es necesaria la presencia de un catión de compensación el cual se une mediante interacciones electrostáticas lo que da origen a la propiedad de intercambio iónico de las zeolitas [40], es decir, el reemplazo de una especie química con dimensiones adecuadas por otro catión que tiene una fuerte afinidad con la matriz inorgánica.



**Figura 10.** Unidad fundamental estructural de la zeolita.

La zeolita utilizada en el presente trabajo como soporte de catalizador, pertenece a la familia de la faujasita del tipo Y que es un compuesto altamente cristalino, microporoso y con ventanas de acceso a los canales y cavidades de diámetros de 3-10 Å en donde se sitúan los cationes de compensación y moléculas de agua. Debido a su porosidad permite la transferencia de materia entre los espacios inter e intracrystalinos, que son aquellos lugares que se generan dentro del arreglo ya sea por la propia estructura cristalina o por la distribución en el espacio. El transporte de materia se encuentra limitado por el diámetro del poro y por la ventana de accesibilidad con lo cual pueden quedar atrapados diferentes compuestos de tamaños adecuados. Por lo tanto, la zeolita se comporta como adsorbente selectivo [41].

Otra de sus aplicaciones está relacionada con la industria petroquímica en el craqueo catalítico, que es un proceso donde se rompen cadenas de hidrocarburos pesados para hacerlos más livianos. De esta manera se lleva a cabo el proceso de refinamiento y se obtiene gasolina [41].

La alta área superficial de esta zeolita lo hace recomendable para dispersar especies químicas de diferente naturaleza. Es esta propiedad que se utiliza en la presente tesis para dispersar oro en la superficie externa de esta zeolita. Este material oro-zeolita se usará como un catalizador oxidante, ya que lo ha demostrado ser y de manera muy eficiente en este tipo de reacciones.

### **3. Metodología**

#### **Reactivos**

L-prolina: Sigma aldrich, 99% pureza; D-fenilalanina: sigma aldrich, 98% pureza; L-alanina: Sigma aldrich, grado reactivo; L-alanina-1-<sup>13</sup>C, 99% pureza; celulosa microcristalina : Sigma aldrich, altamente puro; Pulpa de celulosa (calcital C-60):Ultra cargas minerales ATSA SA DE C.V, residuos de papelera Scribe; Nitrato de calcio tetrahidratado: Sigma aldrich, 99 % pureza; Trietil fosfito: Sigma aldrich, 98% pureza; Etanol anhidro: Sigma aldrich, grado reactivo.

#### **3.1 Funcionalización de la celulosa (pulpa y microcristalina).**

Se utilizó el método hidrotermal ácido para la adsorción de los aminoácidos (alanina, fenilalanina y prolina) en la superficie de la celulosa microcristalina y pulpa de celulosa. La medición del pH de la disolución permite conocer la fórmula desarrollada de los tres diferentes aminoácidos en medio ácido en base al punto isoeléctrico de cada aminoácido. Es importante conocer la fórmula desarrollada para conocer el efecto que se tiene en la adsorción de los aminoácidos.

##### **3.1.1 Método hidrotermal.**

La técnica hidrotermal se hizo muy popular al tratar de simular las condiciones existentes en la corteza terrestre para realizar síntesis en el laboratorio.

La síntesis hidrotermal se refiere a reacciones heterogéneas en medio acuoso por encima de 100 °C y 1 bar. El líquido que habitualmente se usa es el agua, y de ahí el nombre de "síntesis hidrotermal"; sin embargo, cada vez se van utilizando con mayor frecuencia otros medios líquidos como disolventes orgánicos, amoníaco líquido, hidracina, etc. Este proceso consiste en que un líquido, en un recipiente cerrado, es calentado por encima de su punto de ebullición, lo que genera una presión superior a la atmosférica (normalmente moderada).

Los reactivos que difícilmente se disuelven en agua pasan a la disolución por acción del propio disolvente o de mineralizadores al utilizar la síntesis hidrotermal de esta manera se logra disolver y hacer reaccionar especies muy poco solubles en condiciones habituales (p. ej., la sílice, aluminosilicatos, titanatos, sulfuros,...). El agua calentada a 600°C (lo que obviamente requiere presión que evite su paso al estado de vapor) experimenta una disociación ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{OH}^-$ ) mucho mayor que lo habitual a presión ordinaria, lo que quiere decir que en estas condiciones, el agua, como anfótero que es, se

comportará a la vez como un ácido y una base bastante fuertes, capaz por tanto de ataques ácido-base mucho más agresivos. Sin embargo, pueden añadirse distintas especies conocidas como “mineralizadores”, tanto básicos (carbonatos, hidróxidos,...) como ácidos (nítrico, clorhídrico, sales amónicas,...) oxidantes o reductores, complejantes, etc., y que, obviamente, potenciarán la capacidad de disolución del agua en una u otra dirección.

En cuanto al tipo de aparatos utilizados para síntesis hidrotermal, para trabajar por debajo de 700 °C y 3Kbar, los recipientes más comunes son las autoclaves, que dependiendo de las condiciones de trabajo estos pueden ser muy distintos.

Los métodos desarrollados para la síntesis hidrotermal han estado centrados en el crecimiento cristalino, y en un segundo plano se han desarrollado métodos preparativos.

Históricamente el método hidrotermal ha estado arraigado en las Ciencias Geológicas, pero hoy en día desempeña un importante papel en la Química Preparativa del Estado Sólido [42].

#### **3.1.1.1 Método hidrotermal ácido.**

El método hidrotermal se lleva a cabo en fase acuosa con un pH ácido y a temperaturas, generalmente mayores que la ambiente. Su principal ventaja es que el agua puede participar activamente en la reacción mediante la aceleración de las velocidades de disolución, difusión y adsorción, reacción y cristalización [43]. En la presente tesis se utilizara este método en donde solo se realizara el control de la temperatura y no de la presión.

#### **3.1.2 Adsorción**

La adsorción es un proceso mediante el cual se extrae materia de una fase y se concentra sobre la superficie de otra fase (generalmente sólida). La sustancia que se concentra en la superficie o se adsorbe se llama "adsorbato" y la fase adsorbente se llama "adsorbente".

La adsorción (estrictamente, adsorción física) ha sido definida por la IUPAC como el enriquecimiento de uno o más componentes en una interfase [44].

En 1909, McBain propuso el término sorción para abarcar tres tipos de fenómenos: la adsorción sobre las superficies, la absorción dentro del sólido y la condensación capilar que ocurre en el interior de los poros. Sin embargo, la palabra adsorción se usa frecuentemente para denotar indistintamente la condensación capilar y la adsorción en superficies [45].

El tipo de adsorción que se tiene con la celulosa microcristalina coloidal y la pulpa de celulosa con los tres diferentes aminoácidos es la adsorción física la cual es debido a las fuerzas de Van del Waals y a los puentes de hidrógeno.

### 3.1.3 Procedimiento experimental

En la figura 11 se esquematiza el proceso de adsorción física (adsorción que se presenta sobre la superficie). Se supondrá que las bolitas oscuras corresponden a la celulosa y las bolitas más claras a los aminoácidos.

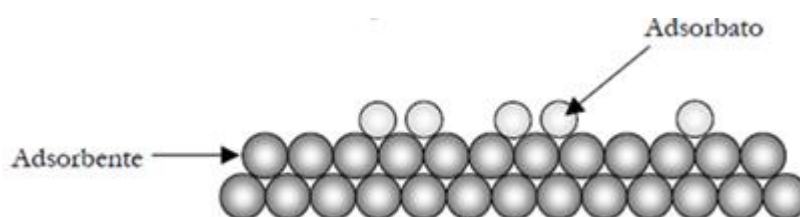


Figura 11 . Esquema del proceso de adsorción física.

#### 3.1.3.1 Celulosa microcristalina coloidal y alanina (CE+AL)<sup>2</sup>.

En un matraz bola se colocaron 10 g de celulosa microcristalina coloidal (CE<sup>3</sup>) con 1 g de L-alanina disuelta en 20 mL de agua destilada y se adicionaron 80 mL más de agua. Posteriormente, se montó un sistema de reflujo. Se agitó la mezcla reactiva en el sistema de reflujo por 10 min y enseguida se le agregó 1 mL de ácido clorhídrico 1M. El pH de la disolución fue de 5. La reacción se efectuó por 5 hr/100°C. La mitad de la reacción se filtró al vacío y se secó. La segunda mitad se lavó con agua 5 veces hasta pH neutro, se filtró y secó (la muestra obtenida se etiqueto como: (CE+AL2)<sup>4</sup>). Se obtuvo un sólido blanco en ambas partes [43].

#### 3.1.3.2 Celulosa microcristalina coloidal y fenilalanina (CE+PHE)<sup>5</sup>

Se colocó un sistema de reflujo con 10 g de celulosa microcristalina coloidal más 1g de D-fenilalanina previamente disuelta en 100 mL de agua destilada. Se agitó durante 10 min, después se le agregó 1 mL de ácido clorhídrico 1 M. Se midió el pH y fue de 5. Se mantuvo en reflujo a 100 °C por 5 h. Una parte de la reacción se lavó 5 veces hasta pH neutro, se filtró y secó (la muestra obtenida se etiqueto como: (CE+PHE2)<sup>6</sup>), la otra parte sólo se filtró y se secó.

### 3.1.3.3 Celulosa microcristalina coloidal y prolina (CE+PRO)<sup>7</sup>

En un sistema de reflujo se colocaron 10 g de celulosa coloidal, 1g de L-prolina disuelta en 5 mL de agua destilada y se agregaron 80 mL más de agua destilada. Se agregó 1 mL de ácido clorhídrico 1M después de 10 min de agitación, el pH final de la reacción fue de 5. La reacción se dejó durante 5 hr/100°C. Se dividió la mezcla reactante en dos partes. La primera se filtró y se secó. La segunda parte se lavó 5 veces con agua destilada hasta pH neutro, se filtró y secó (la muestra obtenida se etiquetó como: (CE+PRO)<sup>8</sup>).

### 3.1.3.4 Pulpa de celulosa y alanina (TCE+AL)<sup>9</sup>

En un matraz bola se colocaron 3 g de pulpa de celulosa seca (TCE)<sup>10</sup> y triturada, 0.23 g de alanina y 0.07 g de alanina marcada con <sup>13</sup>C los cuales se disolvieron en 30 mL de agua destilada. Se dejó agitar durante 5 minutos y enseguida se adicionó 1 mL de ácido clorhídrico 1M. El pH final de la reacción fue de 2. Se dejó en agitación y a reflujo 24hr/100°C. Posteriormente se filtró y se secó la mitad del producto, mientras que la otra parte se lavó 5 veces hasta pH neutro, se filtró y secó.

### 3.1.3.5 Pulpa de celulosa y fenilalanina (TCE+PHE)<sup>11</sup>

Se montó un sistema de reflujo donde se colocaron 3 g de pulpa de celulosa seca y triturada, 0.3 g de fenilalanina disuelta en 30 mL de agua destilada, se dejó en agitación 5 minutos y se adicionó 1 mL de ácido clorhídrico 1M. El pH final de la disolución fue de 2. La reacción se mantuvo en reflujo durante 24 hr/100°C. Se obtuvieron dos productos sólidos de color café. La primera parte corresponde al producto que solo se filtró y lavó. La segunda parte se lavó 5 veces hasta pH neutro, se filtró y se secó.

### 3.1.3.6 Pulpa de celulosa y prolina (TCE+PRO)<sup>12</sup>

En un sistema de reflujo se colocaron 3 g de pulpa de celulosa seca y triturada y 30 mL de una disolución con 0.3 g de prolina. Se agitó durante 5 min y se adicionó 1 mL de ácido clorhídrico 1M. El pH final fue de 2. Se mantuvo en agitación y en reflujo durante 24hr/100°C.



## **3.2 Degradación de la celulosa microcristalina y celulosa microcristalina funcionalizada con los tres diferentes aminoácidos a ácido glucónico.**

Como se mencionó anteriormente, la reacción catalítica de la celulosa microcristalina y celulosa microcristalina funcionalizada con los tres aminoácidos a ácido glucónico, que se llevará a cabo sobre un catalizador de oro soportado en zeolita, se usará como un parámetro concluyente de la modificación de la reactividad de la celulosa por efecto de su funcionalización con aminoácidos. La reacción se presenta en la figura 9. Las muestras obtenidas de las reacciones se analizaron por  $^1\text{H}$  RMN (resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$ ). En el caso del catalizador solo se analizará por difracción de rayos X.

### **3.2.1 Procedimiento experimental**

#### **3.2.1.1 Preparación del catalizador.**

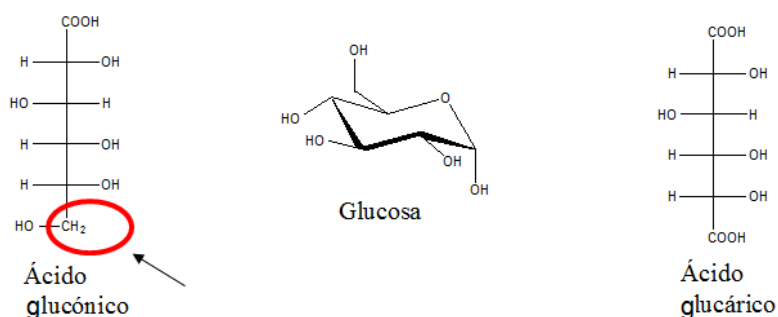
Como materia prima se usó una zeolita de tipo faujasita, comprada en Zeolyst International (USA). La zeolita tenía como catión compensador  $\text{NH}_4^+$ , entonces se calentó a  $400\text{ }^\circ\text{C}$  por 6 h para obtener la zeolita protonada (HY)<sup>13</sup>. Esta zeolita tiene una relación Si/Al de 5.1 y una área específica de  $925\text{ m}^2/\text{g}$ .

La zeolita (HY)<sup>13</sup> se suspendió en una solución coloidal de oro (5 nm), comprada en Aldrich. Después de 30 minutos, el sólido se separó por centrifugación, se lavó tres veces con agua destilada, se secó a  $50\text{ }^\circ\text{C}$  y entonces se redujo a  $400^\circ\text{C}$  en un flujo de hidrógeno (10 mL/min) por 4 hr. La cantidad de oro en el catalizador, determinada por espectroscopia de absorción atómica, fue de 0.8% en peso. El catalizador así preparado se etiquetó como (Au-HY)<sup>14</sup>.

#### **3.2.1.2 Degradación de la celulosa microcristalina a ácido glucónico**

En un digestor con un volumen de 200 mL se colocaron 1 g de celulosa, 0.05 g de catalizador (Au-HY)<sup>14</sup>, 20 mL de agua destilada y se burbujeó oxígeno durante 3 minutos. Inmediatamente después del burbujeo de oxígeno, se cerró el reactor (herméticamente) y se colocó dentro de un baño de aceite, previamente calentado a una temperatura de  $80^\circ\text{C}$ . Se aumentó la temperatura del baño hasta llegar a una temperatura de  $100\text{-}105^\circ\text{C}$ . Se tomaron muestras del reactor en función del tiempo (cada 45 minutos) y se analizaron por  $^1\text{H}$  RMN (resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$ ) en estado líquido (usando  $\text{D}_2\text{O}$  como solvente), a una frecuencia de 400 MHz [37]. La evolución de la reacción se siguió por un intervalo de 3 horas aproximadamente. La celulosa es insoluble en agua, por tanto la

conversión de la celulosa puede obtenerse de la integración de la señal RMN correspondiente a los hidrógenos del grupo CH<sub>2</sub> del ácido glucónico, figura 10. No obstante, lo que no es posible obtener es un valor de selectividad hacia ácido glucónico. La reacción de la figura 9 representa solo el producto principal, el ácido glucónico, pero por supuesto alguna cantidad de glucosa puede permanecer sin oxidar, o incluso puede oxidarse al ácido glucárico (producto obtenido de la doble oxidación). Así, por el método utilizado para seguir la evolución de la reacción, tanto la glucosa como el ácido glucárico, no es posible obtener un valor preciso de selectividad.



**Figura 12.** Estructura del ácido glucónico, glucosa y ácido glucárico.

### 3.2.1.3 Degradación de la celulosa microcristalina funcionalizada con alanina a ácido glucónico.

En un digestor se colocaron 1 g de celulosa funcionalizada con alanina, 0.05 g de catalizador (Au-HY)<sup>14</sup>, 20mL de agua destilada y oxígeno que se burbujeó durante 3 minutos. El digestor se cerró y se colocó dentro de un baño de aceite con una temperatura de 80°C. Se siguió calentando hasta llegar a una temperatura de 100-105°C. La reacción se monitoreó tomando muestras del digestor a los 10 min, 30 min, 1hr, 2hr y 3hr.

### 3.2.1.4 Degradación de la celulosa microcristalina funcionalizada con fenilalanina a ácido glucónico.

En un digestor se colocaron 1g de celulosa funcionalizada con fenilalanina, 0.05 g de catalizador (Au-HY)<sup>14</sup>, 20 mL de agua destilada y oxígeno que se burbujeó durante 3 minutos, se cerró el reactor y se colocó dentro de un baño de aceite con una temperatura de 80°C, enseguida se incrementó la temperatura a 100-105°C. La reacción se monitoreó tomando muestras del digestor a los 10 min, 30 min, 1hr, 2hr y 3hr. Las muestras obtenidas se analizaron por <sup>1</sup>H RMN (resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H).

### 3.2.1.5 Degradación de la celulosa microcristalina funcionalizada con prolina a ácido glucónico.

En un digestor se colocaron 1g de celulosa funcionalizada con prolina, 0.05 g de catalizador (Au-HY)<sup>14</sup>, 20 mL de agua destilada y oxígeno que fue burbujeado durante 3 minutos. El digestor se cerró y se colocó dentro de un baño de aceite que previamente se calentó hasta una temperatura de 80 °C. Se siguió calentando hasta llegar a una temperatura de 100-105 °C. Se tomaron muestras del digestor a los 10 min, 30 min, 1 hr, 2 h y 3 h. Las muestras se analizaron por <sup>1</sup>H RMN (resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H).

## 3.3 Síntesis y funcionalización de la hidroxiapatita (HA<sup>1</sup>)

Se utilizó el método de síntesis sol-gel para la síntesis de hidroxiapatita. Posteriormente se utilizó el método hidrotermal para la funcionalización de la hidroxiapatita con los tres diferentes aminoácidos (alanina, fenilalanina y prolina).

### 3.3.1 Método de síntesis sol-gel

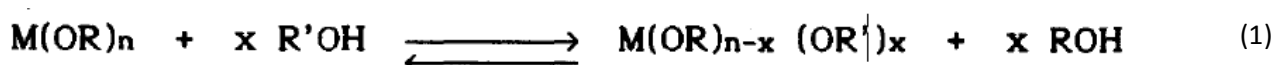
La técnica de sol-gel ha sido usada por muchos últimos años para preparar una amplia colección de materiales. El método es atractivo porque involucra procesos a baja temperatura además de que proporciona una alta pureza y homogeneidad. La ruta química sol-gel consiste en preparar una solución muy concentrada que contenga a uno o varios de los reactivos generando así una suspensión coloidal de partículas sólidas o cúmulos (tiene un diámetro aproximado de 1000 Å) en un líquido, a esta suspensión se le llama sol. La condensación de éste sol y la evaporación parcial del solvente forma un material sólido lleno de solvente (gel) con una red rígida y redes poliméricas que ha sido formado por una policondensación química. El solvente se le extrae al gel simplemente dejándolo reposar a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo llamado envejecimiento, en el cual el gel se encogerá expulsando el solvente y agua residual. Al término del tiempo de envejecimiento, por lo general aún se tienen solventes y agua en el material, además de que el tamaño del poro es considerable. Para solucionar esto, el material se somete a un tratamiento térmico, al final del cual se obtiene un material densificado [46]. Existen dos métodos para la formación de un gel: método de condensación y método de hidrólisis-policondensación de alcóxidos. En este caso se emplea el método de hidrólisis-policondensación.

El método de hidrólisis- poli condensación consiste en la hidrólisis y policondensación de compuestos organometalicos y alcóxidos. El alcóxido es un compuesto de fórmula M(OR)<sub>n</sub>, donde M es el catión y -OR es un radical proveniente de un alcohol, por ejemplo, el radical etoxi: -OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> proviene del alcohol etílico y n da el número de oxidación del

cación M metálico, o no metálico. La hidrólisis del alcóxido o mezcla de varios alcóxidos, usualmente se efectúa en un solvente orgánico, generando una estructura polimérica.

Cundo los alcóxidos se disuelven en alcoholes, como usualmente se hace en el proceso de sol-gel, debe considerarse que el solvente no es del todo inerte y frecuentemente afecta la reacción de hidrólisis (siendo uno de los productos) y por lo tanto desplaza el equilibrio químico (principio de Le Chatelier).

Es aun más complejo el caso donde el alcóxido esta disuelto en alcohol con grupo alquil diferente, puede ocurrir reacciones de alcoholisis (o intercambio de alcohol). Esta reacción puede representarse en general como se expresa en la reacción (1) [47]:



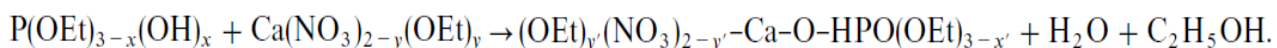
### 3.3.2 Procedimiento experimental.

#### 3.3.2.1 Síntesis de la hidroxiapatita (HA<sup>1</sup>)

Se prepararon dos soluciones, la primera de nitrato de calcio 1.67 M, para ello se pesaron 5.91 g de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y se adicionaron a 15 mL de etanol seco, la segunda de fosfito de trietilo 0.5 M, para ello se adicionaron 1.3 mL de fosfito de trietilo en 15 mL de etanol seco.

Por otra parte, en un matraz erlenmeyer se colocaron 9 mL de fosfito de trietilo 0.5 M, posteriormente se adicionaron, gota a gota, 15 mL de nitrato de calcio 1.67 M. La mezcla resultante se agitó y al cabo de 30 minutos se evaporó el etanol a 70°C hasta ¼ de su volumen. Se calcinó 6 hr a 550°C en una mufla. El sólido blanco obtenido se lavó 5 veces con agua destilada. [48]

En este trabajo se empleará un alcóxido, en donde el sol de fosforo hidrolizado en etanol puede estar en forma de ester fosfórico, PHO(OEt)<sub>2</sub>, o más generalmente, P(OEt)<sub>3-x</sub>(OH)<sub>x</sub> interactuando con el sol de calcio, Ca(OEt)<sub>y</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2-y</sub>, para formar derivados oligomericos que contiene enlaces Ca-O-P [48]. Para el proceso basado en etanol, la reacción procede de la siguiente manera, figura 13.



**Figura 13.** Esquema de la reacción de condensación de los productos de hidrólisis del fosfito de trietilo y el nitrato de calcio

El calentamiento elimina a los solventes y genera una deshidratación así como la polimerización /condensación entre estos derivados oligomericos lo que resulta en la formación de mas enlaces Ca-O-P.

La siguiente etapa consiste en funcionalizar la superficie de la hidroxiapatita con los tres diferentes aminoácidos, se espera que ocurra una adsorción física. En este caso la medición del pH es importante para conocer la formula desarrollada del aminoácido bajo estas condiciones.

#### 3.3.2.2 Funcionalización de la hidroxiapatita con fenilalanina (HA+PHE)<sup>15</sup>

En un matraz de bola se colocaron 0.1 g de hidroxiapatita, 0.01g de fenilalanina y 6 mL de agua destilada. El pH de la disolución fue de 8. Se llevó a reflujo a 100 °C al cabo de 24 h se filtró y se secó [43].

#### 3.3.2.3 Funcionalización de la hidroxiapatita con prolina (HA+PRO)<sup>16</sup>

En un sistema de reflujo se colocaron 0.1g de hidroxiapatita, 0.01 g de prolina y 6 mL de agua destilada. El pH de la disolución fue 8. Se mantuvo en reflujo 24 hr/100°C, se filtró y se secó.

#### 3.3.2.4 Funcionalización de la hidroxiapatita con alanina (HA+AL)<sup>17</sup>

Se colocaron en un matraz de bola 0.1g de hidroxiapatita, 0.075 g de alanina, 0.025g de alanina marcada con <sup>13</sup>C y 6 mL de agua destilada. El pH final de la disolución fue de 8. Se dejó en agitación y a reflujo 24hr/100°C, se filtró y se secó.

### 3.4 Técnicas de caracterización

Mediante las siguientes técnicas se caracterizaron las muestras de CE, CE+AL, CE+AL2, CE+PHE, CE+PHE2, CE+PRO, CE+PRO2, TCE, TCE+AL, TCE+PHE, TCE+PRO, HA, HA+PRO, HA+PHE y HA+AL.

- **Difracción de rayos X (DRX):** Obtención de información estructural e identificación de fases cristalinas presentes.

- **Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  en estado sólido con giro al ángulo mágico ( $^{13}\text{C}$  MAS RMN):** Obtención de información estructural relacionada con el entorno químico de los átomos individuales, es decir obtención de ambientes químicos locales.
- **Espectroscopía infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR):** Información estructural con la identificación de grupos funcionales presentes.

### 3.4.1 Difracción de rayos X (DRX)<sup>18</sup>

#### 3.4.1.1 Fundamento teórico.

##### 3.4.1.1.1 Aspectos físicos.

La difracción de rayos-x es una técnica en donde se hace incidir un haz de rayos-X sobre la muestra para determinar el acomodo de los átomos, este haz de rayos-X se dispersa en diferentes direcciones y se difracta en ángulos particulares, permitiendo la interpretación de los componentes cristalinos de la muestra. De acuerdo con la longitud de onda, los rayos X se clasifican en el intervalo de  $10^{-5}$  a  $100 \text{ \AA}$ , para fines experimentales en difracción de rayos X, valores entre  $0.5$  y  $2.5 \text{ \AA}$  son generalmente suficientes.

Un difractómetro está provisto de un tubo de rayos X para generar la radiación X. Los elementos básicos de este tubo (Figura 14) son: un cátodo, constituido por un filamento de tungsteno incandescente capaz de emitir electrones por calentamiento, que son inmediatamente acelerados por un fuerte campo eléctrico y son llevados en dirección al ánodo. Al colisionar con el ánodo, cierta parte de la energía de los electrones producen cierta radiación electromagnética X y otra parte se transforma en calor. El sistema se encuentra sellado a una presión inferior a  $10^{-5} \text{ mm Hg}$ , tanto el ánodo como el cátodo se sitúan dentro de una ampolla de vidrio a vacío.

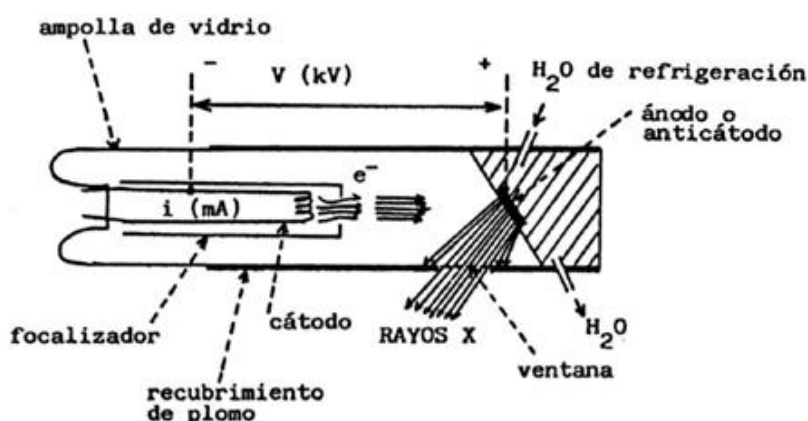


Figura 14 . Esquema de un tubo de rayos X de cátodo incandescente.

### 3.4.1.1.2 Geometría de la difracción.

La difracción se produce cuando una onda pasa por una serie de obstáculos espaciados regularmente, los cuales son capaces de dispersarla en diferentes direcciones. Esto da lugar a un patrón de intensidades que pueden interpretarse según la ubicación de los átomos en el cristal, aplicando la ley de Bragg. La difracción es un fenómeno interferencial y como tal supone la superposición de ondas coherentes y la anulación de las incoherentes.

En la difracción de Bragg se representan a los cristales como familias de planos atómicos que actúan como espejos semitransparentes. Una parte de los rayos X son reflejados por los planos con un ángulo de reflexión igual al ángulo de incidencia, sin embargo el resto son transmitidos para ser reflejados por planos subsecuentes. La muestra debe estar finamente molida debido a que el ordenamiento estadístico de los microcristales de este polvo proporciona un patrón de difracción análogo al del monocristal [49-51].

La derivación de la ley de Bragg (ecuación 2) se muestra en la figura 15. Si se considera a la radiación como una onda que incide sobre el cristal de forma paralela y en fase una con otra y son reflejadas de igual forma, en caso contrario existirá una interferencia. La distancia extra que tiene que recorrer la onda OÁBC será ABC, la cual se relaciona con la longitud de onda, es:

$$ABC=n\lambda$$

$$ABC=2.AB \text{ y } AB=DB.Sen\omega$$

Siendo  $\omega$  el ángulo de incidencia de la radiación x sobre el cristal, por otra parte  $AB=d.Sen\omega$  donde  $d$  es la distancia entre los dos planos del cristal.

Por lo tanto se tiene que  $ABC=n.\lambda=2AB=2.dSen\omega$

$$n\lambda=2dsen\theta \quad (2)$$

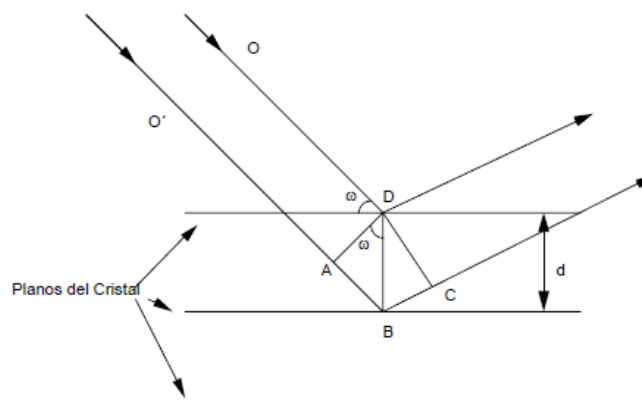


Figura 15. Difracción de rayos X por los planos de un cristal.

### 3.4.1.1.3 Procedimiento experimental.

Los materiales preparados se caracterizaron por DRX de polvos utilizando un difractómetro Bruker AXS D8 Advance, acoplado a un tubo de rayos X con un ánodo de cobre ( $\lambda=1.5418 \text{ \AA}$ ). La identificación de los compuestos se realizó por comparación con las tarjetas JCPDS (Join Committee on Powder Diffraction Standards).

### 3.4.2 Resonancia magnética nuclear de $^{13}\text{C}$ en estado sólido con giro a el ángulo mágico ( $^{13}\text{C}$ CP MAS RMN)<sup>19</sup>.

#### 3.4.2.1 Fundamento teórico.

El fenómeno de RMN consiste en la absorción de energía de radiación electromagnética por parte de núcleos atómicos. Los núcleos atómicos poseen un momento angular intrínseco y un momento magnético, los cuales se pueden asociar a un número de espín nuclear.

La absorción ocurre a frecuencias características que dependen del tipo de núcleo ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ , etc) y del entorno molecular en que se encuentra.

El fenómeno solo se manifiesta en presencia de un campo magnético que diferencia en términos de energía a las posibles orientaciones del momento magnético nuclear.

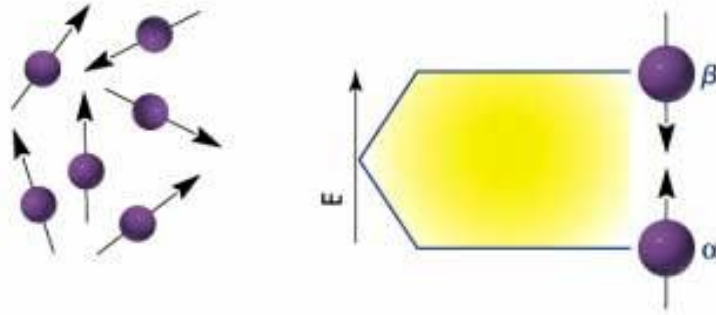
Las cantidades de energía involucradas son muy pequeñas y solo son medibles cuando el campo magnético es muy intenso. La radiación electromagnética utilizada corresponden a las ondas de radio y microondas.

En ausencia de un campo magnético externo, los espines nucleares se orientan al azar, figura 16, pero, bajo la acción de un campo magnético externo ( $B_0$ ), un espín nuclear  $\frac{1}{2}$  presenta el siguiente fenómeno: el momento angular se alinea respecto al campo externo en dos posibles situaciones, a favor y en contra del campo. Esto se le conoce como el efecto Zeeman, lo cual permite distinguir dos estados de energías. La energía necesaria para pasar de un estado de espín al otro está determinada por la siguiente ecuación (3):

$$\Delta E = \hbar\gamma B_0 \quad (3)$$

Donde  $\gamma$  = constante giromagnética (relación entre momento angular y momento magnético),  $B_0$  es la magnitud del campo magnético externo.





**Figura 16** .Dos estados energéticos posibles al momento de aplicar un campo magnético externo: a favor o en contra del campo.

Al aplicar el campo magnético externo, la mayoría de los núcleos ocupan el estado de espín  $\alpha$  (estado de mínima energía), el espín  $\beta$  corresponde al estado de mayor energía. Pero, aunque la diferencia no es enorme sí es suficiente para establecer las bases de la espectroscopia de RMN.

Para un núcleo en particular (isótopo), la diferencia de energía entre los dos estados de espín  $\alpha$  y  $\beta$ , depende de la fuerza del campo magnético aplicado  $B_0$ . Cuanto mayor sea el campo magnético, mayor diferencia energética habrá entre los dos estados de espín.

El termino resonancia magnética nuclear procede del hecho de que los núcleos están en resonancia con la radiofrecuencia inducida. Es decir, los núcleos pasan de un estado de espín a otro como respuesta a la radiación a la que son sometidos. Cuando esta inducción termina, el sistema no puede mantener esa configuración así que espontáneamente regresa a un estado energéticamente más estable con lo cual se emite una radiofrecuencia igual a la diferencia de energía entre estados de espín. La intensidad de esta frecuencia disminuye con el tiempo a medida que todos los núcleos vuelven a su estado inicial. Un ordenador recoge la función de inducción, FID, la cual se detecta, se amplifica y se trata según la transformada de Fourier para obtener finalmente una señal de frecuencia. Estos son los fenómenos que se asocian a la espectroscopia de resonancia magnética nuclear.

En RMN en estado sólido, el acoplamiento dipolar es una de las interacciones presentes más importantes.

Los acoplamientos dipolares están provocados por las interacciones directas entre los momentos magnéticos asociados a dos núcleos diferentes,  $I_{1z}$  y  $I_{2z}$ , en el sólido.

Por convención, los espines nucleares  $I_{1z}$  hacen referencia a los más abundantes y los  $I_{2z}$  a los de menor abundancia natural.

En presencia de un campo magnético externo  $B_0$  los espines estarán alineados paralela o antiparalelamente. Los núcleos  $I_{1z}$  y  $I_{2z}$  poseen un momento magnético nuclear que produce un campo magnético local, pequeño comparado con  $B_0$ , sobre los otros espines que se encuentran en su entorno próximo. El campo magnético producido por los espines  $I_{1z}$  se añadirán o se restarán al campo  $B_0$  sentido por el espín  $I_{2z}$ , dependiendo de su orientación, modificando así su frecuencia de resonancia. El grado que el espín  $I_{1z}$  modifica el campo experimentado por el espín  $I_{2z}$ , va a estar determinado por la magnitud del acoplamiento dipolar heteronuclear, que viene representado por el Hamitoniano de la ecuación (4)

$$H_{dip} = -\frac{\mu_0 \gamma_1 \gamma_2 \hbar^2}{4\pi r_{12}} I_{1z} I_{2z} (3 \cos^2 \theta - 1) \quad (4)$$

Donde  $\gamma_i$  es la constante giromagnética del núcleo  $i$ ,  $\mu_0$  es la permeabilidad magnética en el vacío,  $I_{iz}$  es la proyección del spin sobre Z del núcleo  $i$ ,  $r_{12}$  es la distancia que separa los núcleos y  $\theta$  es el ángulo que hace el vector que une los núcleos con el campo externo. En un líquido, las moléculas se reorientan rápidamente y esto promedia la interacción dipolar. En una muestra sólida esto no sucede. No obstante, en la ecuación (2) se puede observar que el efecto dipolar se anula si la muestra se coloca a un ángulo donde el término  $(3 \cos^2 \theta - 1)$  sea cero, esto se logra cuando  $\theta = 54.74^\circ$  y se conoce comúnmente como ángulo mágico. Así en RMN de sólidos, la muestra se orienta a  $54.74^\circ$  del eje z (dirección donde se aplica el campo magnético  $B_0$ ) y se gira a una alta frecuencia (generalmente mayor a 3 kHz), estas condiciones se conocen como giro al ángulo mágico (MAS) y se utilizan en la mayoría de los experimentos de RMN de estado sólido con el objetivo de eliminar la interacción dipolar [52,53].

#### 3.4.2.1 Procedimiento experimental.

Los espectros de CP (polarización cruzada)  $^{13}\text{C}$  MAS RMN se adquirieron en un espectrómetro Bruker Avance II 300, con un campo magnético de 7.05 T a una frecuencia de resonancia de 75.42 MHz. Se usó una sonda CP-MAS multinuclear. Las muestras se empacaron en rotores de  $\text{ZrO}_2$  con un diámetro externo de 4 mm y se giraron a 5 kHz. Los desplazamientos químicos se referenciaron a una disolución de nitrato de aluminio ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ).

### 3.4.3 Espectroscopía infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR)<sup>20</sup>

#### 3.4.3.1 Fundamento teórico.

La espectroscopia infrarroja es una técnica analítica instrumental que permite conocer los principales grupos funcionales de la estructura molecular de un compuesto. Esta información se obtiene a partir del espectro de absorción de dicho compuesto al haberlo sometido a la acción de la radiación infrarroja en el espectrofotómetro. La región del espectro IR normal queda comprendida entre 2.5 $\mu$  a 15 $\mu$ , medido en unidades de longitud de onda, que corresponde a 4000  $\text{cm}^{-1}$  y 666  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente.

Cuando una molécula adsorbe energía de la radiación infrarroja se ve alterado el estado dinámico: la molécula vibra cuando adsorbe radiación infrarroja. Las moléculas poseen movimiento vibracional continuo. Las vibraciones suceden a valores cuantizados de energía. Las frecuencias de vibración de los diferentes enlaces en una molécula dependen de la masa de los átomos involucrados y de la fuerza de unión entre ellos.

Para que sea posible la absorción de la energía infrarroja por parte de una sustancia, es necesario que la energía que incide sobre ella, sea del mismo valor que la energía de vibración que poseen las moléculas de esa sustancia. Ya que en una molécula existen diferentes átomos que forman distintos enlaces, en el espectro de infrarrojo aparecen bandas de absorción a distintos valores de frecuencia y de longitud de onda.

Las gráficas de un espectro IR representan en ordenadas el porcentaje de transmitancia  $T$  en función del número de onda  $\nu$  en unidades de  $\text{cm}^{-1}$ . La transmitancia indica la fracción de intensidad de radiación de la correspondiente longitud de onda ( $I_\lambda$ ) que se transmite a través de una muestra con respecto al haz de referencia ( $I_{\lambda,0}$ ). Normalmente se expresa en forma de % (5):

$$\%T = \frac{I_\lambda}{I_{\lambda,0}} \cdot 100 \quad (5)$$

Para adquirir el espectro IR de una muestra, un rayo de luz infrarroja la atraviesa, y se registra la cantidad de energía absorbida en cada longitud de onda. Esto se logra escaneando la muestra con un rayo monocromático, el cual cambia de longitud de onda a través del tiempo, o usando un equipo de transformada de Fourier (FTIR) para medir todas las longitudes de onda a la vez. A partir de esto, se traza un espectro de transmitancia o absorbancia, el cual indica a qué longitudes de onda la muestra absorbe

en el IR, estas longitudes de onda corresponden a modos normales de vibración (elongación de enlaces, deformaciones de grupos de átomos, etc.) que se asocian a un grupo de átomos, identificando así a grupos funcionales. La espectroscopía de IR frecuentemente no es suficiente para identificar completamente a una sustancia, y a menudo es necesario complementar el estudio con RMN, análisis elemental o espectroscopía de masas. [54,55]

#### **3.4.3.2 Procedimiento experimental.**

Los espectros FTIR de los productos obtenidos se obtuvieron a temperatura ambiente en la ventana espectral de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ . Se usó un espectrómetro NICOLET 6700 FT-IR, con una resolución de 2 $\text{cm}^{-1}$ . Para adquirir los espectros no fue necesario diluir la muestra en pastillas de KBr, ya que se usó la técnica de reflectancia atenuada (ATR).

#### **3.4.4 Caracterización de la celulosa microcristalina (CE) y pulpa de celulosa (TCE) por la técnica de dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS)<sup>21</sup>.**

Con la finalidad de conocer la superficie morfológica y los parámetros texturales de la celulosa microcristalina y la pulpa de celulosa (obtenida de los desechos de la papelera Scribe) se analizó por dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS, por sus siglas en inglés), para evaluar la dimensión fractal los cuales pueden ser importantes en las propiedades de adsorción.

##### **3.4.4.1 Dispersión de rayos X a ángulos pequeños (SAXS).**

###### **3.4.4.1.1 Fundamento teórico.**

La dispersión de rayos X a ángulos pequeños es una técnica en donde se hace incidir sobre un material un haz de rayos X a ángulos pequeños (generalmente entre 0.1 y 10 grados) y se registra la dispersión del haz. Las muestras que se estudian por SAXS tienen inhomogeneidades, así la dispersión depende de estas inhomogeneidades. El intervalo angular donde opera esta técnica contiene información sobre el tamaño y firma de las heterogeneidades.

La muestra se irradia con un haz de rayos X monocromático y a partir de la distribución de intensidades a muy bajo ángulo es posible obtener información sobre tamaño o distribución de tamaños de partículas, forma de partículas y estructura interna. Esta técnica se emplea en partículas con un tamaño comprendido entre 0.5 y 50 nm en

materiales tales como: cristales líquidos, películas de polímeros, microemulsiones, catalizadores, proteínas, virus etc.

La intensidad de SAXS para sistemas complejos, desordenados y porosos a menudo puede ser descrita por la siguiente ecuación (6):

$$I(q) = I_0 q^{-\alpha} \quad (6)$$

Donde  $I_0$ ,  $\alpha$  son constantes y

$$q = \frac{4\pi \sin\theta}{\lambda}$$

Donde  $2\theta$  es el ángulo de dispersión,  $\lambda$  es la longitud de onda de rayos X.

La técnica de SAXS frecuentemente se usa para caracterizar los cambios en la densidad electrónica en el límite de una fase, por ejemplo para caracterizar una película orgánica en materiales porosos. La deposición de una película, sin duda, genera cambios en la densidad electrónica en el límite de la fase (es decir el esqueleto de material poroso), que también causa cambios en los valores de dispersión a ángulos pequeños [56].

SAXS, al ser una técnica sensible a las heterogeneidades, puede usarse para calcular un parámetro de rugosidad o dimensión fractal de un objeto. En este sentido, en la geometría euclidiana, la dimensión de un objeto puede ser definido como el número mínimo de coordenadas necesarias para especificar la posición de un punto contenido en ese objeto. Por lo tanto, para definir una posición de un punto sobre una línea es necesario uno de los ejes, pero se necesitan dos coordenadas para especificar una posición en un plano, y son tres necesarios para una posición en un volumen. Sin embargo, las superficies claramente existen en un mundo tridimensional, sino que tienen la longitud, anchura y profundidad. Las dimensiones fractales (números no enteros) reflejan esta situación: si la superficie tiende a un plano, la dimensión fractal será muy cercano a dos, pero si es muy doblada tenderá a 3 [57].

En este trabajo se obtendrán los valores de la dimensión fractal tanto de la celulosa microcristalina como de la pulpa de celulosa, los resultados reflejarán el grado de imperfección en la superficie.

#### **3.4.4.1.2 Procedimiento Experimental**

Los perfiles SAXS se obtuvieron en una cámara Kratky acoplada a un tubo de rayos X con ánodo de cobre. La radiación  $K\alpha$  se seleccionó por medio de un filtro de níquel (Ni). Las muestras fueron introducidas en un tubo capilar. La intensidad  $I(q)$  fue medida por 9

minutos para obtener buenas estadísticas. Los datos obtenidos fueron procesados con el programa ITP [58,59], donde el parámetro angular ( $q$ ) se definió antes.

La forma de la muestra puede estimarse de la gráfica Kratky,  $q^2I(q)$  contra  $q$ . La forma se determina dependiendo de la forma de la curva Kratky, por ejemplo si la curva presenta un pico, las partículas son globulares. Si se tiene la forma entonces la función de distribución puede calcularse.

De la pendiente de la curva  $\log I(h)$  contra  $\log(h)$  se puede calcular la dimensión fractal de las muestras, de acuerdo con la Ley de Porod [60].

Hay que tener en cuenta que por el principio de Babinet, la dispersión de rayos X a ángulos pequeños puede deberse a partículas densas en un ambiente de baja densidad o a los poros o inclusiones de baja densidad en un medio continuo de alta densidad de electrones.

#### **4.0 Resultados y discusión**

En esta primera parte (4.1) se presentan los resultados y el análisis de la caracterización por difracción de rayos-X de las muestras de CE (celulosa microcristalina), CE+AL (celulosa funcionalizada con alanina), CE+AL2 (celulosa funcionalizada con alanina y lavada con agua destilada), CE+PHE (celulosa funcionalizada con fenilalanina), CE+PHE2 (celulosa funcionalizada con fenilalanina y lavada con agua destilada), CE+PRO (celulosa funcionalizada con prolina), CE+PRO2 (celulosa funcionalizada con prolina y lavada con agua destilada). Asimismo, se comparan los difractogramas y se discuten si se generó algún cambio estructural en la celulosa microcristalina con los tres diferentes aminoácidos.

Posteriormente se presentan y se discuten los resultados obtenidos de la caracterización de difracción de rayos-X de TCE (pulpa de celulosa), TCE+AL (pulpa de celulosa funcionalizada con alanina), TCE+PHE (pulpa de celulosa funcionalizada con fenilalanina) y TCE+PRO (pulpa de celulosa funcionalizada con prolina), en el cual se realiza una comparación con la materia prima y se discuten los cambios estructurales observados en los difractogramas.

En la segunda parte (4.2) se presentan los resultados de la caracterización realizada con espectroscopia infrarroja de las muestras (CE)<sup>3</sup>, (CE+AL)<sup>2</sup>, (CE+AL2)<sup>4</sup>, (CE+PHE)<sup>5</sup>, (CE+PHE2)<sup>6</sup>, (CE+PRO)<sup>7</sup> y (CE+PRO2)<sup>8</sup>, se hace una comparación de la celulosa funcionalizada con los tres diferentes aminoácidos y la materia prima (CE)<sup>3</sup> y se discuten los resultados obtenidos de la adsorción de aminoácidos por dichas

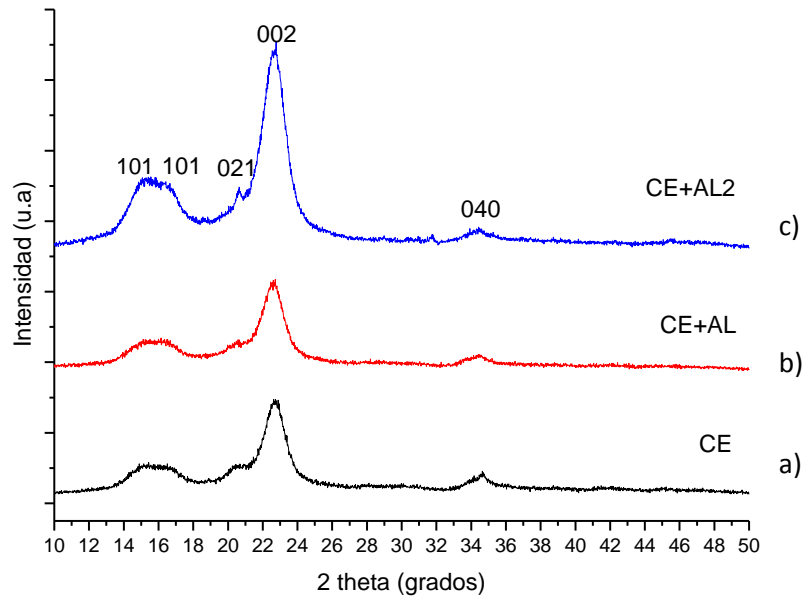
muestras. Posteriormente se muestran los resultados arrojados por espectroscopia infrarroja de la muestra (TCE)<sup>10</sup>, (TCE+AL)<sup>9</sup>, (TCE+PHE)<sup>11</sup>, (TCE+PRO)<sup>12</sup>.

En la tercera parte (4.3), se presentan los resultados y el análisis de la caracterización de (<sup>13</sup>C CP MAS RMN)<sup>19</sup> de las muestras (CE)<sup>3</sup>, (CE+AL)<sup>2</sup>, (CE+AL2)<sup>4</sup>, (CE+PHE)<sup>5</sup>, (CE+PHE2)<sup>6</sup>, (CE+PRO)<sup>7</sup> y (CE+PRO2)<sup>8</sup>. A través de una comparación de la celulosa funcionalizada y la materia prima, así como con las técnicas antes mencionadas, se caracterizan los aminoácidos adsorbidos en la superficie de la celulosa. Posteriormente, se muestran los resultados y el análisis de las muestras de (TCE)<sup>10</sup>, (TCE+AL)<sup>9</sup>, (TCE+PHE)<sup>11</sup> y (TCE+PRO)<sup>12</sup>. Finalmente, se hace una comparación entre la celulosa microcristalina y la pulpa de celulosa con los datos obtenidos de la técnica SAXS<sup>21</sup>.

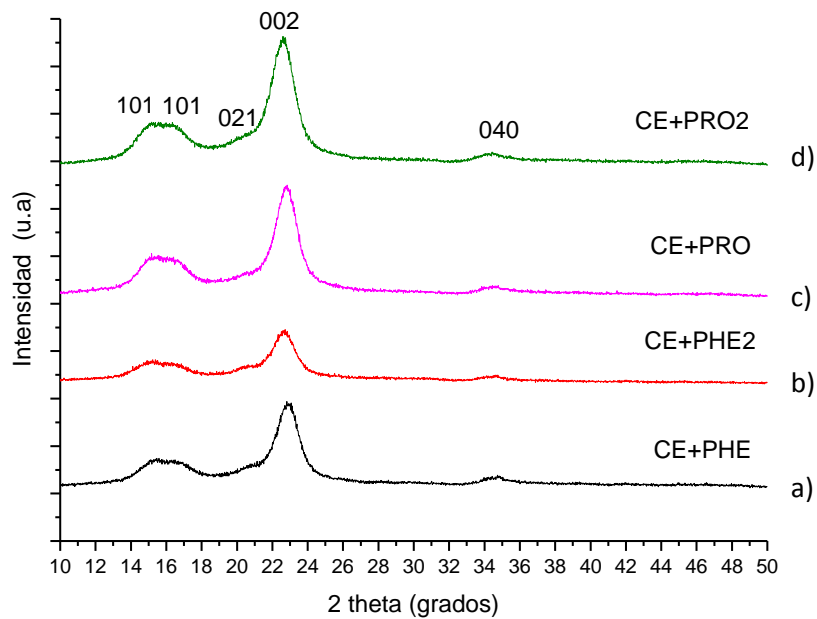
En la cuarta parte (4.4) se evaluó la reactividad de la celulosa microcristalina funcionalizada con los tres diferentes aminoácidos, para ello se efectuó una reacción catalizada por oro con zeolita (Au-HY)<sup>14</sup> para la obtención del ácido glucónico.

#### **4.1 Difracción de rayos X de la celulosa.**

El patrón de celulosa (figura 17) es típico de un material microcristalino. Los picos de difracción fueron indexados de acuerdo a los planos de Miller del patrón de difracción de la celulosa [39]. Como se mencionó anteriormente, la celulosa presenta 4 diferentes polimorfos, sin embargo no es posible asignarle un polimorfo a la celulosa microcristalina para ello sería necesario realizar un estudio cristalográfico más detallado. Las diferencias que se observan entre la celulosa funcionalizada con alanina y el patrón de celulosa son mínimas, solo se observa un afinamiento de los picos presentando un orden preferencial en el plano 002. En general el orden de la celulosa microcristalina en comparación con la celulosa microcristalina funcionalizada permanece prácticamente sin modificar, esto dentro de los límites de detección de DRX (referente al tamaño del cristal que no pueda ser detectada con fiabilidad. Cantidad de una fase para que puede ser detectado por DRX<sup>18</sup> es aproximadamente el 3% del total del material; Tamaño del cristal debe ser mayor de 30 Å para que puede detectarse por DRX<sup>18</sup>).



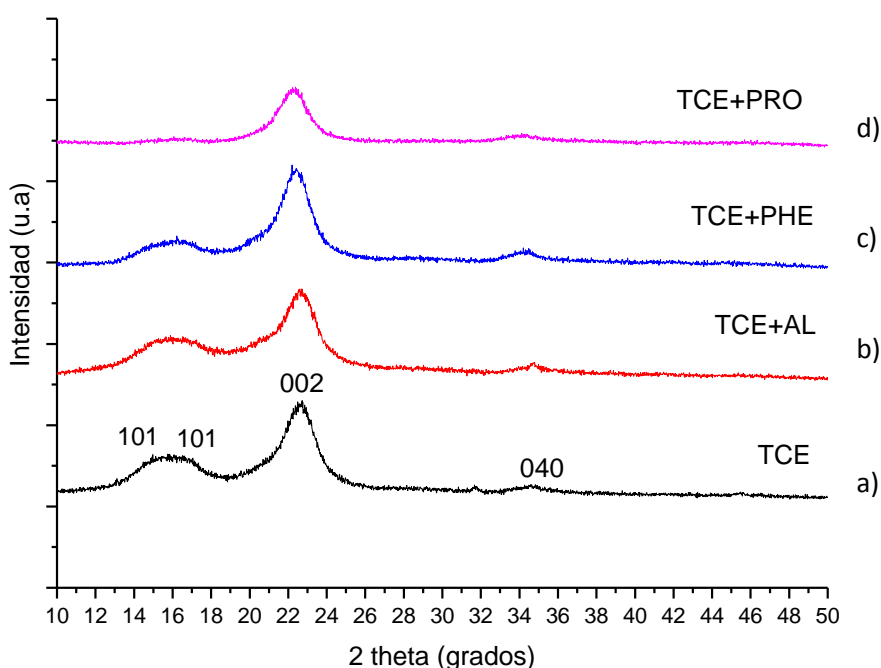
**Figura 17.** Patrón de DRX<sup>18</sup> de la celulosa funcionalizada con alanina. a) Celulosa microcristalina. b) Celulosa microcristalina funcionalizada con alanina. C) Celulosa microcristalina funcionalizada con alanina y posteriormente lavada con agua.



**Figura 18.** Patrón de DRX<sup>18</sup> de la celulosa funcionalizada con fenilalanina y prolina. a) Celulosa microcristalina funcionalizada con fenilalanina. b) Celulosa microcristalina funcionalizada con fenilalanina y posteriormente lavada con agua. c) Celulosa microcristalina funcionalizada con prolina. d) Celulosa microcristalina funcionalizada con prolina y posteriormente lavada con agua. B) Celulosa microcristalina funcionalizada con fenilalanina y posteriormente lavada). c) Celulosa microcristalina funcionalizada con prolina. D) Celulosa microcristalina funcionalizada con prolina y posteriormente lavada con agua.



En la figura 18 se observa que el patrón de DRX<sup>18</sup> de (CE+PHE)<sup>5</sup> es similar al de (CE)<sup>3</sup>, esto indica que la superficie de la celulosa funcionalizada con fenilalanina no afecta el orden de las fibras de celulosa. El mismo patrón se observa para los patrones de (CE+PHE2)<sup>6</sup>, (CE+PRO)<sup>7</sup> y (CE+PRO2)<sup>8</sup>. Sin embargo, en estas cuatro muestras, la intensidad del plano 021 es muy baja, comparada con (CE)<sup>3</sup>. Es decir, el material empieza ordenarse preferentemente en el plano 002. Esto debe atribuirse a una interacción de los aminoácidos con las fibras de la celulosa, afectando las interacciones tipo puentes de hidrógeno dentro de la estructura de celulosa, generando así un diferente acomodo de las cadenas de celulosa.



**Figura 19.** Patrón de DRX<sup>18</sup> de la pulpa de celulosa funcionalizada con alanina, fenilalanina y prolina. a) Pulpa de celulosa. b) pulpa de celulosa funcionalizada con alanina. c) Pulpa de celulosa funcionalizada con fenilalanina. d) Pulpa de celulosa funcionalizada con prolina.

En la figura 19 no se observa algún cambio aparente entre los difractogramas de las muestras de (TCE+PHE)<sup>11</sup> y (TCE+AL)<sup>9</sup> comparadas con la muestra (TCE)<sup>10</sup> sin funcionalizar. Indicando que no ocurre una modificación en el orden estructural. En la muestra TCE+PRO<sup>12</sup> se observa un orden preferencial en el plano 002 que sugiere un apilamiento de las cadenas de celulosa en forma laminar, el resto de los planos desaparece prácticamente en comparación con la materia prima (TCE)<sup>10</sup>.

Al comparar los difractogramas de las materias primas tanto de (CE)<sup>3</sup> (figura 17) y (TCE)<sup>10</sup> (figura 19) se observan cambios en la intensidad del plano 040, observándose más intensa en (CE)<sup>3</sup>, mientras que el plano 021 no se observa en (TCE)<sup>10</sup>, caso contrario a lo observado en (CE)<sup>3</sup>. Esta diferencia muestra que la pulpa de celulosa no es el mismo orden que la celulosa microcristalina. Debe tomarse en cuenta que la pulpa de celulosa a parte de contener celulosa, también contiene una mínima cantidad de hemicelulosa y lignina, los cuales no se pueden detectar por la sensibilidad del equipo (no se observan las bandas características de ambos compuestos en el espectro de FTIR<sup>20</sup> los cuales pueden intervenir en el acomodo de las cadenas de celulosa).

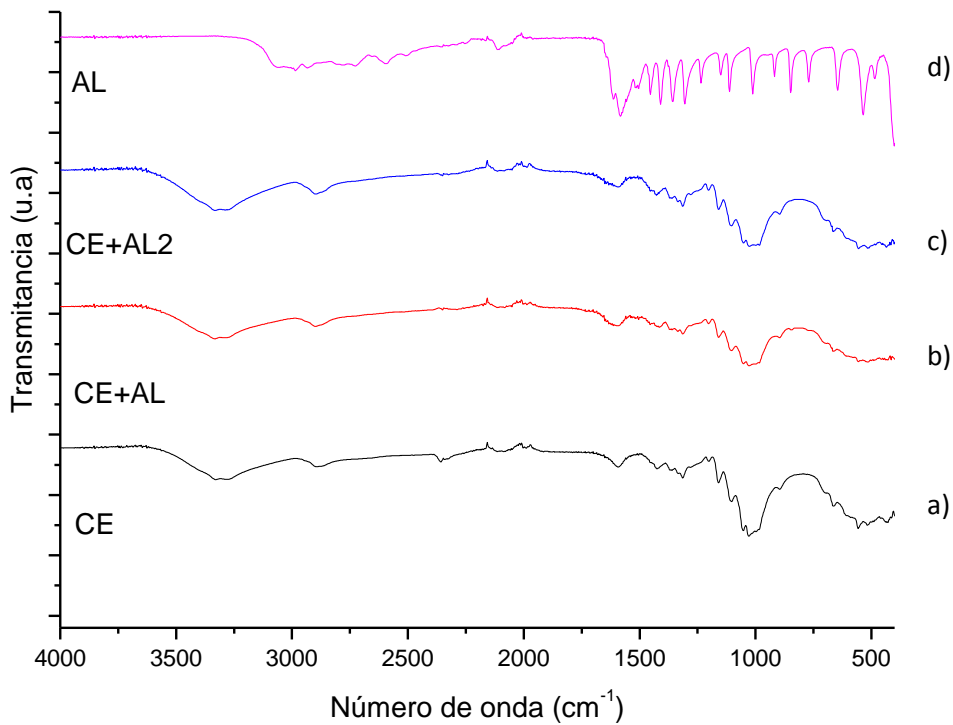
#### **4.2 Espectroscopía infrarrojo de la celulosa.**

En la figura 20 se muestran los espectros FTIR<sup>20</sup> de la celulosa y celulosa funcionalizada con alanina. Se observa las bandas de absorción características de la celulosa [61]:

- 1) La banda que se encuentra entre 3200-3400 cm<sup>-1</sup> es característica de las vibraciones de tensión de los enlaces O-H.
- 2) En 1600 cm<sup>-1</sup> se observan la banda correspondiente a la deformación en el plano de la molécula H-O-H.
- 3) Alrededor de 1000 cm<sup>-1</sup> se observa la vibración de tensión de C-O.

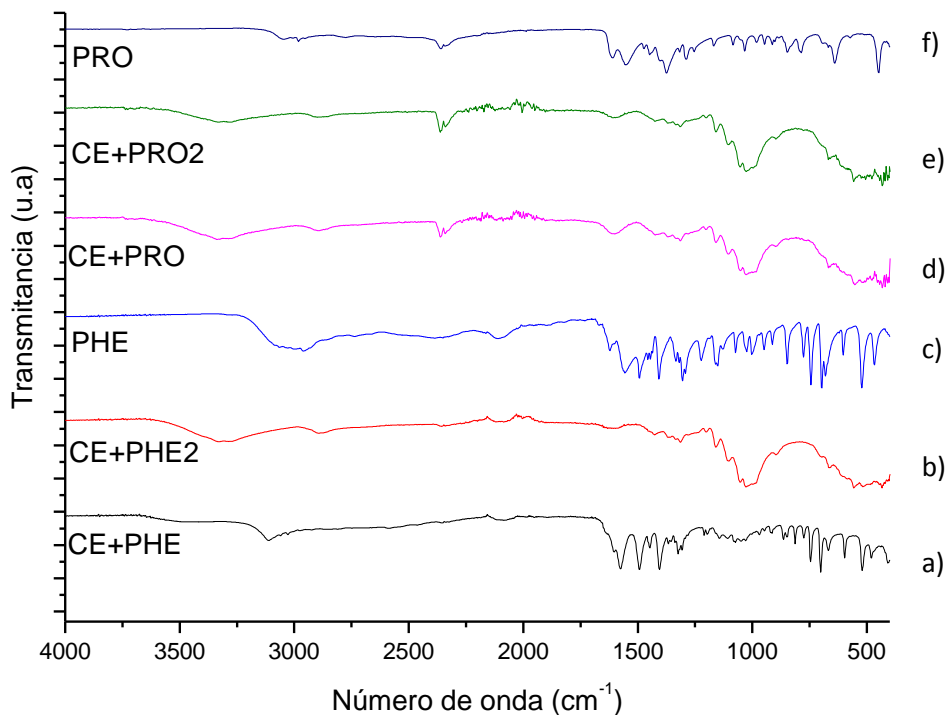
Se observan las bandas características de la alanina (AL)<sup>22</sup>.

- 1) La banda que se encuentra entre 2700-3000 cm<sup>-1</sup> es característica de las vibraciones de los enlace N-H y O-H.
- 2) La banda que se encuentra en 1600 cm<sup>-1</sup> corresponde a la elongación del enlace C=O.
- 3) Las bandas que se encuentran entre 1380 cm<sup>-1</sup> y 1460 cm<sup>-1</sup> corresponden a las vibraciones de deformación del metilo. La vibración que se encuentra en 1470 cm<sup>-1</sup> corresponde al metileno.



**Figura 20.** Espectros de infrarrojo de la celulosa y celulosa funcionalizada con alanina. a) celulosa microcristalina. b) Celulosa microcristalina funcionalizada con alanina. c) celulosa funcionalizada con alanina y posteriormente lavada con agua. d) Alanina.

Los espectros de  $(CE)^3$ ,  $(CE+AL)^2$  y  $(CE+AL2)^4$  (lavado hasta pH neutro) son muy similares. Las bandas de la alanina no se observan ni en  $(CE+AL)^2$  ni en  $(CE+AL2)^4$ . Esto podría indicar que el aminoácido alanina no se adsorbe sobre la superficie de la celulosa porque no se modifican ni las intensidades, ni los desplazamientos de las bandas de vibración. No obstante, debe tomarse en cuenta que la técnica de espectroscopia de infrarrojo es estructural y que si el aminoácido queda en superficie, la técnica no es suficientemente sensible para detectarlo.



**Figura 21.** Espectro de infrarrojo de la celulosa funcionalizada con fenilalanina y prolina a) Celulosa microcristalina funcionalizada con fenilalanina. b) Celulosa microcristalina funcionalizada con fenilalanina y posteriormente lavada con agua. c) Fenilalanina. d) Celulosa microcristalina funcionalizada con prolina. e) Celulosa microcristalina funcionalizada con prolina y posteriormente lavada con agua. f) Prolina.

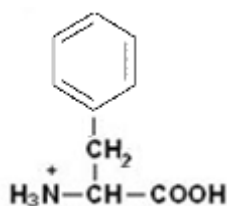
En la figura 21 se presenta el espectro de la (PHE)<sup>23</sup> en donde se aprecian las bandas características de la fenilalanina.

- 1) Se encuentran las vibraciones de elongación de N-H, así como O-H, que se sobreponen alrededor de 3200-3000  $\text{cm}^{-1}$ . También se observa una banda alrededor de 2200  $\text{cm}^{-1}$  y entre 1590-1500  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes al ion amonio.
- 2) Alrededor de 1600  $\text{cm}^{-1}$  se encuentra la banda de vibración del enlace C=O.
- 3) En el intervalo de 700- 800  $\text{cm}^{-1}$  se encuentra el enlace C-H de un benceno monosustituido.
- 4) La banda que se encuentra en 1400  $\text{cm}^{-1}$  es correspondiente al enlace C=C de un aromático.

Al comparar los espectros FTIR<sup>20</sup> de (CE)<sup>3</sup> (figura 20) con el de la (CE+PHE)<sup>5</sup> (figura 21) se observan ciertas diferencias en el intervalo de 1700-400  $\text{cm}^{-1}$  en donde las bandas de vibración de (CE+PHE)<sup>5</sup> difieren drásticamente de la celulosa sola. La banda del enlace

O-H disminuye significativamente mientras que encontramos una banda entre 3000 -3100  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al ión amonio en el espectro de (CE+PHE)<sup>5</sup>, así como una disminución en la intensidad de la banda correspondiente al enlace C-O.

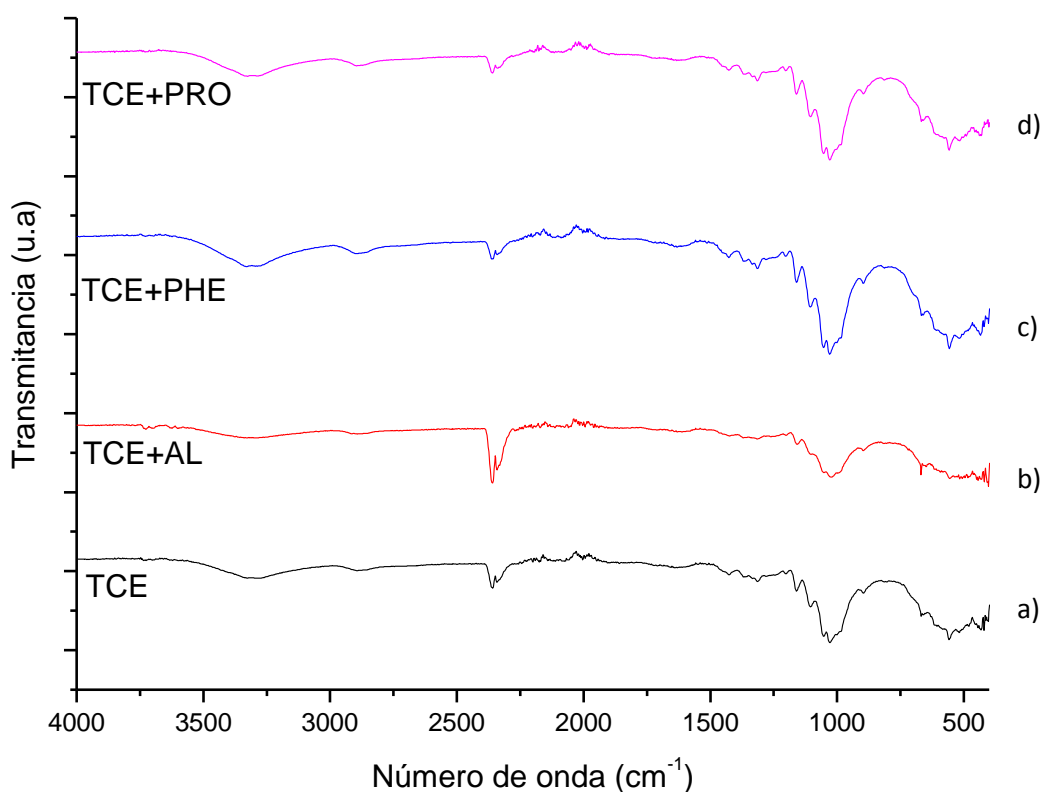
En el espectro de (CE+PHE)<sup>5</sup> aparecen las bandas de (PHE)<sup>23</sup> (ión amonio, las del fenilo y carbonilo). En este caso se observa la vibración de la amina protonada y no de la amina del aminoácido ya que la reacción se realizó en medio ácido (pH= 5), el cual se encuentra por debajo del punto isoeléctrico de la fenilalanina  $pI=5.48$ , es por eso que la fenilalanina se encuentra de la siguiente forma.



**Figura 22.** Formula desarrollada de la fenilalanina en medio ácido.

El espectro FTIR<sup>20</sup> de (CE+PHE2)<sup>6</sup> (lavada hasta pH neutro), figura 21, muestra un espectro similar al de la muestra de (CE)<sup>3</sup> (figura 20), es decir, las bandas de la fenilalanina ya no están presentes, indicando que el aminoácido es fácilmente removible al momento del lavado con agua destilada hasta pH neutro. No se puede asegurar, sin embargo, que la muestra lavada carezca totalmente de aminoácido en su superficie.

Los espectros correspondientes a (CE+PRO)<sup>7</sup> y (CE+PRO2)<sup>8</sup> (lavado con agua destilada hasta pH 7) no muestran cambios significativos si se comparan con (CE)<sup>3</sup>. A partir de estos espectros no es posible concluir si la prolina interacciona con la superficie de la celulosa. Cabe mencionar que a  $pH= 5$ , pH de trabajo durante la funcionalización de (CE)<sup>3</sup> con (PRO)<sup>24</sup>, la especie presente de acuerdo al punto isoeléctrico de la prolina  $pI= 6.48$  es la que se esquematiza en la figura 22 (la parte protonada del grupo carboxilo y grupo amino). Sin embargo, aparentemente no se genera una adsorción sobre la superficie de celulosa, al contrario de cómo se observó en el caso de la fenilalanina. Esto sugiere que el anillo aromático en la fenilalanina juega un papel importante en la estabilización del aminoácido en la superficie de la celulosa.



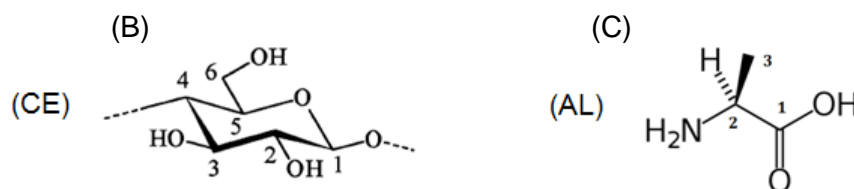
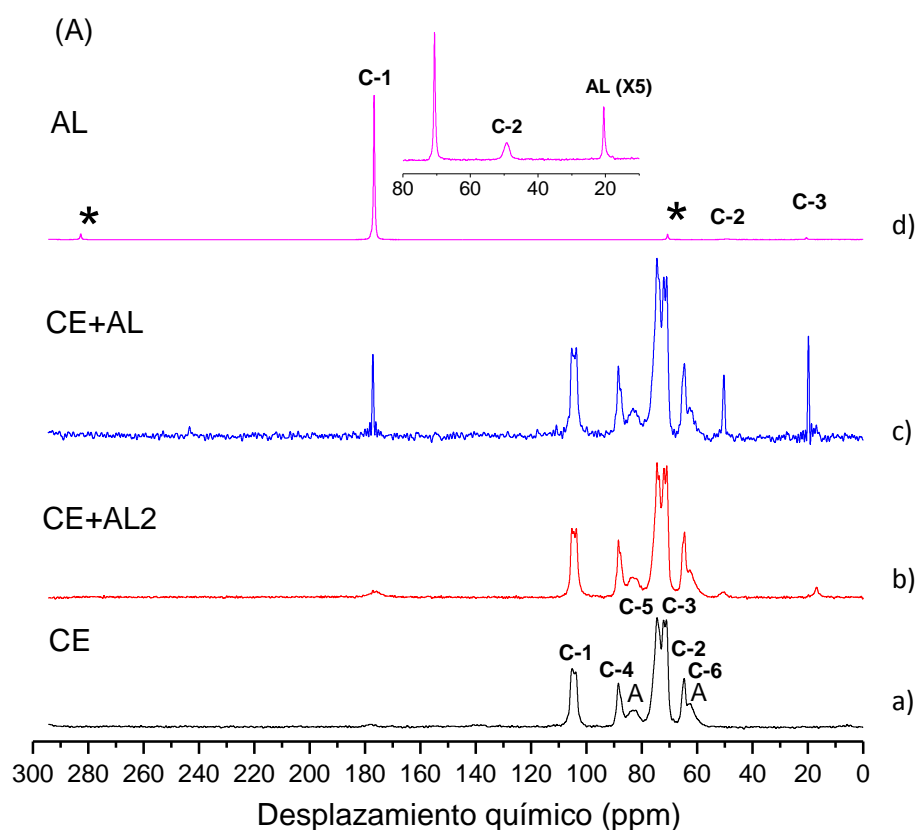
**Figura 23.** Espectro de infrarrojo de la pulpa de celulosa funcionalizada con alanina fenilalanina y prolina. a) Pulpa de celulosa. b) Pulpa de celulosa funcionalizada con alanina. c) Pulpa de celulosa funcionalizada con fenilalanina. d) Pulpa de celulosa funcionalizada con prolina.

La figura 23 compara los espectros FTIR<sup>20</sup> de la pulpa de celulosa, (TCE)<sup>10</sup>, a aquellos de la pulpa de celulosa funcionalizada con los tres aminoácidos de trabajo. No se observan cambios significativos como una consecuencia del tratamiento con los diferentes aminoácidos.

Los espectros FTIR de (TCE)<sup>10</sup>, figura 23, y de (CE)<sup>3</sup>, figura 20, son remarcablemente similares, lo cual se esperaba ya que las pequeñas diferencias en composición de estos dos tipos de celulosa, si las hubiera, no son detectables por FTIR<sup>20</sup>. Una diferencia debe enunciarse: como anteriormente se mostró, la celulosa cristalina (CE)<sup>3</sup> es capaz de adsorber fenilalanina, pero la pulpa de celulosa no muestra adsorción de este aminoácido, al menos dentro de los límites de detección de la espectroscopia infrarroja. Este resultado muestra lo determinante que es la superficie del material para llegar a estabilizar el aminoácido, mas adelante si discutirá la diferencia que existe entre ambas superficies con los resultados obtenidos con la técnica (SAXS)<sup>21</sup>.

### 4.3 Espectroscopía ( $^{13}\text{C}$ CP MAS RMN)<sup>19</sup> en estado sólido de la celulosa.

La figura 24A muestra los espectros ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN)<sup>19</sup> de la celulosa microcristalina (CE)<sup>3</sup> y de esta celulosa funcionalizada con alanina. Los desplazamientos químicos se asignaron a los diferentes carbonos de las unidades primarias que conforman a la celulosa, de acuerdo a la estructura incluida en la figura 24B. Los dos picos a 62 y 82 ppm que están etiquetados como "A" en la estructura de la figura 24A, indican la presencia de celulosa no cristalina [62,63,64].

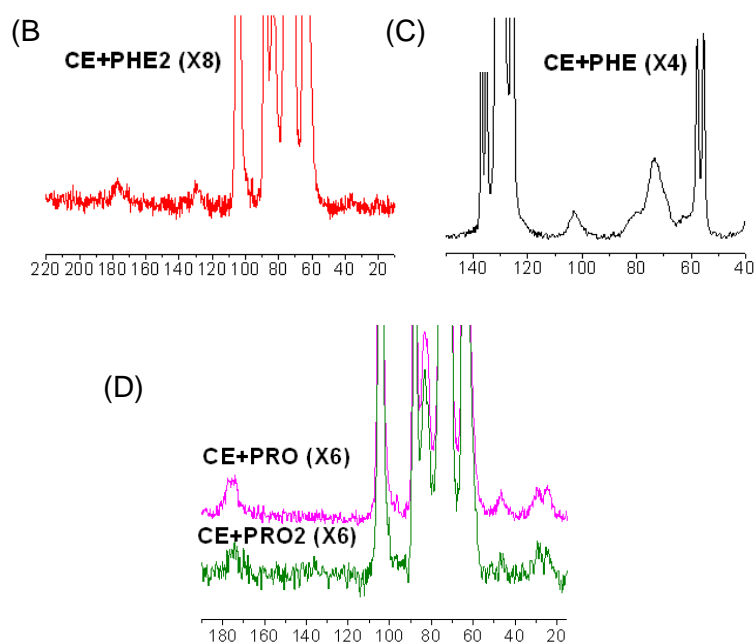
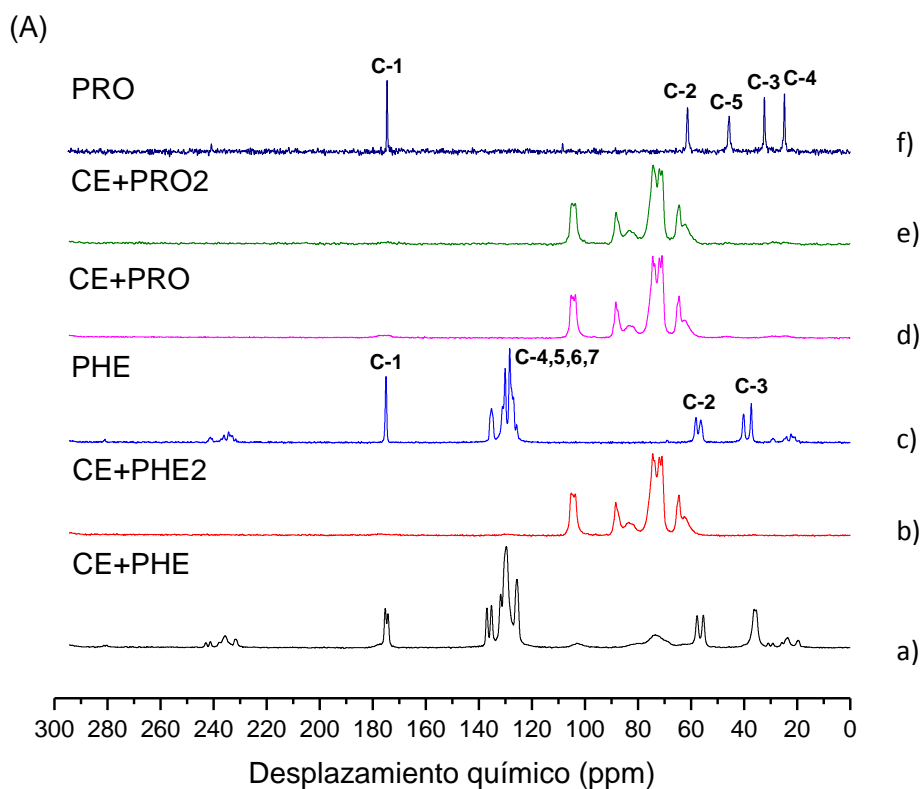


**Figura 24.** (A) Espectro de ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN)<sup>19</sup> de la celulosa funcionalizada con alanina, \* indica banda de rotación (8 kHz). a) Celulosa microcristalina. b) Celulosa microcristalina funcionalizada con alanina y posteriormente lavada con agua. c) Celulosa microcristalina funcionalizada con alanina. d) Alanina. (B) Estructura de la celulosa indicando los diferentes tipos de carbono. (C) Estructura de la alanina indicando los diferentes tipos de carbono." A" indica la presencia de celulosa no cristalina.

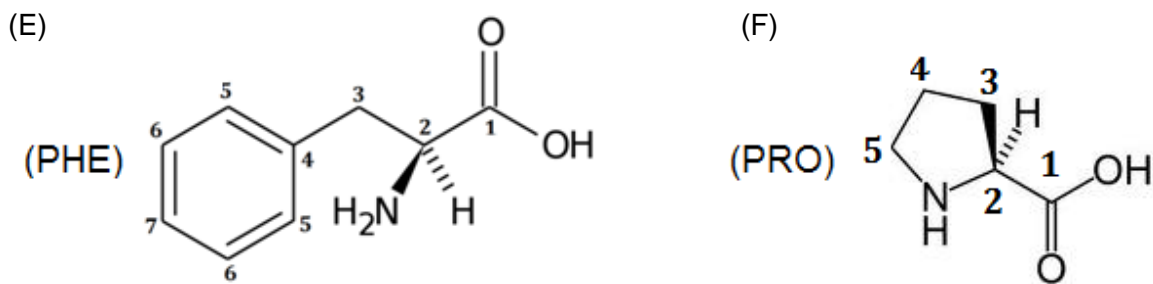
Mientras los espectros de FTIR<sup>20</sup> sugerían que la alanina no se adsorbió sobre la superficie de celulosa, los espectros de (<sup>13</sup>C CP MAS RMN)<sup>19</sup> indican lo contrario. El espectro de la celulosa muestra desplazamientos químicos en 62, 64, 71, 74, 88 y 104 ppm. Mientras que la (CE+AL)<sup>2</sup> presenta los mismos desplazamientos químicos que la (CE)<sup>3</sup> y otros tres picos a 176 ppm, 49 ppm y 20 ppm que corresponden a la (AL)<sup>22</sup>.

Los desplazamientos en el espectro de la (CE+AL)<sup>2</sup> no se modifican ni en intensidad relativa ni en posición, sugiriendo entonces que la red de la celulosa permanece, de manera general, sin modificar. No obstante, la alanina permanece adsorbida en la superficie de la celulosa. Cabe hacer notar que el desplazamiento del carbono C-3 de (AL)<sup>22</sup> es 20 ppm, pero cuando está adsorbido en (CE+AL)<sup>2</sup>, disminuye a 19 ppm sugiriendo una cierta interacción con los oxígenos de la celulosa. Además, la señal de C-3 es más intensa que la de C-1, lo contrario a lo observado en el espectro de (AL)<sup>22</sup>. Esto confirma que el C-1 de la alanina también pudiera interactuar con la red de celulosa, así en la fase adsorbida, la señal de este carbono tiene un tiempo de relajación más corto. Esto se esperaba ya que el aminoácido es muy pequeño. Finalmente, la muestra (CE+AL)<sup>2</sup> contiene las tres señales del aminoácido, sin embargo los picos ya no son finos sino que se ensancharon, confirmando que los carbonos perdieron la "movilidad" que tenían en el aminoácido libre (AL)<sup>22</sup>. Este tipo de interacciones ya se han observado en algunos otros sistemas adsorbato-adsorbente [65,66].





**Figura 25.** (A) Espectro de ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN) $^{19}$  de la celulosa funcionalizada con fenilalanina y prolina. (B) Espectro de ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN) $^{19}$  de la (CE+PHE2) $^6$  amplificado (X8). (C) Espectro de ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN) $^{19}$  de la (CE+PHE) $^5$  amplificado (X4). (D) Espectro de ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN) $^{19}$  de la (CE+PHE2) $^6$  amplificado (X6). a) Celulosa microcristalina funcionalizada con fenilalanina. b) Celulosa microcristalina funcionalizada con fenilalanina y posteriormente lavada con agua. c) Fenilalanina. d) Celulosa microcristalina funcionalizada con prolina. e) Celulosa microcristalina funcionalizada con prolina y posteriormente lavada con agua. f) Prolina.



**Figura 26.** (E) Estructura de la fenilalanina indicando los diferentes tipos de carbono, los cuales se representan en el espectro ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN)<sup>19</sup> de la figura 25A. (F) Estructura de la prolina indicando los diferentes tipos de carbono, los cuales se representan en el espectro de ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN)<sup>19</sup> de la figura 25A.

En la figura 25A, el espectro de (CE+PHE)<sup>5</sup> comprueba que la fenilalanina efectivamente se adsorbe en la celulosa. En el espectro de (CE+PHE)<sup>5</sup> se observan los desplazamientos de la celulosa en 63, 73, 81 y 102 ppm que corresponden al C-2, (C-3, C-5), C-4 y C-1, respectivamente de la estructura de la celulosa (figura 24B) sólo que con una intensidad menor y con desplazamientos ligeramente diferentes a los observados en el espectro del material de referencia, (CE)<sup>3</sup>. El desplazamiento del carbono C-2 (64ppm) de la (CE)<sup>3</sup>, disminuye su desplazamiento químico a 63 ppm cuando la CE<sup>3</sup> adsorbe fenilalanina (espectro de (CE+PHE)<sup>5</sup>); en el C-3 y C-5 del espectro (CE+PHE)<sup>5</sup> se observa como un solo pico ancho, diferente al que muestra el sólido (CE)<sup>3</sup>; El desplazamiento del carbono C-4 tiene un valor de 88 ppm en (CE)<sup>3</sup> pero disminuye significativamente (81 ppm) en el espectro de (CE+PHE)<sup>5</sup>; el  $\delta$  de C-1 del espectro (CE+PHE)<sup>5</sup> se desplaza 2ppm a campos más altos. El resto de los desplazamientos químicos que se observan en el espectro de (CE+PHE)<sup>5</sup> corresponden a los desplazamientos de la fenilalanina, que se encuentran en 35, 56, 125, 129, 131, 136 y 174 ppm. Sin embargo, debe mencionarse que en el espectro de (PHE)<sup>23</sup> los desplazamientos son los siguientes: 38, 57, 125, 128, 130, 135 y 175. En el espectro de la (PHE)<sup>23</sup> el desplazamiento del carbono C-3 muestra dos picos finos, en el caso del espectro de (CE+PHE)<sup>5</sup> solo muestra un pico ancho, que se encuentra desplazado 2 ppm a campos más altos, este ensanchamiento está indicando que se pierde cierta movilidad de este carbono C-3 debido a las interacciones tanto del grupo fenil como del grupo carboxilo de la fenilalanina, provocando que el C-3 se vea forzado a interactuar con la superficie de la celulosa posiblemente a demandas de interacciones tipo puentes de hidrógeno entre moléculas del aminoácido. El  $\delta$  del carbono C-2 de la (CE+PHE)<sup>5</sup> se

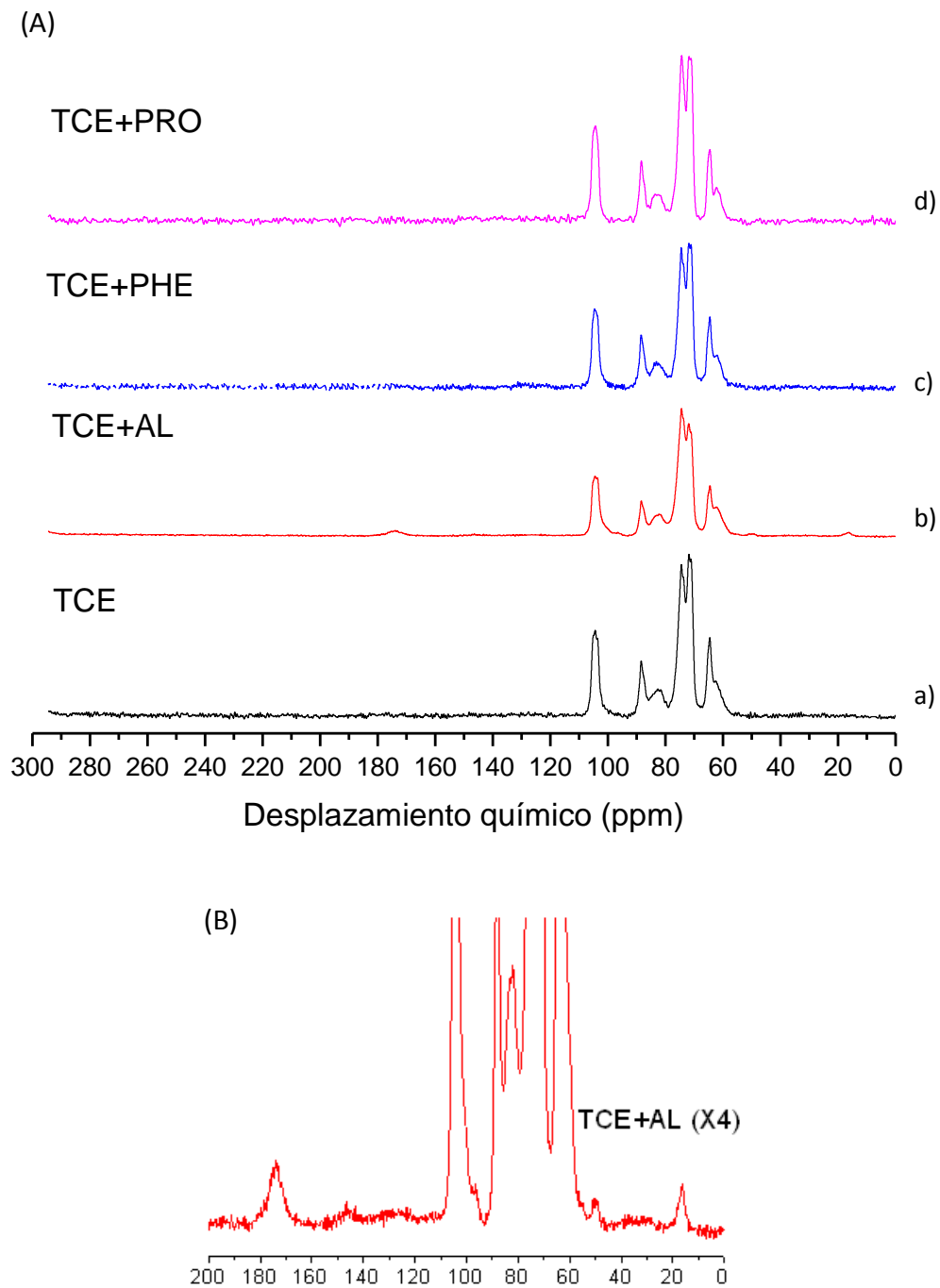
desplaza 1 ppm en comparación con la señal del espectro (PHE)<sup>23</sup>; El pico debido al carbono C-1 de (CE+PHE)<sup>5</sup> se ensancha y su intensidad disminuye con respecto a (PHE)<sup>23</sup>, además se desplaza a campos más altos. Se observó un ensanchamiento de los picos en el intervalo de 120-140ppm, así como diferentes intensidades de manera no proporcional y desplazamientos de 1 ppm tanto de los carbonos C-4, 5, 6 y 7 a campos más bajos. Estos cambios pueden deberse a que el anillo aromático interacciona con la superficie de la celulosa. La estructura planar del anillo aromático favorece estas interacciones. Esto permite una mejor adsorción en comparación con la alanina.

El espectro de la muestra lavada con agua destilada hasta pH neutro (CE+PHE2)<sup>6</sup>, figura 25B, confirma que efectivamente la fenilalanina es arrastrada por los lavados, pero no en su totalidad. Una cantidad de fenilalanina permanece adsorbida sobre la superficie de la celulosa. En el espectro de (CE+PHE2)<sup>6</sup> se observan los desplazamientos de la celulosa en 62, 64, 71, 74, 88 y 104 ppm los cuales corresponden al espectro de (CE)<sup>3</sup>, así como algunas señales anchas y poco intensas que apenas se logran observar en 128 y 176 ppm y que corresponden a la (PHE)<sup>23</sup>.

En el espectro de la celulosa funcionalizada con prolina (CE+PRO)<sup>7</sup> se pueden observar los desplazamientos químicos de la celulosa en 62, 64, 71, 74, 88 y 104 y de la prolina en 25, 32, 44, 61, 174 ppm sin embargo solo se logran ver ciertas señales de la (PRO)<sup>24</sup> en el espectro (CE+PRO)<sup>7</sup> con intensidades bajas y muy anchas, lo que sugiere que el aminoácido está adsorbido en la superficie y que no se mueve significativamente. El desplazamiento del carbono C-1 es de 174 ppm en (PRO)<sup>24</sup> siendo en (CE+PRO)<sup>7</sup> de 176 ppm. Lo mismo ocurre con el  $\delta$  del carbono C-6 (46ppm) en la muestra (CE+PRO)<sup>7</sup> que se ve desplazado 1 ppm si se compara con (PRO)<sup>24</sup>. El C-3 se desplaza a 25 ppm en (PRO)<sup>24</sup>, mientras que en (CE+PRO)<sup>7</sup> se desplaza a 24 ppm; el C-4 de (PRO)<sup>24</sup> está desplazado en 32 ppm, al momento de estar adsorbido sobre la superficie de la celulosa este se desplaza hasta 29 ppm como consecuencia de las interacciones, con la superficie. Estas interacciones no son lo suficientemente intensas como para lograr formar nuevos enlaces C-O o O-H entre aminoácido y celulosa, más bien se sugiere que el aminoácido interacciona vía puentes de hidrógeno con la celulosa.

En el espectro de (<sup>13</sup>C CP MAS RMN)<sup>19</sup> de la muestra (CE+PRO2)<sup>8</sup>, figura 25D, la cual fue lavada hasta pH neutro, se observan los picos de la prolina, lo cual confirma que aun después de lavada existen moléculas de aminoácido interaccionando con la superficie de

la celulosa, interaccionando mediante fuerzas químicas intermoleculares débiles tipo puentes de hidrógeno o de dispersión de London.



**Figura 27.** (A) Espectro ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN)<sup>19</sup> de la celulosa funcionalizada con alanina, fenilalanina y prolina. (B) Espectro de ( $^{13}\text{C}$  RMN MAS)<sup>19</sup> de la (TCE+AL)<sup>9</sup> amplificado (X4). a) Pulpa de celulosa. b) Pulpa de celulosa funcionalizada con alanina. c) Pulpa de celulosa funcionalizada con fenilalanina. d) Pulpa de celulosa funcionalizada con prolina.

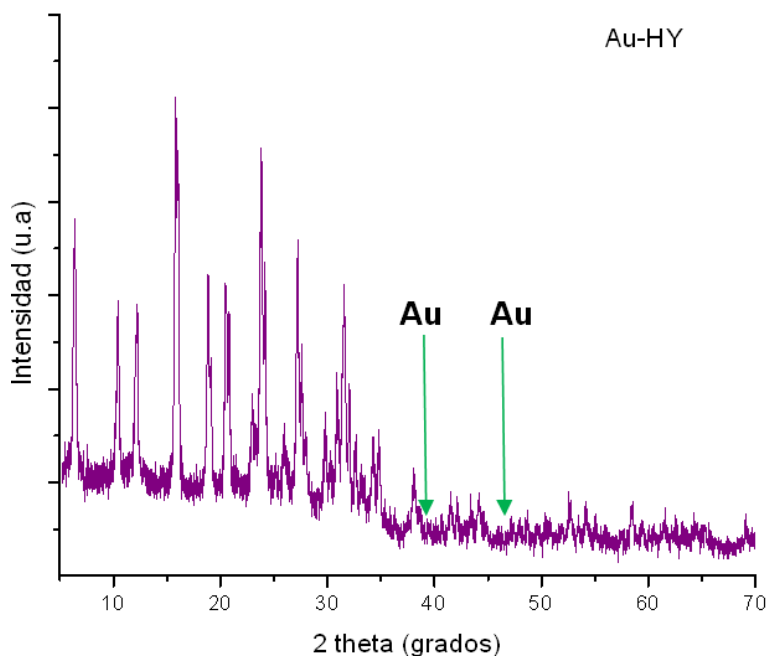
En la figura 27 se muestra el espectro de la muestra de pulpa de celulosa (TCE)<sup>10</sup>, el cual es prácticamente el mismo que el de la celulosa microcristalina (CE)<sup>3</sup>. Esto era de esperarse ya que la composición (celulosa) principal de los dos materiales es el mismo, lo que es sorprendente es que cualquier probable impureza en la pulpa de celulosa no modifica significativamente el ambiente de los carbonos. Ahora, la comparación de los espectros de (TCE+PHE)<sup>11</sup> y (TCE+PRO)<sup>12</sup> con el espectro de referencia (TCE)<sup>10</sup>, indica la ausencia de las señales de (PHE)<sup>23</sup> y (PRO)<sup>24</sup>, con lo que debe concluirse que no ocurrió ninguna adsorción sobre la pulpa de celulosa. En la única muestra que aparentemente hay adsorción de aminoácido es en la muestra (TCE+AL)<sup>9</sup>. Su espectro presenta los desplazamientos químicos correspondientes a (TCE)<sup>10</sup> y a la alanina en 173,49 y 16 ppm. Además, las señales RMN de (AL)<sup>22</sup> se desplazan al momento de que se adsorbe sobre la superficie de la pulpa de celulosa. El pico del carbono C-1 de (AL)<sup>22</sup> se desplaza 3 ppm en el espectro (TCE+AL)<sup>9</sup>; el carbono C-3 de (AL)<sup>22</sup> se desplaza 4 ppm en (TCE+AL)<sup>9</sup>.

La adsorción es diferente en la pulpa de celulosa y en la celulosa, esto no debe atribuirse a cambios significativos en la composición, ya que los espectros FTIR<sup>20</sup> y (<sup>13</sup>C CP MAS RMN)<sup>19</sup> prácticamente son los mismos. Así, los parámetros texturales deben ser determinantes en las propiedades de adsorción. Para confirmar esto, se evaluó la dimensión fractal por dispersión de rayos X a ángulos pequeños [56,67]. Los valores de dimensión fractal, según se determinó por la técnica SAXS<sup>21</sup>, fueron 2.1 y 2.6 para la celulosa cristalina y para la pulpa de celulosa, respectivamente. Como se mencionó anteriormente, una superficie lisa tiende a obtener valores cercanos a 2, mientras que una superficie con más imperfección, es decir más rugosa, tiene valores cercanos a 3. Los resultados obtenidos indican que la celulosa cristalina tiene una superficie más lisa que la de la celulosa cristalina [56,68,69]. Este tipo de superficies parece ser deseable para interactuar con el aminoácido fenilalanina, pero es una superficie más rugosa deseable para interactuar con aminoácidos pequeños como la alanina, tal como se presenta con la pulpa de celulosa.

#### **4.4 Reactividad de la celulosa microcristalina y de la celulosa microcristalina funcionalizada con los tres diferentes aminoácidos (alanina, fenilalanina y prolina).**

En la tabla 1 se resumen los resultados de la degradación de celulosa microcristalina y celulosa microcristalina con aminoácidos a ácido glucónico en presencia del catalizador de oro (Au-HY)<sup>14</sup>. El difractograma de la figura 28 muestra que la zeolita contiene

partículas de Au sobre su superficie externa, como lo confirma la presencia de los dos picos característicos de Au en  $2\theta = 38.5$  y  $2\theta = 44.7$  (tarjeta 04-0784). La zeolita se indexó a la tarjeta de la faujasita (39-0218)



**Figura 28.** Patrón DRX<sup>18</sup> de la zeolita con partículas de oro (Au) en la superficie.

La reacción no se lleva a cabo cuando se usa la celulosa sin funcionalizar, pero es claro que la reacción se favorece cuando la celulosa está funcionalizada obteniéndose conversiones de celulosa de 27, 36 y 51% cuando está funcionalizada con alanina, prolina y fenilalanina respectivamente.

Conversión de celulosa (%)	Muestra de celulosa microcristalina
0	CE
27	CE+AL
51	CE+PHE
36	CE+PRO

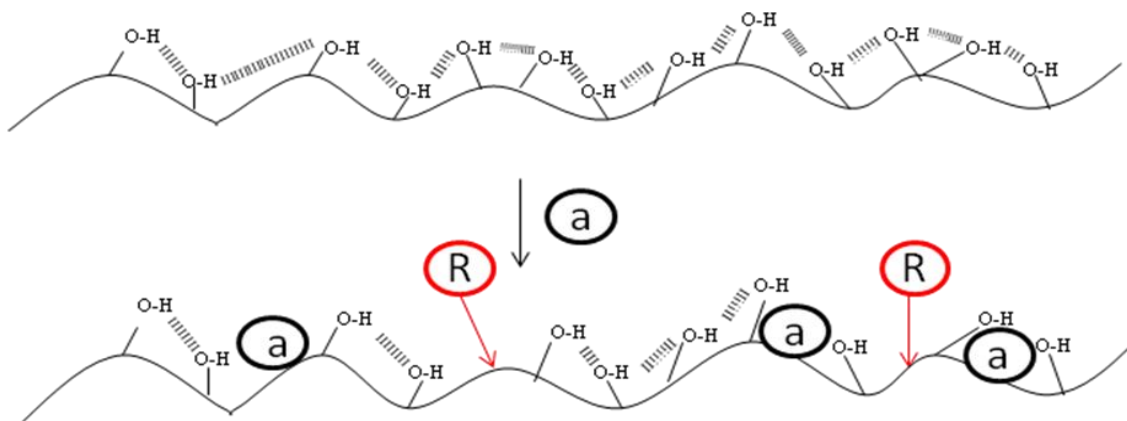
**Tablas 1.** Conversión de celulosa en presencia del catalizador (Au-HY)<sup>14</sup>. \* Condiciones de reacción: Celulosa o celulosa funcionalizada, 1g; Catalizador (Au-HY)<sup>14</sup>, 0.05g; agua, 20 mL; oxígeno que se burbujeó en 3 min; T=100-105°C; tiempo de reacción, 3 hr.

Este resultado confirma que la estabilidad de la superficie de la celulosa puede perturbarse mediante la adsorción de aminoácidos en su superficie.

La degradación de la celulosa no produce solamente ácido glucónico, sino que otros productos podrían producirse, como glucosa (producto que no se oxidó) y ácido glucárico. Al final de la reacción, se analizó una muestra por (<sup>13</sup> C CP MAS RMN)<sup>19</sup> y se confirmó la oxidación de la glucosa la cual se obtuvo de la hidrólisis para posteriormente llevarse a cabo la oxidación de la glucosa a ácido glucónico, la señal a 161 ppm estuvo presente, dando indicio de la oxidación de -CHO a -COOH del carbono número 1 de la glucosa.

Evidentemente, al inicio de la reacción se detectó también la desorción de los aminoácidos que no interaccionan fuertemente con la superficie de la celulosa. Los aminoácidos no se oxidan a ácido glucónico en presencia del catalizador usado.

Los resultados de reactividad y funcionalización sugieren que la superficie de la celulosa puede modificarse para aumentar su conversión hacia ácido glucónico. Los aminoácidos en superficie modifican probablemente la red de puentes de hidrógeno como se esquematiza en la figura 29. Algunos puentes de hidrógeno pueden romperse por efecto de la adsorción de los aminoácidos con grupos polares, abriendo entonces zonas reactivas (R) de la celulosa.



**Figura 29.** Esquema de la superficie de la celulosa funcionalizada con aminoácidos. “a” se refiere a los aminoácidos. “R” se refiere a las zonas reactivas de la celulosa.

#### 4.5 Difracción de rayos X de hidroxiapatita.

En la primera parte correspondiente a los resultados y discusión de la hidroxiapatita (4.5). Se presentan los resultados y el análisis de la caracterización por difracción de rayos-X de las muestras de HA (hidroxiapatita), HA+AL (hidroxiapatita funcionalizada con alanina), HA+PHE (hidroxiapatita funcionalizada con fenilalanina), HA+PRO (hidroxiapatita funcionalizada con prolina), se compara la HA<sup>1</sup> con la hidroxiapatita funcionalizada con los tres diferentes aminoácidos y se analizan cambios estructurales en la HA<sup>1</sup> funcionalizada.

En la segunda parte (4.6) se presentan los resultados y el análisis de los espectros de infrarrojo de las muestras siguientes: HA<sup>1</sup>, (HA+PHE)<sup>15</sup>, (HA+AL)<sup>17</sup> y (HA+PRO)<sup>16</sup>, se discute si ocurrió una adsorción de los aminoácidos sobre la superficie de la HA<sup>1</sup>.

En la tercera (4.7) y cuarta parte (4.8) se muestran los resultados obtenidos de <sup>13</sup>C RMN y <sup>31</sup>P RMN de las siguientes muestras: HA<sup>1</sup>, (HA+PHE)<sup>15</sup>, (HA+AL)<sup>17</sup> y (HA+PRO)<sup>16</sup>, se discute sobre el entorno químico de los átomos de fósforo y de carbono y de qué manera se ve afectada la adsorción de los aminoácidos en la HA<sup>1</sup>.

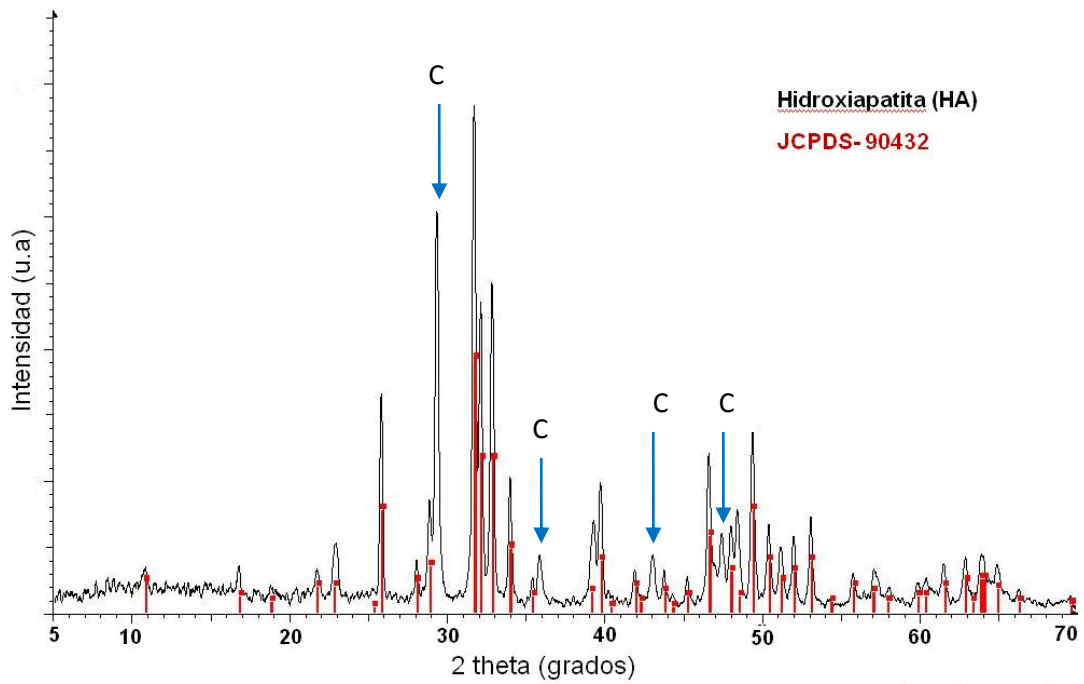
En la figura 30 se muestra el difractograma para la muestra hidroxiapatita el cual se indexa a la tarjeta JCPDS 90432. Sin embargo, no solo se tienen los picos de la fase HA<sup>1</sup>, sino que algunos picos corresponden a carbonato de calcio, en este caso la calcita (tarjeta JCPDS 96-900-9669). A pesar de que se intentó eliminar el carbonato de calcio a través de constantes lavados con agua destilada no se logró obtener el compuesto de HA<sup>1</sup> puro. De la literatura, se sabe que la HA<sup>1</sup> obtenida por sol-gel a menudo se presenta



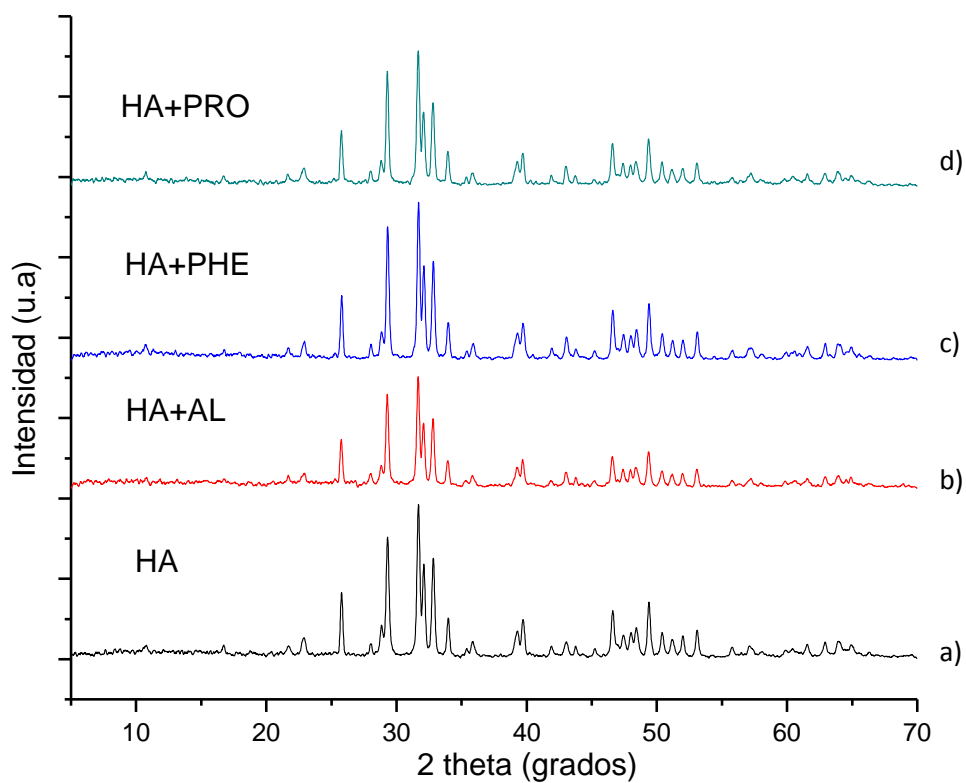
con pequeñas impurezas, como es el caso. Estas impurezas se pueden atribuir al procedimiento realizado, al momento de la evaporación del disolvente, quizá fue muy rápido de tal manera que la policondensación pudo afectarse, es muy importante tener control en la eliminación del disolvente, ya que las fuerzas de interacción van disminuyendo y las especies poliméricas están más próximas, aumentando la probabilidad de uniones entrecruzadas. Cuando se alcanza un número suficiente de uniones entrecruzadas, la viscosidad de la disolución aumenta rápidamente y se alcanza la gelificación. Uno de los factores que más influyen en la obtención de geles es el control adecuado de las velocidades relativas de hidrólisis y condensación. Si la reacción de hidrólisis es lenta comparada con la de polimerización, se favorece la formación de estructuras lineales poliméricas.

Con el fin de asegurar un ajuste entre las velocidades de hidrólisis y condensación, hay que tener en cuenta los siguientes parámetros a la hora de abordar la síntesis del gel: precursores, razón molar, agua/alcóxido, selección adecuada del disolvente y temperatura.

Las impurezas observadas en el difractograma (figura 30) corresponden al carbonato de calcio, es este caso se trata del polimorfo calcita (indicadas con una letra C en el difractograma). Sin embargo, solo se tiene dos sustancias, la hidroxiapatita y el carbonato de calcio (calcita), en este caso se descarta la idea de que ocurrió alguna sustitución de los iones hidroxilo por los aniones  $\text{CO}_3^{2-}$ , en el difractograma no se observan cambios en la distancia interplanar que indique que se formó una cierta porción de carboxiapatita.



**Figura 30.** Patrón DRX<sup>18</sup> de la hidroxiapatita (marcado con rojo), las que están marcadas con una flecha azul y con una letra C corresponden al carbonato de calcio (calcita).

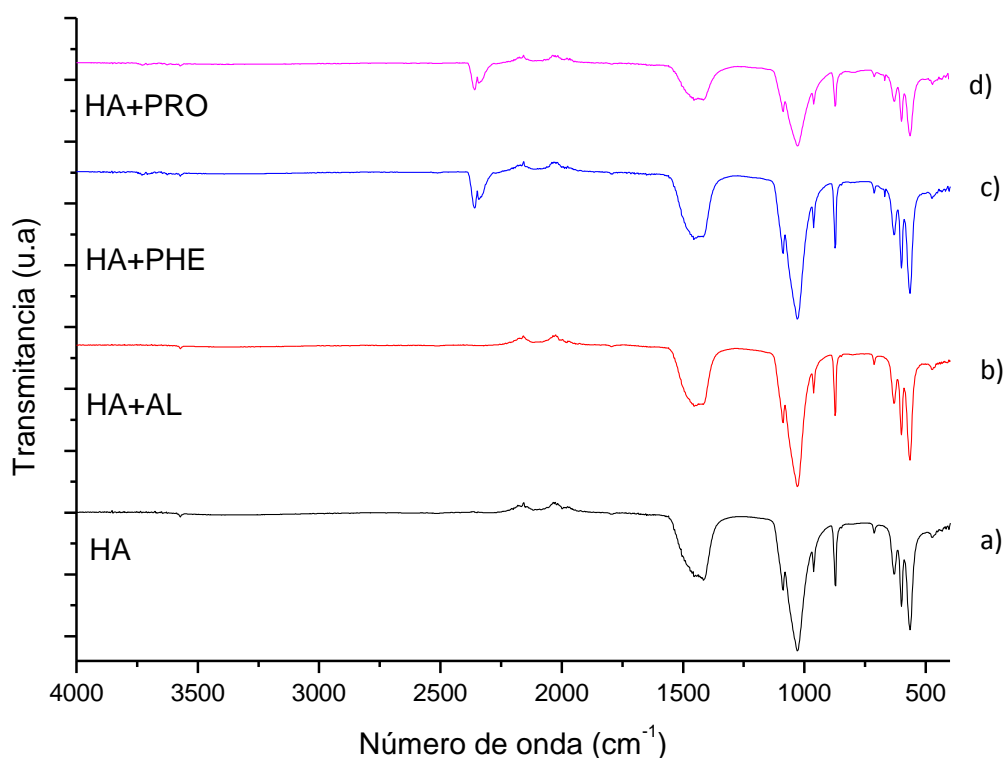


**Figura 31.** Patrón de DRX<sup>18</sup> de la hidroxiapatita funcionalizada con alanina, fenilalanina y prolina. a) Hidroxiapatita. b) hidroxiapatita funcionalizada con alanina. c) Hidroxiapatita funcionalizada con fenilalanina. d) Hidroxiapatita funcionalizada con prolina.

En la figura 30 se observa el pico principal de la HA<sup>1</sup> en  $2\theta=31.5$  correspondientes al plano (211) y otros picos de menor intensidad a  $2\theta=32$  y  $2\theta=33$  correspondientes a los planos (112) y (300) respectivamente, algunos picos secundarios a  $2\theta=26$  correspondientes al plano (002),  $2\theta=49.5$  correspondientes al plano (213),  $2\theta=46.5$  correspondientes al plano (222),  $2\theta=34$  correspondientes al plano (202),  $2\theta=39.5$  correspondientes al plano (310). Se observa la presencia de un pico a  $2\theta=29.5, 36, 43$  y  $47.5$  evidenciando la presencia de carbonato de calcio.

La figura 31 compara los difractogramas de HA<sup>1</sup> con los de HA<sup>1</sup> funcionalizada con alanina, prolina y fenilalanina, no se observa algún cambio en las posiciones de los picos por efecto de la presencia del aminoácido, es decir que las distancias interplanares no se modifican. Por otra parte, tampoco se observa cambios en la anchura de los picos o en la línea de base, indicando que la cristalinidad se mantiene después del tratamiento con los aminoácidos.

#### 4.6. Espectroscopía infrarrojo de la hidroxiapatita.



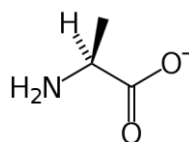
**Figura 32.** Espectro infrarrojo de la hidroxiapatita funcionalizada con alanina, fenilalanina y prolina. a) Hidroxiapatita. b) Hidroxiapatita funcionalizada con alanina. c) Hidroxiapatita con fenilalanina. d) Hidroxiapatita funcionalizada con prolina.

En la figura 32 la hidroxiapatita (HA)<sup>1</sup> muestra bandas en 3600 cm<sup>-1</sup> y 630 cm<sup>-1</sup> que corresponden a los grupos –OH, bandas en 570, 604, 900, 1030, 1050 cm<sup>-1</sup> correspondientes a los grupos PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> y bandas entre 870 cm<sup>-1</sup> y 1400 cm<sup>-1</sup> que corresponden a los iones CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. La presencia de iones carbonato puede deberse a una adsorción física a partir de la atmosfera, los cuales se pudieron haber introducido durante la preparación. Este resultado confirma que el carbonato no está como ion libre, intercalado en la hidroxiapatita, como antes se mostró por DRX<sup>18</sup>.

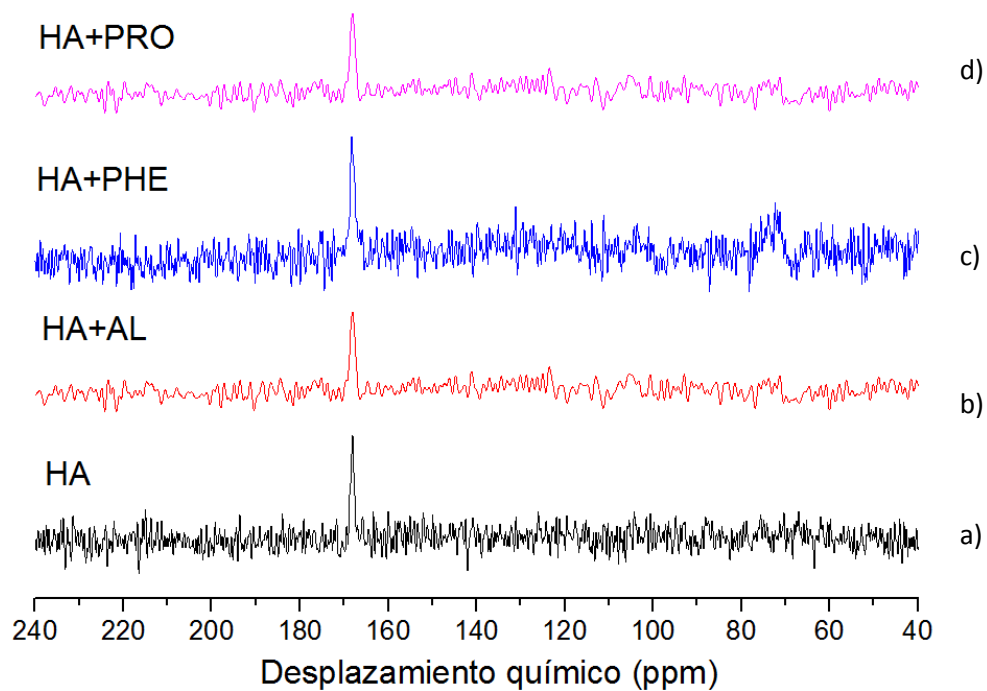
El espectro de HA<sup>1</sup> es similar a los espectros de (HA+PHE)<sup>15</sup>, (HA+AL)<sup>17</sup> y (HA+PRO)<sup>16</sup>. Las bandas de adsorción propias de los aminoácidos no estuvieron en los espectros correspondientes.

#### **4.7 Espectroscopía (<sup>13</sup>C CP MAS RMN)<sup>19</sup> en estado sólido de la hidroxiapatita.**

En la figura 34 se observa el espectro de la hidroxiapatita (HA)<sup>1</sup> en donde se observa un desplazamiento químico en 169 ppm correspondiente al carbonato de calcio. Lo mismo ocurre en el espectro (HA+PHE)<sup>15</sup>, (HA+PRO)<sup>16</sup> y (HA+AL)<sup>17</sup>. Sin embargo no aparecen las señales de los aminoácidos fenilalanina, prolina y alanina, esto indica que no ocurrió la funcionalización del soporte HA<sup>1</sup> con ninguno de los tres diferentes aminoácidos. Esta adsorción puede inhibirse por la presencia del carbonato de calcio. Otro factor puede ser el tamaño de los aminoácidos, los cuales pueden generar un gran impedimento por los anillos que se encuentran presentes en la fenilalanina y la prolina, sin embargo, la alanina es una molécula relativamente más pequeña, por lo tanto se esperaría que ocurriera una adsorción. La reacción realizada para funcionalizar HA se efectuó en medio básico, por lo tanto la estructura del aminoácido en este medio de reacción de acuerdo al punto isoeléctrico (6.01) de la alanina es la presentada en la figura 33. El soporte también es un sólido con propiedades básicas, es por eso que se eligieron esas condiciones para funcionalización, no obstante, es posible que tenga que promoverse la presencia de sitios ácidos para que se lleve a cabo la adsorción. Esta adsorción no se ve favorecida porque probablemente existe una repulsión entre los átomos de oxígeno de la hidroxiapatita (átomos que se encuentran en la parte más externa) y el carboxilato el cual tiene una carga negativa.

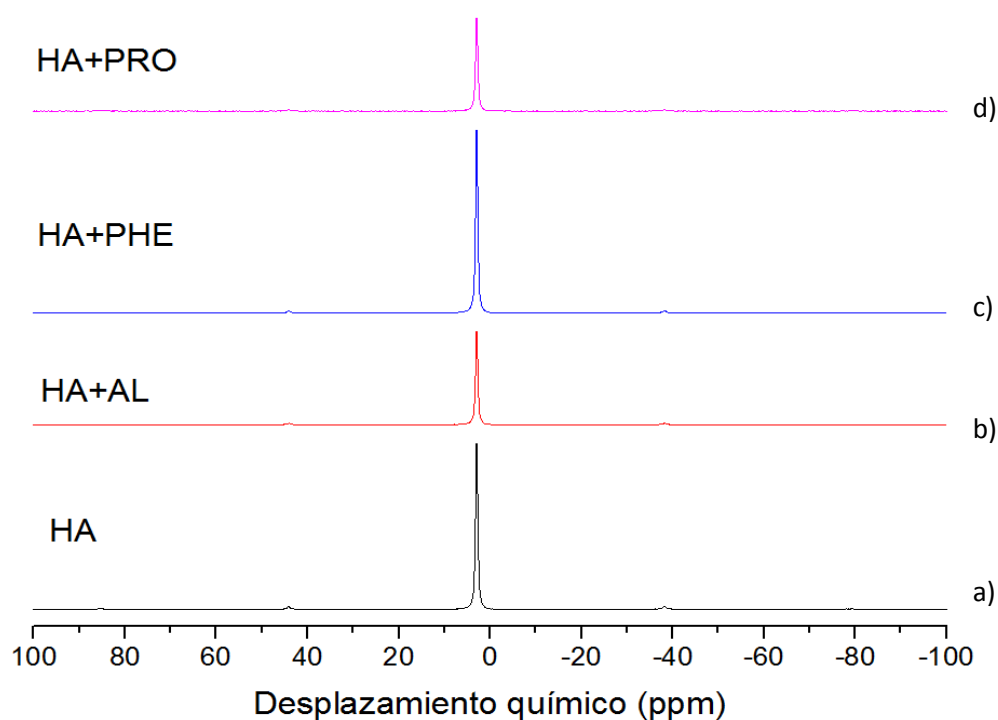


**Figura 33.** Estructura de la alanina en medio básico.



**Figura 34.** Espectro  $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN de la hidroxiapatita funcionalizada con alanina, fenilalanina y prolina. a) Hidroxiapatita. b) Hidroxiapatita funcionalizada con alanina. c) Hidroxiapatita funcionalizada con fenilalanina. D) Hidroxiapatita funcionalizada con prolina.

#### 4.8 Espectroscopía ( $^{31}\text{P}$ CP MAS RMN)<sup>25</sup> en estado sólido de la hidroxiapatita.



**Figura 35.** Espectro  $^{31}\text{P}$  MAS RMN de la hidroxiapatita funcionalizada con alanina, fenilalanina y prolina. a) Hidroxiapatita. b) Hidroxiapatita funcionalizada con alanina. c) Hidroxiapatita funcionalizada con fenilalanina. d) Hidroxiapatita funcionalizada con prolina.

En la figura 35 se presentan los espectros ( $^{31}\text{P}$  CP MAS RMN)<sup>25</sup> de la HA<sup>1</sup> y de (HA+PHE)<sup>15</sup>. Los espectros son prácticamente iguales, confirmando que el ambiente de los fosforos permanece igual antes y después del tratamiento con los aminoácidos, es decir que el aminoácido no se adsorbe en la superficie de la HA<sup>1</sup>. Una de las posibles razones por las cuales no se adsorbe el aminoácido fenilalanina es por impedimento estérico provocado por el anillo, otra posible causa es que la hidroxiapatita esté saturada de carbonato de calcio como ya se mencionó anteriormente (en DRX<sup>18</sup> y FTIR<sup>20</sup> se observó la presencia de carbonato de calcio) que no permite la interacción con aminoácidos. Este mismo resultado se observó en los espectros de (HA+AL)<sup>17</sup> y (HA+PRO)<sup>16</sup>, no se observa algún desplazamiento químico, ni un ensanchamiento de las bandas.

La adsorción de los aminoácidos alanina, fenilalanina y prolina en la hidroxiapatita no fue posible, esto se puede atribuir a la presencia del carbonatos de calcio, así como el pH básico con el que se trabajó, en donde se genera cierta repulsión con los oxígenos mas externos de la hidroxiapatita y el grupos carboxilato de los aminoácidos el cual

posee carga negativa (estructura de los aminoácidos a pH básico de acuerdo a su punto isoeléctrico).

## 5.0 Conclusión.

Se utilizaron dos tipos de celulosa como soportes de los aminoácidos alanina, fenilalanina y prolina. Por un lado se usó una celulosa microcristalina que contenía una cantidad (mínima) de celulosa amorfa. Por otro lado se usó una celulosa considerada como desecho en una papelera (Scribe). Las dos celulosas no presentan diferencias estructurales al caracterizarlos por ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN)<sup>19</sup>, DRX<sup>18</sup> y FTIR<sup>20</sup>. No obstante, pueden diferenciarse por sus propiedades texturales, la celulosa microcristalina tiene una superficie mas lisa que la pulpa de celulosa. Esta propiedad textural es determinante para estabilizar los aminoácidos en su superficie. La celulosa microcristalina se funcionaliza con alanina, fenilalanina y prolina, favoreciéndose la adsorción de fenilalanina por interacciones con la parte plana de la molécula. En contraste, en la superficie rugosa de la pulpa de celulosa obtenida de la papelera es más fácil estabilizar moléculas pequeñas como la alanina.

La funcionalización de la superficie de la celulosa con aminoácidos provoca perturbaciones en la polaridad de la superficie, evidenciando zonas en donde la red de puentes de hidrógeno se fractura, confiriéndole una cierta reactividad a las celulosas funcionalizadas. En la reacción de la celulosa a ácido glucónico (caracterizada por  $^1\text{H}$  RMN), catalizada por oro suspendido en zeolita HY<sup>13</sup>, se encontró que la celulosa sin funcionalizar es no reactiva pero que en las mismas condiciones de reacción puede convertirse 27% de la celulosa funcionalizada con alanina, 36% con prolina y 51% con fenilalanina.

La hidroxiapatita fue sintetizada a través de una reacción de sol-gel, el cual fue caracterizada por DRX<sup>18</sup>, ésta se obtuvo con impurezas de carbonato de calcio (calcita), la cual no fue posible eliminar con lavados de agua destilada. Se utilizaron tres diferentes aminoácidos: alanina, fenilalanina y prolina para funcionalizar HA<sup>1</sup>, sin embargo los resultados arrojados no fueron satisfactorios, al no ocurrir alguna interacción entre el soporte y los aminoácidos al caracterizarlos por ( $^{13}\text{C}$  CP MAS RMN)<sup>19</sup>, ( $^{31}\text{P}$  CP MAS RMN)<sup>25</sup>, DRX<sup>18</sup> y FTIR<sup>20</sup>. El problema podría radicar en los carbonatos de calcio presentes en la muestra, así como las condiciones de pH básico en las que se trabajó para funcionalizar la hidroxiapatita con los tres diferentes aminoácidos.

## **Propuestas**

Para adsorber prolina y fenilalanina en la pulpa de celulosa se requieren pretratamientos que modifiquen la rugosidad de la celulosa. Uno de ellos es tratar la pulpa de celulosa en un medio acuoso básico para la eliminación de lignina y generar una superficie mas lisa.

Realizar la funcionalización de la hidroxiapatita con los tres diferentes aminoácidos en medio ácido.

Llevar a cabo la reacción de degradación de la celulosa funcionalizada y de la pulpa de celulosa con catalizadores de Au soportado en soportes con acidez de tipo Lewis y otros catalizadores (diferente metal).



## 6.0 Referencias

- [1] L.Nicole, L.Rozes, C. Sanchez, *Advance Materials*. **2010**, 22, 3208.
- [2] D. Avnir, T. Coradin, O. Lev, J.Livage, *Journal of Materials Chemistry*, **2006**, 16, 1013.
- [3] C.Sanchez, G.J.A.A.Soler-Illia, F. Ribot, T. Lalot, C.R. Mayer, V.Cabuil, *Chemistry of Materials*, **2001**, 13, 3061.
- [4] E.R. Hitzky, K. Ariaga, Y.M.Lvov, *Bio-inorganic Hibrid Nanomaterials*, Wiley-VCH,Weinheim, Germany **2008**.
- [5] Z.Mehraban, F. Farzaneh, *Microporuos Mesoporous materials*, **2006**, 88, 84.
- [6] I.A.Ibarra, S.Loera, H.Laguna, E. Lima, V.Lara, *Chemistry of Materials*, 2005, 17, 5763.
- [7] C.Sanchez, B.Julian, P. Belleville, M.Popall, *Journal of Materials Chemistry*, **2005**, 15, 3559.
- [8] Q.L.de Chermont, C. Chaneac, J. Seguin, F.Pelle, S. Maitrejean, J.P.Jolivet, D.Gourier, M Bessodes, D.Scherman, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, USA **2007**,104, 9266.
- [9] C.F.Meunier, J.C.Rooke, A. Léonard, H.Xie, B.Su, *Chemical Communications*, **2010**, 46, 3843.
- [10] C.F. Meunier, P.Van Cutsem, Y.U.Kwon, B.L.Su, *Journal of Materials chemistry*, 2009,19,4131.
- [11] C.Posten, G.Schaub, *Journal of Biotechnology*, **1979**, 227, 638.
- [12] Z.P.Xu, G.Q. Lu, *Pure and Applied Chemistry*, **2006**, 78, 1771.
- [13] J.H. Choy, S.Y.Kwak, J.S.Park, Y.J.Jeong, J.Portier, *Journal of the American Chemical Society*, **1999**, 121, 1399.
- [14] C.R.Cervantes-Sánchez, E. Olaya, M. Testas , N.García López , G.Coste, G. Arrellin, A.Luna, E.Kröttsch, *Journal of Dermatology*, **2003**,110, 207.
- [15] H.Meddieta, E. Kröttsch, RE.Hernández, *International journal of Dermatology*, **2007**, 46, 314.

- [16] J.W.Lubach, B.E.Padden, S.L.Winslow, J.S.Salsbury, D.B. Masters, E.M.Topp, E.J.Munson. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2004**, 378, 1504.
- [17] Z. Luo, K.Cai, Y.Hu, L.Zhao, P.Liu, L.Duan, W. Yang, *Angewandte Chemie International Edition*, **2011**, 50, 640.
- [18] D.L.Nelson, M. Cox. *Principios de bioquímica*. 4a edición. Editorial W.H. Freeman and company , Nueva York. **2005**, pág. 76,79,81,89, 249-251.
- [19] D. Voet, J.Voet. *Bioquímica*. 3a edición. Editorial Médica panamericana. Buenos Aires. **2006**, pág. 71-84.
- [20] T. Heinze, T. Liebert, *Progress in Polymer Science*, **2001**, 26, 1689.
- [21] S. Park, J. Baker, M. Himmel, P. Parilla, D.Johnson, *Biotechnology for biofuels*, **2010**,3, 10
- [22] K. Nisizawa, *Journal of Fermentation Technology*, **1973**, 51, 267
- [23] O.A. Batista. *Industrial Engineering Chemistry research* , **1950**, 42, 502.
- [24] M. M. Méndez González.Tesis doctoral titulada desarrollo de la porosidad en hidroxiapatita y en recubrimientos cerámicos para uso ortopédico, México, D.F, **2006**.
- [25] M. Londoño, A. Echavarría. *Revista EIA, ISSN 1794-1237*, **2006**, 5, 109
- [26] C.Rey, Thèse d'Etat, Science Physics, Francia, **1984**, 82, 364.
- [27] Y. Asscher, S.Weiner, E.Boaretto, *Advance Functional Materials*, **2011**, XX, 1.
- [28] S. Gamal, M. Nabawaya, *Journal of Colloid and Interface Science*, **2001**, 238, 160.
- [29] A.B Martinez, G.Carbajal De la Torre, *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales*, **2008**, 4, 18.
- [30] V. M. Rodríguez, E.S. Magro. *Bases de la Alimentación Humana*. Editorial Netbiblo, **2008**, pág. 188.
- [31] C. B. Giraud. *Nutrición básica humana*.Universidad de Valencia, **2006**, pág. 104.

- [32] A.G.Hernández. *Tratado de Nutrición. 2a ed. Tomo I: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. Ed. Médica Panamericana, **2010**, pág. 348.
- [33] D.Klemm, F.Kramer, S. Moritz, T.Lindström, M.Ankerfors, D.Gray, A. Dorris, *Green Nanomaterials*, **2011**, 50, 2.
- [34] M.Pääkkö, M. Ankerfors, H.Kosonen, A. Nykänen, S.Ahola, M.Österberg, J. Ruokolainen, J. Laine, P.T. Larsson, O.Ikkala, T. Lindström, *Biomacromolecules*, **2007**, 8, 1934.
- [35] J.F.Revol, L. Godbout, D.G.Gray, *Journal of pulp and paper science*, **1988**, 24, 146.
- [36] J.F.Revol, L. Godbout, D.G.Gray, US-A 5629055, **1977**.
- [37] X.Tan, W.Deng, M.Liu, Q.Zhang, Y. Wang, *Chemical Communications*, **2009**,XX, 7179.
- [38] J.F. Wishrt, *Energy Environment Science*, **2009**, 2, 956.
- [39] S. Park, J.Baker, M.E. Himmel, P.A. Parilla, D.K. Johnson.*Biotechnology for biofuels*, **2010**, 3, 10.
- [40] D.W.Breck, *Zeolite Molecular Sieves: Structure, Chemistry and use*, New York, **1974**.
- [41] E.B.Cornelius, *J.E.Mc Evoy, U.S.Pat*, 1968, 188,3382.
- [42] R.A. Laudise, *Hydrothermal Synthesis of Crystals*, Chemical And Engineering News, **1987**, 39, 30.
- [43] J.M.Villora, P.Callejas, M.F.Barba, *Boletín de la sociedad española de cerámica y vidrio*, **2020**, 41, 443.
- [44] <http://linux0.unsl.edu.ar/~rlopez/cap3new.pdf> (Fecha de consulta: 20/12/2011)
- [45] J. W. McBain, *Phys Chem*, **1909**, 38, 471
- [46] C. J. Brinker, G. W.. Scherer, “*Sol-Gel Science*”. *Academic Press*, Boston USA. **1990**.
- [47] 148.206.53.231/UAM7569.PDF (Fecha de consulta: 19-12-2011)
- [48] M.L.Dean, T. Troczynski, J.T.Wenjea. *Biomaterials*. **2001**, 22, 1721.

- [49] M.Matteini. *Ciencia y restauración: Método de investigación. Arte y restauración (vol. 6, traducción de Marina Martínez de Marañón)*. España:Nerea-Junta de Andalucía-Consejería de cultura-IAPH, **2001**.
- [50] B.D. Cullity, *Elements of X-Ray Diffraction*, segunda edición, Adisson-Wesly, USA, **1978**.
- [51] West, A.R, *Solid state chemistry and its applications*, John Wiley & Sons, Chichester, **1984**.
- [52] M. A. Ruderman, C. Kittel, *Indirect Exchange Coupling of Nuclear magnetic Moments by conduction electrons*, Phys.Rev, 96, 99, **1954**.
- [53] M.Huger, *In situ NMR spectroscopy in heterogeneous catalysis*, Catal. Today, 973, 12, **2004**.
- [54] D.A. Skoog, *Principios de Análisis Instrumental*, Mc Graw Hill, Madrid, **2002**.
- [55] J. Steinfeld, *Molecules and radiation: An introduction to modern molecular spectroscopy*. Segunda edición. MIT Press, Londres, **1989**.
- [56] S. Pikus, E. Kobylas, *Fibres and textil in Eastern Europe*, **2003**,11,70.
- [57] E.J.Lima, P. Bosch, V.H.Lara, S.Bulbulian, *Chemistry of materials*, **2004**, 16, 2255.
- [58] O. Glatter, *J.Appl.Crystallogr*, **1981**, 14,101.
- [59] O.Glatter, *Prog.Colloid Polym.Sci*, **1991**, 84, 46.
- [60] Guinier. A,Fournet, G., *Small-angle scattering of X rays*, John Willey & Sons, New York, **1955**.
- [61] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra Inorganic and Coordination Compounds*, John Wiley & Sons, New York, **1986**.
- [62] H.O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun, *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, John Wiley & Sons, New York, **1988**
- [63] K. Nisizawa, *Journal of Fermentation Technology*, **1973**, 51, 267.
- [64] R. H. Newman, *Holzforschung*, **2004**, 58, 91.
- [65] E. Lima, M. Laspéras, L.C de Menorval, D.Tichit, F. Fajula, *Journal Catalysis*, **2004**, 223, 28.

[66] A. Deménech, M.T. Doménech-Carbó, M.Sánchez de el Rio, S.Goberna, E. Lima, *Journal of Physical Chemistry C*, **2009**, 113, 12, 18.

[67] A. Harrison, *Fractals in Chemistry*, Oxford University Press Inc, New York, **1995**.

[68] O. Glatter, B. Hainisch, *J. Appl. Crystallogr.* **1984**, 17, 435.

[69] E. Lima, J. Valente, P. Bosch, V. Lara, *J. Phys. Chem. B*, **2005**, 109, 17435.

## 7.0 Glosario

1- HA	Hidroxiapatita
2- CE+AL	Celulosa funcionalizada con alanina
3- CE	Celulosa microcristalina
4- CE+AL2	Celulosa funcionalizada con alanina y lavada con agua destilada.
5- CE+PHE	Celulosa funcionalizada con fenilalanina
6- CE+PHE2	Celulosa funcionalizada con fenilalanina y lavada con agua destilada.
7- CE+PRO	Celulosa funcionalizada con prolina
8- CE+PRO2	Celulosa funcionalizada con prolina y lavada con agua destilada.
9- TCE+AL	Pulpa de celulosa funcionalizada con alanina
10-TCE	Pulpa de celulosa
11-TCE+PHE	Pulpa de celulosa funcionalizada con fenilalanina
12-TCE+PRO	Pulpa de celulosa funcionalizada con prolina
13-HY	Zeolita protonada
14-Au-HY	Catalizador de oro con zeolita
15-HA+PHE	Hidroxiapatita funcionalizada con fenilalanina
16-HA+PRO	Hidroxiapatita funcionalizada con prolina
17-HA+AL	Hidroxiapatita funcionalizada con alanina
18-DRX	Difracción de rayos X
19- <sup>13</sup> C CP MAS RMN	Resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup> C en estado sólido con giro a el ángulo mágico y polarización cruzada

20-FTIR	Espectroscopía infrarroja de Transformada de Fourier
21-SAXS	Dispersión de rayos X a ángulos pequeños
22-AL	Alanina
23-PHE	Fenilalanina
24-PRO	Prolina