

**Nuevos sensores fluorescentes basados en triazina-aminoácidos para la detección de metales pesados en solución**

**Lina Marcela Sánchez Becerra**

**Trabajo de grado presentando para optar por el título de Química Ambiental**

**Director**

**Carlos Alberto Osorio Martínez**

**Doctor en Química**

**Codirector**

**Lizeth Johanna Alvarado Rueda**

**Magister en Química**

**Universidad Santo Tomás, Bucaramanga**

**División de Ingenierías y Arquitectura**

**Química ambiental**

**2025**

### **Dedicatoria**

Este trabajo va dedicado a mis padres y abuela que siempre estuvieron apoyándome durante todo este camino de aprendizaje; por todos los momentos complicados que siguieron a mi lado y cada una de las acciones que favorecieron este proyecto. También lo dedico a todas las personas que me acompañaron en el proceso, en especial a mi tutor y profesor Carlos Osorio que siempre me ha apoyado, a la profe Martha Cervantes por su cariño y cuidado en esta etapa universitaria y al profesor Carlos Martínez por permitir la curiosidad en las clases detrás de cada tema.

### **Agradecimientos**

Mi agradecimiento a todas las personas que me han apoyado durante mi proceso de formación; a mi familia y compañeros de la vida que han estado involucrados. Un agradecimiento especial a mi abuela y mi madre que siempre se preocuparon por mi estudio y me acompañaron en cada paso. Finalmente le agradezco al personaje de Naruto por enseñarme a nunca rendirme.

## Contenido

Introducción .....	19
1. Nuevos sensores fluorescentes basados en triazina-aminoácidos para la detección de iones metálicos en solución acuosa .....	22
1.1. Planteamiento del problema .....	22
1.2. Justificación.....	24
1.3. Objetivos .....	25
1.3.1 Objetivo general .....	25
1.3.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	25
2. Marco referencial.....	26
2.1 Marco teórico .....	26
2.2 Marco legal.....	36
2.3 Antecedentes .....	36
3. Método.....	49
3.1 Aspectos generales .....	49
3.2 Procedimiento general de síntesis de los derivados triazinas de aminoácidos y compuestos fluorescentes.....	51
3.2.1 Mono-sustitución nucleofílica aromática del cloruro cianúrico (CC). .....	51
3.2.2 Di-sustitución nucleofílica aromática del cloruro cianúrico (CC).....	52
3.2.3 Tri-sustitución nucleofílica aromática del cloruro cianúrico (CC). .....	53
3.3 Caracterización química de compuestos .....	54
3.3.1 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR).....	54
3.3.2 Espectroscopia ultravioleta visible (UV-VIS) .....	54

3.3.3	Resonancia magnética nuclear (NMR) .....	54
3.3.4	Punto de Fusión (MP) .....	55
3.4	Análisis de quimiosensores con metales .....	55
3.5	Cuantificación .....	55
3.5.1	Determinación de $\lambda$ máx. ....	55
3.5.2	Preparación de la curva de calibración .....	56
3.6	Prueba de toxicidad .....	56
3.6.1	Ensayo toxicidad aguda <i>Allium cepa</i> L. ....	56
4.	Resultados obtenidos .....	58
4.1	Caracterización química de compuestos .....	58
4.2	Obtención monoderivados de triazina.....	58
4.1.1	Espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y RMN para monoderivados de triazina .....	59
4.2	Obtención diderivados de triazina.....	66
4.2.1	Espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y RMN para diderivados de triazina .....	66
4.3	Obtención triderivados de triazina .....	79
4.3.1	Espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y RMN de triderivados de triazina .....	79
4.5	Puntos de fusión (MP).....	92
4.6	Mecanismo propuesto para las sustituciones nucleofílicas aromáticas en el núcleo de triazinas .....	92
5	Respuesta de los quimiosensores fluorescentes frente a los metales pesados .....	94
5.1	<i>Estudio cualitativo de los sensores en complejación con metales</i> .....	95
5.1.1	Sensor triderivado CC-glicina.....	95
5.1.2	Sensor triderivado CC-glicina; valina.....	96

5.1.3	Sensor triderivado CC-fenilalanina.....	97
5.1.4	Sensor triderivado CC-valina.....	98
5.1.5	Estudio cualitativo de metales con respuesta al sensor.....	99
5.2	<i>Estudio cuantitativo complejación de metales con sensor</i> .....	101
5.2.1	Curva calibración y complejación <b>Cr<sup>2+</sup></b> + con sensores .....	102
5.2.2	Curva calibración y complejación <b>Hg<sup>2+</sup></b> +con sensores .....	106
5.2.3	Curva calibración y complejación <b>Fe<sup>2+</sup></b> + con sensores .....	112
5.3	Prueba toxicológica .....	118
5.3.1	Ensayo de toxicidad con Allium Cepa L. ....	118
6	Conclusiones.....	122
7	Recomendaciones .....	123
	Referencias.....	124
	Apéndices.....	137

**Lista de tablas**

<b>Tabla 1.</b> <i>Puntos de fusión de sensores sintetizados</i> .....	92
<b>Tabla 3.</b> <i>Absorbancias del Cromo en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 300 nm.</i> .....	103
<b>Tabla 4.</b> <i>Absorbancias a diferentes concentraciones de Cr en solución del sensor triderivado CC-fenilalanina a 5 ppm a 70 ppm</i> .....	105
<b>Tabla 5.</b> <i>Absorbancias a diferentes concentraciones de Cr en solución del sensor triderivado CC-valina a 5 ppm a 70 ppm.</i> .....	106
<b>Tabla 6.</b> <i>Absorbancias del Cromo en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 300 nm.</i> .....	107
<b>Tabla 7.</b> <i>Absorbancias a diferentes concentraciones de Hg en solución del sensor triderivado CC-glicina a 5 ppm a 70 ppm.</i> .....	108
<b>Tabla 8.</b> <i>Absorbancias a diferentes concentraciones de Hg en solución del sensor triderivado CC-glicina; valina a 5 ppm a 70 ppm</i> .....	109
<b>Tabla 9.</b> <i>Absorbancias a diferentes concentraciones de Hg en solución del sensor triderivado CC-fenilalanina a 5 ppm a 70 ppm</i> .....	110
<b>Tabla 10.</b> <i>Absorbancias a diferentes concentraciones de Hg en solución del sensor triderivado CC-valina a 5 ppm a 70 ppm</i> .....	111
<b>Tabla 11.</b> <i>Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 300 nm.</i> .....	113
<b>Tabla 12.</b> <i>Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 435 nm.</i> .....	114

**Tabla 13.** *Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 435 nm..... 115*

**Tabla 14.** *Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 435 nm..... 116*

**Tabla 15.** *Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 435 nm..... 117*

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> <i>Isómeros de la Triazina</i> .....	26
<b>Figura 2.</b> <i>Derivados comunes de la Triazina</i> .....	27
<b>Figura 3.</b> <i>Síntesis industrial cloruro cianúrico</i> .....	28
<b>Figura 4.</b> <i>Temperaturas para las diferentes sustituciones (1,3,5) nucleofílicas en el anillo de triazina</i> .....	29
<b>Figura 5.</b> <i>Reacciones de sustituciones nucleofílicas en el cloruro cianúrico.</i> .....	30
<b>Figura 6.</b> <i>Representación de los principales mecanismos de fluorescencia.</i> .....	33
<b>Figura 7.</b> <i>Aplicaciones de s-triazinas: Reactivos colorantes de triazina de mono y de doble sustitución.</i> .....	35
<b>Figura 8.</b> <i>Análisis de las publicaciones de la editorial ScienceDirect (Elsevier B.V, 2024) sobre sensores fluorescentes para la detección de iones de metales pesados en el agua desde 2012 hasta 2022.</i> .....	38
<b>Figura 9.</b> <i>Diferentes posibles rutas para la síntesis de ligandos del cloruro cianúrico</i> .....	42
<b>Figura 10.</b> <i>Proceso de síntesis de N, N', N''-1, 3, 5-triazine-2, 4, 6-triyltris-glycine [TTG]</i> .....	43
<b>Figura 11.</b> <i>Síntesis del sensor N<sub>2</sub>,N<sub>4</sub>,N<sub>6</sub>-tris(benzo[d]tiazol-2-il)-1,3,5-triazina-2,4,6-triamina (TBT)</i> .....	44
<b>Figura 12.</b> <i>Síntesis de derivados de triazina tri-sustituida</i> .....	46
<b>Figura 13.</b> <i>Representación esquemática del modo de complejón de DTAF-MOR con iones Mg<sup>2+</sup></i> .....	47
<b>Figura 14.</b> <i>Mecanismo de detección propuesto para el ion Al<sup>3+</sup> por NADO</i> .....	48
<b>Figura 15.</b> <i>FL-CTF con estructura donante-aceptor selectiva y sensible de Fe<sup>3+</sup></i> .....	49

<b>Figura 16.</b> <i>Sustituciones nucleofílicas aromáticas en el anillo de triazina y temperaturas requeridas</i> .....	50
<b>Figura 17.</b> <i>Mono-sustitución del cloruro cianúrico con aminoácidos y/o compuestos fluorescentes.</i> .....	51
<b>Figura 18.</b> <i>Di-sustitución del cloruro cianúrico con aminoácidos y/o compuestos fluorescentes</i> .....	52
<b>Figura 19.</b> <i>Tri-sustitución del cloruro cianúrico con aminoácidos y/o compuestos fluorescentes</i> .....	53
<b>Figura 20.</b> <i>Estructura química de (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) glicina</i> .....	59
<b>Figura 21.</b> <i>Espectro IR del monoderivado CC-glicina</i> .....	60
<b>Figura 22.</b> <i>Espectro RMN del monoderivado CC-glicina</i> .....	61
<b>Figura 23.</b> <i>(4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) fenilalanina</i> .....	61
<b>Figura 24.</b> <i>Espectro IR de monoderivado CC-fenilalanina</i> .....	62
<b>Figura 25.</b> <i>Espectro RMN de monoderivado CC-fenilalanina</i> .....	63
<b>Figura 26.</b> <i>(4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) valina</i> .....	64
<b>Figura 27.</b> <i>Espectro IR monoderivado CC-valina</i> .....	65
<b>Figura 28.</b> <i>Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))diacético</i> .....	67
<b>Figura 29.</b> <i>Espectro IR de diderivado CC-glicina</i> .....	68
<b>Figura 30.</b> <i>Espectro RMN de diderivado CC-glicina</i> .....	69
<b>Figura 31.</b> <i>Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))bis(3-fenilpropanoico) ...</i>	70
<b>Figura 32.</b> <i>Espectro IR diderivado CC-fenilalanina</i> .....	71
<b>Figura 33.</b> <i>Espectro RMN de diderivado CC-fenilalanina</i> .....	72
<b>Figura 34.</b> <i>Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))bis(3-metilbutanoico).....</i>	73

<b>Figura 35.</b> <i>Espectro IR de diderivado CC-valina</i> .....	74
<b>Figura 36.</b> <i>Espectro RMN de diderivado CC-valina</i> .....	75
<b>Figura 37.</b> <i>(4-((carboximetil)amino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il) valina</i> .....	76
<b>Figura 38.</b> <i>Espectro IR de diderivado CC-glicina; valina</i> .....	77
<b>Figura 39.</b> <i>Espectro RMN de diderivado CC-glicina; valina</i> .....	78
<b>Figura 40.</b> <i>Triderivado CC-glicina</i> .....	80
<b>Figura 41.</b> <i>Espectro IR de triderivado CC-glicina</i> .....	81
<b>Figura 42.</b> <i>Espectro RMN de triderivado CC-glicina</i> .....	82
<b>Figura 43.</b> <i>Triderivado CC-fenilalanina</i> .....	83
<b>Figura 44.</b> <i>Espectro IR de triderivado CC-fenilalanina</i> .....	84
<b>Figura 45.</b> <i>Espectro RMN de triderivado CC-fenilalanina</i> .....	85
<b>Figura 46.</b> <i>Triderivado CC-valina</i> .....	86
<b>Figura 47.</b> <i>Espectro IR de triderivado CC-valina</i> .....	87
<b>Figura 48.</b> <i>Espectro RMN de triderivado CC-valina</i> .....	88
<b>Figura 49.</b> <i>Triderivado CC-glicina; valina</i> .....	89
<b>Figura 50.</b> <i>Espectro IR de triderivado CC-glicina; valina</i> .....	90
<b>Figura 51.</b> <i>Espectro RMN de triderivado CC-glicina; valina</i> .....	91
<b>Figura 52.</b> <i>Mecanismo de reacción propuesto para la tri sustitución con fluoresceína del cloruro cianúrico di sustituido con aminoácido glicina</i> .....	94
<b>Figura 53.</b> <i>Imágenes día 1 y 15 sensor triderivado CC-glicina</i> .....	96
<b>Figura 54.</b> <i>Imágenes día 1 y 15 sensor triderivado CC-glicina; valina</i> .....	97
<b>Figura 55.</b> <i>Imágenes día 1 y 15 sensor triderivado CC-fenilalanina</i> .....	98
<b>Figura 56.</b> <i>Imágenes día 1 y 15 sensor triderivado CC-valina</i> .....	99

<b>Figura 57.</b> <i>Respuesta sensores a diferentes concentraciones Hg<sup>+1</sup> (izquierda a derecha; sensor, 5ppm, 10ppm, 25ppm, 50 ppm y 100ppm)</i> .....	100
<b>Figura 58.</b> <i>Respuesta sensores a diferentes concentraciones de Fe (izquierda a derecha; sensor, 5ppm, 10ppm, 25ppm, 50 ppm, y 100ppm)</i> .....	101
<b>Figura 59</b> <i>Curva calibración Cr y sensores</i> .....	102
<b>Figura 60.</b> <i>Barrido espectroscópico de Cr por ultravioleta-visible en longitud de onda 250-600nm</i> .....	103
<b>Figura 61.</b> <i>Barrido espectroscópico de Cr-Sensor triderivado CC-fenilalanina (1:3) por ultravioleta-visible de 275-600nm</i> .....	104
<b>Figura 62.</b> <i>Barrido espectroscópico de Cr-Sensor triderivado CC-fenilalanina (1:3) por ultravioleta-visible de 275-600nm</i> .....	105
<b>Figura 63.</b> <i>Curva calibración Hg y sensores</i> .....	106
<b>Figura 64.</b> <i>Barrido espectroscópico de Hg por ultravioleta-visible en longitud de onda 250-600nm</i> .....	107
<b>Figura 65.</b> <i>Barrido espectroscópico de Hg-Sensor triderivado CC-glicina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm</i> .....	108
<b>Figura 66.</b> <i>Barrido espectroscópico de Hg-Sensor triderivado CC-glicina; valina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm</i> .....	109
<b>Figura 67.</b> <i>Barrido espectroscópico de Hg-Sensor triderivado CC-fenilalanina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm</i> .....	110
<b>Figura 68.</b> <i>Barrido espectroscópico de Hg-Sensor triderivado CC-valina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm</i> .....	111
<b>Figura 69.</b> <i>Curva calibración Fe y sensores</i> .....	112

<b>Figura 70.</b> <i>Barrido espectroscópico de Fe por ultravioleta-visible en longitud de onda 200-800nm.....</i>	113
<b>Figura 71.</b> <i>Barrido espectroscópico de Fe-Sensor triderivado CC-glicina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm .....</i>	114
<b>Figura 72.</b> <i>Barrido espectroscópico de Fe-Sensor triderivado CC-glicina; valina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm .....</i>	115
<b>Figura 73.</b> <i>Barrido espectroscópico de Fe-Sensor triderivado CC-fenilalanina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm .....</i>	116
<b>Figura 74.</b> <i>Barrido espectroscópico de Fe-Sensor triderivado CC-valina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm .....</i>	117
<b>Figura 75.</b> <i>Control positivo (CuSO<sub>4</sub>) para porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en Allium Cepa .....</i>	118
<b>Figura 76.</b> <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en Allium Cepa según la dosis del sensor triderivado CC-glicina .....</i>	119
<b>Figura 77.</b> <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en Allium Cepa según la dosis del sensor triderivado CC-fenilalanina .....</i>	120
<b>Figura 78.</b> <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en Allium Cepa según la dosis del sensor triderivado CC-valina .....</i>	121
<b>Figura 79.</b> <i>Porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en Allium Cepa según la dosis del sensor triderivado CC-glicina; valina .....</i>	122

**Lista de apéndices**

**Apéndice A.** *Tabla con los elementos y compuestos químicos diferentes a plaguicidas y su concentración máxima aceptable por la normativa colombiana vigente. ....* 137

**Apéndice B.** *Información detallada sobre la validación del método, rango de linealidad, precisión límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) y veracidad.....* 138

### Resumen

En la actualidad, la contaminación por metales pesados es un gran problema ambiental que causa graves daños al medio ambiente, tanto su parte biótica como abiótica. Es una de las grandes barreras a superar para conseguir un desarrollo industrial sostenible a mediano y largo plazo, ya que estos materiales se emplean en países subdesarrollados sin mayores restricciones para la fabricación de partes, compuestos químicos, armas de defensa, entre otros diversos usos. Generando problemas de salud como enfermedades respiratorias, enfermedades congénitas al estar expuestos continuamente, entre otros. Es por estas razones que agencias para la protección y conservación del medio ambiente realizan monitoreos continuos y determinan las regulaciones para el uso y descarte de estas sustancias. Sin embargo, los métodos de monitoreo para los metales pesados requieren mucho tiempo y algunos presentan limitaciones en las técnicas de muestreo y posteriormente su análisis, por esto se presenta una gran demanda en desarrollar métodos rápidos, simples, confiables y que permitan el análisis in situ.

La propiedad específica por la cual se emplea el 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina (cloruro cianúrico) es la capacidad para experimentar una reacción de sustitución nucleófila aromática (S<sub>N</sub>Ar) en condiciones de temperatura controlada y la adición de los ligandos cuenta con un orden específico. Este proyecto comprende la preparación de sensores moleculares análogos de triazinas con aminoácidos como ligandos (valina, glicina, fenilalanina) con el fin de lograr la detección de metales pesados en soluciones acuosas a través de cambios en el proceso de absorción-emisión del complejo formado y la observación de fluorescencia o cambios colorimétricos en las muestras.

*Palabras clave:* análogos de triazinas, sensores, aminoácidos, metales pesados, fluorescencia

### Abstract

At present, heavy metal contamination is a major environmental problem that causes serious damage to the environment, both biotic and abiotic. It is one of the great barriers to overcome to achieve a sustainable industrial development in the medium and long term, since these materials are used in underdeveloped countries without major restrictions for the manufacture of parts, chemical compounds, defense weapons, among other diverse uses. This generates health problems such as respiratory diseases, congenital diseases due to continuous exposure, among others. It is for these reasons that agencies for the protection and conservation of the environment carry out continuous monitoring and determine regulations for the use and disposal of these substances. However, monitoring methods for heavy metals are time-consuming and some have limitations in sampling techniques and subsequent analysis, which is why there is a great demand to develop faster, simpler, more reliable methods that allow in situ analysis of the sample for the detection of heavy metals.

The specific property for which 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine (cyanuric chloride) is used is the capacity to undergo an aromatic nucleophilic substitution reaction (S<sub>N</sub>Ar) under controlled temperature conditions and the addition of the ligands has a specific order. This project involves the preparation of triazine analogues molecular sensors with amino acids as ligands (valine, glycine, phenylalanine) in order to achieve the detection of heavy metals in aqueous solutions through changes in the absorption-emission process of the complex formed and the observation of fluorescence or colorimetric changes in the samples.

*Keywords:* triazine analogues, sensors, amino acids, heavy metals, fluorescence.

## Glosario

*1,3,5-triazinas*: es una clase de heterociclos que contienen nitrógeno. Las triazinas más conocidas son los derivados 1,3,5-triazina de melamina y el cloruro cianúrico (2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina). (D'Auria et al., 2023).

*Aminoácidos*: los aminoácidos son una clase de biomoléculas importantes que contienen ambos grupos amino. ( $-NH_3^+$ ) y grupos carboxilato ( $-COO^-$ ). En la mayoría de los contextos, el término "aminoácidos" se refiere a los  $\alpha$ -aminoácidos, llamados así porque tanto el grupo amino como el carboxilo están unidos al carbono  $\alpha$ . (Blanco, A. y Blanco, G. (2022).

energía emitida y su longitud de onda dependen tanto del propio fluoróforo como de su ambiente

*Espectroscopia infrarroja (IR)*: es un método de absorción ampliamente utilizado en análisis tanto cualitativos como cuantitativos. La región infrarroja del espectro incluye radiación electromagnética que puede alterar los estados vibratorios y rotacionales de los enlaces covalentes en moléculas orgánicas. (Jadhav, Yan, et al., 2013)

*Espectroscopia Ultravioleta visible (UV-VIS)*: es una técnica analítica, simple, versátil, no destructiva y rentable, adecuada para un amplio espectro de compuestos orgánicos y algunas especies inorgánicas. En función de la longitud de onda, los espectrofotómetros UV-Vis miden la absorción o transmisión de la luz que pasa a través de un medio. (Mtewa et al., 2021)

*Fluorescencia*: son aquellas moléculas susceptibles emiten luz a partir de estados excitados electrónicamente creados por un mecanismo físico (por ejemplo, absorción de luz), mecánico (fricción) o químico. (Levitus, 2020).

*Fluoróforos*: es un componente de una molécula que hace que ésta sea fluorescente. Es un grupo funcional de la molécula que absorberá energía de una longitud de onda específica y la volverá a emitir en otra longitud de onda diferente, pero igualmente específica. La cantidad de

energía emitida y su longitud de onda dependen tanto del propio fluoróforo como de su ambiente químico. (Callan JF, et al. 2005).

*Metales pesados:* se definen como aquellos elementos que tienen un número atómico superior a 20 y una densidad atómica superior a  $5\text{g cm}^{-3}$  y deben exhibir las propiedades del metal. (Laureano-Anzaldo et al., 2021).

## Introducción

Los metales pesados pueden definirse como metales con densidades, pesos o números atómicos relativamente altos. Los criterios utilizados y la inclusión de metaloides varían según el autor y el contexto, ya que se pueden encontrar definiciones basadas en su densidad, comportamiento químico, toxicidad o algunas propiedades físicas. (Adnan et al., 2024) (Metales Pesados, s. f.) La contaminación por metales pesados es un problema que se ha discutido desde décadas anteriores, estos suelen encontrarse en las matrices de agua, aire y suelo; esto debido a actividades industriales relacionadas con la minería, reparación, fabricación y recubrimiento de piezas metálicas, reparación de baterías, curados, refinería, e industria textil (Rodríguez, 2017). Otro gran problema, es el uso de metales pesados como parte de los componentes principales de insecticidas, fertilizantes, y algunas prácticas de la industria minera lo cual facilita la vía de contaminación por el contacto directo de este material con el suelo (Neira-Moscoso et al., 2021) (Sun, Xie, Wang, et al., 2018).

Debido a las características de la especie metálica pueden quedar retenidos o ser movilizados en la solución del suelo mediante diferentes mecanismos biológicos y químicos, esto dependerá de las propiedades del suelo (acidificación, uso de pesticidas, condiciones ambientales) (Sun, Xie, Wang, et al., 2018) llegando de esta forma por escorrentía a cuerpos de agua o facilitando su volatilización llegando a la atmósfera (Nachana'a y Ezekiel, 2019) Por ejemplo, la concentración de metales en el suelo suele oscilar entre menos de uno hasta 100.000 mg/kg (LONE et al., 2018). Los metales pesados son el grupo principal de contaminantes inorgánicos y una considerable gran superficie de tierra está contaminada con ellos debido al uso de lodos o abono municipal, pesticidas, fertilizantes y emisiones de residuos municipales incinerados, exudados, residuos de minas metalíferas e industrias de fundición (Lin et al., 2018). La preocupación del

movimiento de estos metales es su rápida absorción, inhalación, ingestión y bioacumulación por medio del metabolismo de las plantas y animales, que a su vez al ser consumidos por los humanos se bioacumulan en sus tejidos y órganos (Nachana'a y Ezekiel, 2019); algunas de las afecciones de salud ocasionadas por estos son afecciones respiratorias y cardíacas, daño renal y neurológico, debilitamiento muscular, entre otros (Neira-Moscoso et al., 2021; Franco et al., 2016).

Por lo mencionado anteriormente, este tipo de materiales deben tener un monitoreo constante por parte de las instituciones de protección ambiental y de salud pública, para proteger las poblaciones cercanas y los ecosistemas que se vean afectados por estos contaminantes. El ministerio de ambiente colombiano ha dictado ciertos decretos y normativas (como la resolución 1575 del 2007) (Decreto 1575 de 2007 - Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2022) que dictaminan los niveles de concentración máximos permitidos en las matrices de agua, aire y suelo que no comprometan la salud a mediano y largo plazo tanto del medio ambiente como de la humanidad. Por ejemplo, para el año 2013 se realizó un estudio se realizaron 169 muestreos de cadmio, 180 muestreos de cromo y plomo y 104 muestreos de mercurio (IDEAM, 2014). Con respecto al Hg, según se reporta los valores de concentración más altos se encuentran en el río Marmato, Nechí, Magdalena, Guachal y río Coello. Con respecto al Cd las mayores concentraciones se identificaron en río Negro, río Bogotá y río Cararé (Reyes y Vergara, 2016). A pesar de tener una normativa que especifica los métodos a utilizar en el monitoreo, toma de muestras y análisis de estas; se presentan ciertos inconvenientes como la poca accesibilidad a ciertos lugares de interés por cuestiones de movilidad. Otra gran limitante son las técnicas empleadas para su medición, ya que suelen ser costosas y requieren gran cantidad de tiempo.

Se han empleado distintos métodos de detección y encapsulamiento de estos metales y alguno de sus iones, como es el uso más habitual de métodos colorimétricos, fluorescentes y

algunos relacionados con nanopartículas. Las triazinas son una familia de tres compuestos isómeros los cuales comparten la fórmula  $C_3H_3N_3$ , se les conoce como los “herbicidas de la naturaleza”, en la industria tienen un amplio uso como resinas, herbicidas, fungicidas, colorantes reactivos, y por supuesto, como productos farmacéuticos (Raghu et al., 2023) (Verma et al., 2020). La síntesis 1,3,5-triazina despierta un gran interés debido a su versatilidad, ya que las propiedades e interacciones dependerán completamente de los grupos de sustitución que se le agreguen, sin embargo, este no ha sido un campo poco investigado, ya que la mayoría de literatura se concentra en su uso como herbicidas.

Es debido a estas propiedades de interacción y fácil sustitución, que se plantea el presente proyecto de investigación, que busca diseñar un sensor colorimétrico para iones metálicos a base de triazinas mono y di sustituidas.

## **1. Nuevos sensores fluorescentes basados en triazina-aminoácidos para la detección de iones metálicos en solución acuosa**

### **1.1. Planteamiento del problema**

La contaminación por metales pesados ha sido un foco de tensión durante los últimos años, debido a su toxicidad y los problemas ambientales que generan, la comunidad científica se ha mostrado interesada en el diseño, síntesis y fabricación de quimiosensores de diversa clasificación, con el fin de detectar y reconocer los metales pesados que se encuentran en muestras biológicas o de análisis medioambiental. La estimación y el seguimiento de la contaminación ambiental están adquiriendo cada vez más importancia para desarrollar diferentes métodos y estrategias de seguimiento que permitan tener una buena calidad de suelos, aguas superficiales y subterráneas (Ali y Muhammad, 2023).

Alrededor del mundo se han presentado diversos casos de contaminación por metales pesados en agua y suelos, sin embargo, lo más preocupante del caso es que han logrado migrar a los vegetales, frutas y hortalizas cultivadas en diversos tipos de suelos. Se han identificado altas concentraciones de metales pesados y metaloides, como mercurio (Hg), arsénico (As), plomo (Pb), cadmio (Cd), zinc (Zn), níquel (Ni) y cromo (Cr). en verduras (Chakraborty et al., 2022). El contacto de estos vegetales con los metales pesados puede deberse a múltiples causas, por ejemplo; los pesticidas y herbicidas empleados, aguas contaminadas por minería cercana, residuos industriales, entre otros.

Otros estudios han demostrado que el uso de exceso de plata y sus derivados puede alterar los ecosistemas naturales, por ejemplo, destruyendo bacterias ambientalmente benignas (Şenkuytu et al., 2018). Adicionalmente, es mencionado que los iones de plata inactivan las enzimas sulfhidrilo y se unen a varios metabolitos, incluidos aminas, imidazol, grupos carboxilo. Por otro

lado, la sobrecarga de plata puede provocar la precipitación de proteínas en la piel y los ojos (Şenkuytu et al., 2018).

En el caso de Colombia, más específicamente Santander en los últimos monitoreos realizados por empresas privadas a plantas del páramo de Santurbán han arrojado la presencia de trazas de metales pesados y que son perjudiciales para el hombre como cadmio, zinc y mercurio (Zambrano, 2022). Se establece que la contaminación puede venir de aguas aledañas y es absorbida por las plantas; Gustavo Guerrero expuso que esto se debe a la minería ilegal en esta área (Munera, 2022).

Otro de los preocupantes casos registrados fue la contaminación de la quebrada La Baja y los ríos Vetas y Suratá con mercurio, debido a una red de minería ilegal para la extracción de oro ocurrida en el municipio de California, Santander. (El episodio más reciente, que sustenta la anterior afirmación, ocurrió el pasado 23 de febrero del 2022, cuando la Gerencia de Operaciones del Acueducto Metropolitano de Bucaramanga detectó “con gran preocupación que los análisis de laboratorio de las muestras de agua cruda tomadas a las 6:00 a.m., a la entrada de la Planta de Tratamiento de Bosconia, arrojaron una concentración de mercurio total de 100 UGHG/L (microgramos de mercurio por litro de agua) cuando la norma establece 2 UG HG/L”. Este registro significa que el aumento de trazas de mercurio se elevó, en este episodio, 49 veces por encima del límite permitido) (Gutiérrez, 2024).

Esta problemática ambiental se ha presentado desde algunas décadas atrás, principalmente contaminando el recurso hídrico utilizado por las poblaciones cercanas. A pesar de ello, Santander no es el único departamento que presenta esta situación, sino que es un problema generalizado en todo el país (por no decir en el mundo). Por eso es necesario un trabajo en conjunto de las

poblaciones, autoridades ambientales y químicos con la meta de planear, ejecutar y monitorear estrategias que permitan la conservación de este recurso tan preciado.

La propuesta de investigación consiste en la síntesis de análogos de cloruro de triazinas con aminoácidos como ligandos (glicina, valina y fenilalanina) para generar compuestos fluorescentes versátiles y fáciles de transportar, que sean eficientes para la detección de iones de metales pesados en matrices acuosas.

## **1.2. Justificación**

En el presente proyecto de investigación se propone sintetizar moléculas análogas de 1,3,5-triazinas incorporando aminoácidos como ligandos (glicina, valina y fenilalanina) a su estructura, para obtener derivados mono, di o tri sustituidos a conveniencia y modificar sus propiedades físicas, químicas, luminiscentes y ser usados para la detección de metales pesados en soluciones acuosas; los compuestos actúan como sensores ópticos, es decir, quimiosensores colorimétricos y/o fluorescentes que generen una señal óptica o de cambio en la estructura, bandas de absorción, entre otros, que pueda ser comprobada a partir de técnicas espectroscópicas como resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopia de infrarrojo (IR) y espectroscopia ultravioleta visible (UV-VIS). La respuesta de cambios colorimétricos o fluorescentes de sensores al entrar en contacto con el compuesto objetivo ha sido empleada ampliamente durante los últimos años en los campos de análisis cuantitativo, cualitativo y desarrollo de quimiosensores siendo herramientas eficaces; a pesar de ello, los sensores para la detección de metales pesados basados en 1,3,5-triazinas son limitados.

Las ventajas que ofrecen este tipo de biosensores, quimiosensores o sensores basados en luminiscencia son su facilidad de transporte, uso in situ para toma de muestras, son altamente sensibles con la molécula objetivo, además de brindar resultados casi de forma inmediata. El uso

de métodos con fluorescencia se ha observado en distintos campos de acción, desde la medicina hasta la biología molecular; sin embargo, no se ha empleado utilizando aminoácidos como ligandos de 1,3,5-triazinas. Para el presente proyecto no se empleará compuestos comerciales fluorescentes debido a la toxicidad asociada para los mismos, para ello en la investigación realizada se utilizarán moléculas análogas de 1,3,5-triazinas modificada de fácil transporte que serán valiosas para su aplicación hacia el diseño de sensores y quimiosensores selectivos, eficientes y prácticos que permitan brindar soluciones al actual problema de contaminación por metales pesados.

### **1.3 Objetivos**

#### ***1.3.1 Objetivo general***

Sintetizar sensores fluorescentes a partir de triazinas derivadas de cloruro cianúrico (mono, di y tri) con sustituyentes amino para detección de metales pesados en soluciones acuosas

#### ***1.3.2 Objetivos específicos***

Sintetizar y caracterizar compuestos análogos de triazinas mono, di y tri sustituidas con propiedad fluorescentes como sensores de metales pesados en solución acuosa.

Evaluar la selectividad de sensores fluorescentes con distintos metales pesados en solución acuosa.

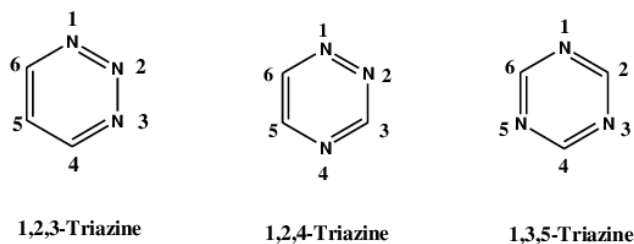
Determinar la toxicidad de los sensores sintetizados para la detección de metales pesados a base de triazina y aminoácidos mediante pruebas eco-toxicológicas con *Allium cepa*, en la determinación de posibles afectaciones ambientales por parte de estos compuestos nuevos.

## 2. Marco referencial

### 2.1 Marco teórico

Uno de los compuestos de triazinas más destacados (1,3,5-triazina), fue sintetizado por primera vez en 1834 por Liebig, siendo la melamina (2,4,6-triamino-1,3,5-triazina). La 1,3,5-triazina, es decir, s-triazina, es un heterociclo que contiene tres átomos de nitrógeno en su anillo como sustituyentes, siendo una molécula con múltiples propiedades y aplicaciones a nivel industrial en productos como herbicidas, plaguicidas, tintes, láminas de plástico, entre otros (Kloeters et al., 2022). Un componente básico comúnmente utilizado para la síntesis de derivados de 1,3,5-triazina es la tricloro-1,3,5-triazina (TCT), es decir, cloruro cianúrico (Nobuyasu et al., 2019); este se obtiene principalmente a partir de ácido cianhídrico, o el segundo método menos utilizado es a partir de cianuro de sodio (Jain et al., 2016). Este compuesto presenta tres isómeros siendo la (1.) 1,2,3-triazina, la (2.) 1,2,4-triazina (2), y la (3.) 1,3,5-triazina como se muestra en la figura 1. A pesar de ello, la última forma (1,3,5-triazina) es el isómero que ha sido más ampliamente estudiado (Kloeters et al., 2022).

**Figura 1.** *Isómeros de la Triazina*



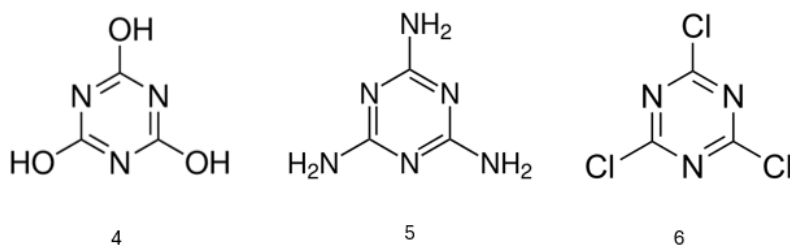
Tomado de (Basak et al., 2021)

Este isómero es menos estable que el benceno porque la nube  $\pi$  del anillo se ve debilitada debido a la presencia de los átomos de nitrógeno, lo que produce un aumento de la densidad de carga en las posiciones 1, 3 y 5 y una disminución de carga en las posiciones 2,4 y 6 lo que facilita las reacciones de sustitución nucleófila en dichas posiciones. (Carofiglio. T. et.al 2004)

Debido a su carácter de deficiencia electrónica (es decir, aceptor), reacciona muy fácilmente con la unidad donante. Además, su coplanaridad espacial y simetría estructural lo convierten en un núcleo adecuado para la modificación estructural con una variedad de moléculas (Maliszewski D y Drozdowska D., 2022); el anillo de triazina es bastante resistente a la sustitución electrófila. Sin embargo, fácilmente puede someterse a reacciones de sustitución en el anillo con nucleófilos y es muy sensible a la hidrólisis por agua y otros compuestos con grupos hidroxilo, en menor grado. (Muhammed A. 2021).

Gracias a la versatilidad de la molécula es posible preparar diferentes heterociclos empleando aminas, compuestos nitrogenados u/o grupos hidroxilos que permitan modificar las propiedades de las moléculas. Los derivados de triazina más comúnmente utilizados se muestran a continuación en la Figura 2, el ácido cianúrico (4), la melamina (5), y el cloruro cianúrico (6).

**Figura 2.** Derivados comunes de la Triazina

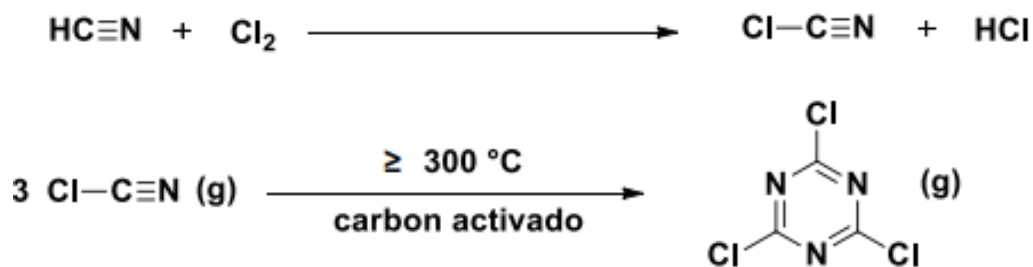


Tomado de (Hatfield, 2007)

Las reacciones de Cloruro de triazinas hasta 1937 han sido resumidas por Fierz-David y Matter, sin embargo, aparte de su reacción con amoníaco y algunas aminas, principalmente

aromáticas, el primer informe extenso sobre derivados de tricloruros de triazinas no se publicó hasta 1951. Curiosamente, uno de sus primeros fines sintéticos fue como activador de ácidos carboxílicos para la preparación de amidas (Quirke, 1984). Por otro lado, hasta el año 1954 se determinó estructuralmente la primera s-triazina, haciendo pasar cloro a través de tiocianato de potasio anhidro (Huthmacher, K.; Most, D. 2006); En la figura 3 se observa a continuación la reacción a nivel industrial del cloruro cianúrico, el cual se puede preparar mediante trimerización de cloruro de cianógeno en fase líquida (US2838512A - Preparation Of Cyanuric Chloride - Google Patents, 1958).

**Figura 3.** Síntesis industrial cloruro cianúrico



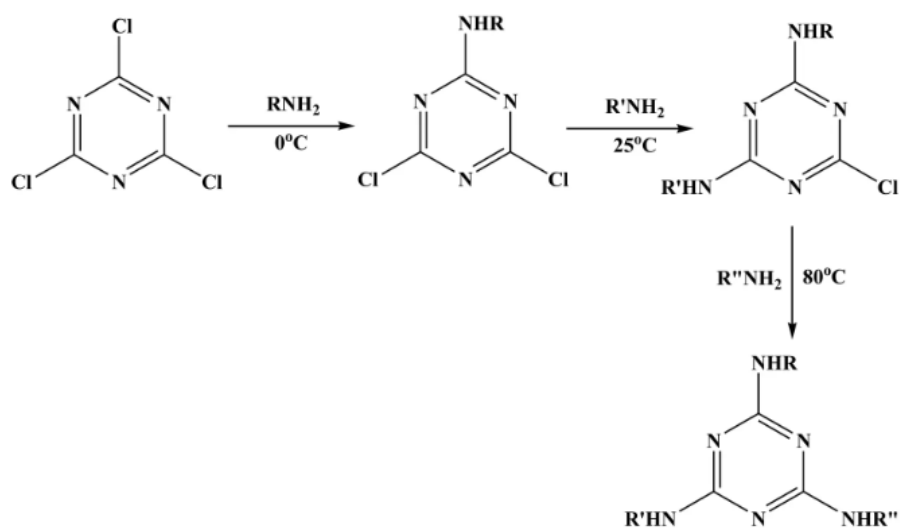
Tomado de (Hatfield, 2007)

El cloruro cianúrico presenta múltiples propiedades que le permite ser versátil estable, rentable, y fácil de manejar además de tener diversas aplicaciones. Sin embargo, la capacidad que mayor es su facilidad para las reacciones de sustitución aromática nucleofílica del cloruro cianúrico de forma quimioselectiva, la cual puede ser utilizado para producir productos de s-triazina sustituida con alta complejidad química (Aplett et al., 2011).

El cloruro cianúrico puede ser mono, di o tri sustituido por diferentes grupos debido a la facilidad de desplazamiento de los sustituyentes cloro en esta molécula por varios nucleófilos (Disasa D. 2010). Sin embargo, para controlar la cantidad de sustituyentes es crucial mantener una

temperatura estable específica para cada sustitución. La primera sustitución es exotérmica y puede realizarse a 0 °C, la segunda sustitución ocurre a temperatura ambiente (entre 30°C-40°C), mientras que la tercera la sustitución requiere temperaturas más altas, generalmente a reflujo de un disolvente de alto punto de ebullición (>65 °C-90°C), y largos tiempos de reacción (Sharma et al., 2018). La sustitución se realiza de forma escalonada para debilitar la fuerza de atracción entre el enlace C-Cl y la sustitución nucleofílica. A continuación, se observa en la figura 4 las sustituciones nucleofílicas aromáticas sobre el cloruro cianúrico y el rango necesario de temperaturas para llevar a cabo dichas sustituciones frente al nucleófilo.

**Figura 4.** Temperaturas para las diferentes sustituciones (1,3,5) nucleofílicas en el anillo de triazina



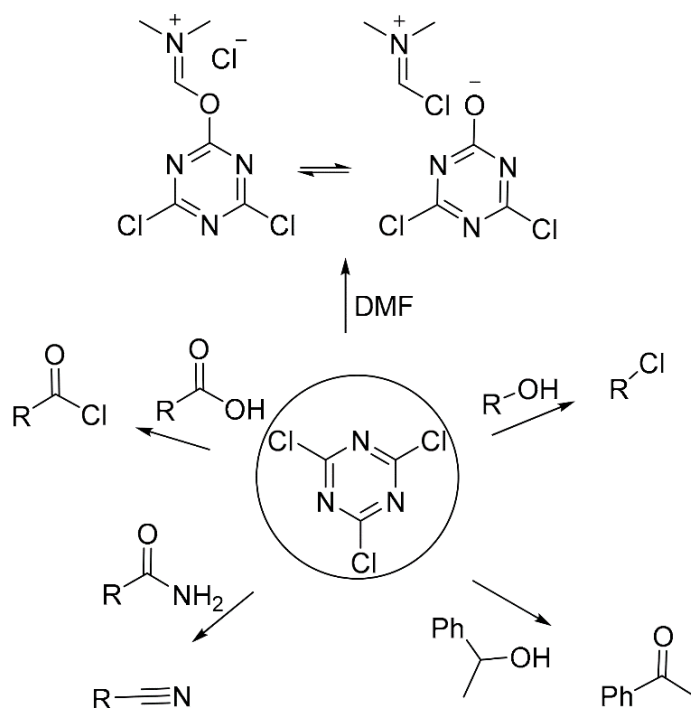
Tomado de (Synthesis, Aromatic Character And Reaction Of Triazines, 2020)

Para el caso de la tercera sustitución se requiere aplicar calor, manteniendo temperaturas entre 70 y 100 °C o temperatura del solvente usado; teniendo en cuenta la reactividad del nucleófilo, los tiempos de reacción podrán ser más prolongados, aproximadamente entre 24 y 48

horas. Estas reacciones que requieren condiciones duras y/o largas, pueden mejorar los tiempos de reacción utilizando radiación de microondas como fuente de energía (De La Hoz y Sánchez-Migallón, 2017).

A partir del control de temperatura durante las reacciones de sustitución nucleofílica permite la síntesis de triazinas 2,4,6-trisustituidas de forma selectiva de aminas, alcoholes, amidas, entre otros como se muestra en la figura 5 a continuación; en nuestro caso para la adición de glicina, valina y melanina.

**Figura 5.** Reacciones de sustituciones nucleofílicas en el cloruro cianúrico.



Tomado de (Salmeia et al., 2019)

La 1,3,5-triazina y sus derivados participan en todo tipo de interacciones, a saber, coordinación, enlaces de hidrógeno, electrostáticas, transferencia de carga y atracciones e interacciones aromáticas-apilamiento. Presentan un carácter muy versátil para la formación de enlaces no covalentes, esto se debe al par electrónico libre del Nitrógeno, el ambiente electrónico del anillo heteroaromático (interacción electrones  $\pi$ - $\pi$  e interacción entre  $\pi$ -catión), facilidad de sustitución del cloro e interacciones entre sus enlaces  $\sigma$  (De La Hoz y Sánchez-Migallón, 2017) (Mooibroek y Gámez, 2007). Los derivados de s-triazina han demostrado su gran potencial en esta creciente área de la química de materiales, tanto por sus capacidades de interacción  $\pi$  como por su aptitud para participar en intrincadas redes de enlaces de hidrógeno (Mooibroek y Gámez, 2007).

La contaminación antropogénica del medio ambiente por metales pesados puede ocurrir a través de diversos medios, como las operaciones mineras, la utilización de fertilizantes, herbicidas y pesticidas, y el riego de tierras agrícolas con aguas residuales no tratadas y efluentes industriales (Zaynab et al., 2022). Los metales pesados, a diferencia de los contaminantes orgánicos, no son biodegradables y tienden a acumularse en los organismos vivos cuando se liberan al medio ambiente, lo que puede afectar negativamente la salud de todas las formas de vida, incluidos los humanos, los animales y las plantas (Feng et al., 2022). La exposición crónica a metales pesados en bajas concentraciones puede tener efectos negativos en el medio ambiente y el cuerpo humano, incluidos efectos teratogénicos y cancerígenos (Yao et al., 2019). Los metales pesados pueden ingresar al cuerpo humano a través de diversas rutas, como la absorción, el contacto con la piel y la inhalación, lo que resulta en una variedad de problemas de salud que van de leves a graves, incluidos intestinos sueltos, ansiedad, enfermedades pulmonares, fatiga, problemas renales, problemas estomacales y problemas de la piel. infecciones, problemas neurológicos y crecimiento maligno (Shah y Daverey, 2020).

A raíz de esta problemática, a nivel mundial se han creado resoluciones, leyes y normas que rigen la calidad de agua potable que puede ser utilizada por parte de las personas en sus actividades cotidianas. Este control de la calidad permite detectar regular la cantidad aceptable de metales pesados en agua potable, y alertar a las autoridades en caso de presentarse un aumento repentino.

Es en este punto que las técnicas de detección son de vital importancia, las técnicas de fluorescencia han sido ampliamente estudiadas durante las últimas décadas, pueden ser empleadas de forma práctica para la generación de sensores químicos (espectroscopia de fluorescencia), etiquetado fluorescente, tintes, detectores biológicos, entre otros (Shi et al., 2023). Es una técnica altamente selectiva y rápida que se emplea en la determinación de iones de metales pesados en cualquier muestra de suelo o agua, ser vivo, u objeto de consumo alimenticio (Yan et al., 2022). Los sensores fluorescentes son compuestos químicos con la capacidad de emitir luz tras la excitación de esta; a través de su diseño y creación es posible obtener moléculas que respondan a la presencia de un analito objetivo, esto ocurre gracias a la modificación de sus propiedades fisicoquímicas (Rajasekar et al., 2023).

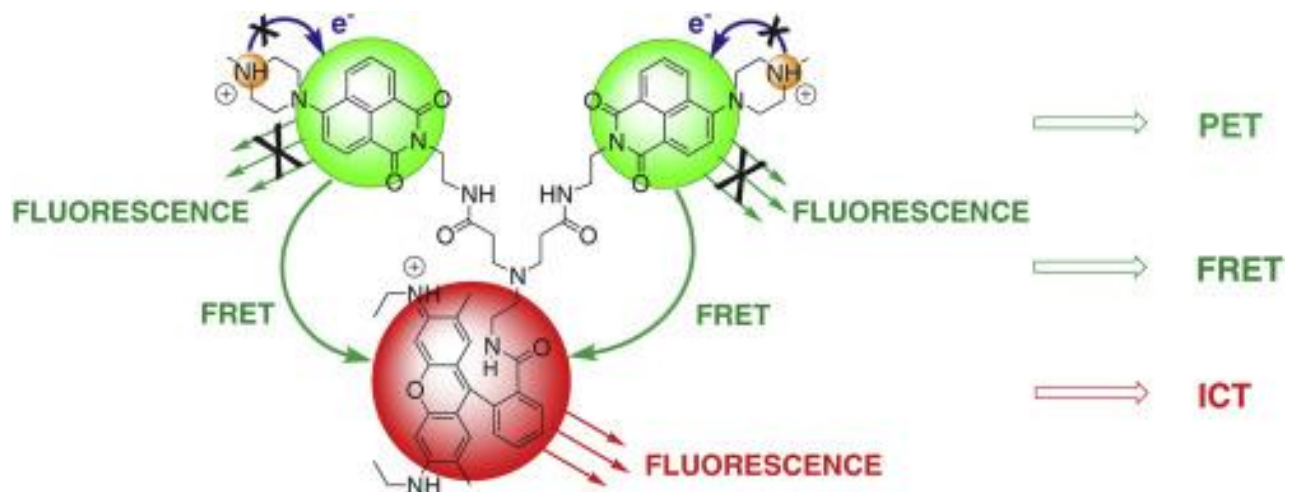
Para la detección de iones metálicos, se debe emplear la estrategia de tener sitios de quelación de metales prediseñados en la estructura, los cuales permitan unir a fluoróforos específicos o integrarse en el fluoróforo como parte del grupo de unión al metal (Yan et al., 2022). Los principales mecanismos de fluorescencia involucrados en el diseño de los quimiosensores se presentan en la figura 6 a continuación:

Transferencia de electrón foto inducida (PET): El donante y el aceptor de electrones forman un complejo de transferencia de carga, que se relaja desde el estado excitado al fundamental con o sin emisión de un fotón.

Transferencia de carga interna (ICT): un solo fluoróforo debe contener tanto un grupo donante como un grupo aceptor de electrones, involucrando una redistribución de carga en la molécula excitada que produce un dipolo de estado excitado muy grande.

La Transferencia de Energía de Resonancia (FRET): Este mecanismo implica la transferencia de energía desde el estado excitado de un fluoróforo "donante" a un fluoróforo "aceptor". En la mayoría de los casos, la FRET ocurre entre dos fluoróforos distintos con el espectro de emisión superpuesto del "donante" y el espectro de absorción del "aceptor" (L. Wu et al., 2020) (Kumar et al., 2024).

**Figura 6.** Representación de los principales mecanismos de fluorescencia.



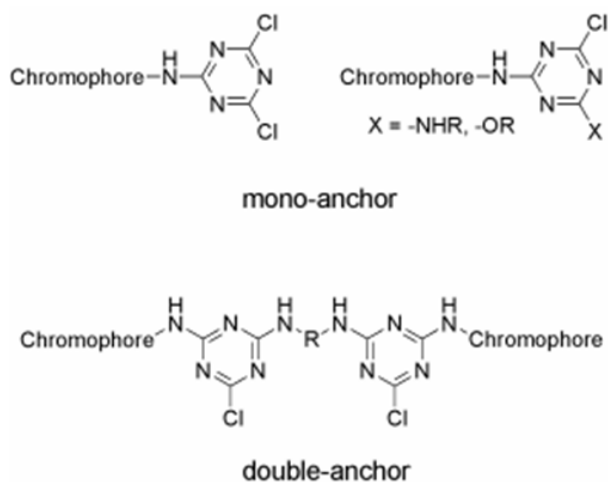
Tomado de (Georgiev et al., 2014)

La presencia de heteroátomos en la molécula aumenta la posibilidad de unión de iones metálicos al sensor objetivo, además de la alteración en sensibilidad por los sustituyentes. Existen dos formas de respuesta por parte del sensor de fluorescencia siendo el efecto "TURN OFF" la intensidad disminuye, lo que se conoce como fluorescencia apagada o extinción; y el efecto

“TURN ON” a intensidad aumenta, lo que se conoce como fluorescencia encendida o mejora (Wan et al., 2020).

La utilización del cloruro cianúrico y en general de las s-triazinas y sus aplicaciones fluorescentes se vienen estudiando y fabricando desde el siglo anterior; estas moléculas pueden funcionar como colorantes reactivos, en general, contienen grupos funcionales que pueden sufrir reacciones de adición o sustitución con los grupos amino o hidroxilo presentes en la fibra. Esto dio paso a un desarrollo comercial; en el cual se introdujo el tinte Proción-MX por ICI (Gröger, H.; et al. 2000). Existen dos categorías principales de detectores fluorescentes de triazinas, las mono y di sustituidas. Los tintes de triazina di sustituida son más reactivos y se pueden aplicar sin calor, pero son más sensibles a la hidrólisis (Hatfield, 2007). Debido a la actividad reducida de la triazina mono sustituida estos compuestos requieren calor para los derivados de fijación y son muy adecuados para la impresión (Benkhaya et al., 2020) (Hatfield, 2007). En medio alcalino, la ionización del grupo hidroxilo provoca una reubicación de la carga negativa de los átomos del anillo de triazina, mientras que el átomo de cloro se inactiva y el carbono que se une al cloro se vuelve menos electrófilo (Benkhaya et al., 2020). Como se observa en la figura 7, la estrategia de síntesis utilizada para producir estos compuestos permite la incorporación de dos cromóforos diferentes en un solo sistema. Esto amplía enormemente la gama de posibles colores.

**Figura 7.** Aplicaciones de *s*-triazinas: Reactivos colorantes de triazina de mono y de doble sustitución.



Tomado de (Hatfield, 2007)

El núcleo de 1,3,5-triazina molécula que exhibe una excelente actividad antimicrobiana incluyendo actividad antibacteriana y antifúngica (Marín-Ocampo et al., 2019). Los aminoácidos como sustituyentes son un campo que no ha sido muy estudiado, Corrochano preparó una serie de triazinas derivadas de iminas con rendimientos buenos a excelentes (47% –92%) utilizando condiciones verdes, irradiación con microondas en ausencia de un catalizador ácido (Corrochano et al., 2016).

Las ventajas de la quimioluminiscencia incluyen una instrumentación relativamente simple requerida, los límites de detección muy bajos y el amplio rango; sin embargo, tiene dos grandes limitaciones: La primera es una falta general de conocimiento del mecanismo de reacción quimioluminiscente; y la segunda una ausencia de selectividad a analitos, lograr que el quimiosensor detecte únicamente un analito es un problema que aún se encuentra en investigación (Deepa S., et al, 2023).

El campo de los quimiosensores ha recorrido un gran camino desde sus primeros descubrimientos (siglo XX), hasta la actualidad; se han observado la creación de sensores ópticos que tienen como ligando moléculas fluorescentes o con capacidades colorimétricas que permiten la detección de analitos objetivos, ya sean químicos, biológicos, contaminantes, etc. Con el tiempo han logrado aumentar su sensibilidad, métodos de fabricación y transporte, etc. (Wu et al., 2024).

## **2.2 Marco legal**

El decreto 475 de 1998 por el cual se expiden normas técnicas de calidad del agua potable donde se dan a conocer las concentraciones de metales pesados como Cd, Hg, Pb y Cr que al sobrepasar dichos valores establecidos tienen reconocido efecto adverso en la salud humana, las concentraciones son 0.003ppm para Cd, 0.001ppm para Hg, 0.01ppm para Pb y 0.01ppm para Cr. Las disposiciones del presente decreto son de orden público y de obligatorio cumplimiento y con ellas se regulan las actividades relacionadas con la calidad del agua potable para consumo humano (Ministerio de salud pública, 1998).

La resolución 2115 del 2007 establece las características químicas del agua para consumo humano de los elementos, compuestos químicos y mezclas de compuestos químicos diferentes a los plaguicidas y otras sustancias que al sobrepasar los valores máximos aceptables tienen reconocido efecto adverso en la salud humana, deben enmarcarse en los valores máximos aceptables presentados en la tabla 25 (características químicas que tienen reconocido efecto adverso en la salud humana) en el apéndice A.

## **2.3 Antecedentes**

Está creciendo el interés en el uso de la tecnología de fluorescencia para investigar el tratamiento del agua potable centrándose en la coagulación, la adsorción, la filtración por

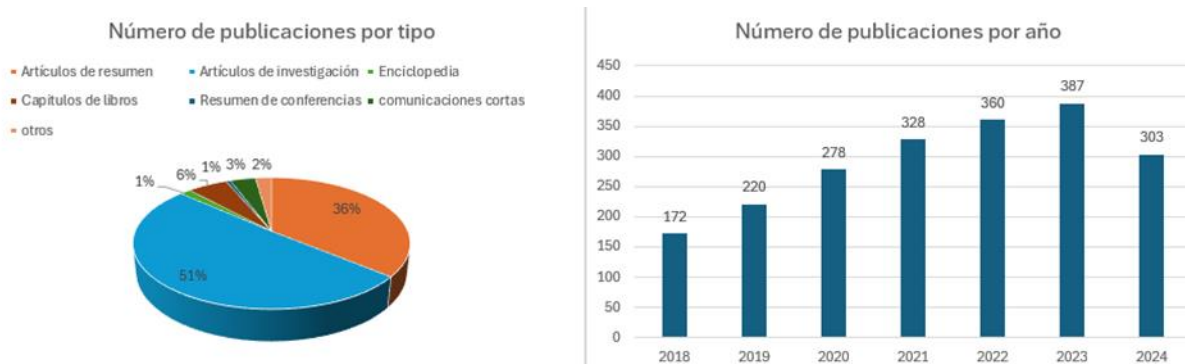
membrana y la desinfección (L. Li et al., 2020). Los sensores basados en fluoróforos podrían someterse a tres posibles mecanismos de detección al detectar un analito, a saber, (i) agotamiento de la intensidad de la fluorescencia (FL), lo que se conoce como extinción o apagado de FL, (ii) aumento de la intensidad de FL, que se conoce como FL de encendido, y (iii) el desplazamiento del espectro de emisión a una longitud de onda diferente (Huy et al., 2022) los sensores químicos se utilizan frecuentemente para detectar numerosos compuestos nocivos que se encuentran al alcance de la mano. Debido a su alta selectividad, sensibilidad y bajo costo de procedimiento (Yan et al., 2022), la técnica basada en espectrofotometría láser ha demostrado ser extremadamente beneficiosa para la detección de iones metálicos en comparación con otros métodos (Sreehari et al., 2023).

En este sentido, los sensores fluorescentes son objetivos atractivos para una detección rápida, robusta y no destructiva. La fluorescencia es una técnica prometedora y sensible para la determinación de un analito con alta selectividad. Los sensores de fluorescencia ofrecen dispositivos portátiles para la detección in situ de metales pesados. Se ha empleado una gran variedad de compuestos orgánicos, inorgánicos e híbridos, así como nanocompuestos, para desarrollar sensores fluorescentes sensibles y selectivos (Z. Yan, et al., 2022). Entre estas pequeñas moléculas orgánicas portadoras de heteroátomos se encontraron objetivos más adecuados para el desarrollo de sensores fluorescentes debido a su fácil síntesis y naturaleza multidentada, que facilitan la detección rápida de cationes metálicos con alta fidelidad. Las moléculas orgánicas pequeñas exhiben características optoelectrónicas notables que las convierten en aplicaciones en la fabricación de materiales avanzados y sistemas biológicos (Iftikhar et al., 2023).

Al realizar una revisión de las publicaciones sobre el avance de artículos sobre los sensores fluorescentes para la detección de iones de metales pesados en medio acuoso reveló que la editorial

académica Elsevier ha publicado un total de 2366 documentos de investigación durante los últimos 6 años (2018-2024); como se puede apreciar a continuación en la figura 8, existe un creciente interés en su investigación, como se muestra en el aumento de publicaciones a través del tiempo. El año que presenta mayor cantidad de publicaciones hasta ahora corresponde a 2023; según la tendencia observada para final del año 2024 se presume una mayor cantidad de publicaciones que el año anterior.

**Figura 8.** Análisis de las publicaciones de la editorial ScienceDirect (Elsevier B.V, 2024) sobre sensores fluorescentes para la detección de iones de metales pesados en el agua desde 2012 hasta 2022.



Las revisiones recientes, centradas en la síntesis de sondas fluorescentes, discutieron las preferencias de detección de iones de metales pesados y describieron una variedad de aplicaciones potenciales de los sensores sintetizados (Liu et al., 2024) (Iftikhar et al., s. f.) (Elbayoumy et al., 2024) (X. Chen et al., 2023) (Xu et al., 2022) (Zhu et al., 2023).

Las técnicas ópticas tienen buena selectividad porque se pueden usar reactivos cromogénicos selectivos y colorantes indicadores donde pueden interactuar con un ion metálico específico (Oehme y Wolfbeis, 1997). En comparación, los métodos electroquímicos son más

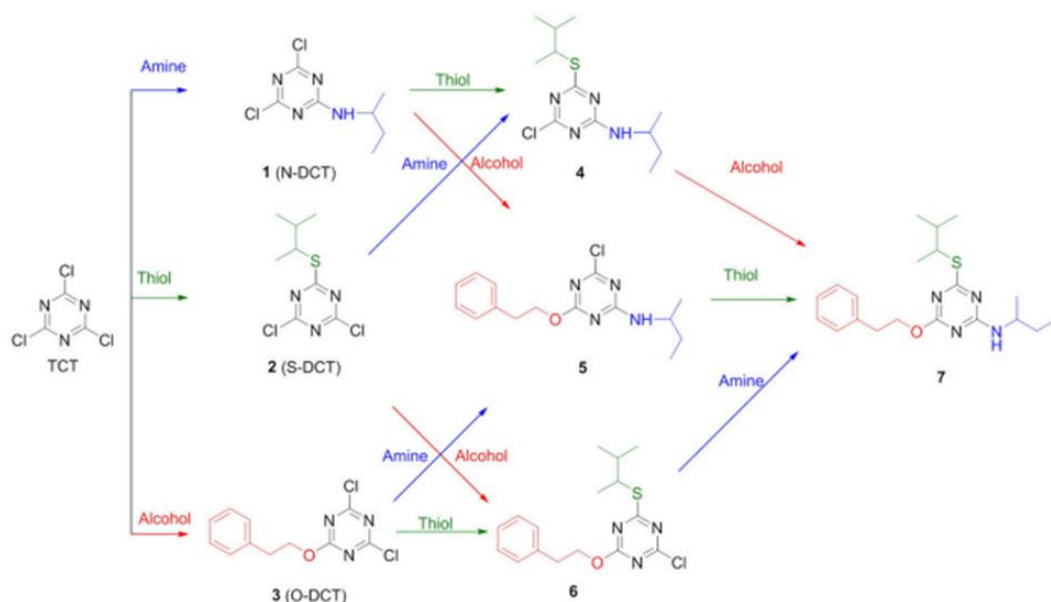
rentables, rápidos, fáciles, fiables y adecuados para aplicaciones de campo (Bansod et al., 2017). Se han sintetizado muchos materiales para detectar iones metálicos, como materiales a base de carbono (Raju et al., 2023), nanopartículas metálicas (Hyder et al., 2022), óxidos metálicos (Dharmalingam et al., 2022), nanocompuestos (Naushad, 2014).; Batool et al., 2021; Ali et al., 2022b) y estructuras metalorgánicas (MOF) (Kajal et al., 2022).

En recientes investigaciones se ha observado una tendencia por emplear compuestos fluorescentes o colorantes que presenten una baja toxicidad tanto para el ambiente como para el ser humano, ya que la gran mayoría se desarrollan con fines analíticos, relacionados con áreas de salud o clínicos y con fines de detección de contaminantes en matrices de agua y suelos principalmente. Uno de los compuestos que ha sido ampliamente utilizado es la fluoresceína, el cual expone características notables como su baja toxicidad y solubilidad en agua, siendo empleado con fines oftalmológicos en exámenes clínicos («Preface», 1998). En ámbitos químicos, la fluoresceína se puede describir como un compuesto orgánico y un colorante basado en el motivo estructural tricíclico xanteno, que pertenece formalmente a la familia de los colorantes triarilmetina (Gessner y Mayer, 2000) aparece como un sólido amorfo amarillo o cristales de color rojo anaranjado. Estos últimos presentan una fluorescencia de color amarillo verdoso por la luz reflejada. Es soluble en agua y en bases acuosas diluidas (PubChem, s. f.). Las soluciones alcalinas muy diluidas exhiben una intensa fluorescencia de color amarillo verdoso por la luz reflejada. Se utiliza como tinte para cosméticos, limpiadores, otros productos para el hogar y diagnóstico vascular y oftálmico (puede estar en forma de sal de sodio); Se utiliza como indicador de agua (detectar fugas, fuentes de contaminación y para rescates marítimos), indicador de adsorción y colorante intermedio; utilizado como reactivo analítico y clínico. (Sjöback et al., 1995)

Para la detección de iones de metales pesados en muestras de agua, los artículos revisados se trabajan sobre sensores basados en puntos cuánticos, sensores basados en nanomateriales (nanopartículas y membranas nanofibrosas), sistemas de detección de micro fluidos, al igual que estructuras orgánicas moleculares como sensores basados en polímeros covalentes, entre otros (Iftikhar et al., 2023). Sin embargo, se encuentra poca información respecto a sensores basados en triazinas, y los artículos sobre ligandos de glicina, valina o fenilalanina son escasos. Debido a lo anterior, se realiza una revisión sobre los sensores fluorescentes basados en núcleos de triazinas para la detección de iones de metales pesados en soluciones acuosas.

Para iniciar con la revisión de sensores basados en triazinas, se considera necesario conocer ciertas propiedades de adición o sustitución de la molécula principal; por ello el primer artículo a revisar corresponde a la Quimioselectividad Ortogonal de la 2,4,6-Tricloro-1,3,5-Triazina (TCT) como un Enlazador Trifuncional con Diferentes Nucleófilos trabajo desarrollado por Anamika Sharma y grupo de colaboradores. En este estudio se exploran los tres sitios ortogonales para la sustitución nucleofílica aromática en el cloruro de cianúrico (TCT). Se abordó experimental y teóricamente el orden preferencial de incorporación de diferentes nucleófilos (como alcohol, tiol y amina). Se encontró que el orden preferencial para la incorporación de nucleófilos en TCT es alcohol > tiol > amina. La singularidad de TCT es que reacciona con casi todos los tipos de nucleófilos (S, O, N). Además, los tres puntos reactivos están conectados, ya que después de la introducción del primer nucleófilo, la reactividad de los otros Cl restantes cambia. Una vez que se ha llevado a cabo la segunda sustitución, la reactividad del tercer Cl difiere de la de los dos primeros. Sin embargo, hasta donde sabemos, la reactividad de TCT hacia nucleófilos distintos, incluyendo los tres más importantes biológicamente (S, O, N), no ha sido abordada hasta la fecha, ni se ha explorado el efecto de la sustitución de "-Cl" con grupos donadores de electrones

(generados a partir de nucleófilos) en la reactividad de TCT. Se sabe que el carácter básico del nucleófilo entrante que reemplaza al tercer cloro se debilita debido a la presencia de sustituyentes en TCT, del anillo de triazina, a través de la pérdida de electrones de enlace  $\sigma$  de un átomo de cloro y la ganancia de donación electrónica orbital  $\pi$  de los nucleófilos agregados (Rapoport y Smolin, 2009). Tomando la definición de quimioselectividad ortogonal como "la discriminación entre los sitios reactivos en cualquier orden", se puede concluir que solo la sustitución aromática doble nucleofílica de S, O en TCT es quimioselectiva ortogonal, como se demuestra por las dos estrategias utilizadas para obtener 6. La sustitución doble restante y también la sustitución triple son solo ejemplos de quimioselectividad y no de ortogonalidad. La introducción de la amina como el primer nucleófilo impide la incorporación posterior de tior o alcohol. Para comprobar el orden de sustitución se realizaron pruebas en cromatografía de capa fina y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con el fin de comparar la competitividad de la reacción, observar que reactivo se consume más rápido y cual deja mayores trazas en periodos de monitoreo de 30 min. Antes de iniciar con la fase experimental y análisis, fue necesario tratar de establecer un esquema base del orden de sustitución, llegando al esquema de la figura 9. Los conocimientos que se tuvieron en cuenta fueron la electronegatividad, la clasificación de los nucleófilos (fuertes y débiles) y polaridad (Sharma et al., 2018).

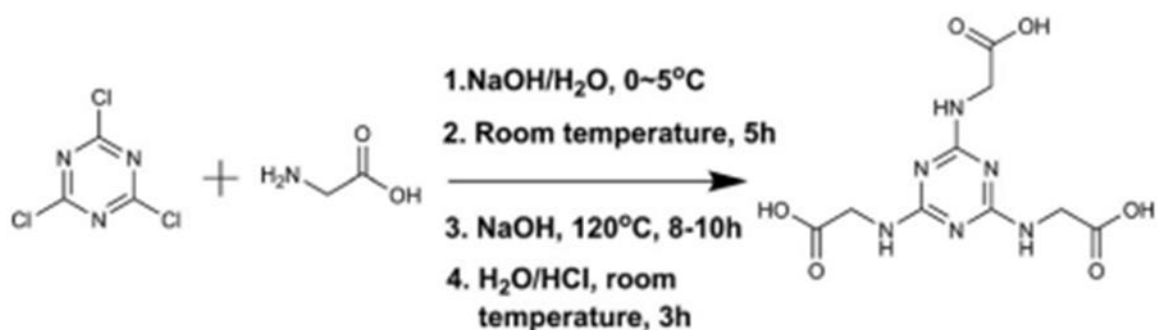
**Figura 9.** Diferentes posibles rutas para la síntesis de ligandos del cloruro cianúrico

Tomado de (Sharma et al., 2018).

Este artículo revisado corresponde a Xin Jun Wang y colaboradores, los cuales sintetizaron un derivado de triazina (N, N', N''-1, 3, 5-triazina-2, 4, 6-triyltris-glycine [TTG]) semi-bio-basado en polipropileno intumesciente como retardante de llama. El TTG (tris-glicina de triazina) fue preparado utilizando glicina y cloruro de cianúrico. La estructura del TTG fue caracterizada mediante resonancia magnética nuclear de protón ( $^1\text{H}$  NMR) y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). El TTG se aplicó en compuestos de polipropileno (PP)/retardantes de llama intumescientes para mejorar su retardación al fuego. En teoría, el aminoácido, que tiene un grupo amino, puede reaccionar con el cloruro de cianúrico (CYC) para formar un derivado de triazina como se muestra en la figura 10. Este producto debería ayudar a modificar la retardación al fuego de los IFR (retardantes de llama intumescientes) en PP. Para la síntesis de este derivado de triazina trisustituido se realizó de forma continua durante aproximadamente de 20 horas, esto debido a las fases de sustitución de la molécula, la mono sustitución ocurrió a temperatura de  $0^\circ\text{C}$ , la segunda sustitución a temperatura ambiente ( $23^\circ\text{C}$ -

30°C) y la última se realizó aplicando calentamiento (120°C). Los moles de glicina se adicionan de acuerdo con la correspondiente sustitución, manteniendo la temperatura y el pH básico (10-12) durante la reacción. En los resultados se observó el aumento de la retardación al fuego no se debe al aumento de la cantidad de carbón, sino a la estructura porosa y la morfología del carbón, lo cual es demostrado por SEM. Se observa una capa de carbón con estructura microporosa y sin defectos para PP/IFR/TTG, que proporciona una buena barrera protectora para aislar el calor y el oxígeno y prevenir que la matriz se quemara (Wang et al., 2019).

**Figura 10.** Proceso de síntesis de *N, N', N''-1, 3, 5-triazina-2, 4, 6-triyltris-glycine [TTG]*



Tomado de (Wang et al., 2019).

La síntesis de un sensor fluorescente basado en triazina (*N*<sup>2</sup>,*N*<sup>4</sup>,*N*<sup>6</sup>-tris(benzo[d]tiazol-2-il)-1,3,5-triazina-2,4,6-triamina (TBT)) para la detección secuencial de *Hg*<sup>2+</sup> y L-cisteína fue un trabajo realizado por Hasher Irshad y grupo de colaboradores. El compuesto fue diseñado y sintetizado a partir de cloruro de cianúrico fácilmente disponible. La síntesis del sensor TBT involucra solo un paso. El 2-aminobenzotiazol fue tratado con cloruro de cianúrico en presencia de ácido acético glacial durante 45 minutos a 118°C, lo que produjo el sensor TBT como se observa en la figura 11. El compuesto sintetizado fue caracterizado mediante espectroscopía de resonancia

magnética nuclear (RMN). Se obtuvieron espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de  $H^1$  y  $C^{13}$ . Esto se realizó con la intención de detectar de manera secuencial  $Hg^{2+}$  y L-cisteína.

Esta capacidad proviene de la porción de azufre y la cavidad adecuada de la molécula. TBT mostró habilidades de detección excepcionales para detectar selectivamente iones de  $Hg^{2+}$  y L-cisteína en muestras reales con concentraciones. Cuando se introdujo  $Hg^{2+}$  a TBT, se observó un aumento en la intensidad de emisión después de la adición de una concentración creciente de iones  $Hg^{2+}$  de 0 a 30  $\mu M$ . La constante de asociación ( $K_a$ ) fue posteriormente calculada a partir de la región lineal del gráfico de Benesi-Hildebrand y se determinó como  $2.3 \times 10^5 M^{-1}$ , lo que sugiere una alta sensibilidad del sensor TBT para  $Hg^{2+}$ . Esta mejora en la emisión se atribuyó al bloqueo de la transferencia de carga intramolecular (ICT) y a la fluorescencia mejorada por quelación (CHEF) tras la interacción con  $Hg^{2+}$  (Irshad et al., 2023).

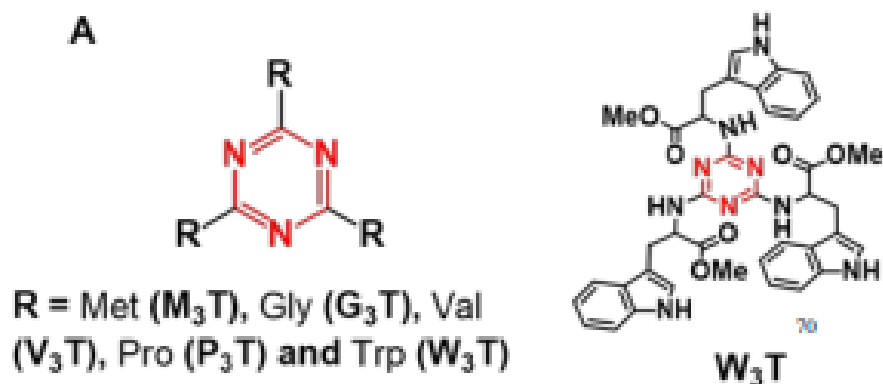
**Figura 11.** Síntesis del sensor  $N^2,N^4,N^6$ -tris(benzo[d]tiazol-2-il)-1,3,5-triazina-2,4,6-triamina (TBT)



Tomado de (Irshad et al., 2023).

Las triazinas han sido empleadas en diversos campos de investigación, en la medicina se le ha encontrado una gran utilidad en distintas áreas, desde análisis, cromóforos, etc. Surajit

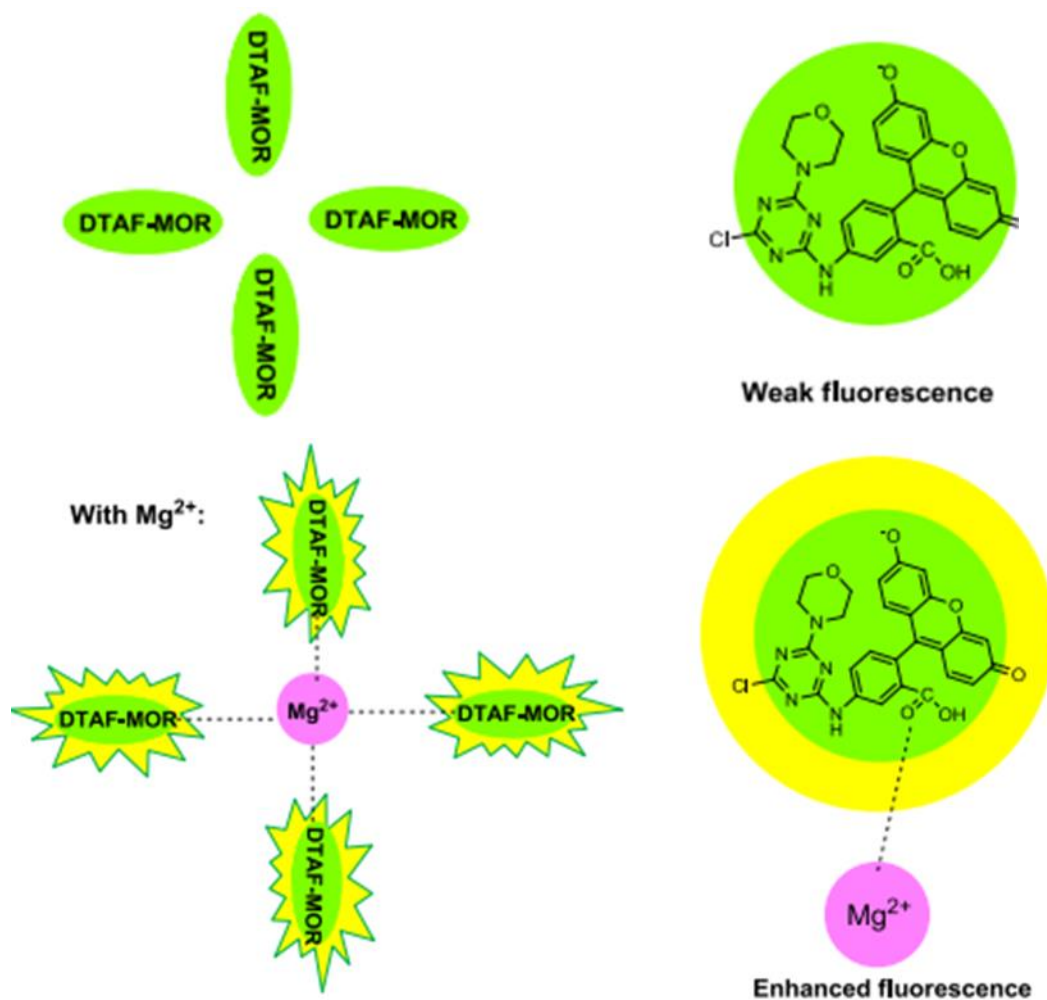
Barman y grupo de colaboradores desarrollaron una investigación sobre un propulsor molecular tripodal perturba la dinámica de los microtúbulos: El indol actúa como una hoja y juega un papel crucial en la actividad anticancerígena. Se puede describir como un inhibidor de microtúbulos tripodal rico en indol, que se une al sitio DCVJ de la tubulina e inhibe su polimerización. Causa la muerte apoptótica de células cancerosas sin afectar a las células normales e inhibe el crecimiento del tumor. Por último, los experimentos de STD-NMR y TR-NOESY revelan que el apéndice de indol juega un papel crucial en la interacción con la tubulina. Recientemente, la perturbación de la funcionalidad de los microtúbulos mediante moduladores químicos ha evolucionado como una estrategia efectiva para el desarrollo de agentes quimioterapéuticos con el fin de reducir las toxicidades no específicas. Entre ellos, el myoseverin basado en purina, ha surgido como un agente moderadamente efectivo contra la tubulina; sin embargo, la explotación del andamio de triazina para crear un inhibidor molecular dirigido a la función de la tubulina/microtúbulos no se ha explorado antes. Aquí, implementamos una estrategia simple para diseñar y construir una biblioteca de derivados de triazina simétricos funcionalizados con aminoácidos para controlar las funciones de la tubulina/microtúbulos. En resumen, sintetizamos moléculas pequeñas basadas en triazina simétrica con éster metílico de cinco aminoácidos (Gly, Val, Pro, Met, Trp) en las posiciones 2, 4 y 6 como se puede apreciar en la figura 12. (Barman et al., 2019).

**Figura 12.** Síntesis de derivados de triazina tri-sustituída

Tomado de (Barman et al., 2019).

Los investigadores Fengyan Ge de la universidad de Donghua, Shanghai realizaron un proyecto sobre un sensor de fluorescencia de un nuevo derivado de fluoresceína: [2-Morfolino-4-(6-cloro-1,3,5-s-triazina)-amino]fluoresceína. Este nuevo tinte fluorescente reactivo [2-morfolino-4-(6-cloro-1,3,5-s-triazina)-amino]fluoresceína basada en 5-aminofluoresceína se sintetizó mediante sustitución electrofílica como se aprecia en la figura 13. Se investigaron las propiedades fotofísicas, el efecto del disolvente, la sensibilidad al pH y la responsabilidad ante iones metálicos de este nuevo fluoróforo. En comparación con la 5-aminofluoresceína, el nuevo fluoróforo exhibió una fluorescencia más intensa y una vida útil más larga. La propiedad de fluorescencia del nuevo tinte fue afectada notablemente por diferentes disolventes y valores de pH, mostrando una fluorescencia más intensa en disolventes protónicos o un ambiente alcalino. Además, la intensidad fluorescente podría ser mejorada mediante la formación de complejos con iones metálicos, especialmente con  $Mg^{2+}$ . Los resultados muestran que el tinte fluorescente es un prometedor sensor eficiente para disolventes, iones y protones metálicos (Ge et al., 2015).

**Figura 13.** Representación esquemática del modo de complejión de DTAF-MOR con iones  $Mg^{2+}$ .

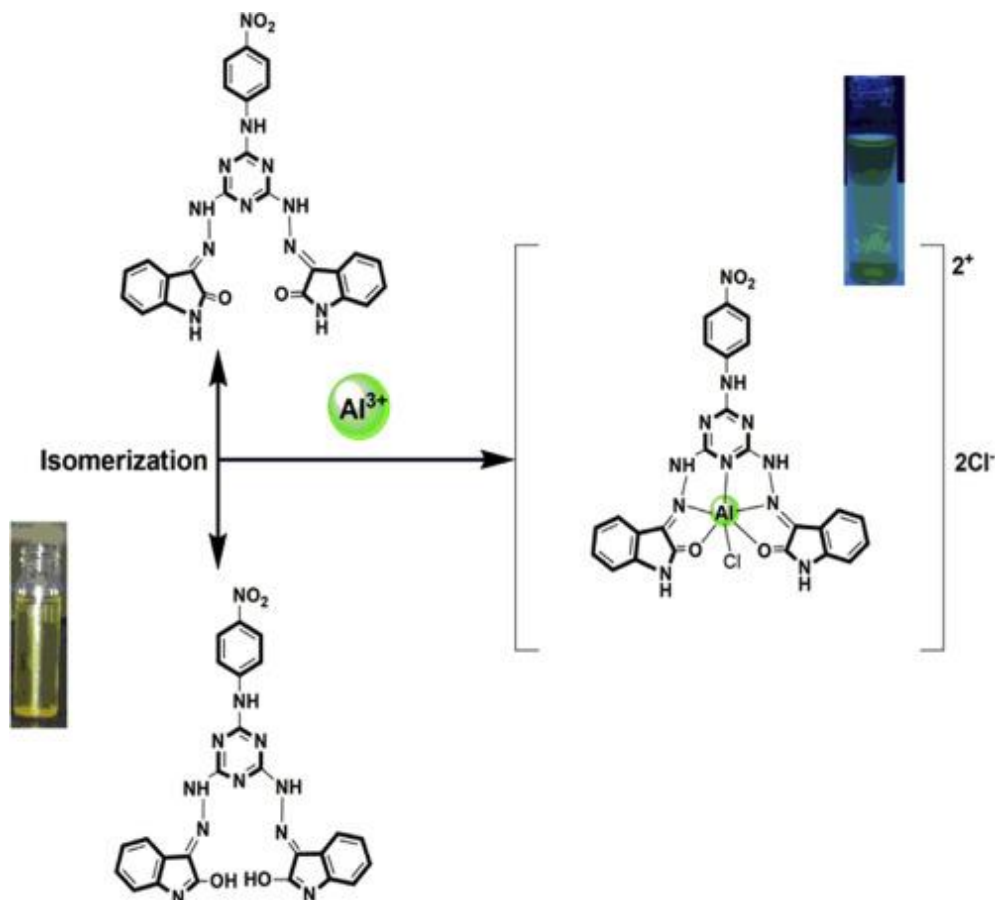


Tomado de (Ge et al., 2015).

En un nuevo ensayo fluorescente de iones  $Al^{3+}$  con (2,2'-(6-((4-nitrofenil)amino)-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(hidrazina-2-il-1-ilideno)) bis(indolin-3-ona) (NADO) que contiene un resto triazina desarrollado sobre otros iones metálicos comúnmente coexistentes como se observa en la figura 15. La actividad de complejación de NADO con varios iones metálicos en una solución etanólica se estudia específicamente mediante espectros fluorescentes. El NADO exhibe una

mejora significativa de la fluorescencia a 469 nm en presencia de  $Al^{3+}$  debido a la formación de un complejo. En condiciones optimizadas, el límite de detección es  $0,09 \mu M$  (Celestina et al., 2019).

**Figura 14.** Mecanismo de detección propuesto para el ion  $Al^{3+}$  por NADO

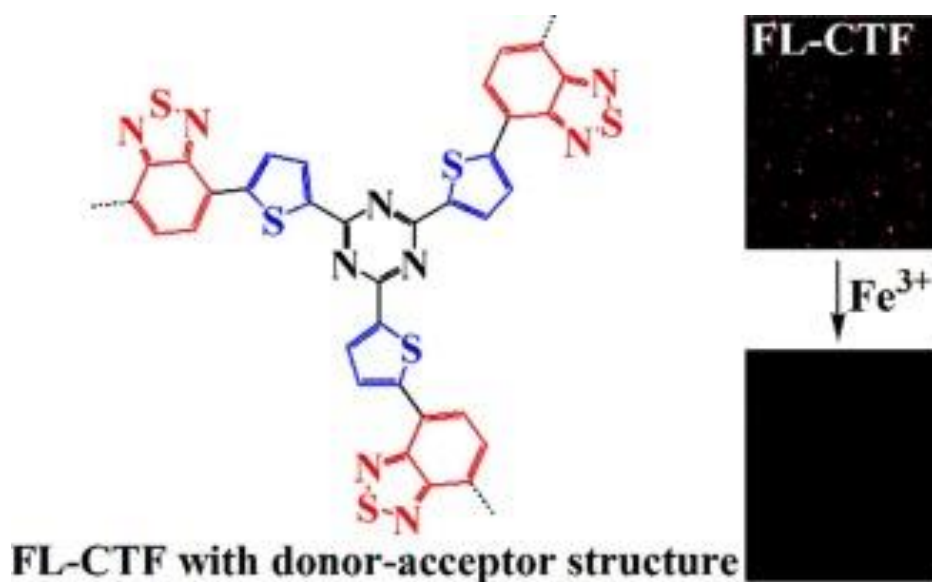


Tomado de (Celestina et al., 2019)

Se sintetizó una estructura de triazina covalente (FL-CTF) que consta de unidades de tiofeno donadoras de electrones y unidades de benzotiadiazol aceptoras de electrones mediante policondensación de Suzuki. La extinción de la fluorescencia aparece tras la adición de  $Fe^{3+}$  y la intensidad de la fluorescencia se recupera fácilmente tras la adición de un agente quelante fluoruro

de tetrabutylamonio como se puede apreciar en la figura 16. La transferencia de electrones de FL-CTF a  $Fe^{3+}$  deficiente en electrones y la interacción entre  $Fe^{3+}$  y sitios de nitrógeno en FL-CTF pueden conducir a la extinción de la fluorescencia. Los experimentos de interferencia indicaron que FL-CTF puede detectar selectivamente  $Fe^{3+}$  en presencia de otros iones metálicos o diferentes contra-aniones. Además, FL-CTF puede detectar  $Fe^{3+}$  con alta sensibilidad con un límite de detección de 0,78  $\mu$ M (D. Wang et al., 2021).

**Figura 15.** FL-CTF con estructura donante-aceptor selectiva y sensible de  $Fe^{3+}$



Tomado de (D. Wang et al., 2021).

### 3. Método

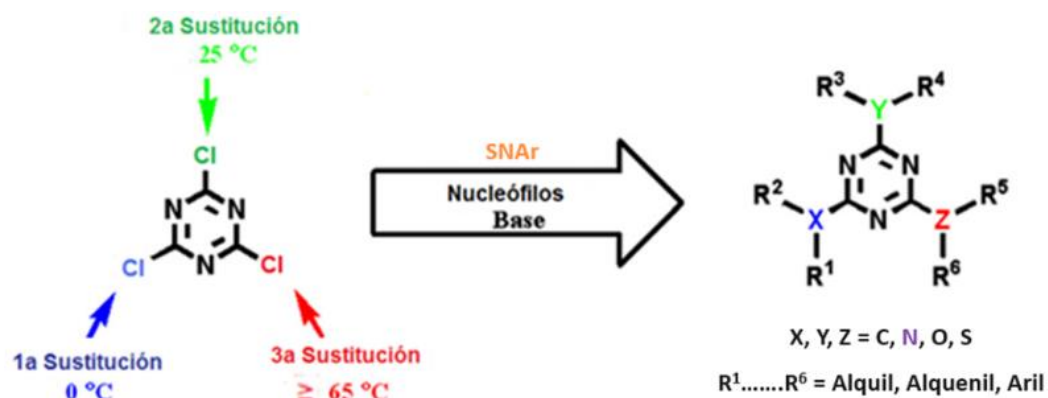
#### 3.1 Aspectos generales

Se realizó la síntesis de varios compuestos a partir del cloruro cianúrico (CC a partir de ahora), realizando sobre este, una serie de sustituciones nucleofílicas aromáticas (SNAr) con los

aminoácidos a estudiar (glicina, valina y fenilalanina) y con el compuesto fluorescente (fluoresceína), hasta la obtención de los quimiosensores que se utilizaron en la detección de iones metálicos en solución acuosa.

La reactividad de los átomos de cloro en el CC hacia los reactivos nucleófilos mediados por una base, disminuye a medida que avanza la reacción de sustitución. La primera sustitución ocurrió a temperaturas entre  $-15$  y  $0^{\circ}\text{C}$ , la segunda sustitución se produjo entre  $30$ - $50^{\circ}\text{C}$  y la tercera sustitución sucedió de  $90$  a  $150^{\circ}\text{C}$ . La sustitución escalonada con el aumento de la temperatura se justifica, debido a la disminución de la electrofilia de los centros por la liberación de electrones inductivos a través de los enlaces. (Disasa D. 2016). Estas reacciones de sustitución nucleofílica aromática requirieron de un tiempo prolongado y normalmente son de muy bajo rendimiento (más sustituciones, menor rendimiento de la reacción). (Asmamaw T. 2008). Se observa en la figura 17 las temperaturas en grados Celsius empleadas para las diferentes sustituciones nucleofílicas aromáticas sobre el cloruro cianúrico (CC).

**Figura 16.** Sustituciones nucleofílicas aromáticas en el anillo de triazina y temperaturas requeridas



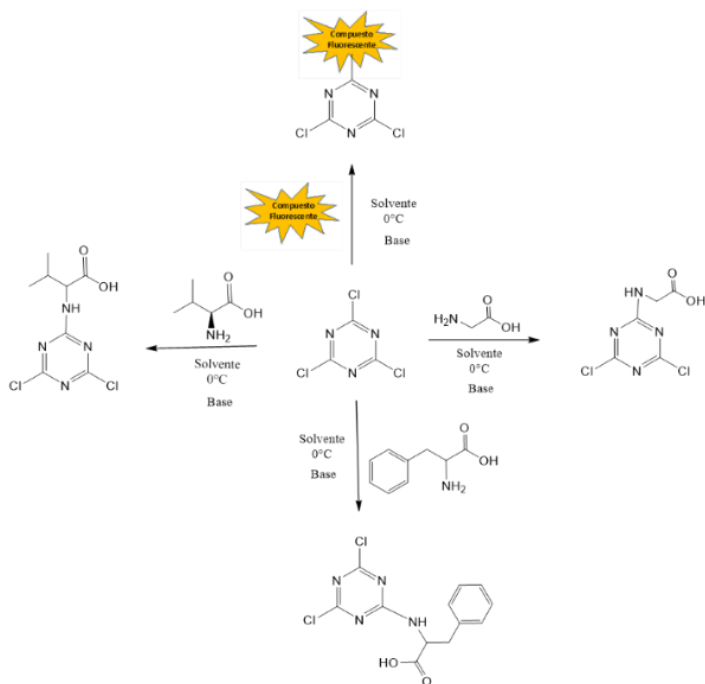
Tomado de (Mooibroek y Gamez, 2007)

### 3.2 Procedimiento general de síntesis de los derivados triazinas de aminoácidos y compuestos fluorescentes

#### 3.2.1 *Mono-sustitución nucleofílica aromática del cloruro cianúrico (CC).*

A un matraz de dos bocas provisto con agitador magnético, se adaptó un sistema de reflujo y se adicionó el NaOH o el K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5 equiv.) como base, 10 mL de acetonitrilo o acetona como disolvente y el sistema se mantiene en agitación hasta completa disolución. Se añadió el aminoácido (glicina, valina o fenilalanina) (1 equiv.) y/o el compuesto fluorescente (fluoresceína) (1 equiv.). El sistema se mantuvo a 0 °C al agregar el cloruro cianúrico (1 equiv.) por 30 min, se observó el producto de mono sustitución a los 15 min, evidenciado por cromatografía de capa fina. Este procedimiento se detalla en la figura 18.

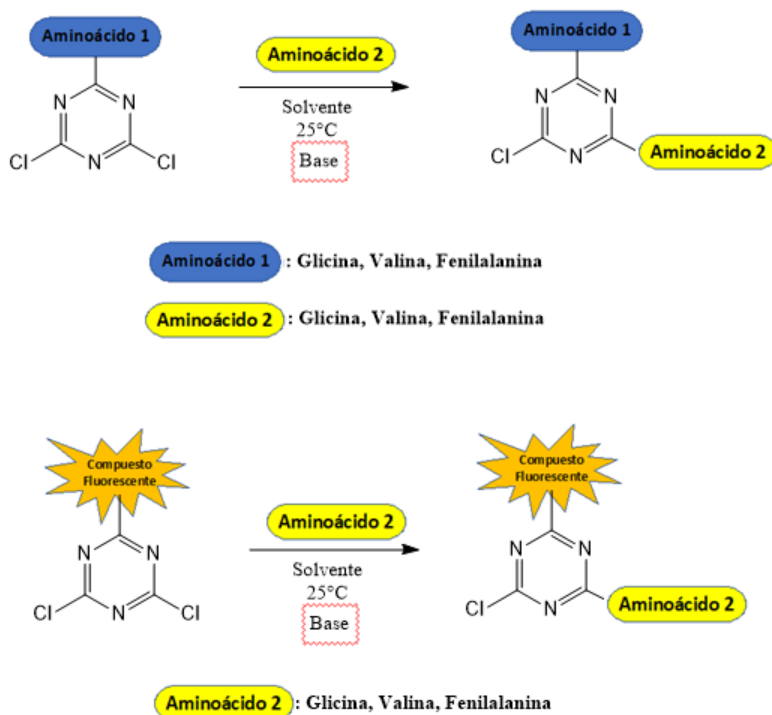
*Figura 17. Mono-sustitución del cloruro cianúrico con aminoácidos y/o compuestos fluorescentes.*



### 3.2.2 *Di-sustitución nucleofílica aromática del cloruro cianúrico (CC).*

A un matraz de dos bocas provisto con agitador magnético, se adaptó un sistema de reflujo y se adicionó el NaOH o el K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5 equiv.) como base, 15 mL de acetonitrilo o acetona como disolvente y el sistema se mantuvo en agitación hasta completa disolución. Se añadió el compuesto de triazina mono-sustituido (1 equiv.), y/o el aminoácido (glicina, valina o fenilalanina) (1 equiv.), y/o el compuesto fluorescente (fluoresceína) (1 equiv.). Se dejó el sistema a temperatura ambiente por 1 h y se observó la formación del producto de doble sustitución por cromatografía de capa fina. Este procedimiento se muestra en la figura 19.

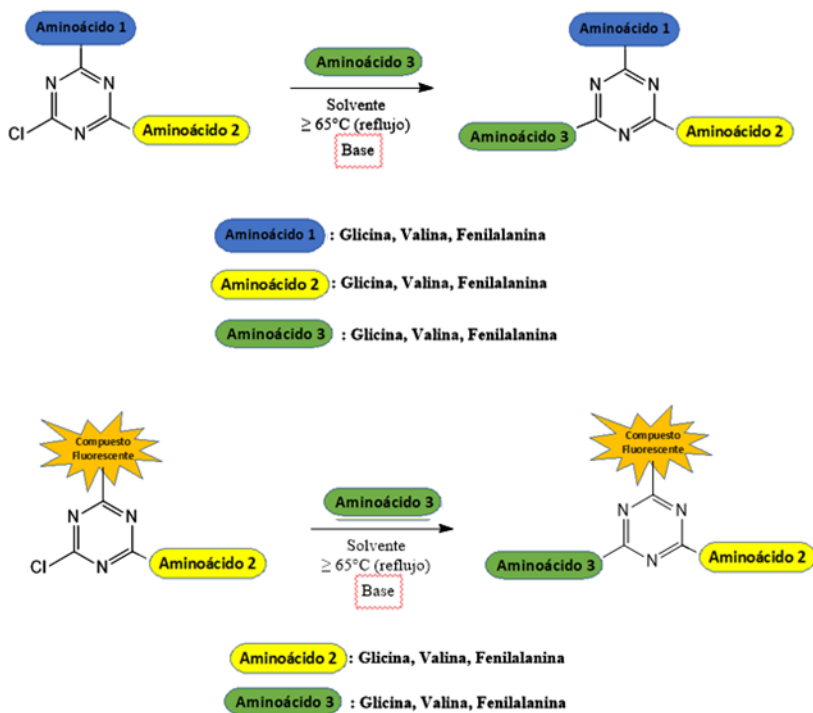
**Figura 18.** *Di-sustitución del cloruro cianúrico con aminoácidos y/o compuestos fluorescentes*



### 3.2.3 Tri-sustitución nucleofílica aromática del cloruro cianúrico (CC).

A un matraz de dos bocas provisto con agitador magnético, se adaptó un sistema de reflujo y se adicionó el NaOH o el K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5 equiv.) como base, 15 mL de acetonitrilo o acetona como disolvente y el sistema se mantuvo en agitación hasta completa disolución. Se añadió el compuesto de triazina di-sustituido (1 equiv.) y/o el aminoácido (glicina, valina o fenilalanina) (2 equiv.), y/o el compuesto fluorescente (fluoresceína) (2 equiv.), o para el caso de la tri-sustitución con el mismo aminoácido (glicina, valina o fenilalanina) (3 equiv.). El sistema se calentó a reflujo para dar la formación del producto tri-sustituido, que fue evidenciado por cromatografía de capa fina. El procedimiento se puede apreciar en la figura 20 a continuación.

**Figura 19.** Tri-sustitución del cloruro cianúrico con aminoácidos y/o compuestos fluorescentes



Para cada una de las sustituciones nucleofílicas aromáticas, transcurrido el tiempo de reacción, se llevaron a temperatura ambiente, se desmontó el sistema y se procedió a la neutralización del crudo de reacción con solución al 5% de HCl y lavados con H<sub>2</sub>O destilada (4 x 25 mL), se realizaron extracciones con acetato de etilo (4 x 15 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó en el evaporador rotatorio, el crudo fue absorbido en silica gel y se purificó por cromatografía de gravedad utilizando primeramente hexanos y gradiente de AcOEt/hexanos.

### **3.3 Caracterización química de compuestos**

#### **3.3.1 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR)**

Se utilizó la técnica de sólidos con KBr para los compuestos obtenidos, empleando el Espectrofotómetro IR con transformada de Fourier marca Shimadzu. Resolución máxima de 0,25  $cm^{-1}$ . Relación señal/ruido de 60,000:1. Rango de escaneo de 7800 a 350  $cm^{-1}$ , difusor de haz de Ge/KBr. Debe encontrarse en un ambiente entre 15-30°C. Software: LabSolution IR.

#### **3.3.2 Espectroscopia ultravioleta visible (UV-VIS)**

Se utilizó para los derivados de triazinas sintetizados el Espectrofotómetro UV-Vis Cary 60 Agilent Technologies. Software: Cary WinUV. Lámpara de xenón, rango de 190 a 1100 nm. Spinsolve 60 MHz.

#### **3.3.3 Resonancia magnética nuclear (NMR)**

Todos los compuestos derivados de triazinas se caracterizaron mediante RMN de protones (<sup>1</sup>H-RMN), utilizando como solvente dimetilsulfóxido deuterado ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO), cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) y/o agua deuterada (D<sub>2</sub>O), ajustando los desplazamientos químicos (δ) teniendo en cuenta que el pico residual del solvente deuterado, se utilizara el equipo de RMN Magritek.

1Frecuencia H: 60 MHz. 1H y 19F en todos los sistemas + X núcleos para sistemas de doble canal.  
Resolución: Spinsolve 60: <0,5 Hz (50%) / <20 Hz (0,55%). Software: Spinsolve, MestReNova.

### **3.3.4 Punto de Fusión (MP)**

Dentro de capilares cerrados se añadió el derivado de triazina para posteriormente ubicarlos en el compartimento del fusiómetro de marca Stuart de 120 V.

## **3.4 Análisis de quimiosensores con metales**

Se tomaron 13 soluciones de metales para su análisis con los quimiosensores presentados en la metodología; los metales utilizados fueron  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cr^{2+}$ ,  $As^{2+}$  a 1000 ppm

Para los sensores evaluados se realizó una solución de 10 ppm de cada uno, diluyendo el sólido en 0,5 mL de DMSO y aforando a 50 mL con agua destilada. En tubos de ensayo se añadió 2 mL del sensor y 2 mL de solución de metal (2:2), se dejó en la nevera durante un día y posteriormente se observó el comportamiento del sensor al poner los tubos bajo luz UV de longitud de onda larga.

La detección colorimétrica a simple vista y utilizando la lampara de luz UV de onda larga es la forma más rápida de apreciar cualitativamente la selectividad de los quimiosensores con los iones metálicos al presentar el fenómeno de fluorescencia y/o inhibición de la misma.

## **3.5 Cuantificación**

### **3.5.1 Determinación de $\lambda$ máx.**

Se tomó 1 ml de la solución del derivado de curcumina sintetizado y se diluyó a 10 ml con metanol, etanol o mezcla de DMSO/(etanol-agua) en un matraz aforado. Se analizó la solución en

un espectrofotómetro en el intervalo de 200 a 700 nm, determinándose así la longitud de onda máxima de absorción para los compuestos sintetizados.

### **3.5.2 Preparación de la curva de calibración**

A partir de la solución madre, se transfirieron diferentes alícuotas de 0,25, 0,5, 0,75, 1,0 y 1,5 ml a una serie de matraces aforados de 10 ml y se enrasó el volumen con metanol para obtener diluciones seriadas de las concentraciones de 2,5, 5,0, 7,5, 10,0 y 15,0 µg/ml y se determinaron sus respectivas absorbancias a la longitud de onda de máxima absorción frente al blanco de cada derivado de curcumina sintetizado. La curva de calibración se obtuvo trazando la absorbancia frente a la concentración correspondiente (Kościelniak, 2022).

Los aspectos referentes a la validación del método, rango de linealidad, precisión, límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) y veracidad se encontrarán explicados y referenciados en el apéndice B.

## **3.6 Prueba de toxicidad**

### **3.6.1 Ensayo toxicidad aguda *Allium cepa* L.**

Se realizó una prueba ecotoxicológica; con bulbos de cebolla morada (*Allium cepa*), con el fin de determinar los posibles efectos generados por los quimiosensores análogos de triazinas modificados con los aminoácidos mencionados anteriormente en este proyecto de investigación. La prueba con los bulbos de cebolla morada (*Allium cepa*) se hizo según el protocolo del libro “Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas” (Castillo, 2004, pp. 47-52). Con un periodo de 120 h de incubación, la cuantificación del efecto se determinó al establecer el porcentaje de inhibición del crecimiento de las raíces respecto a la longitud promedio de las raíces del control negativo.

El estudio inició con el llenado de tubos de ensayo con las respectivas soluciones de los quimiosensores análogos de triazinas modificados con los aminoácidos glicina, valina y fenilalanina hasta el borde del tubo, se colocaron bulbos de *Allium Cepa L* limpios sobre la boca del tubo asegurándose que la zona radicular esté inmersa en el líquido. Se dejaron los tubos en una gradilla localizada sobre una mesa que no presente vibraciones, estando a una temperatura de 20 °C y evitando la iluminación directa, durante 120 horas. Durante el tiempo de la prueba, se reestableció el volumen que se haya perdido por evaporación o absorción dos veces al día. Durante el tiempo de la prueba, se rellenó el volumen que se haya perdido por evaporación o absorción dos veces al día. Pasadas las 120 horas de exposición, se registró la longitud promedio de las raíces, para obtener el porcentaje de efecto de inhibición se sigue la operación:

$$\text{porcentaje de inhibición} = \frac{(\text{Longitud del control} - \text{Longitud de la muestra}) * 100}{\text{Longitud del control}}$$

Posteriormente, se graficó la curva de dosis- respuesta, luego a través del método Probit se calculó la concentración efectiva (CE50; está se define como la concentración de una sustancia que es capaz de inhibir el 50% de alguna función medible con respecto al comportamiento normal en agua (control negativo)). Los ensayos se hicieron por triplicado (Castillo, 2004). A continuación, se presenta el listado de condiciones seguidas para el desarrollo del experimento.

- Tipo de Ensayo: Estático
- Temperatura de la prueba: <25 °C
- Iluminación: Indirecta
- Recipientes: tubos de ensayo 10 x 1,5cm
- Número de replicas: 3
- Material Biológico para la prueba: Bulbos de cebolla morada (*Allium cepa*)
- Solvente de dilución: Agua

- Numero de concentraciones: 5
- Duración de la Prueba: 120 h
- Control negativo: Agua
- Control positivo: Cobre (II) a partir de la solución de  $\text{CuSO}_4$

## 4. Resultados obtenidos

### 4.1 Caracterización química de compuestos

La caracterización química de los compuestos se realizó a través de espectroscopia infrarroja (IR) y de resonancia magnética nuclear (RMN) de protón; y se compararon con lo reportado en la literatura (Wang, T y colaboradores, 2023), en donde se identifican grupos funcionales por medio de IR y para compuestos con núcleos triazínicos sustituidos (Vidal, 2016) para señales de protón para la técnica espectroscópica de RMN y comparados con el predictor de RMN de ChemDraw 20.0.

### 4.2 Obtención monoderivados de triazina

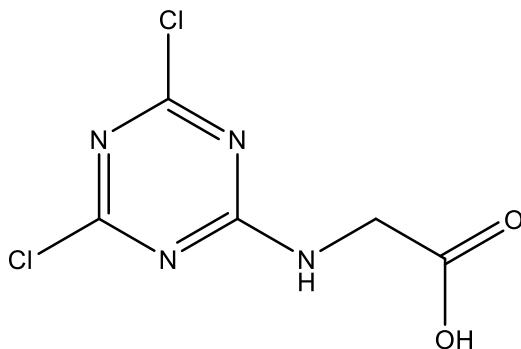
La obtención de los monoderivados de triazina se realizó a través de la metodología presentada anteriormente para cada uno de los aminoácidos (valina, glicina, fenilalanina) por medio de sustitución nucleofílica. Los porcentajes de rendimiento de los monoderivados de estos aminoácidos fueron para el (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il)glicina en un 89%, el (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il)valina con un 76% y el derivado (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il)fenilalanina con un 69%. El monoderivado de triazina con glicina presenta el mejor rendimiento entre los tres compuestos; puede explicarse, al ser la glicina un aminoácido menos complejo estructuralmente; en su agregación en la reacción de sustitución aromática sobre el núcleo triazínico (menor

impedimento estérico), en comparación al aminoácido valina y específicamente a la fenilalanina, ya que esta cuenta con un grupo aromático en su cadena.

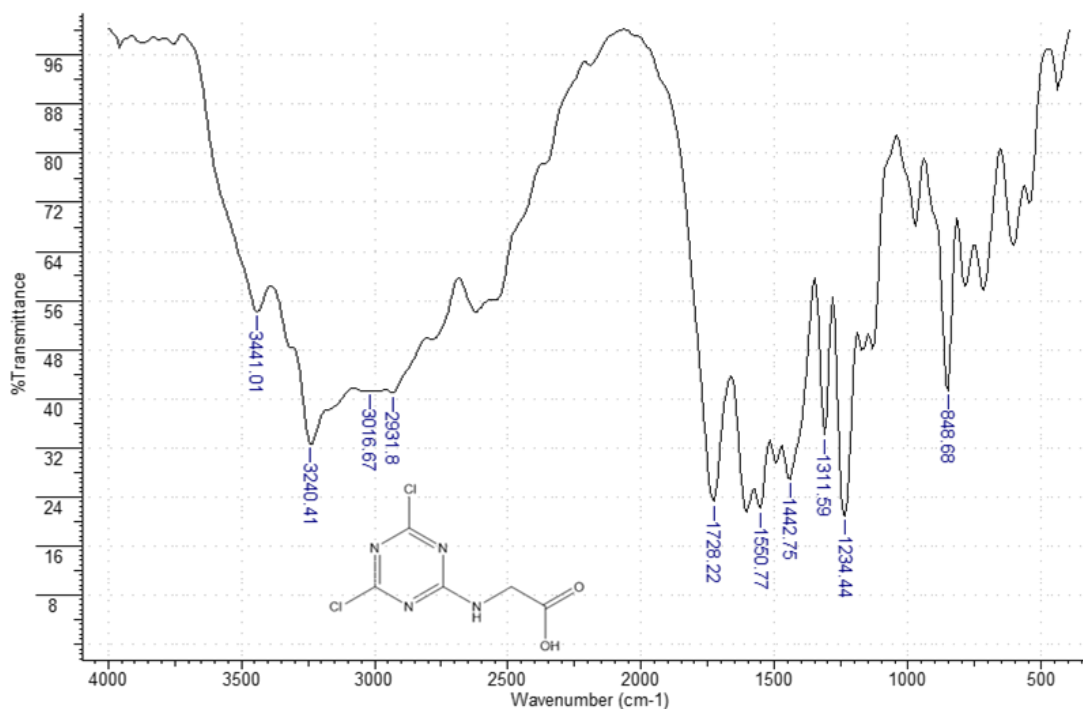
#### 4.1.1 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y RMN para monoderivados de triazina

##### 4.1.1.1 (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) glicina.

**Figura 20.** Estructura química de (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) glicina



El (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) glicina, o como se le determinara en este documento (monoderivado CC-glicina); en cuanto a su aspecto, se aprecia como un polvo de coloración ligeramente amarilla y su aspecto físico se mantiene con el paso de las semanas. A continuación, se iniciará observando los datos para el monoderivado CC-glicina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 21.

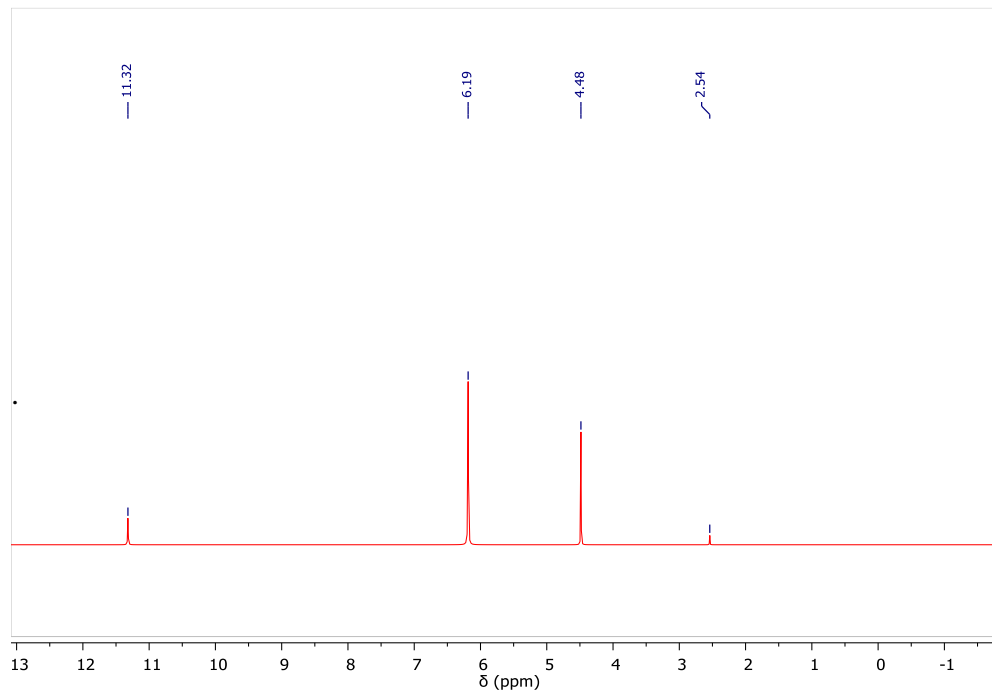
**Figura 21.** Espectro IR del monoderivado CC-glicina

El compuesto tiene bandas de absorción definidas para  $\nu$  3240, 3016 y  $1311\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H y el enlace C=O en región de  $1728\text{ cm}^{-1}$  del grupo carboxilo, que se encuentra en la sección terminal del aminoácido. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$  3441, 3240 (solapándose con O-H) y  $1550\text{ cm}^{-1}$  para el enlace N-H, mientras que el enlace C-N se encuentra en la banda del 1442 y  $1234\text{ cm}^{-1}$  del grupo amina alifática de la glicina. Se presenta en la región de  $2931\text{ cm}^{-1}$  el pico correspondiente al enlace C-H<sub>2</sub> en la glicina y la señal característica de vibración por estiramiento correspondiente al enlace C-Halógeno (Cl) en  $\nu$   $848\text{ cm}^{-1}$  para el anillo de triazina.

En cuanto al espectro normalizado de <sup>1</sup>H-RMN que se muestra en la Figura 22, se observa la señal de  $\delta$  2.54 ppm (DMSO d<sub>6</sub>), y las señales correspondientes al enlace N-H, O-H y C-H presentes en el aminoácido; en la figura se aprecia una señal en  $\delta$  4,48 ppm debido a los protones

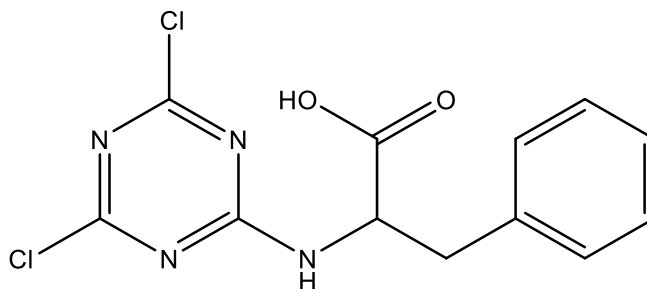
del grupo metileno, se presenta la banda característica de N-H en  $\delta$  6.19 ppm y en  $\delta$  11.32 ppm perteneciente al enlace O-H del ácido carboxílico.

**Figura 22.** Espectro RMN del monoderivado CC-glicina



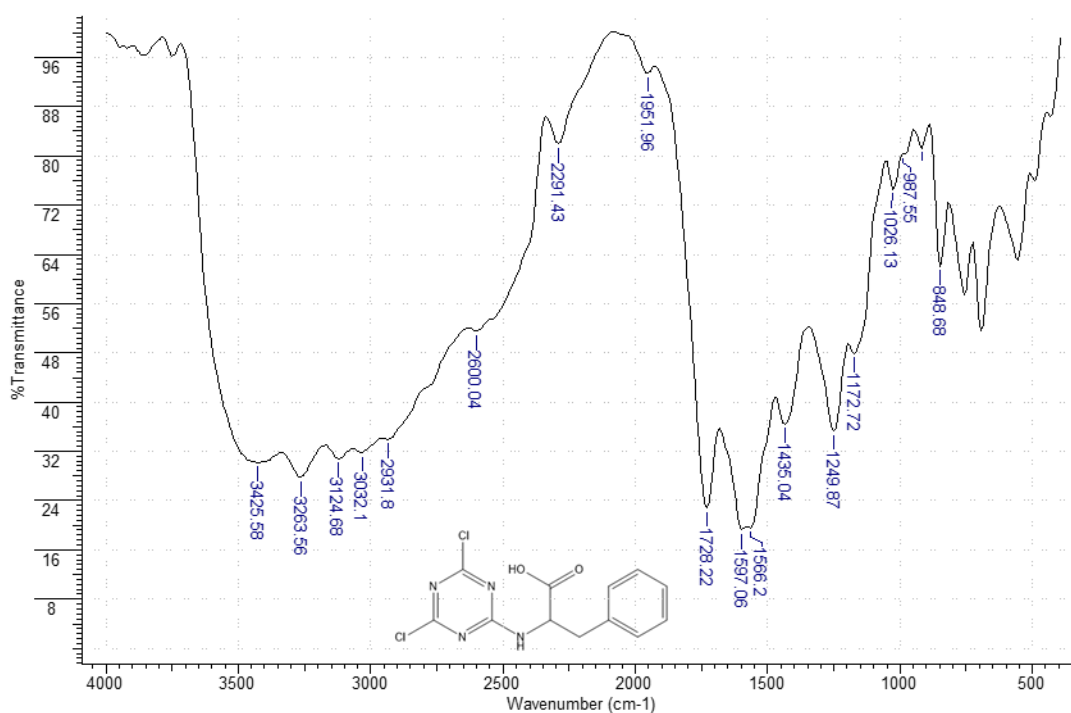
#### 4.1.1.2 (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) fenilalanina.

**Figura 23.** (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) fenilalanina



El (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) fenilalanina, o como se denominará en este documento (monoderivado CC-fenilalanina); en cuanto al aspecto físico, se presenta como un polvo fino de color blanquecino. Su aspecto físico se mantiene con el paso de las semanas. A continuación, se iniciará observando los datos para el monoderivado CC-fenilalanina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 24.

**Figura 24.** Espectro IR de monoderivado CC-fenilalanina

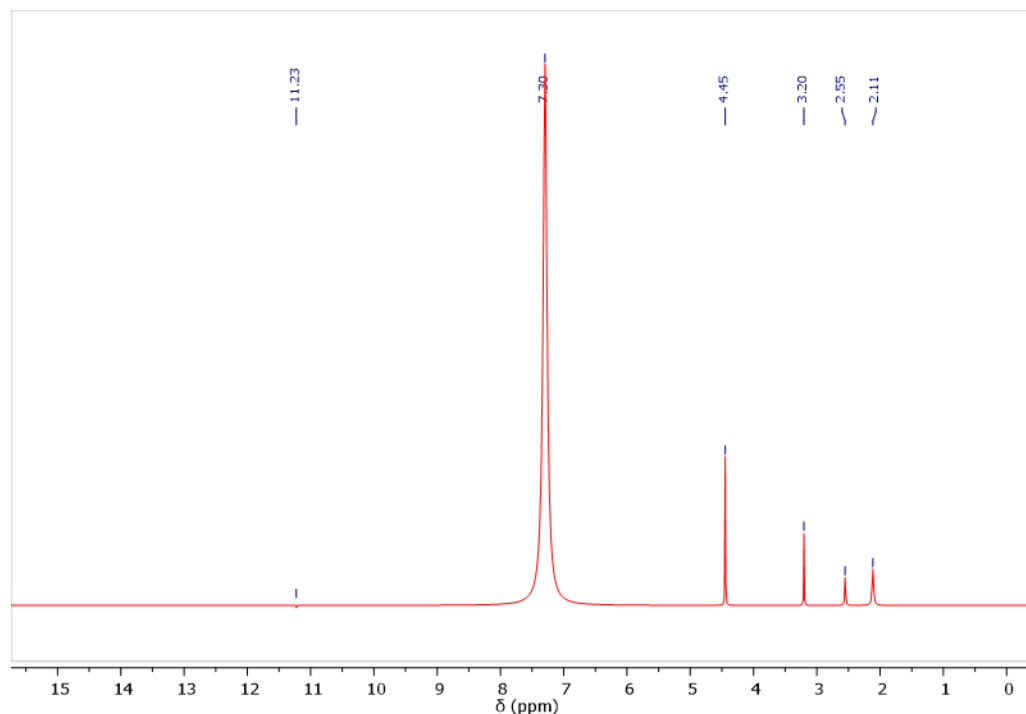


El compuesto tiene bandas de absorción definidas para  $\nu$  3263, 3032 y 1435  $cm^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H del grupo carboxilo, que se encuentra en la sección media del aminoácido. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$  3425 y 1562  $cm^{-1}$  para el enlace N-H y  $\nu$  1249  $cm^{-1}$  para el enlace C-N del grupo amina de la fenilalanina.

Adicionalmente, se encuentra la vibración de estiramiento en  $\nu$  3032 (solapándose con enlace O-H) y 2931  $cm^{-1}$  del C-H, en el caso del enlace C-H<sub>2</sub> la banda está en  $\nu$  1435  $cm^{-1}$  y  $\nu$  1026  $cm^{-1}$  para C=C y C-H del anillo benceno de la fenilalanina. Finalmente, se encuentra la señal característica de vibración por estiramiento correspondiente al enlace C-Halógeno (Cl) en  $\nu$  848  $cm^{-1}$  para el anillo de triazina.

En cuanto al espectro normalizado de <sup>1</sup>H-RMN es posible evidenciar en la Figura 25, señales de protones correspondientes al enlace N-H, O-H del grupo carboxilo, CH<sub>2</sub> del grupo metileno, C-H del grupo metino y C-H aromáticos presentes en el aminoácido; en la figura se muestra en  $\delta$  2,11 ppm debido a los protones del grupo metileno y en  $\delta$  3.20 ppm se encuentran las señales correspondientes al enlace C-H del grupo metino.

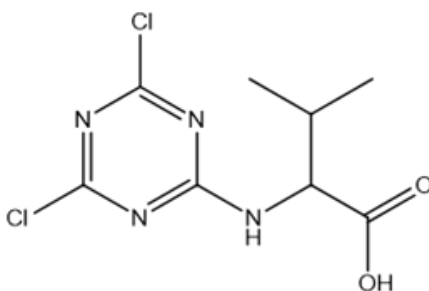
**Figura 25.** Espectro RMN de monoderivado CC-fenilalanina



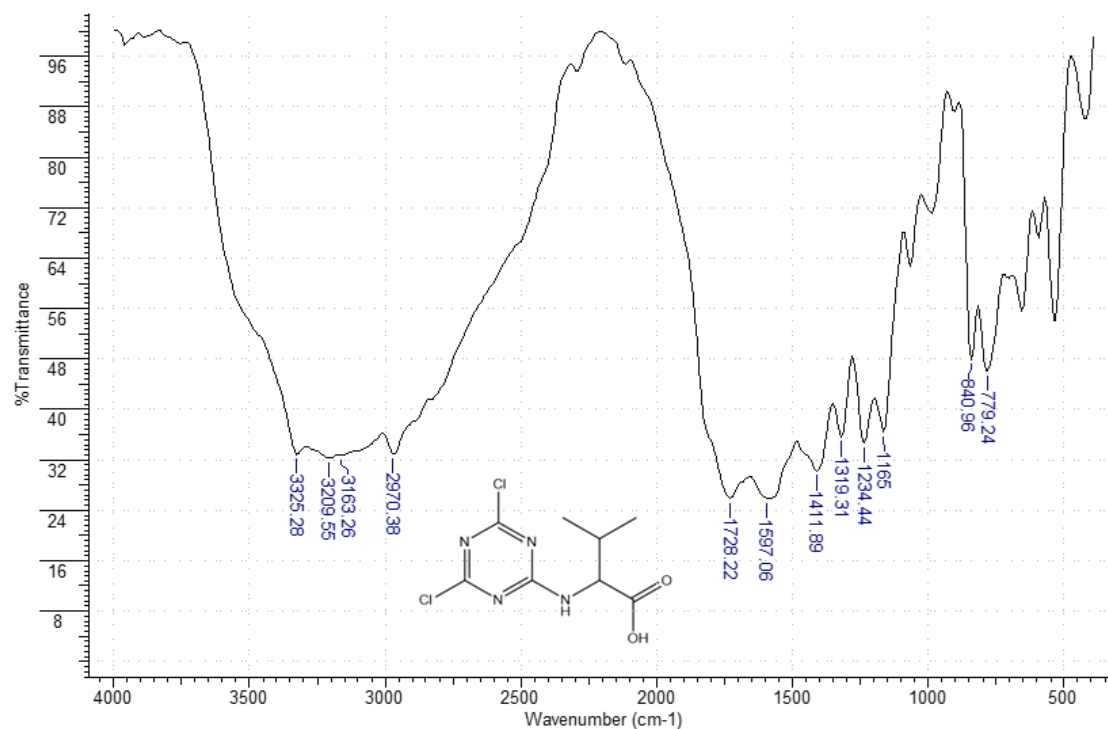
Por otro lado, en  $\delta$  4,45 ppm la señal del enlace N-H es visible claramente, también se aprecia un singulete en  $\delta$  7.30 ppm propio de los protones aromáticos presente en la fenilalanina y el enlace de O-H del grupo carboxilo se observa en  $\delta$  11.23 ppm.

#### 4.1.1.3 (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) valina.

**Figura 26.** (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) valina



El (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il) valina, o como se le denominara en este documento, (monoderivado CC-valina); en lo que respecta a su aspecto físico, se aprecian como un polvo de apariencia gomosa de coloración blanquecina y su aspecto físico se mantiene con el paso de las semanas. A continuación, se iniciará observando los datos para el monoderivado CC-valina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 27.

**Figura 27.** Espectro IR monoderivado CC-valina

Como se puede notar en las figuras 21 y 27, el compuesto monosustituido de valina y glicina tienen similitudes en sus espectros, esto se evidencia en sus bandas de absorción definidas para  $\nu$  3209, 3163 y 1411  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H del grupo carboxilo, que se encuentra en la sección terminal del aminoácido. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$  3325, 3163 y 1234  $\text{cm}^{-1}$  para el enlace N-H y C-N respectivamente del grupo amina; la señal característica de vibración por estiramiento correspondiente al enlace C-Halógeno (Cl) en  $\nu$  840  $\text{cm}^{-1}$  para el anillo de triazina. Presentando ciertas diferencias para su región de 3500-2500, debido a que la valina presenta grupos -CH<sub>3</sub> y -CH en el final de su estructura encontrándose en  $\nu$  2970 y 1411  $\text{cm}^{-1}$  para los enlaces C-H<sub>3</sub>; (-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

La caracterización de <sup>1</sup>H-RMN para el (4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-il)valina se toma del trabajo reportado por (Bhushan, R., Dixit, S. (2010)), N-(4,6-dicloro-[1,3,5]triazine-2-yl)-L-

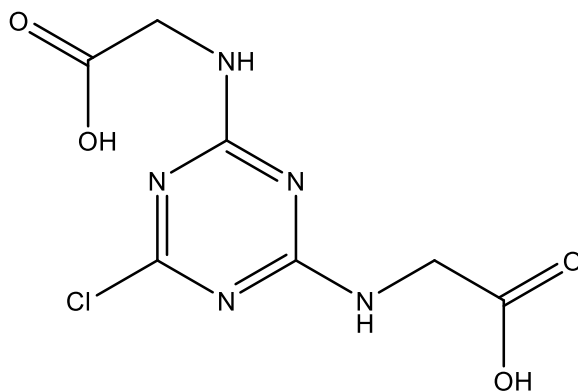
valine (CDR 3):  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  0.85–0.94 (dd, 6H,  $-2\text{CH}_3$ ), 2.21–2.27 (m, 1H,  $-\text{CH}$ ), 4.18–4.25 (m, 1H,  $-\text{CH}-\text{N}$ ), 9.03–9.10 (d, 1H,  $-\text{NH}$ ).

## 4.2 Obtención de derivados de triazina

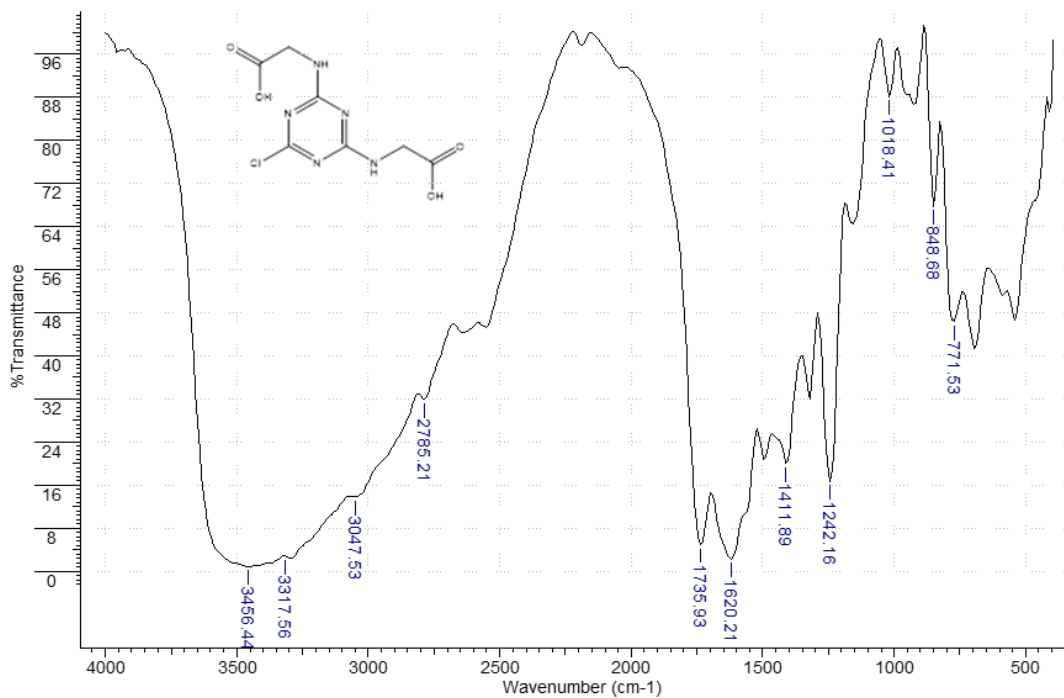
La obtención de los derivados de triazina se realizó a través de la metodología presentada anteriormente para cada uno de los aminoácidos (valina, glicina, fenilalanina) por medio de sustitución nucleofílica. Los porcentajes de rendimiento de los derivados de estos aminoácidos fueron para el (Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))diacético) en un 69%, el Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))bis(3-fenilpropanoico) con un 29%, el Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))bis(3-metilbutanoico) con un 57% y el (4-((carboximetil)amino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il)valina con un 67%. El derivado de triazina con glicina presenta el mejor rendimiento entre los tres compuestos; puede explicarse, al ser la glicina un aminoácido menos complejo estructuralmente; en su agregación en la reacción de sustitución aromática sobre el núcleo triazínico (menor impedimento estérico), en comparación al aminoácido valina y específicamente a la fenilalanina, ya que esta cuenta con un grupo aromático en su cadena. Sin embargo, el derivado de triazina que presenta tanto el aminoácido glicina como valina en su sustitución, presenta un rendimiento sorprendente, puede deberse a que se realizó la sustitución a partir del monoderivado de glicina, por lo cual al agregarse la valina su impedimento estérico fue menor.

### 4.2.1 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y RMN para derivados de triazina

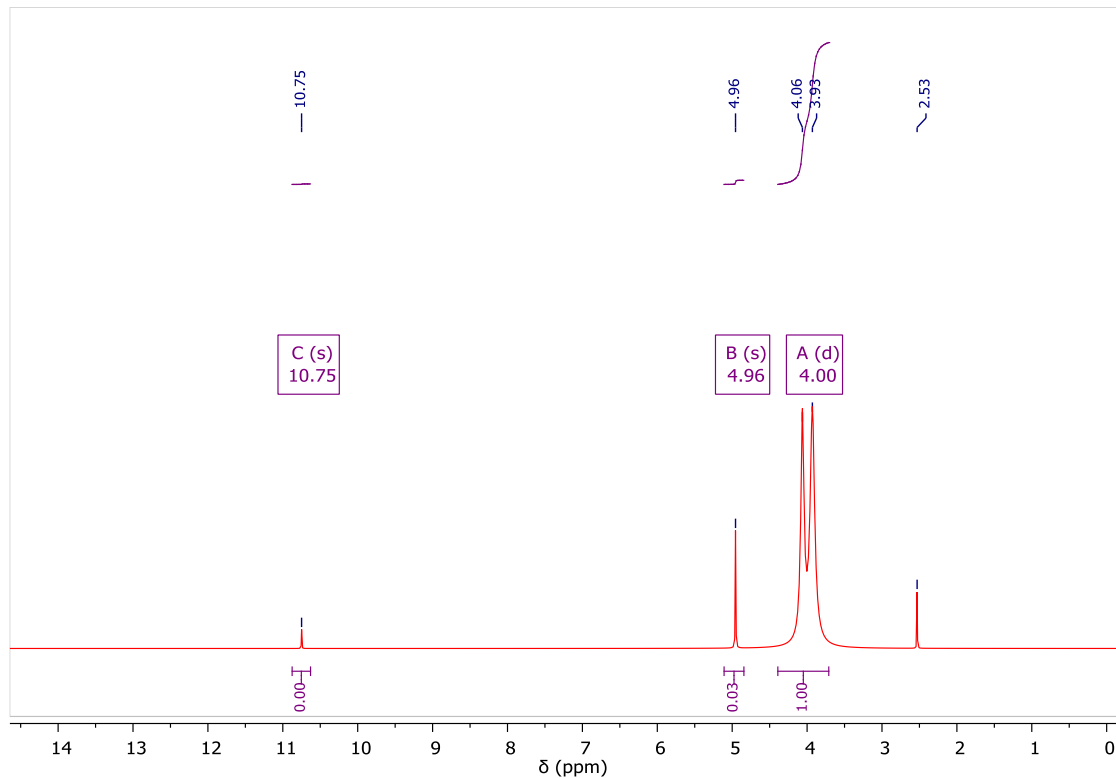
#### 4.2.1.1 Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))diacético

**Figura 28.** *Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))diacético*

El Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))diacético, o como se le mencionara en este documento (diderivado CC-glicina) presento un rendimiento de 67,1%. En lo que respecta a la apariencia física, se aprecia como un polvo de coloración ligeramente amarilla, presentando cierta textura grumosa. A continuación, se iniciará observando los datos para el diderivado CC-glicina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 30.

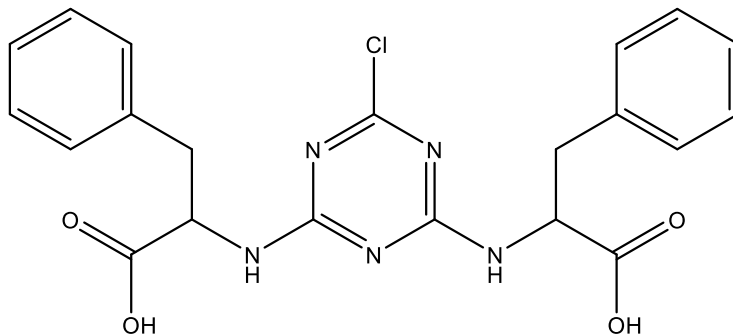
**Figura 29.** Espectro IR de diderivado CC-glicina

Como se presenta en la figura 30, el compuesto tiene bandas de absorción definidas para  $\nu$  3456, 3294, y 1411  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H del grupo carboxilo (solapándose con enlaces N-H); que se encuentra en la sección terminal del aminoácido. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$  3456, 3294 y 1620  $\text{cm}^{-1}$  para el enlace N-H mientras que 1620 y 1242  $\text{cm}^{-1}$  para el enlace C-N del grupo amina alifática de la glicina; estas bandas se encuentran con mayor acentuación debido a la disustitución de la triazina con este compuesto. Se encuentran las bandas de C-H<sub>2</sub> que corresponden a los alquenos y alcanos, que se encuentran en regiones de 2808  $\text{cm}^{-1}$ . Finalmente, se aprecia la señal característica de vibración por estiramiento correspondiente al enlace C-Halógeno (Cl) en  $\nu$  779  $\text{cm}^{-1}$  para el anillo de triazina.

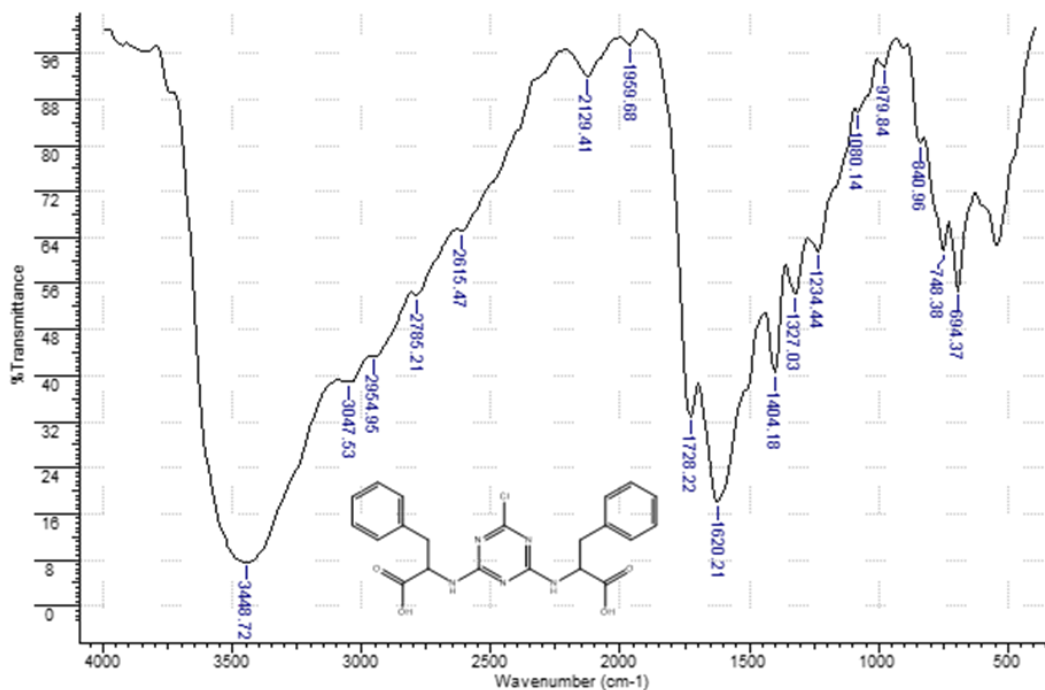
**Figura 30.** Espectro RMN de diderivado CC-glicina

En cuanto al espectro  $^1\text{H}$ -RMN es posible evidenciar en la figura 31 las señales correspondientes al enlace N-H, O-H y  $\text{CH}_2$  presentes en el aminoácido además del solvente  $\text{DMSO-}d_6$ . En la figura se muestra claramente una señal singlete en  $\delta$  4.96 ppm debido al protón del grupo N-H, también se aprecia un duplete en  $\delta$  3.99-4.06 ppm correspondientes al enlace  $\text{CH}_2$  y la señal del protón de O-H en  $\delta$  10.75 ppm.

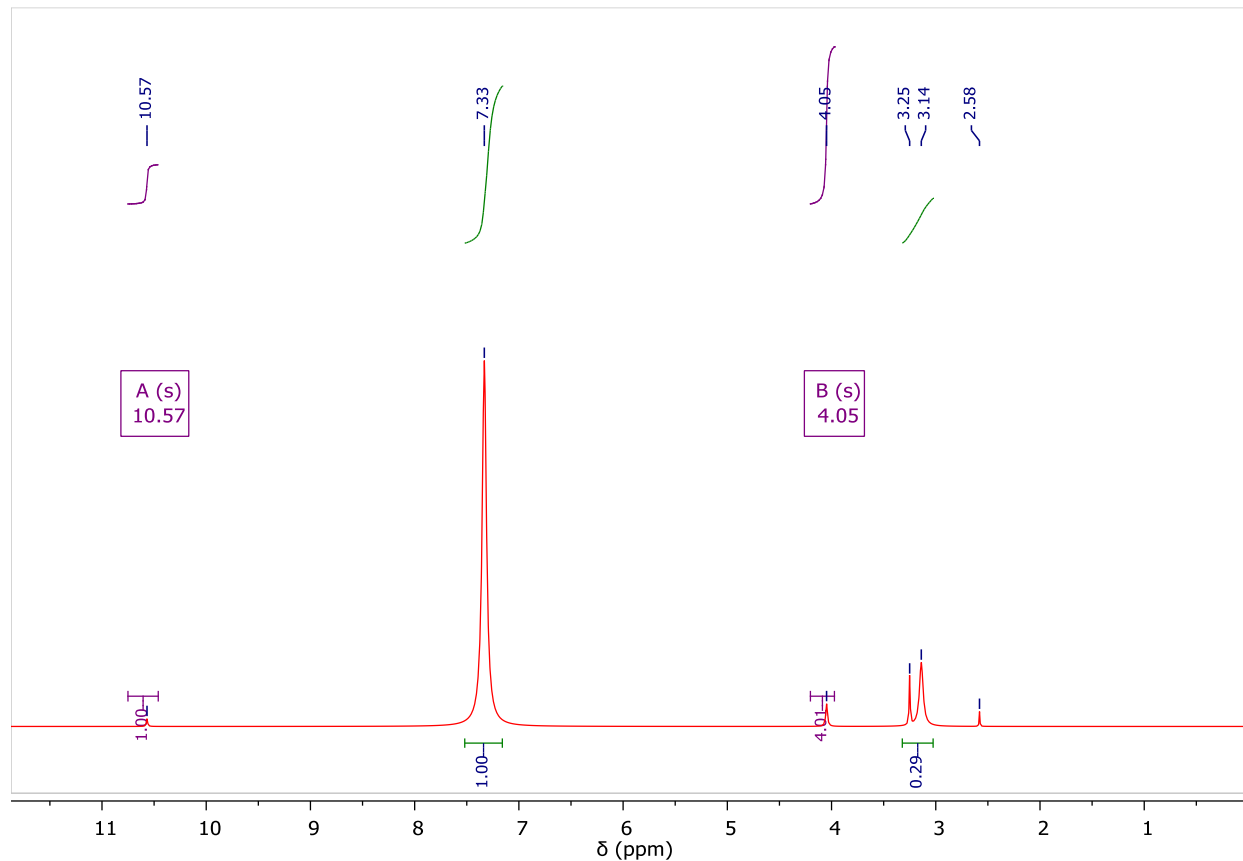
#### 4.2.1.2 Ácido $2,2'$ -((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanediil))bis(3-fenilpropanoico)

**Figura 31.** *Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))bis(3-fenilpropanoico)*

El ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))bis(3-fenilpropanoico), o como se le denominará en este documento (diderivado CC-fenilalanina) presento un rendimiento de 29,4%. En cuanto al aspecto físico, se presenta como un polvo granuloso de color amarillo claro. Su aspecto es de textura polimérica, presentando burbujas de aire durante su secado. A continuación, se iniciará observando los datos para el diderivado CC-fenilalanina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 33.

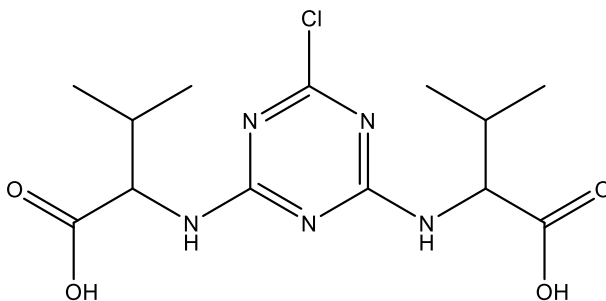
**Figura 32.** Espectro IR diderivado CC-fenilalanina

Como se observa en la figura 33, el compuesto tiene bandas de absorción definidas para  $\nu$  3448, 3093, 3047, 1404 y 1327  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H y la señal en  $\nu$  1728  $\text{cm}^{-1}$  perteneciente al enlace C=O de los dos grupos carboxilo, que se encuentra en la sección media del aminoácido. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$  3448, 3093, 3047 y 1620  $\text{cm}^{-1}$  para el enlace N-H y 1234  $\text{cm}^{-1}$  del enlace C-N del grupo amina de la fenilalanina. Se encuentra la señal característica de vibración por estiramiento correspondiente al enlace  $\text{CH}_2$  en  $\nu$  2785, 1404 y 1080  $\text{cm}^{-1}$ . Adicionalmente, se encuentra la vibración de estiramiento en  $\nu$  2947 y 2808  $\text{cm}^{-1}$  del C-H y  $\nu$  979  $\text{cm}^{-1}$  para C=C del anillo de la fenilalanina; siendo estas señales de absorción acentuadas debido a la disustitución del compuesto. Finalmente, se encuentra la señal característica de vibración por estiramiento correspondiente al enlace C-Halógeno (Cl) en  $\nu$  840  $\text{cm}^{-1}$  para el anillo de triazina.

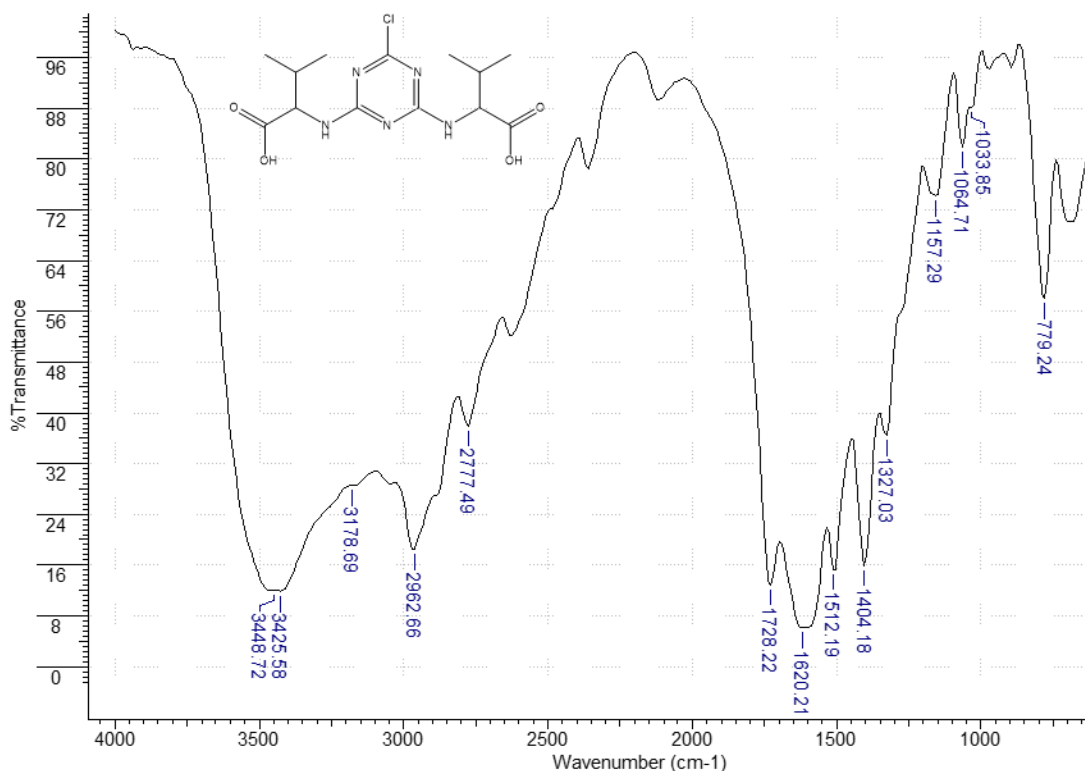
**Figura 33.** *Espectro RMN de diderivado CC-fenilalanina*

Teniendo en cuenta la figura 34 se deben encontrar señales correspondientes al enlace N-H, O-H, C-H<sub>2</sub>, C-H (Benceno) y CH (metino) presentes en el aminoácido; se muestra claramente una señal de δ 3.25-3.14 ppm debido a dos protones del grupo C-H<sub>2</sub> y una señal en δ 4.05 ppm debido al protón del grupo C-H. Adicionalmente, se aprecia un singlete en δ 7.33 ppm propio del grupo aromático presente en la fenilalanina y en δ 10.57 ppm debido al protón del grupo O-H.

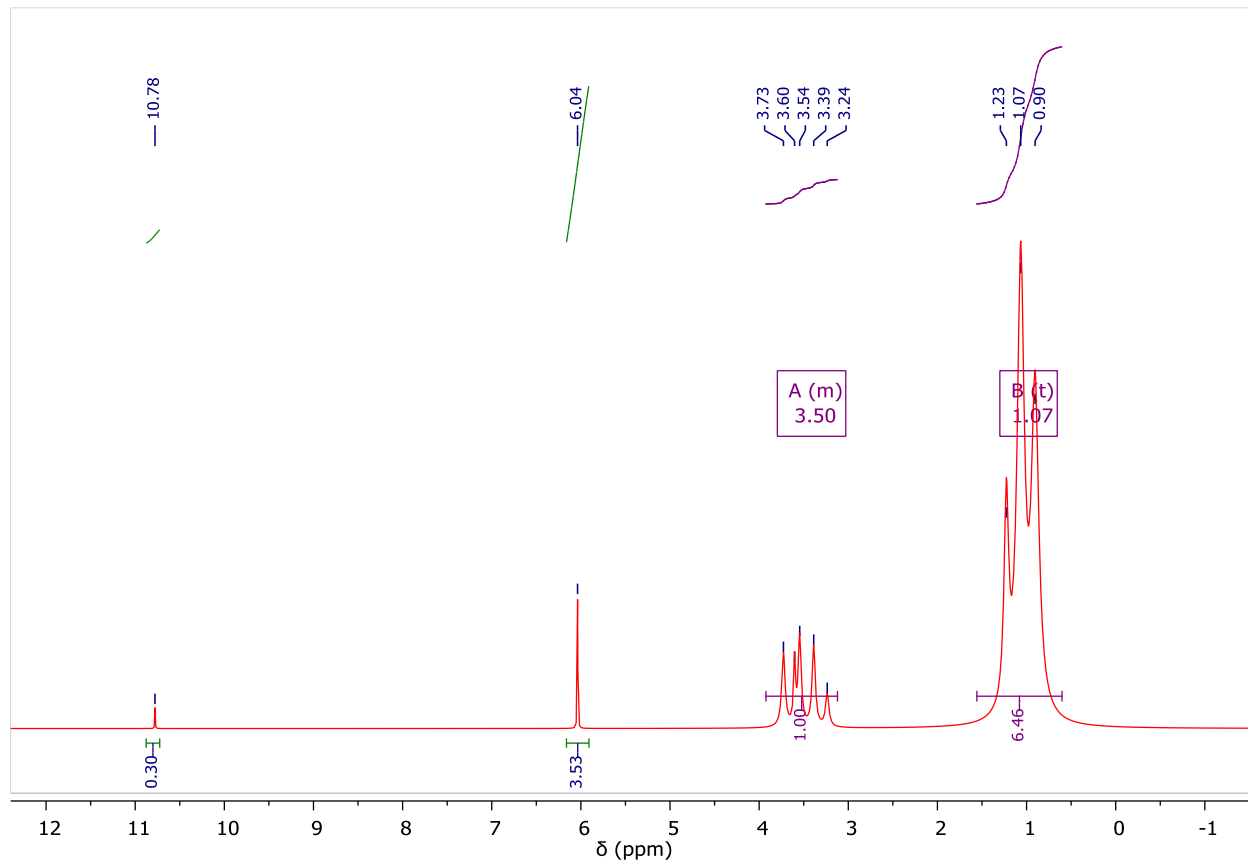
#### 4.2.1.3 Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))bis(3-metilbutanoico)

**Figura 34.** *Ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanediiil))bis(3-metilbutanoico)*

El ácido 2,2'-((6-cloro-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanediiil))bis(3-metilbutanoico), o como se le denominará en este documento (diderivado CC-valina) presento un rendimiento de 57%. En cuanto a la apariencia física, se observa como un polvo fino de color blanco. Su aspecto varía con la humedad presente en el ambiente, ya que, una vez que se ha secado el compuesto utilizando el equipo rotoevaporador, tras algunas horas su apariencia es la de un polvo algo gelatinoso (probablemente debido a un comportamiento higroscópico), presentando zonas sólidas viscosas. A continuación, se iniciará observando los datos para el diderivado CC-valina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 33.

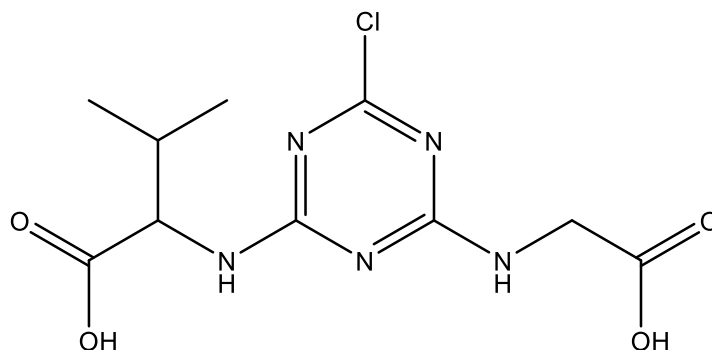
**Figura 35.** Espectro IR de diderivado CC-valina

Como se puede notar en la figura 36, se evidencia en sus bandas de absorción definidas para la región entre  $\nu$  3178, 3047 y  $1404 \text{ cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H de los grupos carboxilo, que se encuentra en la sección terminal del aminoácido. Se observa la vibración de tensión entre  $\nu$  3448, 3425 y  $1512 \text{ cm}^{-1}$  para el enlace N-H, mientras que  $\nu$  1620 y  $1157 \text{ cm}^{-1}$  le pertenecen al enlace C-N del grupo amina. Para las anteriores bandas de absorción es evidente su similitud con la versión monosustituida teniendo la diferencia en la intensidad de la señal. Por último, se encuentra el pico característico de vibración por estiramiento correspondiente al enlace C-Halógeno (Cl) en  $\nu$   $779 \text{ cm}^{-1}$  para el anillo de triazina. Con la única diferencia del grupo isopropil presente en la valina, con la señal característica de vibración por estiramiento correspondiente al enlace C-H<sub>3</sub>, C-H y CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> en  $\nu$  2962 y  $1404 \text{ cm}^{-1}$ .

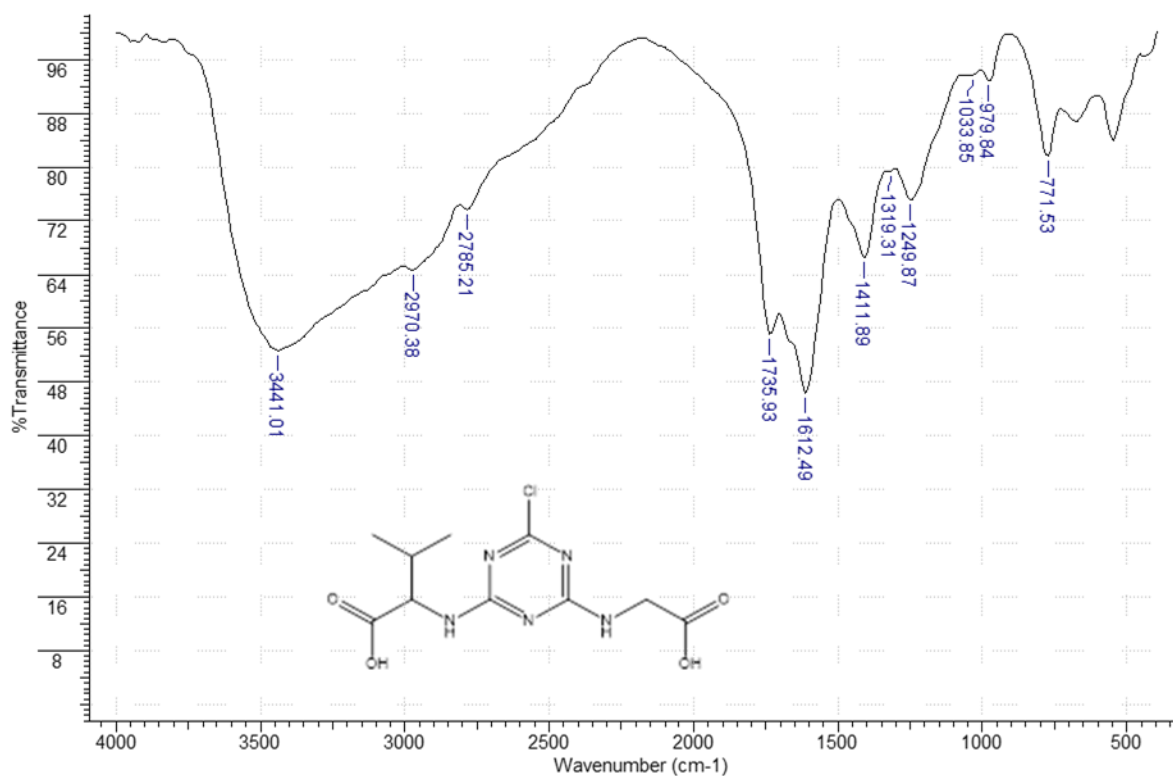
**Figura 36.** Espectro RMN de diderivado CC-valina

En cuanto al espectro <sup>1</sup>H-RMN es posible evidenciar en la figura 37 la presencia de variadas señales correspondiente a los grupos funcionales del aminoácido. Se encuentra una señal triplete en  $\delta$  1.07 ppm debido a protones del grupo metilo CH<sub>3</sub>, mientras que en la región  $\delta$  3.54 ppm se aprecia un multiplete corresponde al grupo metino C-H presente en el isopropil. Se encuentra un pico en  $\delta$  6.04 ppm del protón N-H y una señal en  $\delta$  10.78 ppm perteneciente al enlace O-H del grupo carboxilo.

#### 4.2.1.4 (4-((carboximetil)amino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il) valina

**Figura 37.** (4-((carboximetil)amino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il) valina

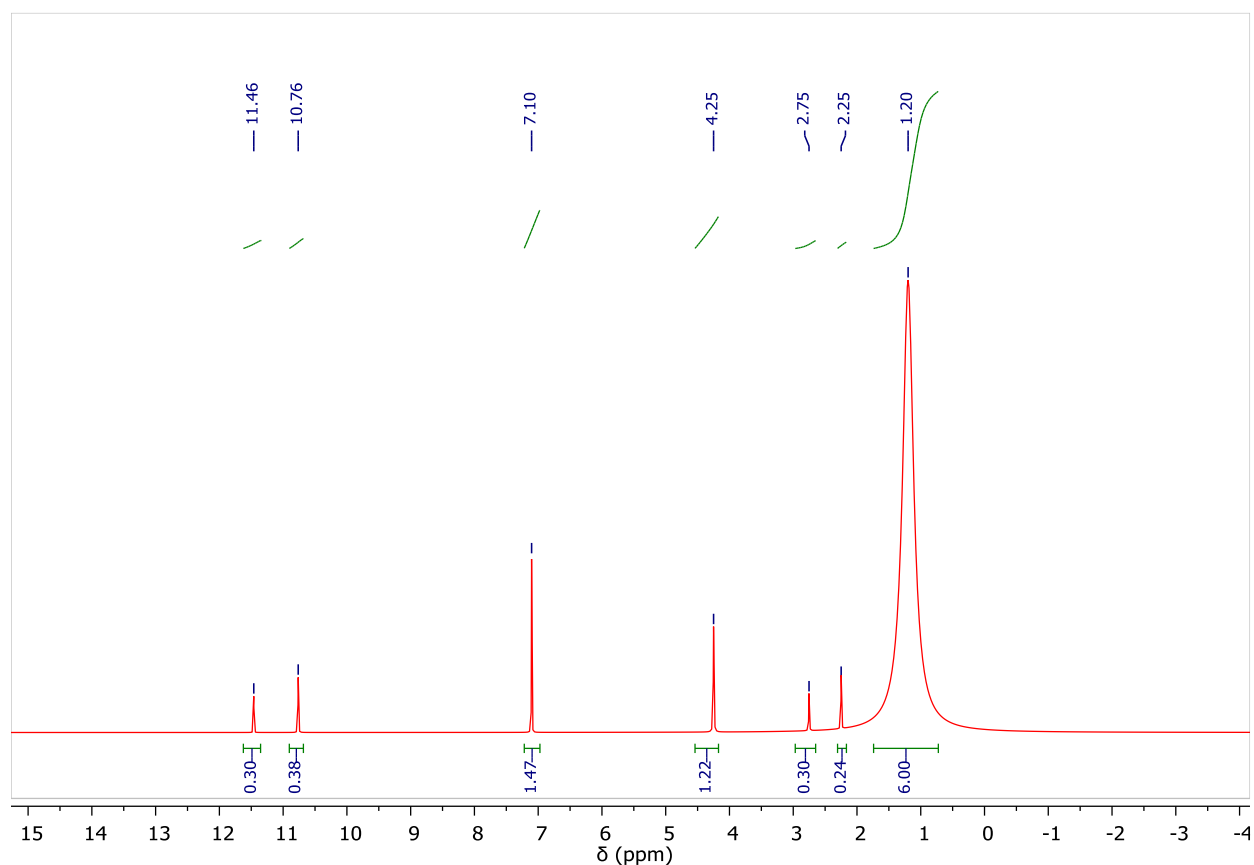
El (4-((carboximetil)amino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il) valina, o como se le denominará en este documento (diderivado CC-glicina; valina) presento un rendimiento de 69,7%. Por lo que respecta a la apariencia física, presenta un aspecto diferente al de los demás disustituídos, ya que es un polvo granuloso y gomoso. Con el paso de los días y la humedad, este cambia, tomando una apariencia viscosa o una mezcla entre estado sólido y líquido (probablemente debido a un comportamiento higroscópico), manteniendo su color blanquecino. A continuación, se iniciará observando los datos para el diderivado CC-glicina; valina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 39.

**Figura 38.** Espectro IR de diderivado CC-glicina; valina

Este compuesto se encuentra disustituido con valina y glicina, presentando una mezcla de señales de los dos aminoácidos en el espectro IR realizado, esto se evidencia en sus bandas de absorción definidas para  $\nu$  3440, 2970 y  $1411\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H (solapándose con enlaces N-H y C-H<sub>3</sub>), mientras que en  $\nu$   $1735\text{ cm}^{-1}$  es representativo del enlace C=O de los grupos carboxilo, que se encuentra en la sección terminal de ambos aminoácidos. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$   $3441$  y  $1612\text{ cm}^{-1}$  para el enlace N-H y  $\nu$   $1249\text{ cm}^{-1}$  le pertenece al enlace C-N del grupo amina; se aprecia cierto desplazamiento en las señales y cambios en su amplitud e intensidad, debido a la disustitución por parte de dos aminoácidos diferentes. Se presenta señales del grupo isopropil presente en la valina, con la señal característica de vibración por estiramiento correspondiente al enlace C-H<sub>3</sub>, C-H y CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> en

v 2970, 2785 y 1411  $\text{cm}^{-1}$ . Por último, se encuentra el pico característico de vibración por estiramiento correspondiente al enlace C-Halógeno (Cl) en v 771  $\text{cm}^{-1}$  para el anillo de triazina.

**Figura 39.** Espectro RMN de dderivado CC-glicina; valina



En cuanto al espectro normalizado  $^1\text{H}$ -RMN, es posible evidenciar en la figura 40 la señal en  $\delta$  1.20 ppm pertenecientes al enlace C- $\text{H}_3$ , continuando con los protones en los dos carbonos C- $\text{H}_2$ , se observa dos señales de menor tamaño en  $\delta$  2.25-2.75 ppm; mientras que en la región de  $\delta$  4.25 ppm se aprecia la señal del enlace C-H. Continuando con el grupo amina presente en la glicina y valina, se aprecia un singlete en  $\delta$  7.10 ppm del enlace N-H y dos señales de menor tamaño en  $\delta$  10.76 ppm y  $\delta$  11.46 ppm perteneciente al grupo O-H de los aminoácidos empleados.

### 4.3 Obtención triderivados de triazina

La obtención de los diderivados de triazina se realizó a través de la metodología presentada anteriormente para cada uno de los aminoácidos (valina, glicina, fenilalanina) por medio de sustitución nucleofílica. Los porcentajes de rendimiento de los diderivados de estos aminoácidos fueron para el (2,2'-((6-((9-(2-carboxifenil)-3-oxo-3H-xanten-7-il)oxi)-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))ácido diacético) en un 96%, el (2,2'-((6-((9-(2-carboxifenil)-3-oxo-3H-xanten-7-il)oxi)-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))bis(ácido 3-fenilpropanoico)) con un 40%, (2,2'-((6-((9-(2-carboxifenil)-3-oxo-3H-xanten-7-il)oxi)-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanedil))bis(ácido 3-metilbutanoico)) con un 33% y el (2-(7-((4-((1-carboxi-2-metilpropil)amino)-6-((carboximetil)amino)-1,3,5-triazin-2-il)oxi)-3-oxo-Ácido 3H-xanten-9-il)benzoico) con un 93%. El triderivado de triazina con glicina presenta el mejor rendimiento entre los tres compuestos; puede explicarse, al ser la glicina un aminoácido menos complejo estructuralmente; en su agregación en la reacción de sustitución aromática sobre el núcleo triazínico (menor impedimento estérico), en comparación al aminoácido valina y específicamente a la fenilalanina, ya que esta cuenta con un grupo aromático en su cadena. Sin embargo, el triderivado de triazina que presenta tanto el aminoácido glicina como valina en su sustitución, presenta un excelente rendimiento, puede deberse a que se realizó la sustitución a partir del monoderivado de glicina, por lo cual al agregarse la valina su impedimento estérico fue menor.

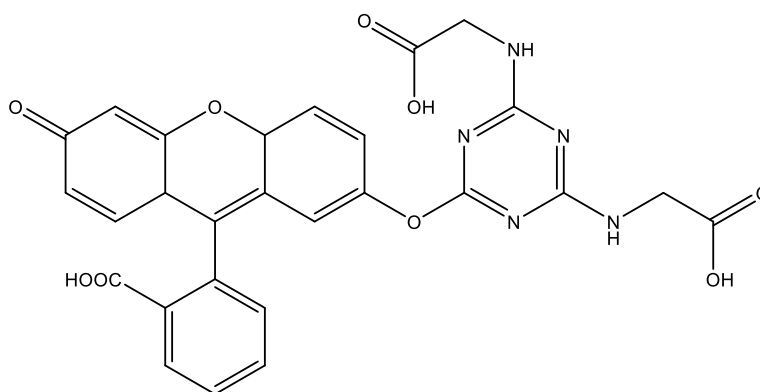
#### 4.3.1 Espectroscopia de infrarrojo (FTIR) y RMN de triderivados de triazina

El rendimiento de estos compuestos es sorpresivamente alto en comparación a los disustituídos, se mantiene la glicina con el mejor rendimiento entre los aminoácidos sustituyentes; cabe resaltar que

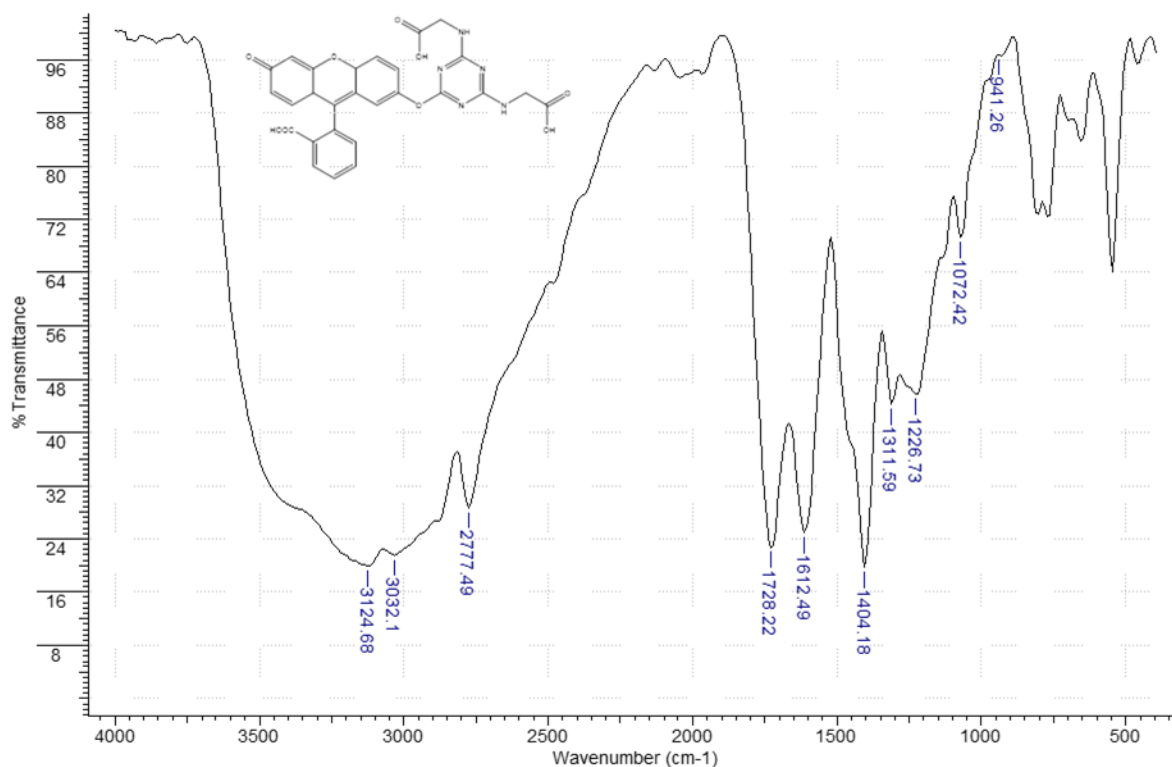
el orden de agregación a la molécula tiene en cuenta lo encontrado en el estudio de quimioselectividad ortogonal para TCT (Sharma et al., 2018).

#### 4.3.1.1 2,2-((6-((9-(2-carboxifenil)-3-oxo-9a,10a-dihidro-3H-xanten-7-il)oxi)-1,3,5-triazina-2, Ácido 4-diil)bis(azanedil))diacético

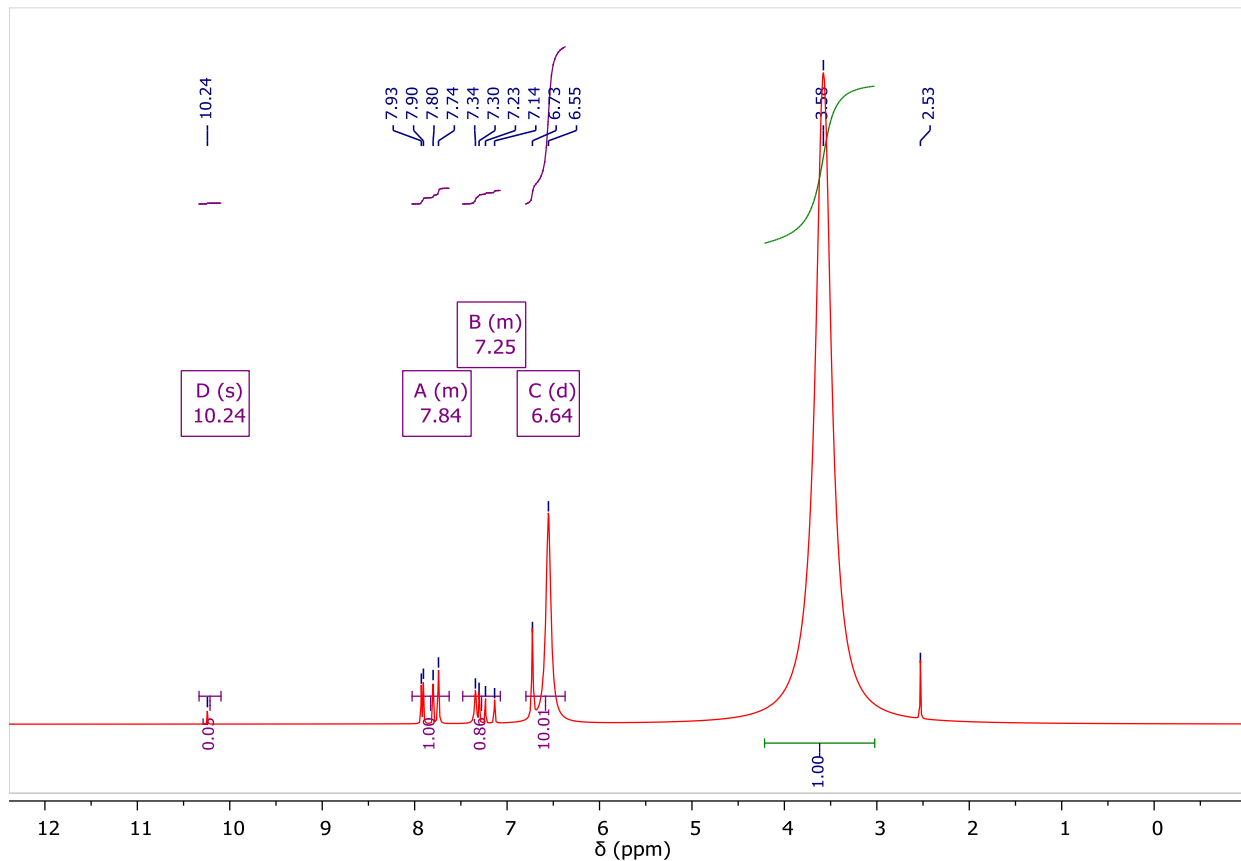
**Figura 40.** *Triderivado CC-glicina*



El 2,2'-((6-((9-(2-carboxifenil)-3-oxo-9a,10a-dihidro-3H-xanten-7-il)oxi)-1,3,5-triazina-2, Ácido 4-diil)bis(azanedil))diacético o como se le denominara en este documento (triderivado CC-glicina) presento un rendimiento de 95,7%. En cuanto a la apariencia física, el aspecto de este compuesto es diferente en su coloración y físico en comparación a su versión mono y disustituida, las tonalidades son entre el color marrón y rojizo. Su estado sigue siendo sólido con la diferencia de tener una textura arcillosa con algunos gránulos o grumos. A continuación, se iniciará observando los datos para el triderivado CC-glicina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 42.

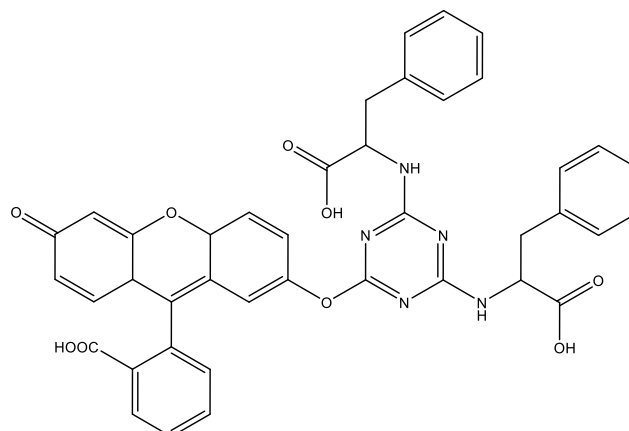
**Figura 41.** Espectro IR de triderivado CC-glicina

En la figura 42 se registra las bandas de absorción del compuesto definidas para  $\nu$  3124, 3032 y  $1404\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H del grupo carboxilo, que se encuentra en la sección terminal del aminoácido, además que se ve reflejado la cadena -COOH de la fluoresceína. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$  3124, 3032, 1612 y  $1404\text{ cm}^{-1}$  para el enlace N-H mientras que la absorbancia  $\nu$   $1226\text{ cm}^{-1}$  le pertenece al enlace C-N y C-O del grupo amina alifática de la glicina y de la fluoresceína respectivamente; adicionalmente, se observa señales en  $\nu$   $2077\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a vibración de estiramiento de enlaces C-H en compuestos aromáticos. En la región de  $\nu$  1650-1550 están las vibraciones de estiramiento C=C para alquenos, C=O de los compuestos carboxílicos y N-H de la amina, solapándose todo en esa área. Finalmente se encuentra la señal en  $\nu$   $941\text{ cm}^{-1}$  para el enlace C-H del anillo aromático de la fluoresceína.

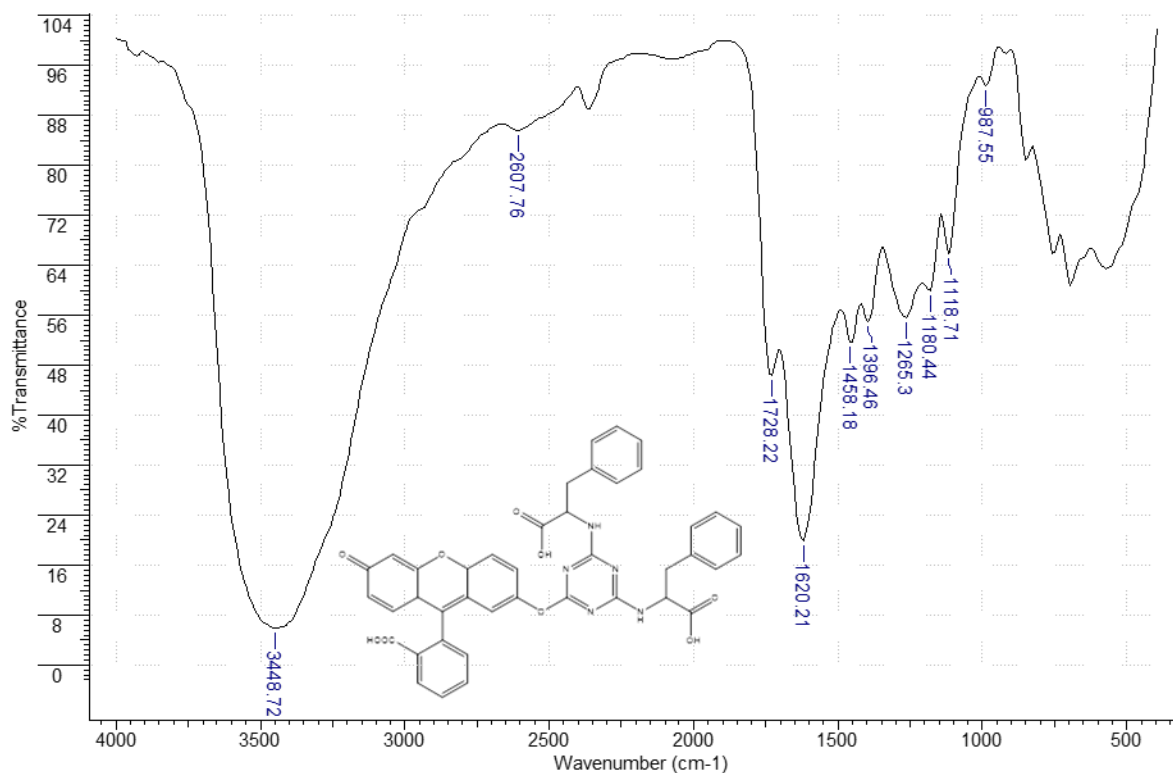
**Figura 42.** Espectro RMN de triderivado CC-glicina

En cuanto al espectro  $^1\text{H}$ -RMN, es posible evidenciar en la figura 35 las señales correspondientes al enlace N-H, O-H C-H<sub>2</sub> y C-H presentes en el aminoácido y la fluoresceína; en la tabla nos muestra claramente una señal en  $\delta$  3.58 ppm debido a dos protones del grupo metileno CH<sub>2</sub>, se encuentra un pico en  $\delta$  6.55 ppm perteneciente al protón N-H y en  $\delta$  10.28 ppm al O-H del grupo carboxilo. Por otro lado, las señales que se aprecian entre  $\delta$  7.14-7.93 ppm corresponden a los enlaces C-H del sistema aromático en la fluoresceína.

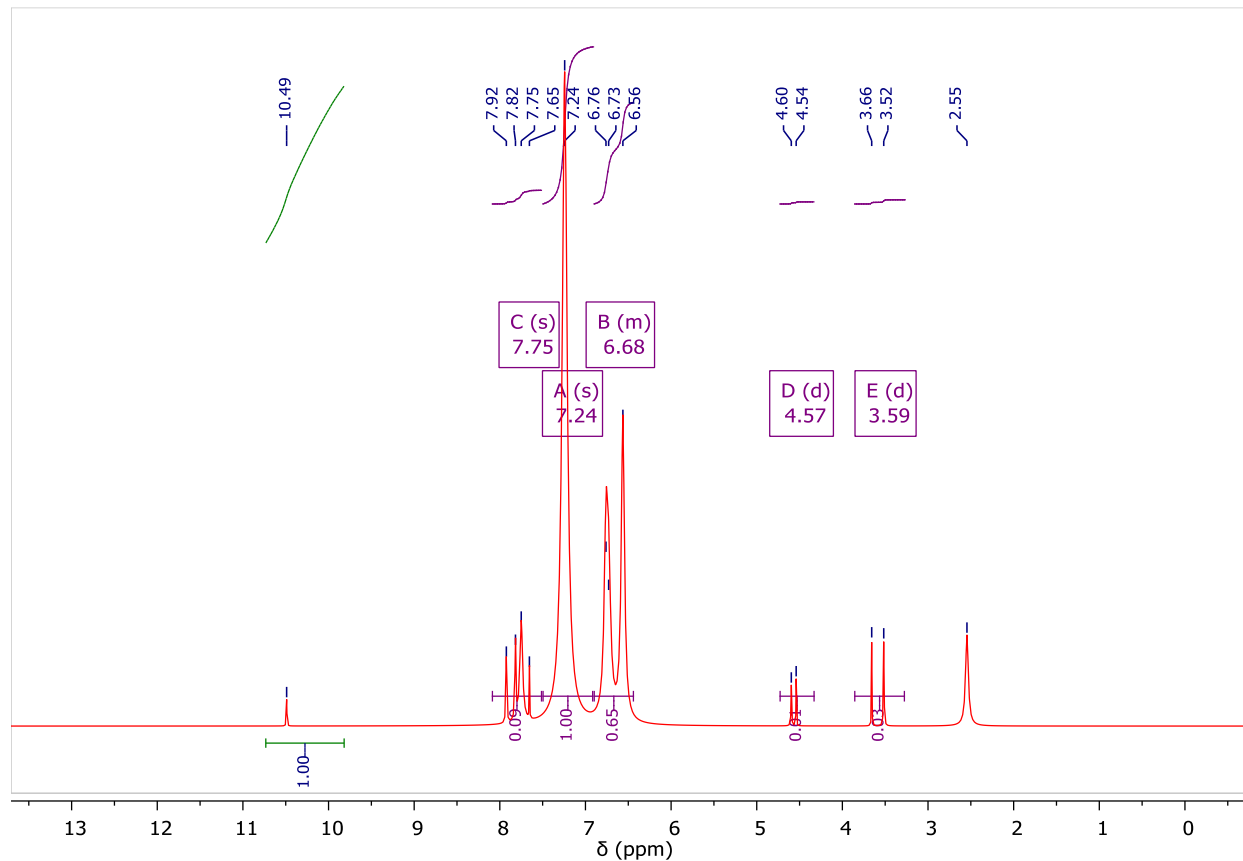
#### 4.3.1.2 2,2'-((6-((9-(2-carboxifenil)-3-oxo-3H-xanten-7-il)oxi)-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis( azanediil))bis(ácido 3-fenilpropanoico)

**Figura 43.** *Triderivado CC-fenilalanina*

El 2,2'-((6-((9-(2-carboxifenil)-3-oxo-3H-xanten-7-il)oxi)-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanediil))bis(ácido 3-fenilpropanoico) o como se le mencionara en este documento (triderivado CC-fenilalanina) presento un rendimiento de 40%. El aspecto de este compuesto es diferente en su coloración y físico en comparación a su versión mono y disustituida, las tonalidades son entre el color marrón, naranja y rojo oscuro. Su estado sigue siendo sólido con la diferencia de ser un polvo de apariencia laminada, similar al confeti. A continuación, se iniciará observando los datos para el triderivado CC-glicina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 42.

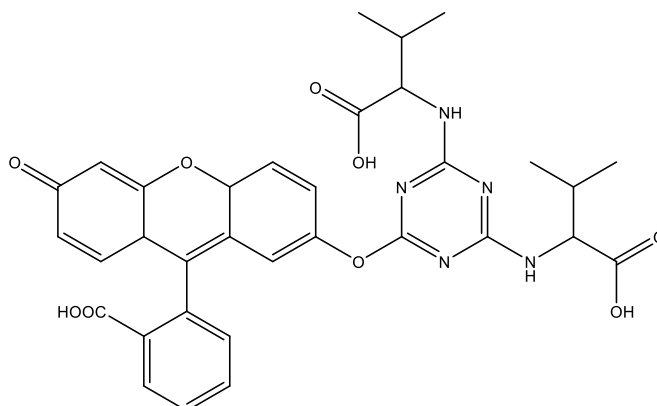
**Figura 44.** Espectro IR de triderivado CC-fenilalanina

En la figura 45 se registra las bandas de absorción del compuesto definidas para  $\nu$  3448  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H que se encuentra en la sección terminal del aminoácido, además que se ve reflejado  $\nu$  1180  $\text{cm}^{-1}$  de la cadena -COOH de la fluoresceína respectivamente. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$  3448 y 1620  $\text{cm}^{-1}$  para el enlace N-H y  $\nu$  1265  $\text{cm}^{-1}$  para el enlace C-N del grupo amina; adicionalmente, se observa señales en  $\nu$  2607  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a vibración de estiramiento de enlaces C-H en compuestos aromáticos. En el rango de  $\nu$  1728 se encuentra las vibraciones de estiramiento de C=O del grupo carboxilo presente en los 3 sustituyentes; adicionalmente en la región de  $\nu$  1620 están las vibraciones de estiramiento C=C para alquenos junto con la vibración de estiramiento de N-H solapándose mutuamente. Finalmente se encuentra la señal en  $\nu$  987  $\text{cm}^{-1}$  para el enlace C-H del anillo aromático de la fluoresceína y de la fenilalanina.

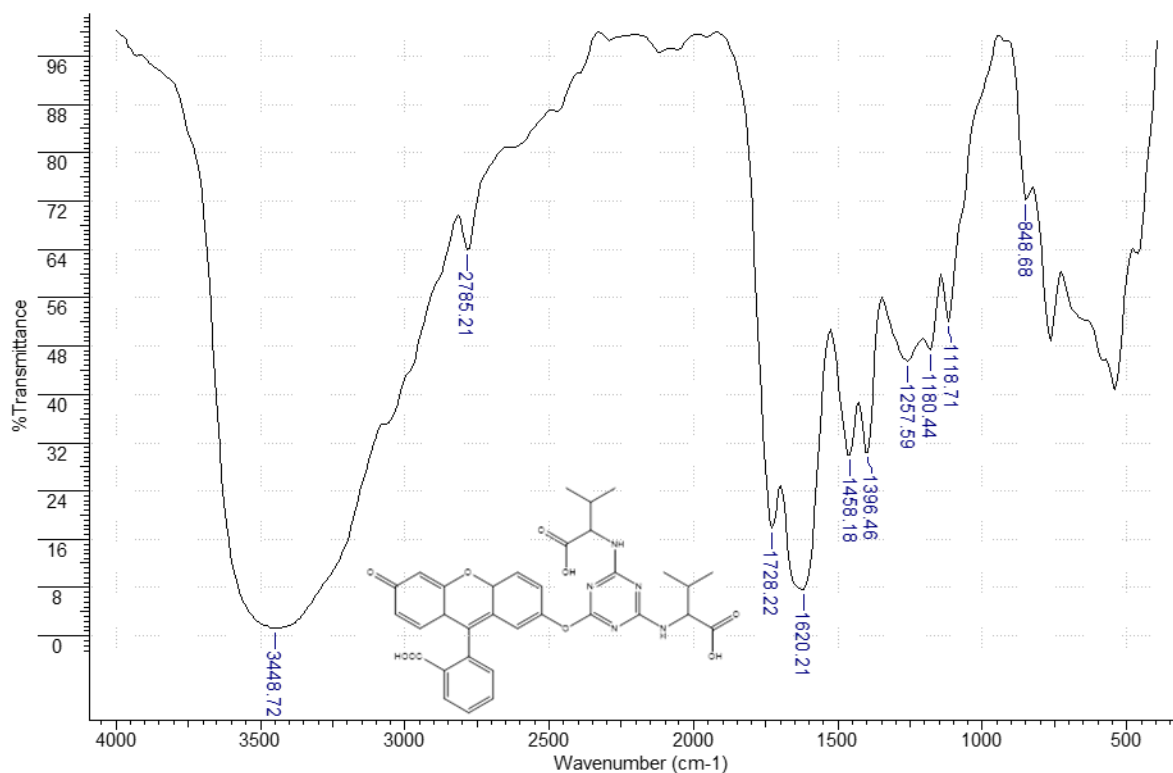
**Figura 45.** Espectro RMN de triderivado CC-fenilalanina

Teniendo en cuenta la figura 46 se deben encontrar señales correspondientes a los protones N-H, O-H CH<sub>2</sub> y CH presentes en el aminoácido y los protones en la fluoresceína; se aprecia señal de duplete en  $\delta$  4.54-4.60 ppm debido a los 4 protones del grupo metileno CH<sub>2</sub> en ambas cadenas, se encuentra otra señal duplete en  $\delta$  3.52-3.66 ppm perteneciente al grupo metino CH. El protón N-H se encuentra en  $\delta$  6.56 ppm mientras que, en  $\delta$  10.49 ppm le corresponde al O-H del grupo carboxilo. Por otro lado, las señales que se aprecian entre  $\delta$  7.24-7.92 ppm corresponden a los enlaces C-H del sistema aromático en la fluoresceína y los pertenecientes a la fenilalanina.

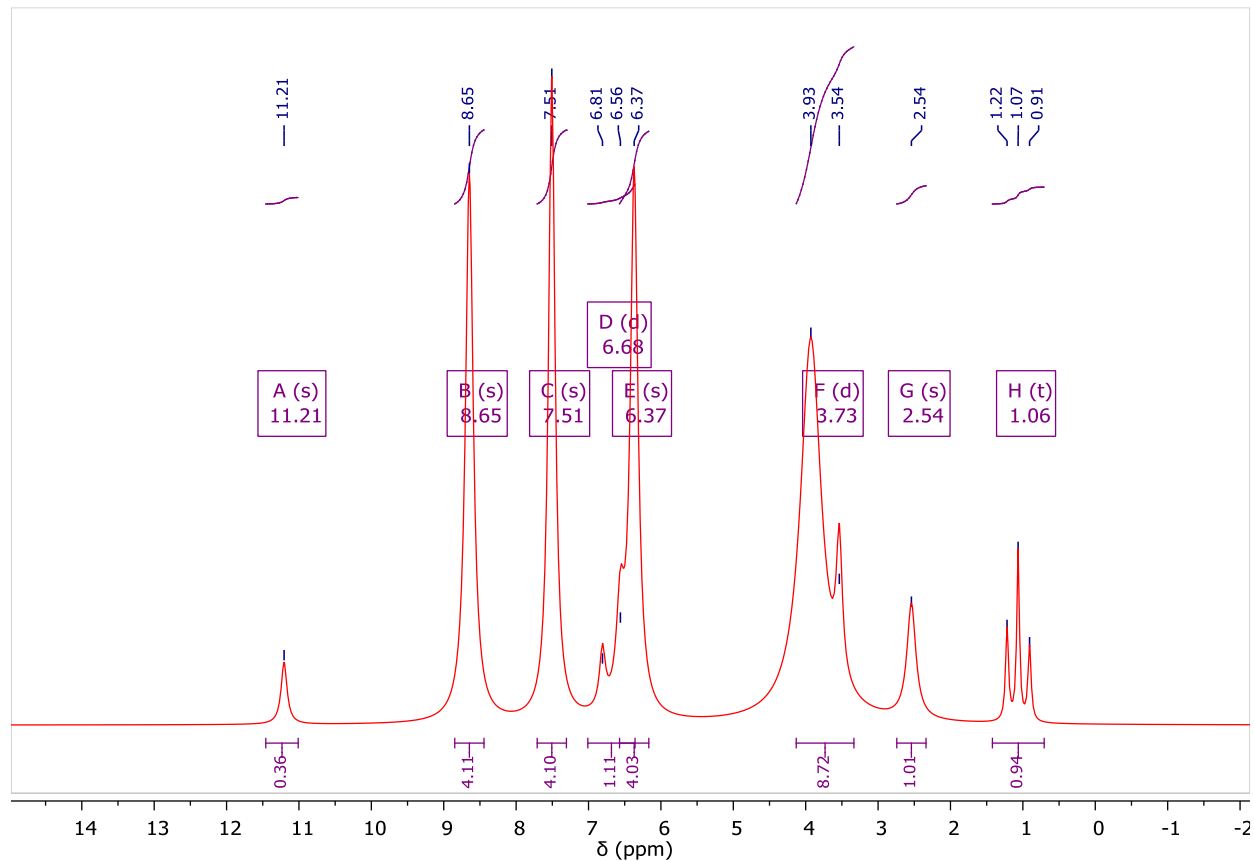
#### 4.3.1.3 2,2'-((6-((9-(2-carboxifenil)-3-oxo-3H-xanten-7-il)oxi)-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanediil))bis(ácido 3-metilbutanoico)

**Figura 46.** *Triderivado CC-valina*

El 2,2'-((6-((9-(2-carboxifenil)-3-oxo-3H-xanten-7-il)oxi)-1,3,5-triazina-2,4-diil)bis(azanediil))bis(ácido 3-metilbutanoico) o como se le mencionara en este documento (Triderivado CC-valina), presento un rendimiento de 32,6%. El aspecto de este compuesto es diferente en su coloración y físico en comparación a su versión mono y disustituida, las tonalidades son entre el color rojo oscuro y negro. Su estado es similar a su contraparte monosustituida, siendo un polvo granuloso bastante compacto que dificulta su solubilidad. A continuación, se iniciará observando los datos para el triderivado CC-valina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 47.

**Figura 47.** Espectro IR de triderivado CC-valina

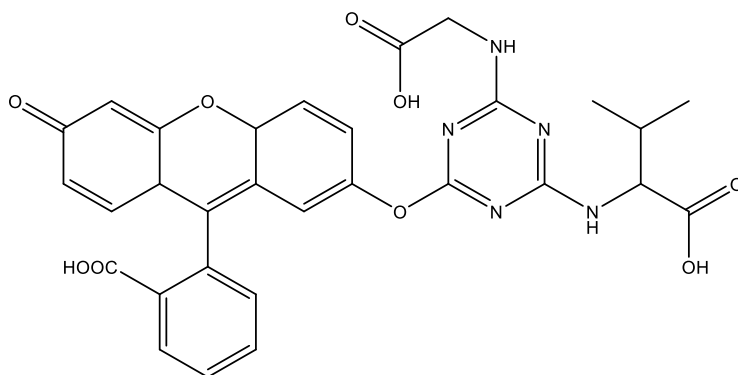
En la figura 48 se registra las bandas de absorción del compuesto definidas para  $\nu$  3348, y  $1319\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H; mientras que el enlace C=O se presenta en  $\nu$   $1728\text{ cm}^{-1}$  del grupo carboxilo que se encuentra en la sección terminal del aminoácido. El enlace C-O presente en  $\nu$   $1165\text{ cm}^{-1}$  se ve reflejado en el anillo de la fluoresceína y en la unión entre la fluoresceína y la triazina disustituida. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$   $3448$  y  $1597\text{ cm}^{-1}$  para el enlace N-H, mientras la vibración de tensión  $\nu$   $1234$  del enlace C-N para el grupo amina alifática de la valina; adicionalmente, la última señal en  $\nu$   $1620\text{ cm}^{-1}$  se solapa con las señales de C=C en el anillo de triazina. Finalmente, se observa señales en  $\nu$   $878\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a vibración de estiramiento de enlaces C-H en compuestos aromáticos.

**Figura 48.** Espectro RMN de triderivado CC-valina


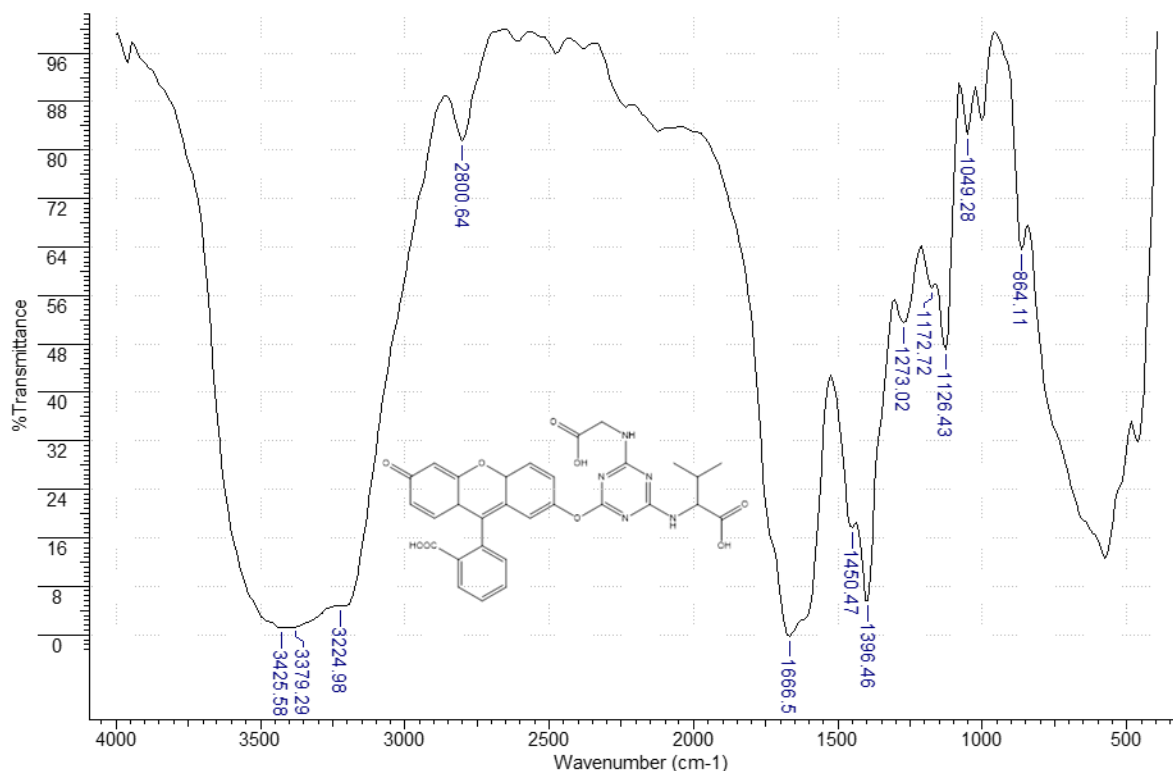
En cuanto al espectro normalizado  $^1\text{H}$ -RMN, es posible evidenciar en la figura 49 las señales correspondientes a los protones N-H, O-H,  $\text{CH}_2$  y CH presentes en el aminoácido y los protones correspondientes al núcleo de fluoresceína; se observa una señal multiplete en  $\delta$  1.07 ppm debido a tres protones del grupo metilo  $\text{CH}_3$  en ambas cadenas, se aprecia una señal intensa en  $\delta$  3.93 ppm correspondientes al protón del grupo metino C-H, la cual, probablemente se encuentra solapada con trazas de agua, resultando en su gran intensidad. Se encuentran dos señales fundamentales, siendo una en  $\delta$  6.37 ppm perteneciente al protón N-H y la otra en  $\delta$  11.21 ppm del enlace O-H del grupo carboxilo demostrando su unión en la molécula. Por otro lado, las señales que se aprecian entre  $\delta$  7.51-8.65 ppm corresponden a los enlaces C-H del sistema aromático en la fluoresceína.

**4.3.1.4 2-(7-((4-((1-carboxi-2-metilpropil)amino)-6-((carboximetil)amino)-1,3,5-triazin-2-il)oxi)-3-oxo- Ácido 3H-xanten-9-il)benzoico**

**Figura 49.** *Triderivado CC-glicina; valina*



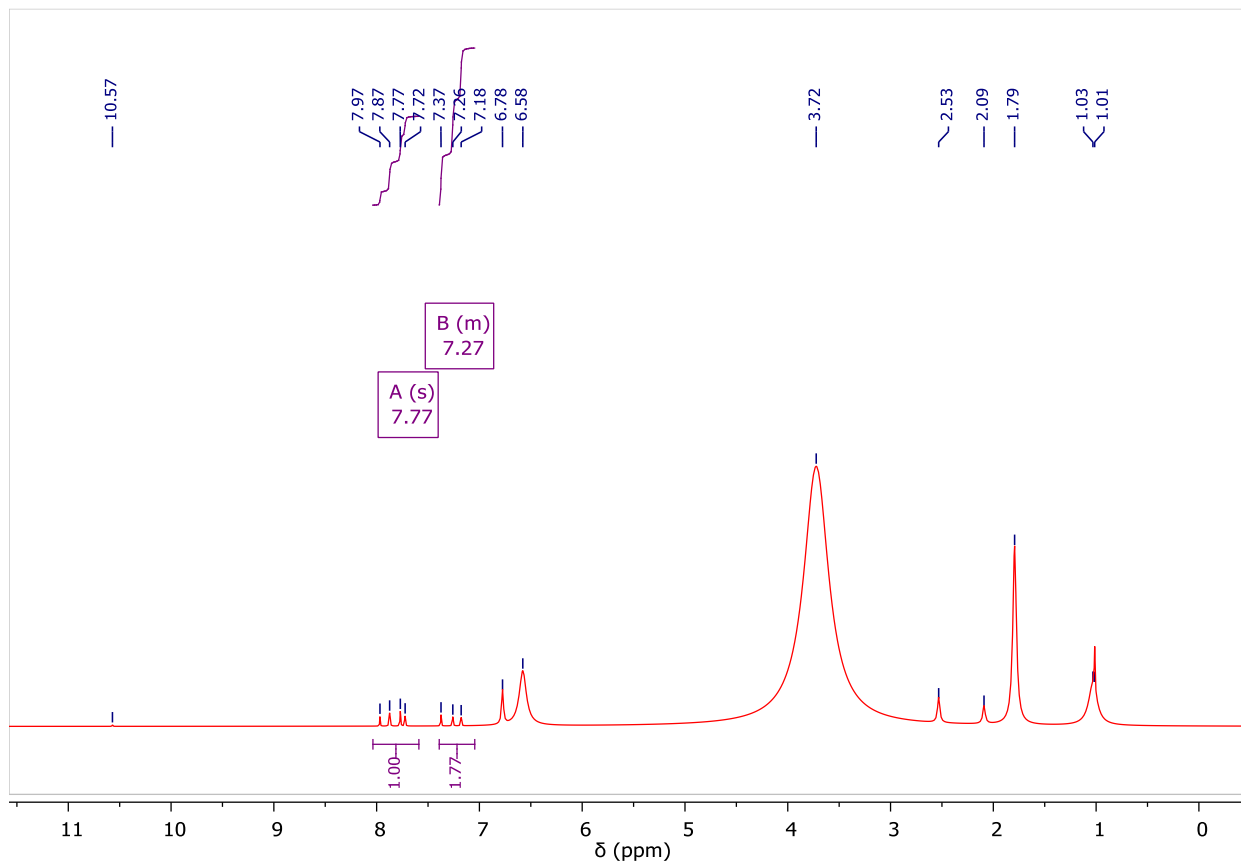
El 2-(7-((4-((1-carboxi-2-metilpropil)amino)-6-((carboximetil)amino)-1,3,5-triazin-2-il)oxi)-3-oxo- Ácido 3H-xanten-9-il)benzoico o como se le denominara en este documento (triderivado CC-glicina; valina), presento un rendimiento de 93,4%. el aspecto de este compuesto presenta ciertas diferencias al de los demás trisustituidos, mantiene la coloración característica dada por la fluoresceína (tonos rojizos-marrones). Siendo la única diferencia su estado físico; ya que este es un polvo granuloso y gomoso cambiante con el paso de los días y la humedad tomando una apariencia viscosa (probablemente comportamiento higroscópico). A continuación, se iniciará observando los datos para el triderivado CC-valina, cuyo espectro IR se muestra en la figura 48.

**Figura 50.** Espectro IR de triderivado CC-glicina; valina

En la figura 51 se registra las bandas de absorción del compuesto definidas para  $\nu$  3379, 3224 y  $1450 \text{ cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de estiramiento del enlace O-H, además de tener el enlace de  $\text{C}=\text{O}$   $1666 \text{ cm}^{-1}$  del grupo carboxilo, que se encuentra en la sección terminal de los aminoácidos que se ve reflejado la cadena  $-\text{COOH}$  de la fluoresceína. Se observa la vibración de tensión en  $\nu$  3425, 3379 y  $1666 \text{ cm}^{-1}$  (solapándose con los enlaces O-H y  $\text{C}=\text{O}$ ) para el enlace N-H; se tiene  $\nu$  1172 y  $1126 \text{ cm}^{-1}$  para el enlace C-N del grupo amina alifática de la glicina y valina. Adicionalmente en la fluoresceína, se observa señales en  $\nu$  1273 y  $1049 \text{ cm}^{-1}$  C-O del oxígeno presente en el ciclo y se aprecia las vibraciones de doblamiento pertenecientes al enlace C-H del ciclo aromático. Por otro lado, los aminoácidos empleados muestran picos de absorbancia en  $\nu$  2800 y  $1450 \text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los enlaces  $\text{C}-\text{H}_3$ ,  $\text{C}-\text{H}_2$  y  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ . Se

debe tener en cuenta el solapamiento de las señales entre los mismos aminoácidos y sus señales con la fluoresceína, ya que comparten rangos de absorción similares.

**Figura 51.** Espectro RMN de triderivado CC-glicina; valina



En cuanto al espectro normalizado  $^1\text{H-RMN}$ , es posible evidenciar en la figura 52 las señales correspondientes a los protones de los grupos N-H, O-H C-H<sub>2</sub>, C-H<sub>3</sub> y C-H presentes en el aminoácido y en el núcleo de la fluoresceína; se observa una señal  $\delta$  1.79 ppm perteneciente a los protones del grupo metilo C-H<sub>3</sub> de la valina y la señal de  $\delta$  2.09 ppm del grupo metino C-H también presente en el anterior amino. Por otro lado, la señal intensa en  $\delta$  3.72 ppm es debido a dos protones del grupo metileno C-H<sub>2</sub> de la glicina y pequeñas trazas de agua que se solapan, por lo cual su señal se presenta de esa forma. Se encuentra un pico en el rango de  $\delta$  6.58 ppm perteneciente al protón N-H y el pico en  $\delta$  10.57 ppm del enlace O-H de los dos grupos carboxilos. Por otro lado,

las señales que se aprecian entre  $\delta$  7.18-7.97 ppm corresponden a los enlaces C-H del sistema aromático en la fluoresceína.

#### 4.5 Puntos de fusión (MP)

En la tabla 1 se presentan los puntos de fusión de los 4 sensores sintetizados a usar para la determinación de metales en soluciones acuosas, se puede observar que el sensor triderivado CC-glicina presenta un punto de fusión más alto en comparación a los demás sensores. Por otro lado, no se pudo determinar la temperatura de fusión del sensor triderivado CC-glicina; valina debido a su estado físico.

**Tabla 1.** *Puntos de fusión de sensores sintetizados*

<i>Sensor</i>	<i>Punto de fusión (°C)</i>
Sensor CC-triderivado glicina	300
Sensor CC-triderivado fenilalanina	123
Sensor CC-triderivado valina	250
Sensor CC-triderivado glicina; valina	---

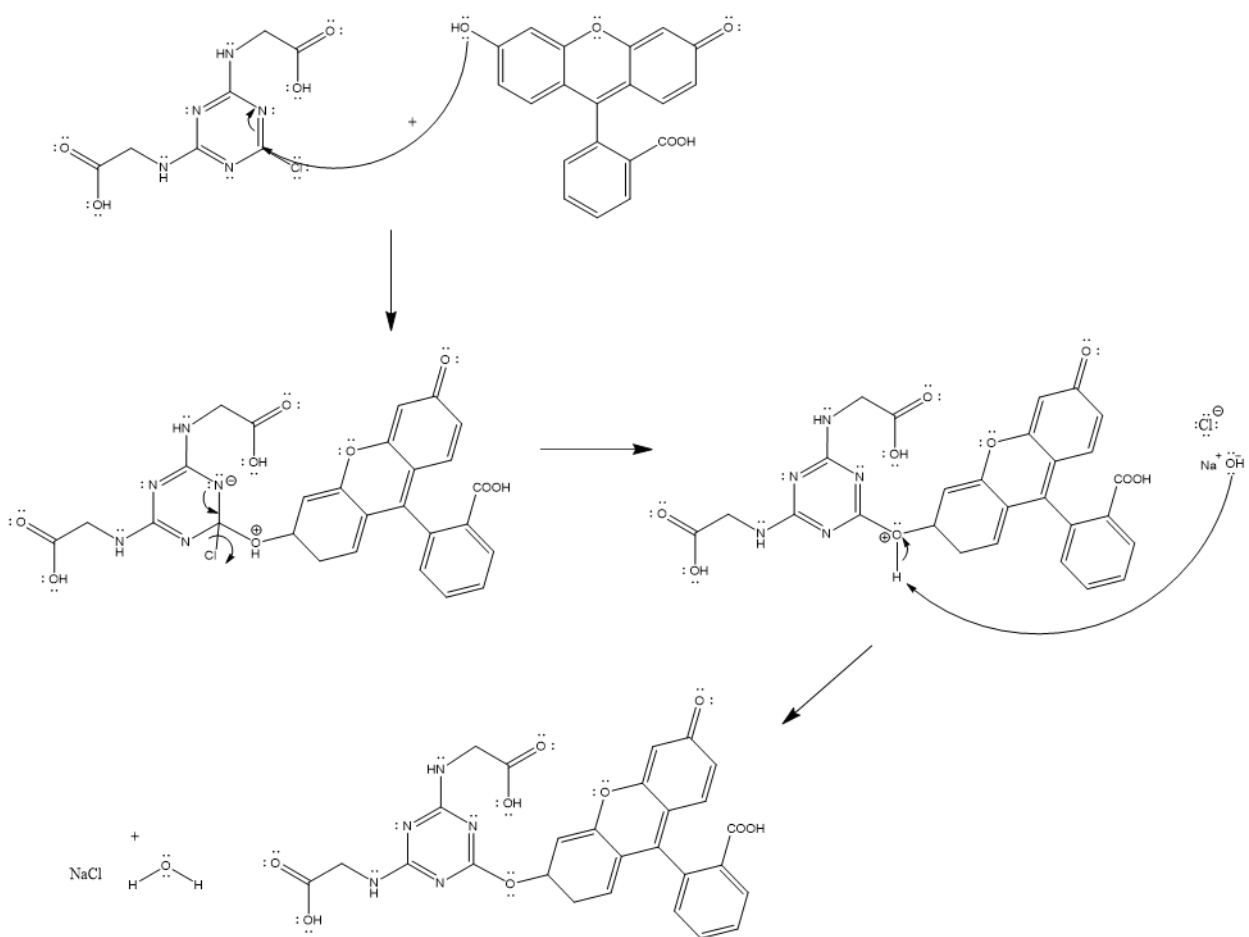
#### 4.6 Mecanismo propuesto para las sustituciones nucleofílicas aromáticas en el núcleo de triazinas

La primera sustitución en los tres mecanismos propuestos a continuación es exotérmica y se realiza a 0 °C; se mantuvo esta temperatura por el tiempo de reacción para cada nucleófilo utilizado. Manteniendo estas condiciones no se observaron productos de di sustitución ya que el anillo de triazina queda desactivado por la introducción de estos nucleófilos, se debe a que como sustituyente las aminas presentes en aminoácidos son donadoras de electrones y disminuyen gradualmente la reactividad del anillo de triazina, además de la distribución de la reactividad en la molécula por la localización de los cloros sustituyentes. Esta disminución de la reactividad del anillo de triazina en la primera sustitución, hace que para que se realice la segunda, se debe suministrar energía al sistema en forma de calor (temperatura ambiente hasta 30 o 40 °C) y tiempos de reacción

más prolongados; sin embargo, estas condiciones pueden variar ligeramente dependiendo de los diferentes reactivos (nucleófilos) en la sustitución, ya que según su naturaleza o propiedades puede modificar la reactividad del núcleo triazínico, por ejemplo, modificando la distribución de las cargas. El mecanismo de reacción sigue al igual que la monosustitución, una ruta de S<sub>N</sub>Ar de dos etapas (adición-eliminación) con cinética de segundo orden. En la primera etapa de la reacción, que es el paso determinante de la velocidad, el nucleófilo reacciona con la triazina y conduce a la movilización de las cargas sobre el nitrógeno, siendo estabilizado por resonancia, seguido de una rápida eliminación del grupo saliente (segundo paso). Una vez que se ha producido la segunda sustitución, la reactividad del tercer átomo de cloro difiere a la de los dos primeros. La tercera S<sub>N</sub>Ar depende exclusivamente del nucleófilo a introducir y el suministro de más energía (temperatura), incluso a reflujo para que se lleve a cabo la reacción, con aumentos en el tiempo de llevarse a cabo la sustitución. La importancia en el orden de agregación de elementos a los tres sitios ortogonales para la S<sub>N</sub>Ar en el cloruro cianúrico radica en la naturaleza del sustituyente que facilita la incorporación de diferentes nucleófilos (como alcoholes, tioles y aminas). Estos efectos se pueden expresar en forma analítica mediante la ecuación de Hammet que se puede utilizar para calcular la "Hammet sigma", parámetro que cuantifica la influencia que tiene la presencia de un determinado sustituyente sobre la reactividad de la molécula (Da Silva Marques et al., 2024). Se sabe que el carácter básico del nucleófilo entrante que reemplaza al tercer cloro se debilita debido a los sustituyentes presentes en el CC del anillo de triazina a través de la pérdida por extracción de electrones del enlace  $\sigma$  de un átomo de cloro y la ganancia de la donación electrónica del orbital  $\pi$  de los nucleófilos añadidos.

A continuación, se presenta la figura 53 que muestra el mecanismo de reacción para la Trisustitución del núcleo de triazina disustituido con glicina incorporando la fluoresceína como nucleófilo.

**Figura 52.** Mecanismo de reacción propuesto para la tri sustitución con fluoresceína del cloruro cianúrico di sustituido con aminoácido glicina



## 5 Respuesta de los quimiosensores fluorescentes frente a los metales pesados

Teniendo en cuenta la definición de metal pesado referida a su alta densidad (4 g/cm<sup>3</sup> hasta 7 g/cm<sup>3</sup>), tendencia a bioacumularse en organismos vivos provocando alto grado de toxicidad, contaminación y/o ecotoxicidad. (Rodríguez, D. 2017)

El estudio de los ligandos multidentados proporciona varias rutas sintéticas para generar materiales magnéticos y catalizadores. Para fines del proyecto, el uso del cloruro cianúrico y sus posibles sustituciones se encuentran en el campo de sensores químicos. Los ligandos que contienen

nitrógeno y oxígeno exhiben una química de coordinación versátil y son capaces de formar complejos metálicos y moleculares que tienen excelentes propiedades estructurales.

### ***5.1 Estudio cualitativo de los sensores en complejación con metales***

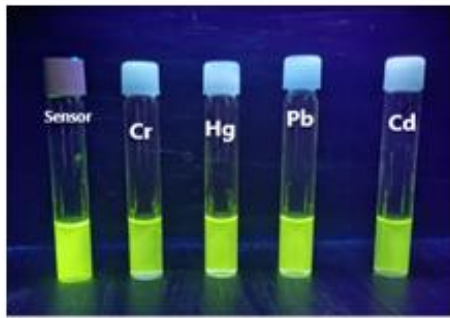
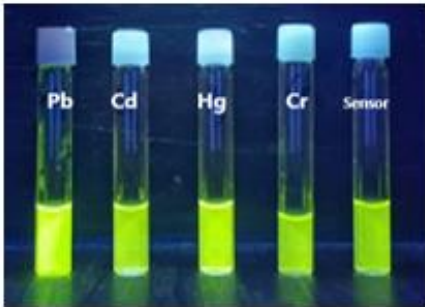
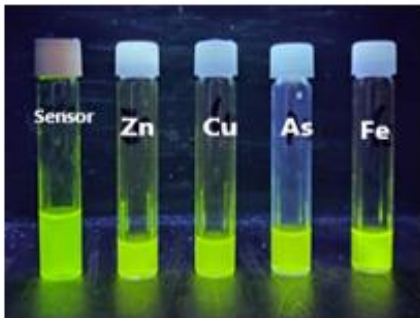
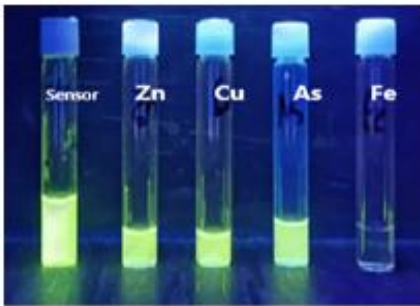
Para evaluar de manera cualitativa la detección de distintos metales con los sensores sintetizados previamente, se realizó una solución de cada sensor a 10 ppm, posteriormente se agregó en tubos con rosca, junto a una solución de metal de 1000 ppm, con una relación (3:1).

Con los sensores de triderivado CC-glicina y triderivado CC-glicina+valina se observó que su fenómeno de fluorescencia aumentaba con el paso del tiempo, por lo cual se realizó la toma de imágenes a lo largo de 15 días; con el fin de comparar los cambios presentados. Para el caso de los sensores triderivados CC-fenilalanina y triderivado CC-valina se hizo el mismo procedimiento, con la diferencia de que estos presentaron cambios notables a partir del primer día; sin embargo, se continuo el proceso de toma de imágenes a lo largo de las 2 semanas. A continuación, se presentarán las imágenes correspondientes de cada sensor.

#### ***5.1.1 Sensor triderivado CC-glicina***

Como se observa en las imágenes de la tabla 2 los cambios en la fluorescencia se presentan para los tubos del sensor con  $\text{Hg}^{+1}$  y  $\text{Fe}^{+2}$ , se aprecia de forma más clara para la segunda semana.

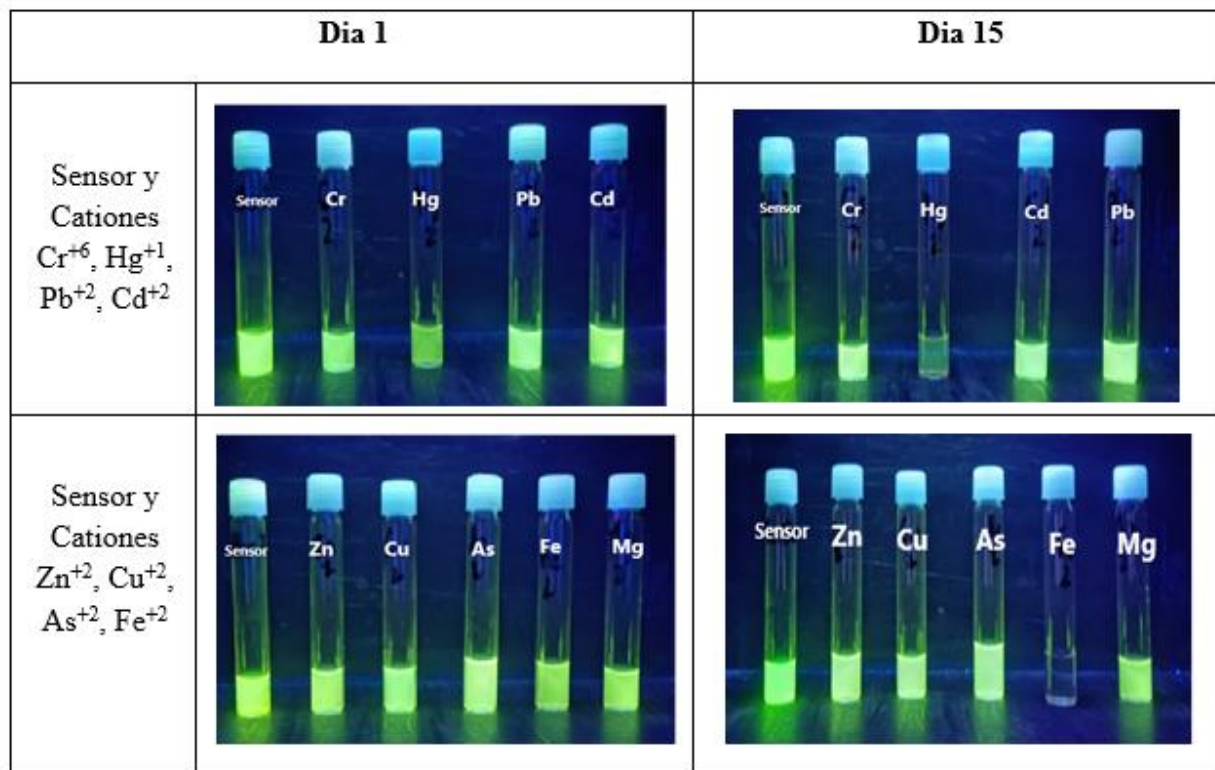
**Figura 53.** Imágenes día 1 y 15 sensor triderivado CC-glicina

	<b>Día 1</b>	<b>Día 15</b>
Sensor y Cationes $\text{Cr}^{+6}$ , $\text{Hg}^{+1}$ , $\text{Pb}^{+2}$ , $\text{Cd}^{+2}$		
Sensor y Cationes $\text{Zn}^{+2}$ , $\text{Cu}^{+2}$ , $\text{As}^{+2}$ , $\text{Fe}^{+2}$		

### 5.1.2 Sensor triderivado CC-glicina; valina

Como se observa en las imágenes de la tabla 3 los cambios en la fluorescencia se presentan tubos del sensor con  $\text{Hg}^{+1}$  y  $\text{Fe}^{+2}$ , se aprecia de forma más clara para la segunda semana.

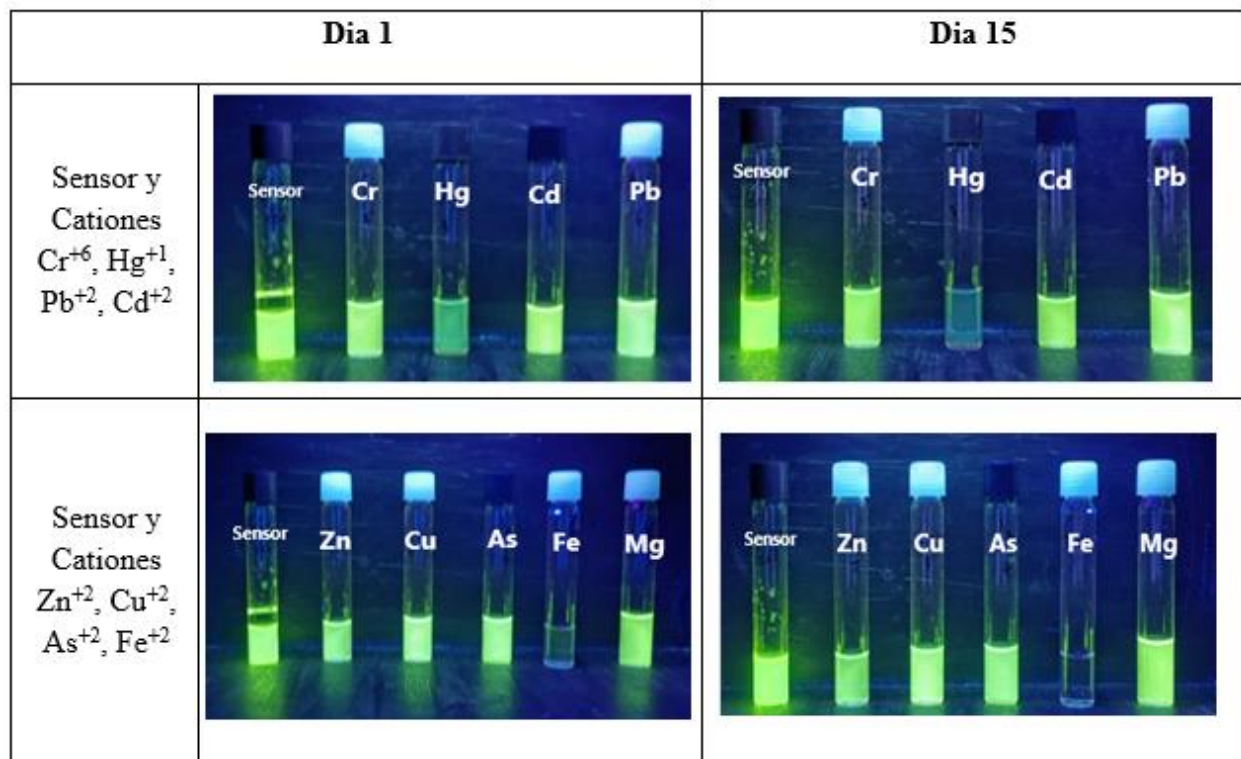
**Figura 54.** Imágenes día 1 y 15 sensor triderivado CC-glicina; valina



### 5.1.3 Sensor triderivado CC-fenilalanina

Como se observa en las imágenes de la tabla 4 los cambios en la fluorescencia se presentan tubos del sensor con  $\text{Hg}^{+1}$  y  $\text{Fe}^{+2}$  desde el primer día; y continua este comportamiento aun en la segunda semana.

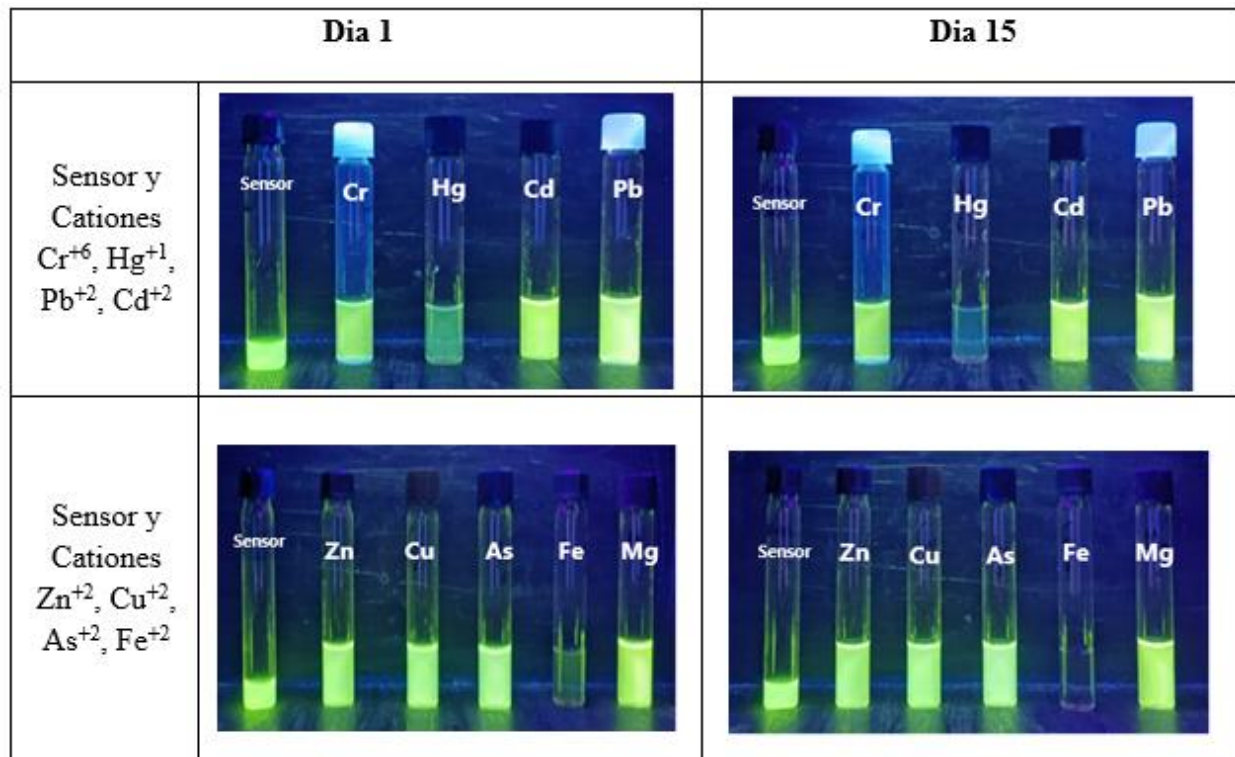
**Figura 55.** Imágenes día 1 y 15 sensor triderivado CC-fenilalanina



#### 5.1.4 Sensor triderivado CC-valina

Como se observa en las imágenes de la tabla 5 los cambios en la fluorescencia se presentan para los tubos del sensor con  $\text{Hg}^{+1}$  y  $\text{Fe}^{+2}$  desde el primer día; igualmente, se tomaron imágenes hasta la segunda semana.

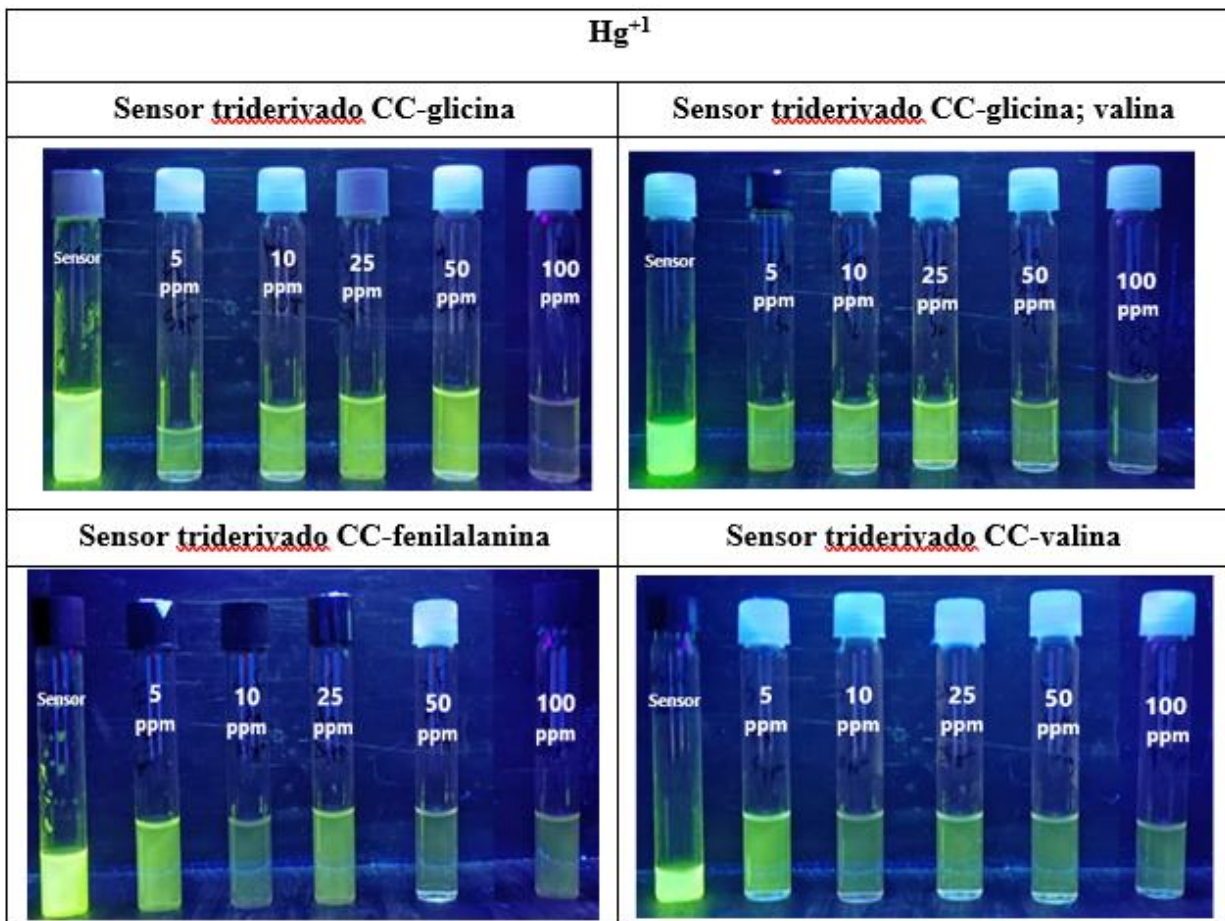
**Figura 56.** Imágenes día 1 y 15 sensor triderivado CC-valina



### 5.1.5 Estudio cualitativo de metales con respuesta al sensor

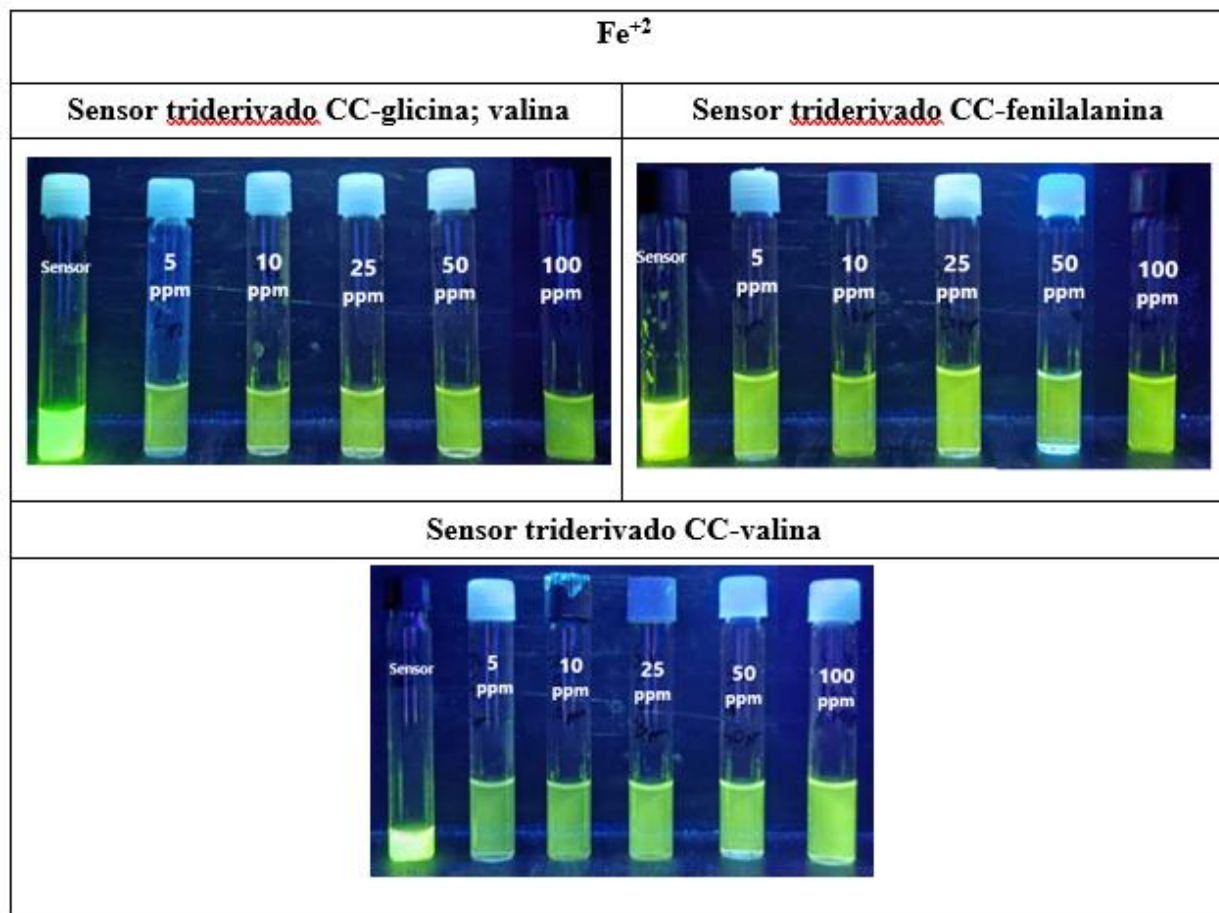
Teniendo en cuenta que en Santander se han presentado problemas con metales pesados producto de la minería ilegal (Zambrano, 2022) y según los resultados observados, se realizó una prueba cualitativa a diferentes concentraciones con los metales de  $\text{Hg}^{+1}$ ,  $\text{Fe}^{+2}$ . A continuación, se presentará en la tabla 6 y 7 las imágenes de los sensores que presentaron respuesta a respectivos metales.

**Figura 57.** Respuesta sensores a diferentes concentraciones  $Hg^{+1}$  (izquierda a derecha; sensor, 5ppm, 10ppm, 25ppm, 50 ppm y 100ppm)



Se observa de la tabla 6 que para la detección de mercurio  $Hg^{+1}$ , todos los sensores a las diferentes concentraciones del metal dan la detección de este, observándose mayormente el abatimiento de la fluorescencia a concentración de 100 ppm del metal para los tres sensores triderivados estudiados. Los sensores triderivados CC-fenilalanina y el CC-valina muestran decaimiento de fluorescencia desde 10 ppm.

**Figura 58.** Respuesta sensores a diferentes concentraciones de Fe (izquierda a derecha; sensor, 5ppm, 10ppm, 25ppm, 50 ppm, y 100ppm)



Se observa de la tabla 7 que para la detección de hierro  $Fe^{+2}$ , los sensores triderivado CC-glicina; valina y el sensor triderivado CC-valina a las diferentes concentraciones del metal se observa el abatimiento de la fluorescencia. Estos sensores muestran decaimiento de fluorescencia desde 5 ppm.

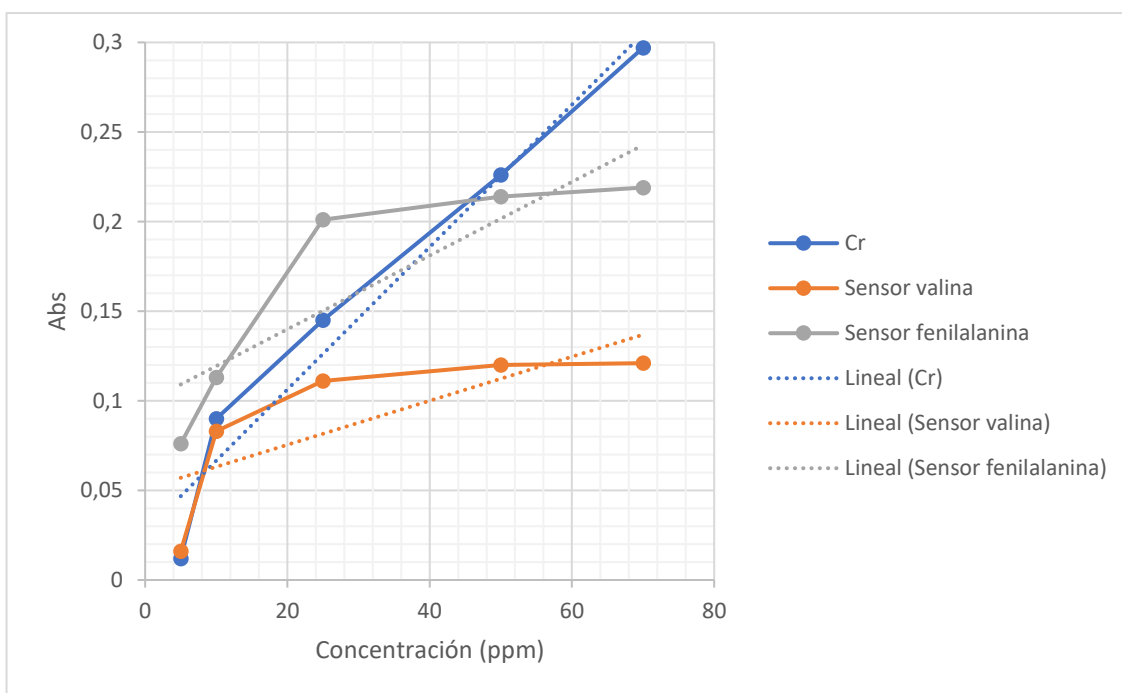
### 5.2 Estudio cuantitativo complejación de metales con sensor

El  $\lambda$  máximo del sensor triderivado CC-glicina y CC-glicina; valina fue en 250 nm a una absorbancia de 0,403 y 0,240 respectivamente. Mientras que los sensores triderivados CC-fenilalanina y CC-valina dio en 275 nm; a una absorbancia de 0,602 y 0,541.

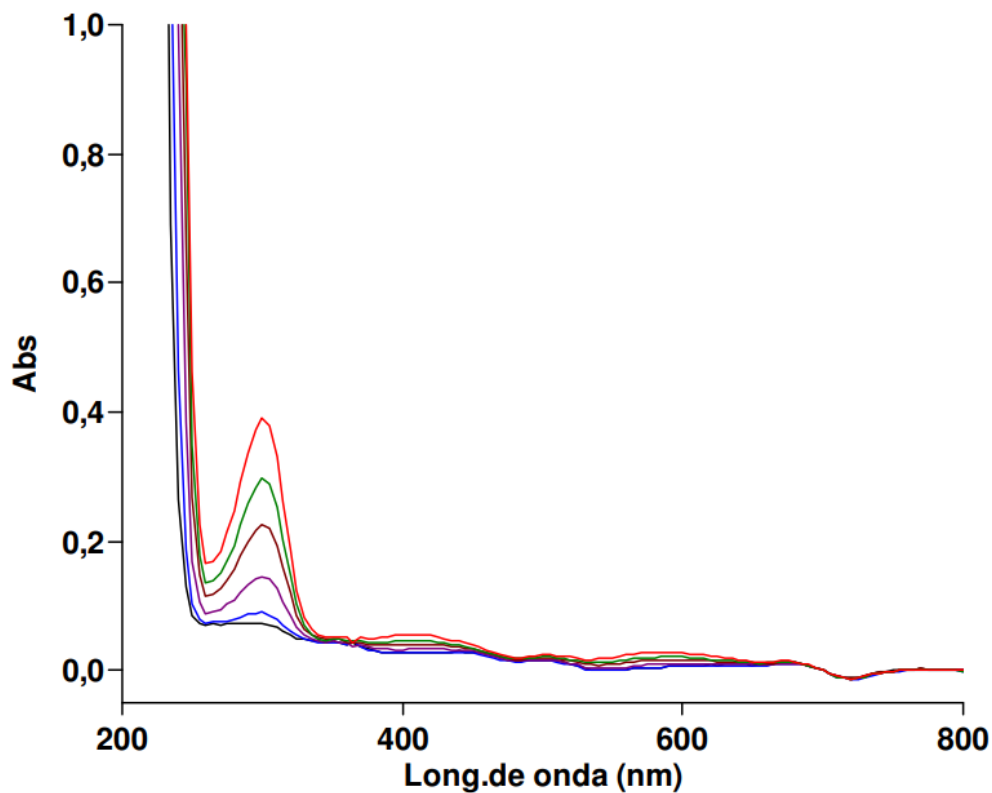
Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de las pruebas cualitativas de detección de metales (sección 4.1), siendo los sensores sensibles a los metales Cr, Hg, Fe y Mg fueron evaluados de manera cuantitativa por medio del espectrofotómetro de UV-Vis con el fin de determinar el límite de detección. En las figuras presentadas a continuación, se evidencia las diferentes curvas de calibración para cada metal, se puede observar que, al adicionar los sensores, la absorbancia aumenta (en la misma concentración de cada metal), ya que la solución cambia de coloración.

**5.2.1 Curva calibración y complejación Cr<sup>2+</sup> con sensores**

**Figura 59** Curva calibración Cr y sensores



**Figura 60.** Barrido espectroscópico de Cr por ultravioleta-visible en longitud de onda 250-600nm.



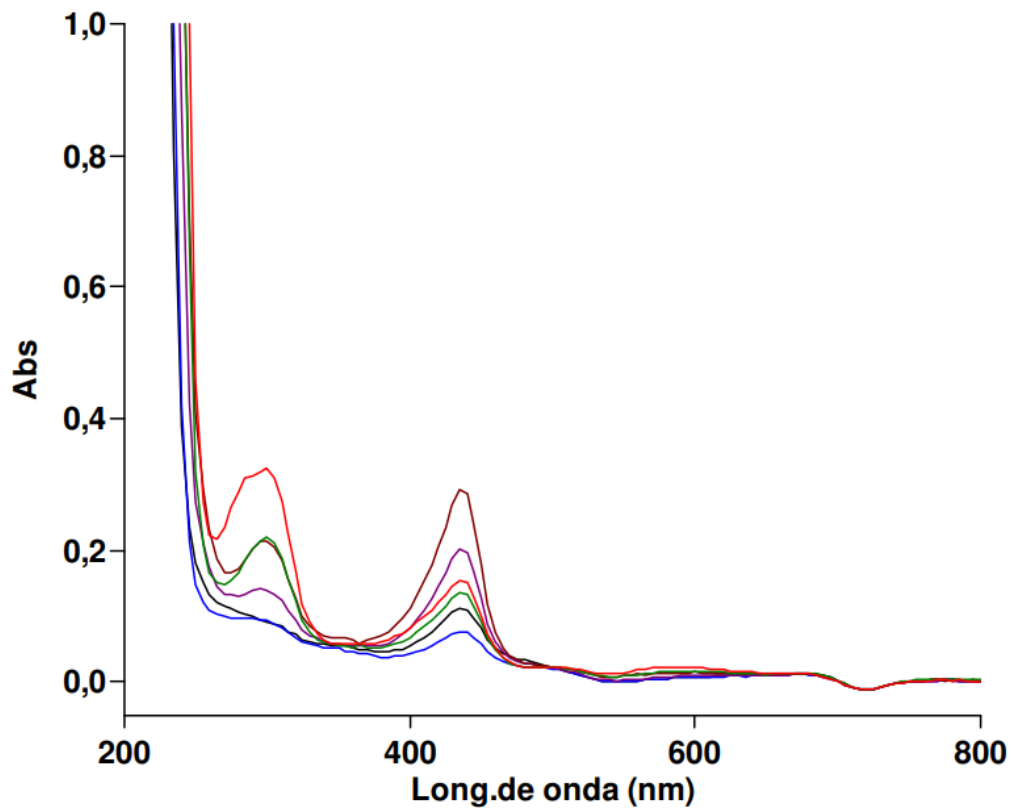
Se realizó una curva (figura 55) a diferentes concentraciones de solución de cromo desde 5 ppm hasta 70ppm, obteniendo las absorbancias máximas (300nm) expresadas en la tabla.

**Tabla 2.** Absorbancias del Cromo en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 300 nm.

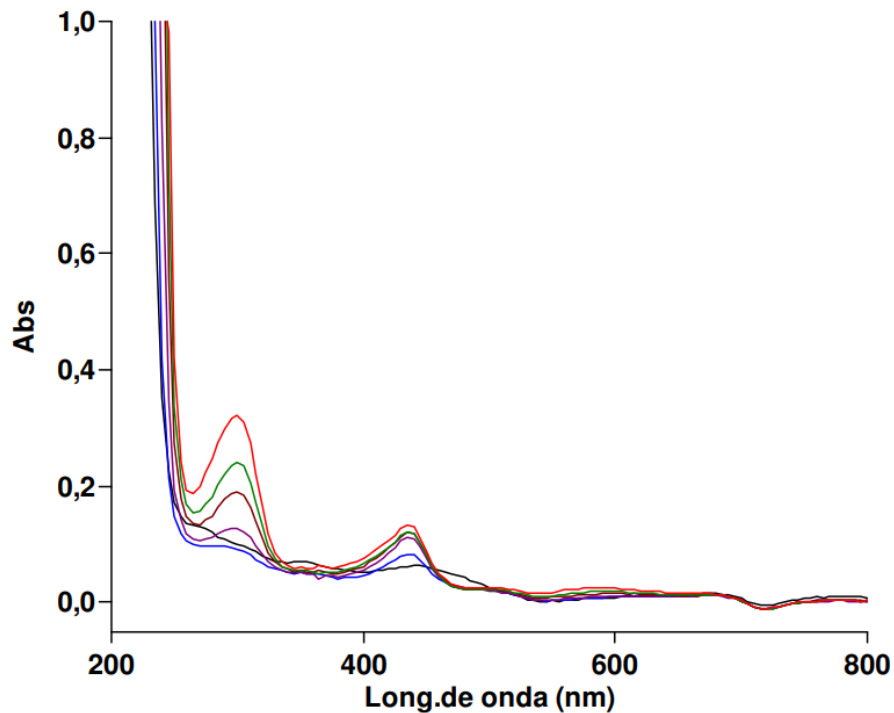
Concentración Cr (ppm)	Abs
5	0,012
10	0,09
25	0,145
50	0,229
70	0,297

A continuación, se presenta el barrido espectroscópico realizado al sensor triderivado CC-fenilalanina (figura 56) y sensor triderivado CC-valina (figura 57) y sus respectivas tablas con las concentraciones empleadas y absorbancias obtenidas.

**Figura 61.** Barrido espectroscópico de Cr-Sensor triderivado CC-fenilalanina (1:3) por ultravioleta-visible de 275-600nm



**Figura 62.** Barrido espectroscópico de Cr-Sensor triderivado CC-fenilalanina (1:3) por ultravioleta-visible de 275-600nm



Se inició con una concentración de 70 ppm de cromo y se redujo gradualmente la concentración hasta alcanzar el mínimo detectable, que fue de 5 ppm para ambos sensores como se muestra en la tabla 15 y 16.

**Tabla 3.** Absorbancias a diferentes concentraciones de Cr en solución del sensor triderivado CC-fenilalanina a 5 ppm a 70 ppm

Concentración Cr (ppm)	Abs
5	0,076
10	0,113
25	0,201
50	0,214
70	0,219

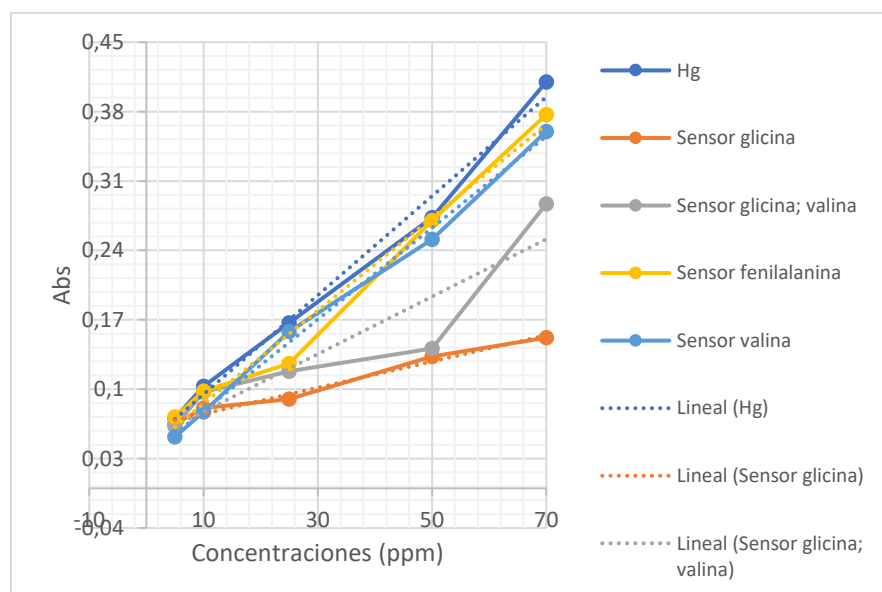
**Tabla 4.** Absorbancias a diferentes concentraciones de Cr en solución del sensor triderivado CC-valina a 5 ppm a 70 ppm

Concentración Cr (ppm)	Abs
5	0,016
10	0,083
25	0,111
50	0,120
70	0,121

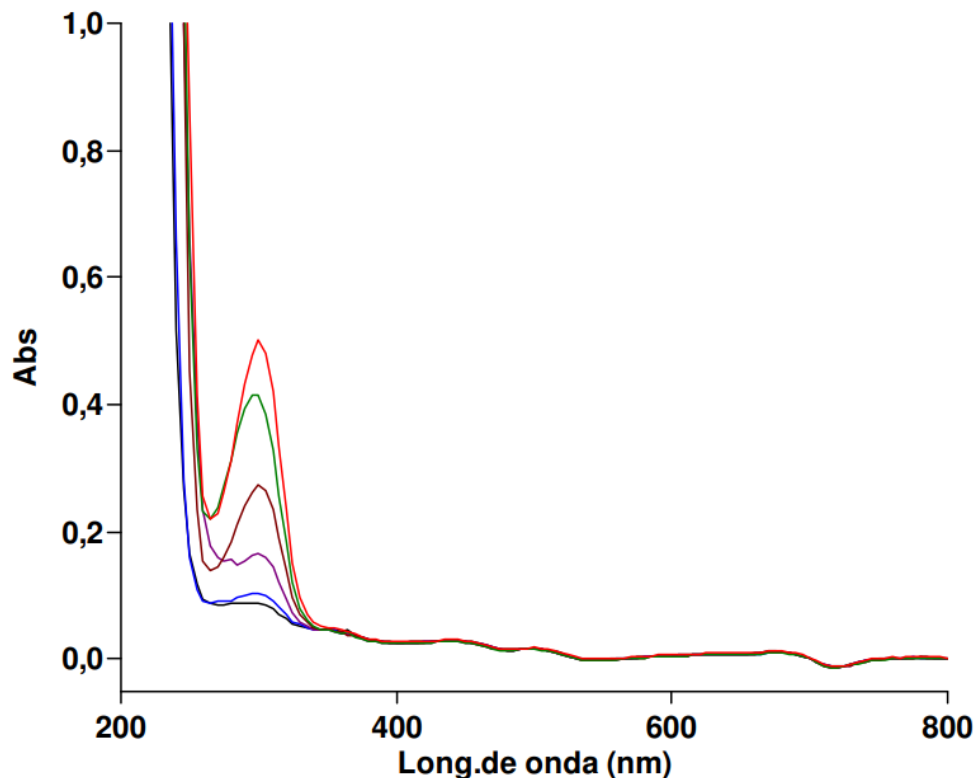
Estos sensores pueden presentar afinidad a formar enlaces con este metal por los pares de electrones libres en los grupos -OH y -COOH; la polaridad de los grupos en la molécula, ya que tienen cargas parciales que favorecen interacciones electrostáticas con los iones de cromo, mejorando la formación de complejos y los estados de oxidación de Cr<sup>3+</sup> y Cr<sup>6+</sup>, que tienen una alta afinidad por átomos electronegativos como oxígeno y nitrógeno, lo que aumenta la probabilidad de interacción con los grupos hidroxilo, amino y carboxilo (Liu et al., 2023).

### 5.2.2 Curva calibración y complejación Hg<sup>2+</sup> con sensores

**Figura 63.** Curva calibración Hg y sensores



**Figura 64.** Barrido espectroscópico de Hg por ultravioleta-visible en longitud de onda 250-600nm.



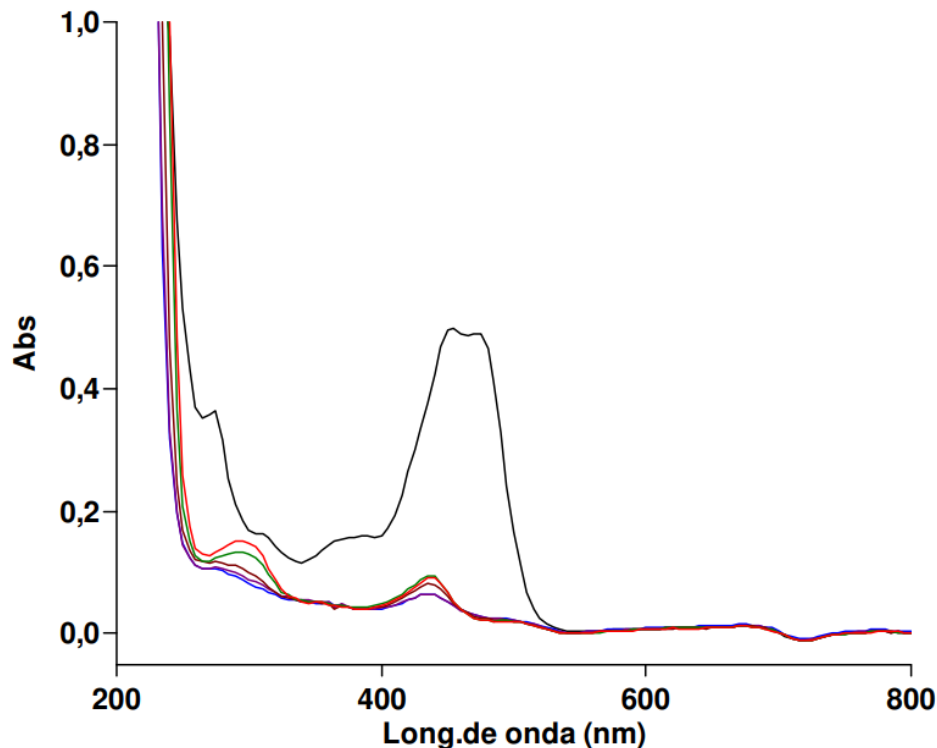
Se realizó una curva (figura 59) a diferentes concentraciones de solución de mercurio desde 5 ppm hasta 70ppm, obteniendo las absorbancias máximas (300nm) expresadas en la tabla.

**Tabla 5.** Absorbancias del Cromo en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 300 nm.

Concentración Hg (ppm)	Abs
5	0,071
10	0,103
25	0,167
50	0,273
70	0,410

A continuación, se presenta el barrido espectroscópico realizado al sensor triderivado CC-glicina (figura 60), sensor triderivado CC-glicina; valina (figura 61), sensor triderivado CC-fenilalanina (figura 62) y sensor triderivado CC-valina (figura 63) con sus respectivas tablas con las concentraciones empleadas y absorbancias obtenidas.

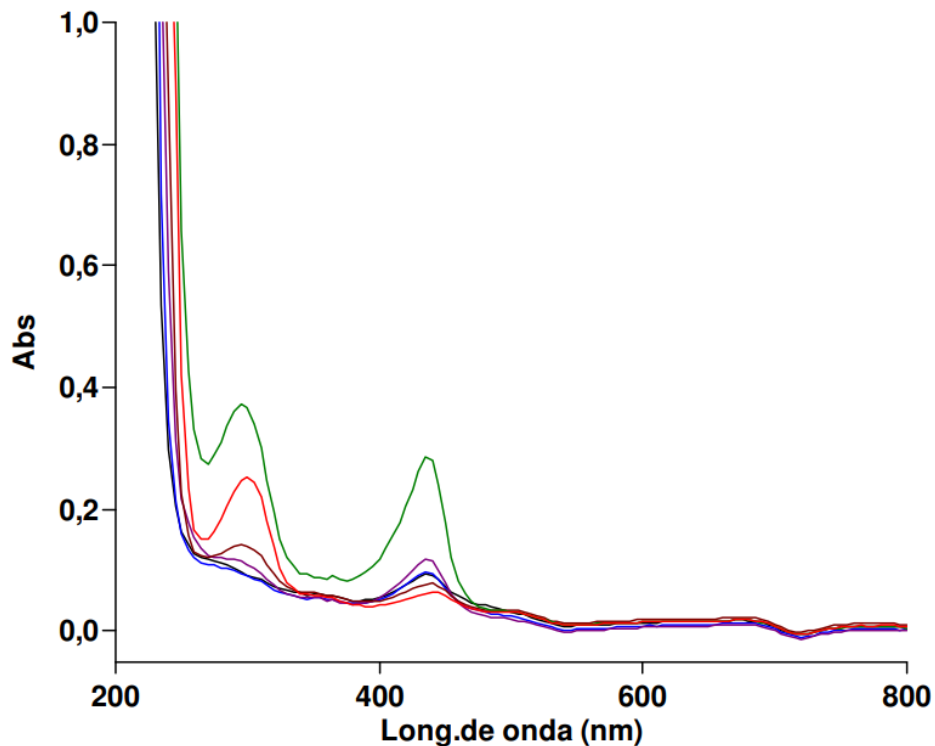
**Figura 65.** Barrido espectroscópico de Hg-Sensor triderivado CC-glicina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm



**Tabla 6.** Absorbancias a diferentes concentraciones de Hg en solución del sensor triderivado CC-glicina a 5 ppm a 70 ppm

Concentración Hg (ppm)	Abs
5	0,065
10	0,081
25	0,090
50	0,133
70	0,152

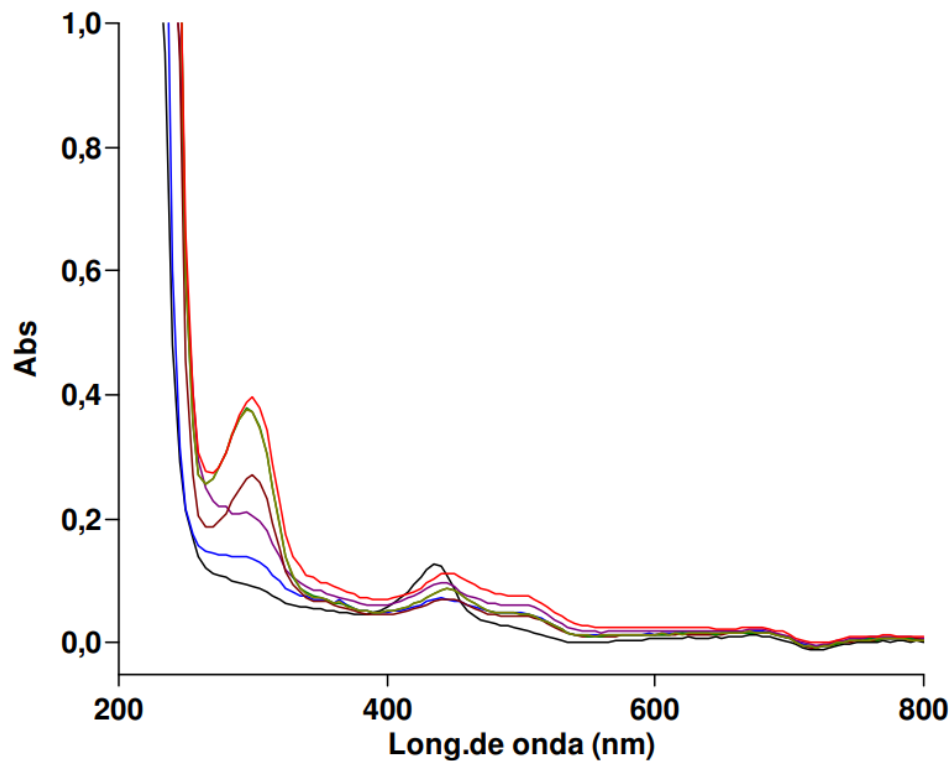
**Figura 66.** Barrido espectroscópico de Hg-Sensor triderivado CC-glicina; valina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm



**Tabla 7.** Absorbancias a diferentes concentraciones de Hg en solución del sensor triderivado CC-glicina; valina a 5 ppm a 70 ppm

Concentración Hg (ppm)	Abs
5	0,063
10	0,097
25	0,118
50	0,141
70	0,287

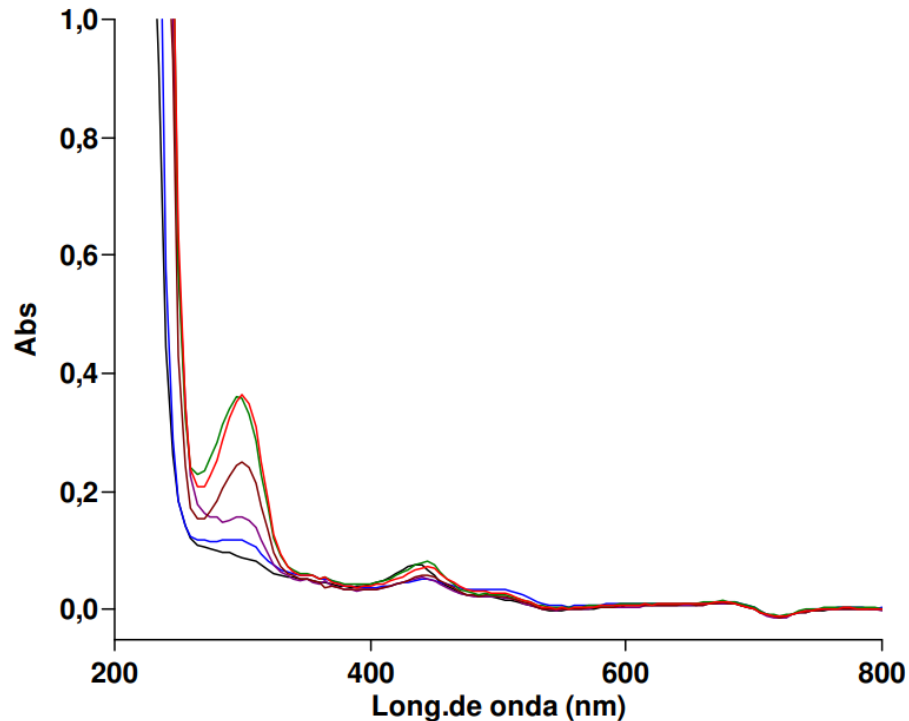
**Figura 67.** Barrido espectroscópico de Hg-Sensor triderivado CC-fenilalanina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm



**Tabla 8.** Absorbancias a diferentes concentraciones de Hg en solución del sensor triderivado CC-fenilalanina a 5 ppm a 70 ppm

Concentración Hg (ppm)	Abs
5	0,072
10	0,098
25	0,126
50	0,270
70	0,377

**Figura 68.** Barrido espectroscópico de Hg-Sensor triderivado CC-valina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm



**Tabla 9.** Absorbancias a diferentes concentraciones de Hg en solución del sensor triderivado CC-valina a 5 ppm a 70 ppm

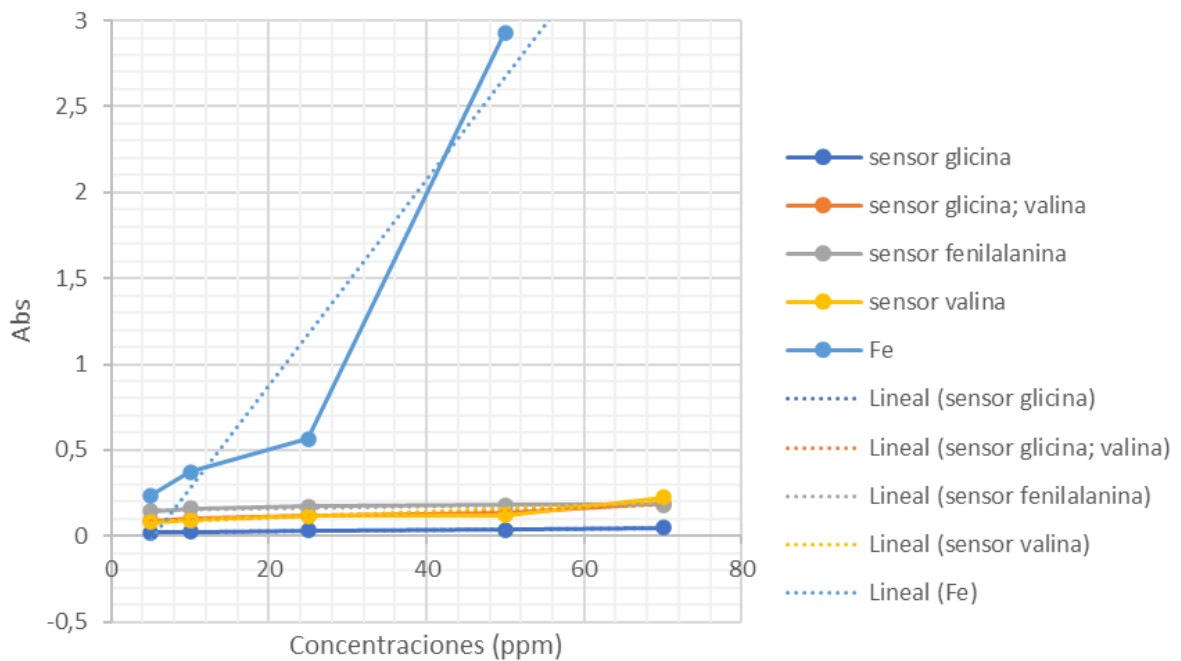
Concentración Hg (ppm)	Abs
5	0,052
10	0,077
25	0,158
50	0,251
70	0,360

Estos sensores pueden presentar afinidad a formar enlaces con este metal por los pares de electrones libres en los grupos -OH y -COOH; la polaridad de los grupos en la molécula, ya que tienen cargas parciales que favorecen interacciones electrostáticas con los iones de mercurio mejorando la formación de complejos y los estados de oxidación de Hg<sup>2+</sup>; este ion tiene una

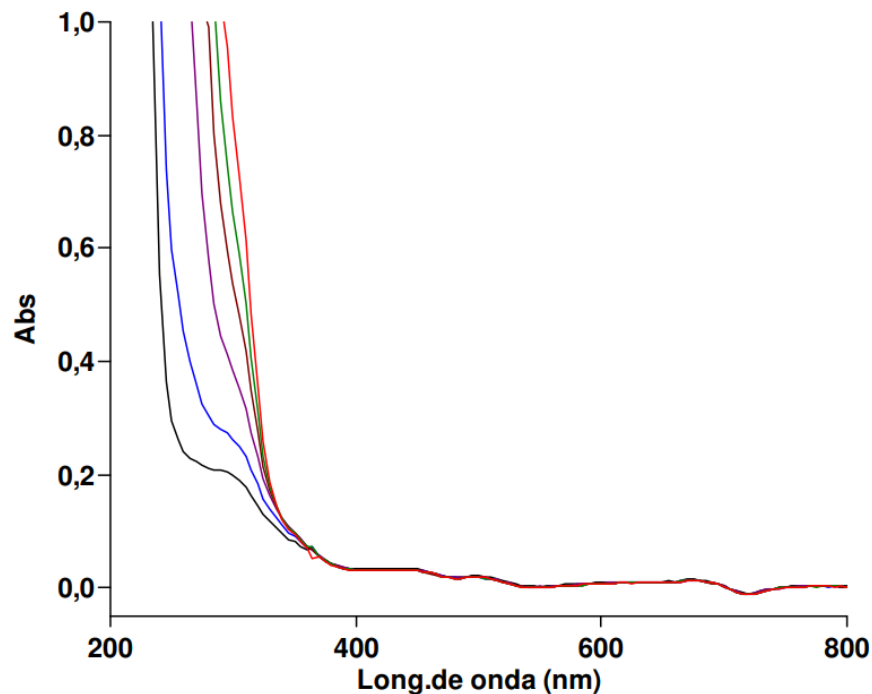
configuración electrónica que le permite aceptar electrones, lo que favorece la formación de enlaces con grupos que tienen pares de electrones libres. que tienen una alta afinidad por átomos electronegativos como el oxígeno para formar enlaces porque suelen ser más estables debido a la geometría de los enlaces y la capacidad de formar anillos o estructuras cíclicas. (Wu et al., 2024).

### 5.2.3 Curva calibración y complejación $Fe^{2+}$ con sensores

**Figura 69.** Curva calibración Fe y sensores



**Figura 70.** Barrido espectroscópico de Fe por ultravioleta-visible en longitud de onda 200-800nm.



Se realizó una curva (figura 65) a diferentes concentraciones de solución de hierro desde 5 ppm hasta 70ppm, obteniendo las absorbancias máximas (300nm) expresadas en la tabla.

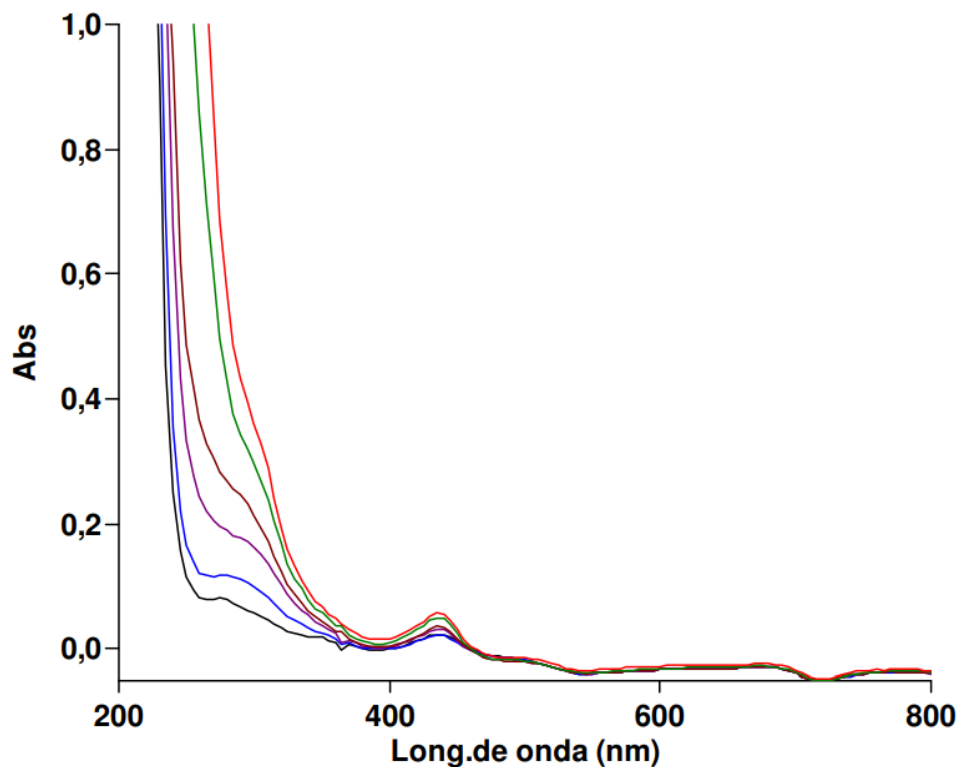
**Tabla 10.** Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 300 nm.

Concentración Fe (ppm)	Abs
5	0,236
10	0,372
25	0,567
50	2,932
70	4,280

A continuación, se presenta el barrido espectroscópico realizado al sensor triderivado CC-glicina (figura 66), sensor triderivado CC-glicina; valina (figura 67), sensor triderivado CC-

fenilalanina (figura 68) y sensor triderivado CC-valina (figura 69) con sus respectivas tablas con las concentraciones empleadas y absorbancias obtenidas.

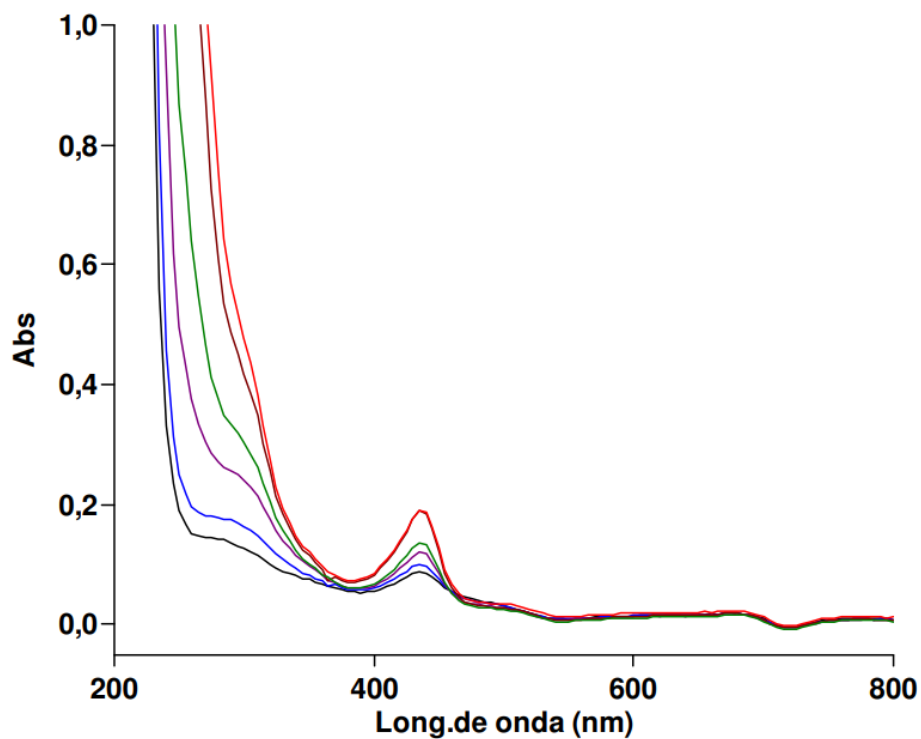
**Figura 71.** Barrido espectroscópico de Fe-Sensor triderivado CC-glicina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm



**Tabla 11.** Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 435 nm.

Concentración Fe (ppm)	Abs
5	0,022
10	0,23
25	0,032
50	0,036
70	0,05

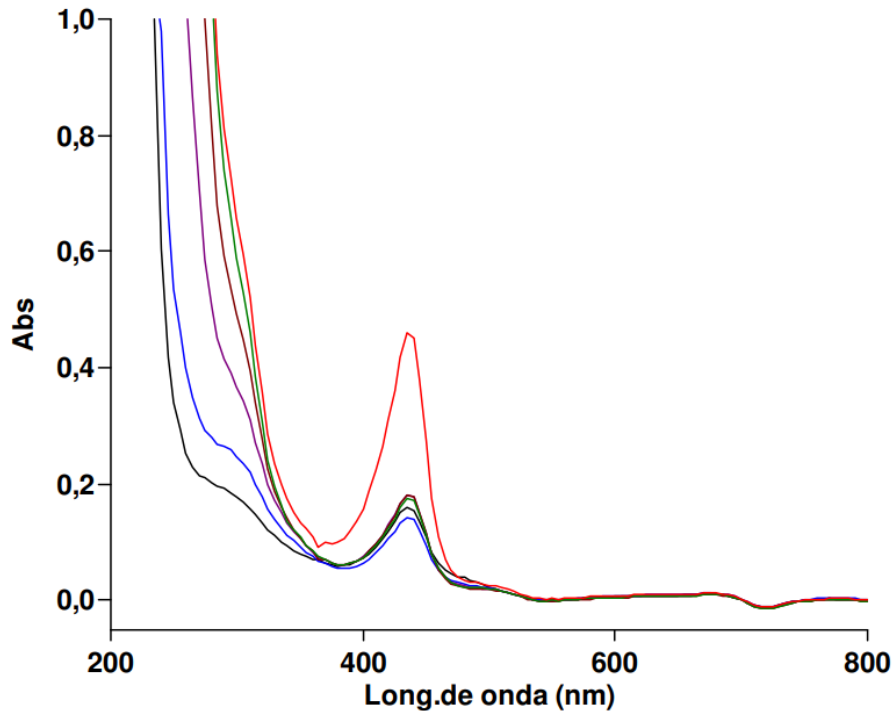
**Figura 72.** Barrido espectroscópico de Fe-Sensor triderivado CC-glicina; valina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm



**Tabla 12.** Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 435 nm

Concentración Fe (ppm)	Abs
5	0,088
10	0,101
25	0,120
50	0,136
70	0,189

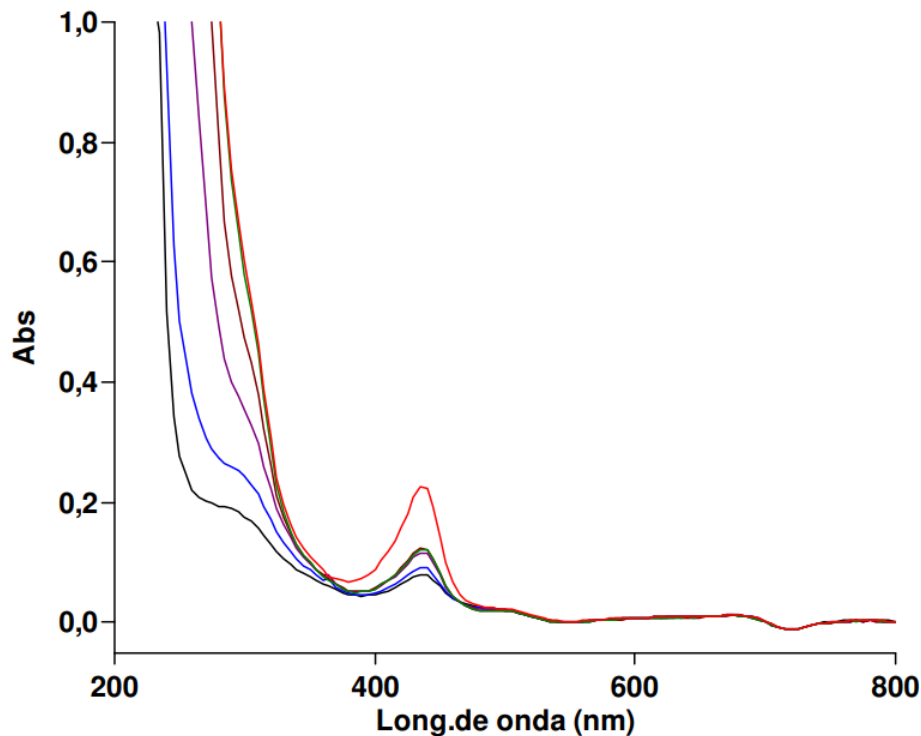
**Figura 73.** Barrido espectroscópico de Fe-Sensor triderivado CC-fenilalanina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm



**Tabla 13.** Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 435 nm.

Concentración Fe (ppm)	Abs
5	0,143
10	0,160
25	0,174
50	0,182
70	0,182

**Figura 74.** Barrido espectroscópico de Fe-Sensor triderivado CC-valina (1:3) por ultravioleta-visible de 250-600nm



**Tabla 14.** Absorbancias del Hierro en solución a distintas concentraciones en longitud de onda de 435 nm.

Concentración Fe (ppm)	Abs
5	0,079
10	0,091
25	0,112
50	0,122
70	0,226

Estos sensores pueden presentar afinidad con a formar enlaces o complejos de coordinación con este metal por los pares de electrones libres en los grupos -OH y -COOH. Otras razones son las propias naturalezas de los grupos funcionales, ya que los ácidos carboxílicos y los carbonilos tienen átomos de oxígeno electronegativos que pueden donar pares de electrones al ion de hierro;

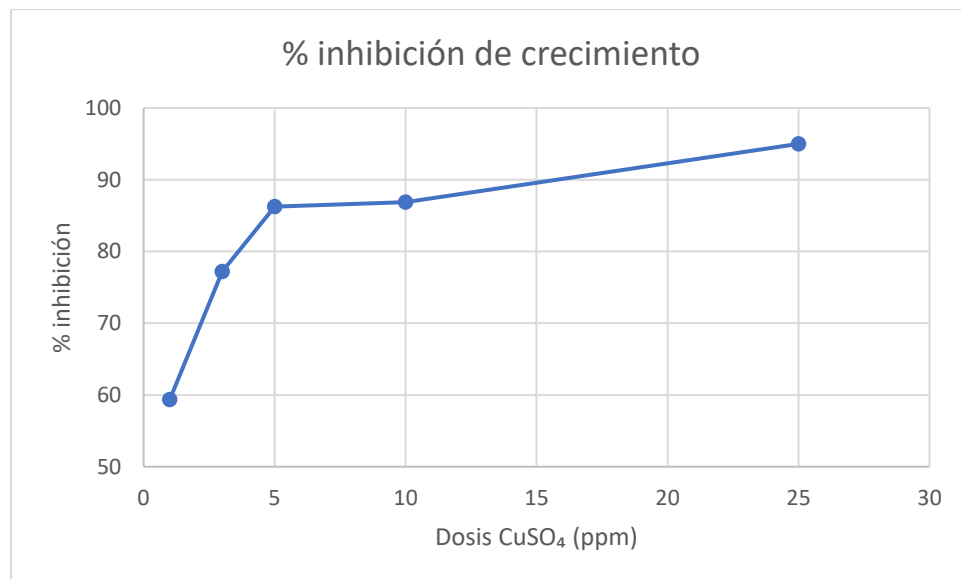
esto favorece la formación de enlaces coordinados. Cabe resaltar, que los iones de hierro en sus estados de oxidación ( $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ ) tienen configuraciones electrónicas que les permiten actuar como aceptores de electrones. (Li et al., 2024).

### 5.3 Prueba toxicológica

#### 5.3.1 Ensayo de toxicidad con *Allium Cepa L.*

En la figura 70 se observa la manera en que el sulfato de cobre inhibe casi en su totalidad el crecimiento radicular llegando hasta aproximadamente 95% de inhibición a 25 ppm, siendo una sustancia altamente tóxica es usada como control positivo en esta prueba.

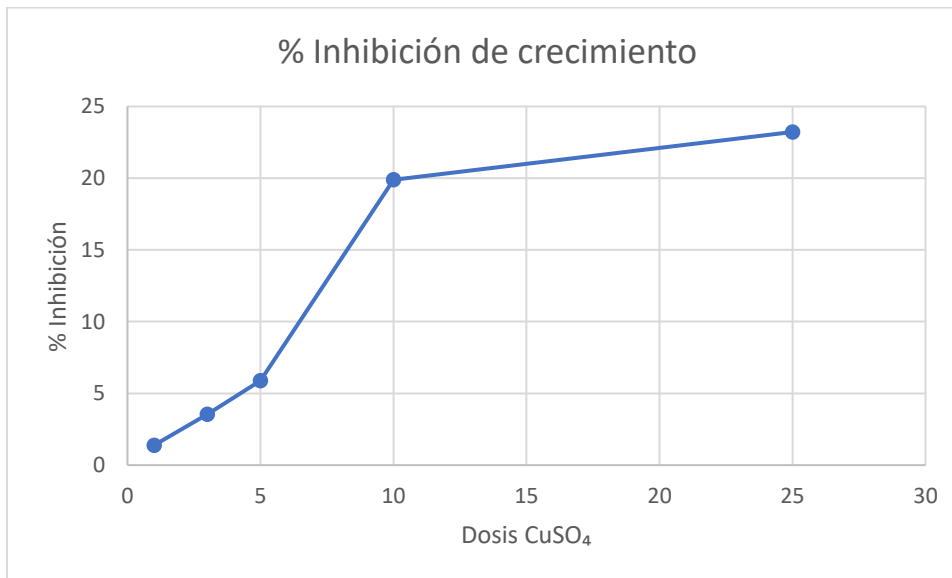
**Figura 75.** Control positivo ( $\text{CuSO}_4$ ) para porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en *Allium Cepa*



**5.3.1.1. Sensor triderivado CC-glicina.** En la figura 71 se observa una relación directamente proporcional entre el aumento de la dosis del sensor y la inhibición de crecimiento, siendo que a

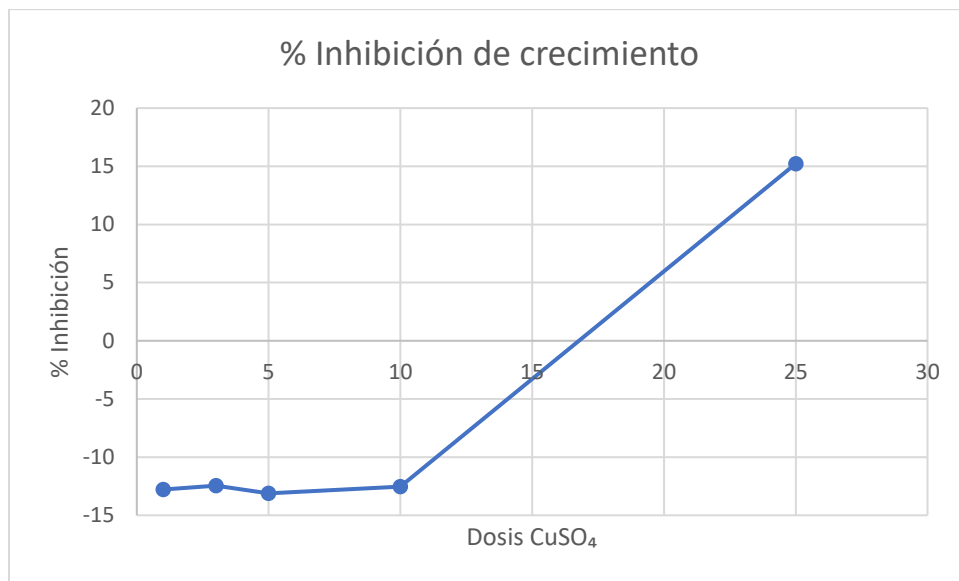
mayor concentración del sensor el crecimiento de la raíz de *Allium Cepa* disminuye. Las concentraciones empleadas en el análisis cualitativo y cuantitativos con metales van desde 5ppm hasta 70ppm, por lo cual se puede predecir que su porcentaje de inhibición del crecimiento radicular seguirá en aumento.

**Figura 76.** *Porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en Allium Cepa según la dosis del sensor triderivado CC-glicina*



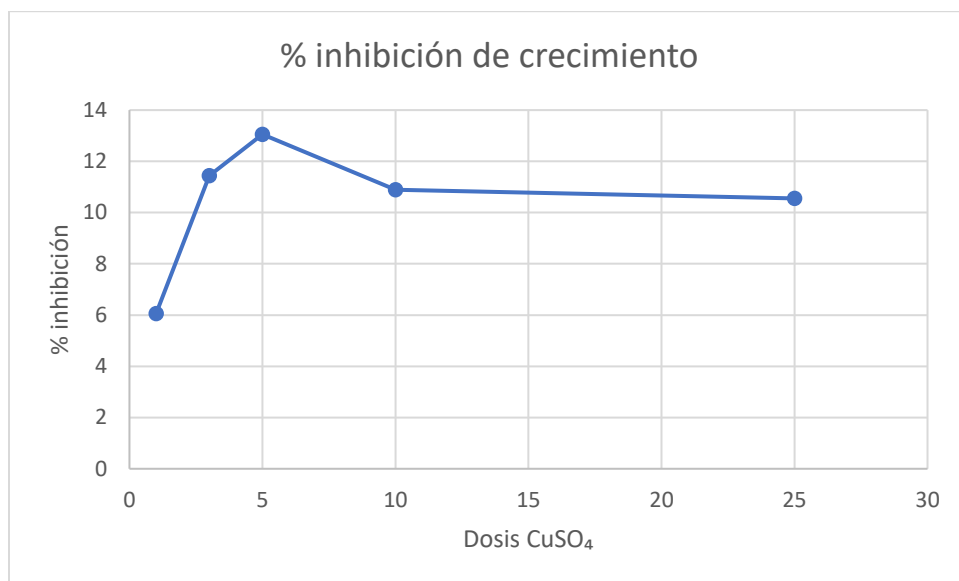
**5.3.1.2. Sensor triderivado CC-fenilalanina.** En la figura 72 se observa una relación directamente proporcional entre el aumento de la dosis del sensor y la inhibición de crecimiento, se aprecia un comportamiento de inhibición radicular exponencial entre las dosis de 10ppm y 25 ppm; esto se debe a que a esta concentración no solo inhibe el crecimiento radicular, sino que las pocas muestras que presentan este crecimiento son mínimo. Se puede predecir que al probar este sensor a mayor concentración con otras muestras su porcentaje de inhibición será mayor.

**Figura 77.** Porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en *Allium Cepa* según la dosis del sensor triderivado CC-fenilalanina



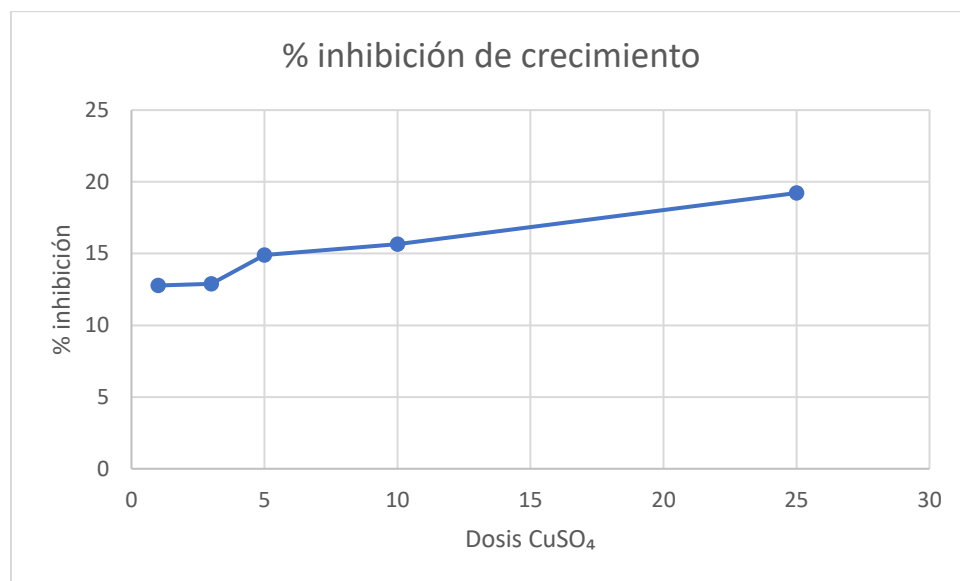
**Sensor triderivado CC-valina.** En la figura 73 se observa una relación directamente proporcional entre el aumento de la dosis del sensor y la inhibición de crecimiento hasta la concentración de dosis de 5ppm; entre 10ppm y 25ppm el porcentaje de inhibición se disminuye y se mantiene entre 10 y 12%. Predecir su comportamiento es más complejo que en los anteriores sensores por su cambio brusco; se requeriría realizar más análisis del sensor en un rango de concentración mayor.

**Figura 78.** *Porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en Allium Cepa según la dosis del sensor triderivado CC-valina*



**5.3.1.3. Sensor triderivado CC-glicina; valina.** En la figura 74 se observa una relación directamente proporcional entre el aumento de la dosis del sensor y la inhibición de crecimiento. Se observa que a medida que aumenta la dosis del sensor triderivado CC-glicina; valina agregada a los bulbos de Allium cepa, incrementa también el porcentaje de inhibición presentado, por lo que, a mayor concentración, menor es la longitud radicular. Se presentaron porcentajes en el rango 12,7- 19,9%.

**Figura 79.** Porcentaje de inhibición de crecimiento radicular en *Allium Cepa* según la dosis del sensor triderivado CC-glicina; valina



## 6 Conclusiones

La caracterización molecular realizada por medio de Espectroscopía Infrarroja, Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear, Espectroscopia Ultravioleta-Visible a los compuestos sintetizados en este proyecto cumplió la función de garantizar su formación mediante las señales observadas en resonancia magnética nuclear de protón (<sup>1</sup>H-RMN), la identificación de bandas de absorción correspondiente a los grupos funcionales (IR) y las bandas de absorción la posible acomplejación con los iones metálicos evaluados (UV-Vis).

El quimiosensor obtenido es selectivo para los metales pesados Hg<sup>+1</sup> y Fe<sup>2+</sup>; ya que estos iones en solución abaten la fluorescencia que presenta el quimiosensor y aumenta con el paso del tiempo. El espectro UV-Vis de estas soluciones tienen un corrimiento hacia longitudes de onda menores y también presentan una señal más fuerte a comparación de solo el quimiosensor.

Los límites de detección del quimiosensor con las soluciones de los metales pesados fueron bastante altos a comparación de las concentraciones máximas que permite la ley colombiana en solución acuosa. Por lo cual se debería evaluar la posibilidad de probarlo a menores concentraciones y cambiando los aminoácidos empleados.

## 7 Recomendaciones

Realizar caracterización completa de los compuestos sintetizados en este trabajo que incluyan Espectroscopia de Fluorescencia para el estudio de rendimientos cuánticos de fluorescencia de las moléculas estudiadas en diversos solventes, Resonancia Magnética Nuclear de carbono ( $^{13}\text{C}$ -RMN), realizar experimentos bidimensionales de RMN; COSY HSQC y HMBC para una correcta asignación estructural de las moléculas sintetizadas, Espectrometría de masas, difracción de rayos X de los complejos que se puedan lograr obtener.

Sintetizar compuestos de triazinas con diferentes nucleófilos (alcoholes, tioles, diferentes aminas) y la incorporación fluoróforos (cumarinas, curcuminas, BODIPYs, cianinas, entre otros) y realizar el estudio de que nucleófilos y fluoróforos favorecen el uso y rendimiento de estos compuestos.

### Referencias

- Adnan, M., Xiao, B., Ali, M. U., Xiao, P., Zhao, P., Wang, H., y Bibi, S. (2024). Heavy metals pollution from smelting activities: A threat to soil and groundwater. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 274, 116189. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116189>
- Ali, W., y Muhammad, S. (2023). Compositional data analysis of heavy metal contamination and eco-environmental risks in Himalayan agricultural soils, northern Pakistan. *Journal Of Geochemical Exploration*, 255, 107323. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2023.107323>
- Apblett, A. W., Berlin, K. D., y Materer, N. F. (2011, 1 julio). *Cyclotrimerization of Nitriles with a-heteroatoms Catalyzed by Using Tungsten and Molybdenum Bronzes*. <https://shareok.org/handle/11244/8074>
- Bansod, B., Kumar, T., Thakur, R., Rana, S., y Singh, I. (2017). A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms. *Biosensors y Bioelectronics/Biosensors y Bioelectronics (Online)*, 94, 443-455. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.03.031>
- Barman, S., Das, G., Mondal, P., Pradhan, K., Jana, B., Bhunia, D., Saha, A., Kar, C., y Ghosh, S. (2019). Tripodal molecular propellers perturb microtubule dynamics: indole acts as a blade and plays a crucial role in anticancer activity. *Chemical Communications*, 55(16), 2356-2359. <https://doi.org/10.1039/c9cc00074g>

- Benkhaya, S., M'rabet, S., y Harfi, A. E. (2020). Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon*, 6(1), e03271. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03271>
- Bhushan, R., Dixit, S. (2010). Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of diastereomers of (R,S)-mexiletine prepared by microwave irradiation with four new chiral derivatizing reagents based on trichloro-s-triazine having amino acids as chiral auxiliaries and 10 others having amino acid amides, *Journal of Chromatography A*, 1217(49), 7669-7676. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.09.072>
- Blanco, A., y Blanco, G. (2022). Amino acid metabolism. En *Elsevier eBooks* (pp. 401-435). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91599-1.00023-7>
- Callan JF, de Silva AP, Magri DC. (2005). Luminescent sensors and switches in the Early 21st century. *Tetrahedron*. 61, 8551-8588. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.05.043>
- Celestina, J. J., Alphonse, L., Tharmaraj, P., y Sheela, C. (2019a). Novel triazine-based colorimetric and fluorescent sensor for highly selective detection of Al<sup>3+</sup>. *Journal Of Science. Advanced Materials And Devices/Journal Of Science. Advanced Materials And Devices (Print)*, 4(2), 237-244. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2019.05.001>
- Chakraborty, T. K., Ghosh, G. C., Hossain, M. R., Islam, M. S., Habib, A., Zaman, S., Bosu, H., Nice, M. S., Haldar, M., y Khan, A. S. (2022). Human health risk and receptor model-oriented sources of heavy metal pollution in commonly consume vegetable and fish species of high Ganges river floodplain agro-ecological area, Bangladesh. *Heliyon*, 8(10), e11172. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11172>
- Chaudhry, H., Rangra, N.K. (2023). Development and validation of a stability indicating green analytical method for the simultaneous estimation of L-glutathione, N-acetyl L-cysteine

- and Vitamin C in marketed formulation using UV–visible spectroscopy. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(74), 1-18. <https://doi.org/10.1186/s43094-023-00523-y>
- Chen, X., Xu, J., Zhou, H., Zhao, Y., Wu, Y., Zhang, J., y Zhang, S. (2023). Tree-based machine learning models assisted fluorescent sensor array for detection of metal ions based on silver nanocluster probe. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 297, 122738. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.122738>
- Cloruro cianúrico 98 por ciento CAS 108-77-0 Proveedores, fabricantes, fábrica - Precio al por mayor - BLOOM TECH. (s. f.). <https://es.bloomtechz.com/synthetic-chemical/organic-intermediates/cyanuric-chloride-98-cas-108-77-0.html>
- Corrochano, D. R., De la Hoz, A., Sánchez-Migallón, A. M., Caballero, R., y Ramírez, J. R. (2016). Synthesis of imine-derived triazines with Donor–Acceptor properties. *Journal Of Cleaner Production*, 118, 223-228. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.01.053>
- D’Auria, M., Guarnaccio, A., Racioppi, R., Stoia, S., y Emanuele, L. (2023). Heterocyclic-based photoactive materials. En *Elsevier eBooks* (pp. 219-296). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-823745-8.00001-7>
- Davarpanah, F., Yazdi, A. K., Barani, M., Mirzaei, M., y Torkzadeh-Mahani, M. (2018). Magnetic delivery of antitumor carboplatin by using PEGylated-Niosomes. *Daru*, 26(1), 57-64. <https://doi.org/10.1007/s40199-018-0215-3>
- Da Silva Marques, B., De Andrade, K. N., Peixoto, B. P., Santos, F. M. D., Pedrosa, L. F., Fiorot, R. G., y De Souza, M. C. (2024). Sequential nucleophilic aromatic substitutions on cyanuric chloride: synthesis of BODIPY derivatives and mechanistic insights. *Organic y Biomolecular Chemistry*, 22(29), 5987–5998. <https://doi.org/10.1039/d4ob00683f>

- De La Hoz, A., y Sánchez-Migallón, A. (2017, enero). *Green synthesis of 1,3,5-triazines with applications in supramolecular chemistry and materials chemistry*. <https://www.researchgate.net>. Recuperado 30 de marzo de 2024, de [https://www.researchgate.net/publication/309771920\\_Green\\_synthesis\\_of\\_135-triazines\\_with\\_applications\\_in\\_supramolecular\\_chemistry\\_and\\_materials\\_chemistry](https://www.researchgate.net/publication/309771920_Green_synthesis_of_135-triazines_with_applications_in_supramolecular_chemistry_and_materials_chemistry)
- Decreto 1575 de 2007 - Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible*. (2022, 31 enero). Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. <https://www.minambiente.gov.co/documento-normativa/decreto-1575-de-2007/>
- Elbayoumy, E., Elhendawy, M., Gaafar, M. M., Moawed, E., y Aboelnga, M. M. (2024). Novel fluorescent sensor based on triazole-pyridine derivative for selective detection of mercury (II) ions in different real water samples: Experimental and DFT calculations. *Journal Of Molecular Liquids*, 401, 124589. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.124589>
- Feng, X., Long, R., Wang, L., Liu, C., Bai, Z., y Liu, X. (2022). A review on heavy metal ions adsorption from water by layered double hydroxide and its composites. *Separation And Purification Technology*, 284, 120099. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.120099>
- Figure 2. Schematic representation of the three main fluorescence*. (s. f.). ResearchGate. [https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-the-three-main-fluorescence-mechanisms-photoinduced-electron\\_fig1\\_350768332#:~:text=Schematic%20representation%20of%20the%20three%20main%20fluorescence%20mechanisms%3A%20photoinduced%20electron,%3D%20donor%3B%20A%20%3D%20acceptor.](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-the-three-main-fluorescence-mechanisms-photoinduced-electron_fig1_350768332#:~:text=Schematic%20representation%20of%20the%20three%20main%20fluorescence%20mechanisms%3A%20photoinduced%20electron,%3D%20donor%3B%20A%20%3D%20acceptor.)

Franco, L. F. L., Muñoz, P. T. L., y Garcia, F. G. M. (2016). LOS RIESGOS DE LOS METALES PESADOS EN LA SALUD HUMANA y ANIMAL. *Biotechnologia En el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153)

Georgiev, N. I., Asiri, A. M., Qusti, A. H., Alamry, K. A., y Bojinov, V. B. (2014). A pH sensitive and selective ratiometric PAMAM wavelength-shifting bichromophoric system based on PET, FRET and ICT. *Dyes And Pigments*, 102, 35-45. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.10.007>

Gessner, T., y Mayer, U. (2000). Triarylmethane and Diarylmethane Dyes. *Ullmann's Encyclopedia Of Industrial Chemistry*. [https://doi.org/10.1002/14356007.a27\\_179](https://doi.org/10.1002/14356007.a27_179)

Gutiérrez, J. C. (2024, 25 marzo). Tóxicos de mercurio y cianuro río abajo del Páramo de Santurbán en Santander. *www.vanguardia.com*. <https://www.vanguardia.com/area-metropolitana/bucaramanga/2022/07/29/toxicos-de-mercurio-y-cianuro-rio-abajo-del-paramo-de-santurban-en-santander/>

Hatfield, S. (2007, mayo). *APPLICATIONS OF TRIAZINE CHEMISTRY: EDUCATION, REMEDIATION, AND DRUG DELIVERY*. core.ac.uk/. Recuperado 31 de marzo de 2024, de <https://core.ac.uk/download/pdf/4277479.pdf>  
<https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.10.007>

Iftikhar, R., Parveen, I., Ayesha, N., Mazhar, A., Iqbal, M. S., Kamal, G. M., Hafeez, F., Pang, A. L., y Ahmadipour, M. (2023). Small organic molecules as fluorescent sensors for the detection of highly toxic heavy metal cations in portable water. *Journal Of Environmental Chemical Engineering*, 11(1), 109030. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.109030>

Iqs, U. R. L., True, Jordi, B. V., Àngel, M. I. P., Carme, B. B., y True. (2016a, febrero 9).

*Chemical modulation of the nociceptive receptor TRPV1: Synthetic, biological and computational studies.* <http://hdl.handle.net/10803/369846>

Irshad, H., Assiri, M. A., Khadija, N., Rafique, S., Khan, A. M., Imran, M., y Shahzad, S. A. (2023). Triazine based fluorescent sensor for sequential detection of Hg<sup>2+</sup> and L-Cysteine in real samples and application in logic Gate: A combination of Extensive experimental and theoretical analysis. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 300, 122934. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.122934>

Jadhav, N., Mao, Y., Vetter, C. A., Kasisomayajula, S., y Gelling, V. J. (2013). Infrared Spectroscopy (IR). En *Springer eBooks* (p. 1829). [https://doi.org/10.1007/978-0-387-92897-5\\_1226](https://doi.org/10.1007/978-0-387-92897-5_1226)

Jain, S., Dwivedi, J., Jain, P., y Kishore, D. (2016). Use of 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine (TCT) as organic catalyst in organic synthesis. *Synthetic Communications*, 46(14), 1155-1174. <https://doi.org/10.1080/00397911.2016.1192651>

Kloeters, L. N., May, L., Tengen, B., May, L., y Müller, T. J. J. (2022). Fluorescent phenothiazine-triazine donor-acceptor conjugates by facile consecutive nucleophilic displacement – Color tuning by substitution and protochromicity. *Dyes And Pigments*, 206, 110564. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2022.110564>

Kościelniak, P. (2022). Calibration methods in qualitative analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 150. 116587. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116587>

Kumar, V., Lakshman, P. K. C., Prasad, T. K., Manjunath, K., Bairy, S., Vasu, A. S., Ganavi, B., Jasti, S., y Kamariah, N. (2024a). Target-based drug discovery: Applications of

- fluorescence techniques in high throughput and fragment-based screening. *Heliyon*, 10(1), e23864. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23864>
- Laureano-Anzaldo, C. M., González-López, M. E., Pérez-Fonseca, A. A., Cruz-Barba, L. E., y Robledo-Ortíz, J. R. (2021). Plasma-enhanced modification of polysaccharides for wastewater treatment: A review. *Carbohydrate Polymers*, 252, 117195. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117195>
- Levitus, M. (2020). Tutorial: measurement of fluorescence spectra and determination of relative fluorescence quantum yields of transparent samples. *Methods And Applications In Fluorescence*, 8(3), 033001. <https://doi.org/10.1088/2050-6120/ab7e10>
- Li, L., Ma, C., Yang, Y., Wang, B., Liu, X., Wang, Y., Bian, X., Zhang, G., y Zhang, N. (2024). Exploring the Potential of Plant-Derived Metal ion Binding Peptides: Preparation, Structure-Activity Relationship, and Biological Activities. *Trends in Food Science y Technology*, 152, 104650. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104650>
- Lin, Y., Ma, J., Zhang, Z., Zhu, Y., Hou, H., Zhao, L., Sun, Z., Xue, W., y Shi, H. (2018). Linkage between human population and trace elements in soils of the Pearl River Delta: Implications for source identification and risk assessment. *Science Of The Total Environment*, 610-611, 944-950. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.147>
- Liu, S., Zhang, L., Kim, H., Sun, J., y Yoon, J. (2023). Recent advances and challenges in monitoring chromium ions using fluorescent probes. *Coordination Chemistry Reviews*, 501, 215575. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2023.215575>
- Liu, Y., Xu, J., Wu, Z., Cai, Y., Zhao, Z., y Qiu, J. (2024). Development of a fluorescent DNA sensor for dual detection of heavy metal ions utilising DAPI in distinct buffers. *Food Chemistry*, 451, 139390. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139390>

LONE, M. I., HE, Z., y Yang, X. (2018). Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water:

Progresses and perspectives\*. *Journal Of Zhejiang University SCIENCE B*.

<https://doi.org/10.1631/jzus.B0710633>

Marín-Ocampo, L., Veloza, L. Á., Abonía, R., y Sepúlveda-Arias, J. C. (2019). Anti-inflammatory

activity of triazine derivatives: A systematic review. *European Journal Of Medicinal*

*Chemistry*, 162, 435-447. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.027>

*Metales pesados*. (s. f.-a). Ministerio Para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico.

[https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-](https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/prob-amb/metales_pesados.html#:~:text=Existen%20varias%20maneras%20de%20definir,hay%20otra%20clasificaci%C3%B3n%20referida%20al)

[del-aire/emisiones/prob-](https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/prob-amb/metales_pesados.html#:~:text=Existen%20varias%20maneras%20de%20definir,hay%20otra%20clasificaci%C3%B3n%20referida%20al)

[amb/metales\\_pesados.html#:~:text=Existen%20varias%20maneras%20de%20definir,hay](https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/prob-amb/metales_pesados.html#:~:text=Existen%20varias%20maneras%20de%20definir,hay%20otra%20clasificaci%C3%B3n%20referida%20al)

[%20otra%20clasificaci%C3%B3n%20referida%20al](https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/prob-amb/metales_pesados.html#:~:text=Existen%20varias%20maneras%20de%20definir,hay%20otra%20clasificaci%C3%B3n%20referida%20al)

Ministerio de salud pública. (1998, 16 marzo). DECRETO 475 DE 1998. [minsalud.gov.co](https://www.minsalud.gov.co).

Recuperado 4 de abril de 2024, de

[https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/DECRETO%200475%20DE%20199](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/DECRETO%200475%20DE%201998.PDF)

[8.PDF](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/DECRETO%200475%20DE%201998.PDF)

Mooibroek, T. J., y Gámez, P. (2007). The s-triazine ring, a remarkable unit to generate

supramolecular interactions. *Inorganica Chimica Acta*, 360(1), 381-404.

<https://doi.org/10.1016/j.ica.2006.07.061>

Mtewa, T. K., Yapuwa, H. Y., y Mulwafu, W. O. (2021). Water testing for potential phytochemical

contamination and poisoning. En *Elsevier eBooks* (pp. 427-442).

<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821556-2.00007-4>

Nachana'a, T., y Ezekiel, W. (2019). Environmental pollution by Heavy Metal: An Overview.

*International Journal Of Environmental Chemistry*, 3(2), 72-82.

<https://doi.org/10.11648/j.ijec.20190302.14>

Neira-Moscoso, C., Rojas-Sánchez, J. M., y Rodas-Espinoza, C. (2021, 20 julio). *METALES*

*PESADOS*. Recuperado 25 de marzo de 2024, de

<https://revistas.uazuay.edu.ec/index.php/coloquio/article/view/429>

Nobuyasu, R. S., Ward, J. S., Gibson, J., Laidlaw, B., Ren, Z., Data, P., Batsanov, A. S., Penfold,

T. J., Bryce, M. R., y Dias, F. B. (2019). The influence of molecular geometry on the efficiency of thermally activated delayed fluorescence. *Journal Of Materials Chemistry C*,

7(22), 6672-6684. <https://doi.org/10.1039/c9tc00720b>

Preface. (1998). *The Journal Of Allergy And Clinical Immunology/Journal Of Allergy And*

*Clinical Immunology/The Journal Of Allergy And Clinical Immunology*, 101(6), S465.

[https://doi.org/10.1016/s0091-6749\(18\)30566-9](https://doi.org/10.1016/s0091-6749(18)30566-9)

PubChem. (s. f.). *Fluorescein*. PubChem.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fluorescein>

Quirke, J. M. E. (1984). 1,3,5-Triazines. En *Elsevier eBooks* (pp. 457-530).

<https://doi.org/10.1016/b978-008096519-2.00042-4>

Raghu, M. S., y Yogesh Kumar, K. (2023, 27 julio). *Synthesis, enzyme inhibition and molecular docking studies of pyrazolo[1,5-a][1,3,5] triazine derivatives as potential antioxidant*

*agents*. Sciencedirect. Recuperado 31 de julio de 2023, de <https://www-sciencedirect-com.craai.ustadigital.usantotomas.edu.co/science/article/pii/S0022286023014229>

- Rajasekar, M., Ranjitha, V., y Rajasekar, K. (2023). Recent advances in Fluorescent-based cation sensors for biomedical applications. *Results In Chemistry*, 5, 100850. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.100850>
- Rao, T.N. (2018). Chapter 7 Validation of Analytical Methods. Book: Calibration and Validation of Analytical Methods - A Sampling of Current Approaches. Edited by Mark Stauffer. ISBN 978-1-78923-085-7. <https://www.intechopen.com/books/6379>
- Resolución 2115 - 2007 | MinVivienda.* (s. f.). <https://minvivienda.gov.co/normativa/resolucion-2115-2007>
- Reyes, Y., y Vergara, I. (2016, 2 junio). *CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS: IMPLICACIONES EN SALUD, AMBIENTE y SEGURIDAD ALIMENTARIA.* [dialnet.unirioja.es](http://dialnet.unirioja.es). Recuperado 25 de marzo de 2024, de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6096110.pdf>
- Rodríguez, D. (2017, diciembre). *Intoxicación ocupacional por metales pesados.* <http://scielo.sld.cu>. Recuperado 5 de junio de 2024, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S102930192017001200012#:~:text=Entre%20las%20profesiones%20en%20las,de%20bater%C3%ADas%2C%20todas%20muy%20comunes](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102930192017001200012#:~:text=Entre%20las%20profesiones%20en%20las,de%20bater%C3%ADas%2C%20todas%20muy%20comunes).
- Salmeia, K. A., Neels, A., Parida, D., Lehner, S., Rentsch, D., y Gaan, S. (2019). Insight into the Synthesis and Characterization of Organophosphorus-Based Bridged Triazine Compounds. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 24(14), 2672. <https://doi.org/10.3390/molecules24142672>

Şenkuytu, E., Eçik, E. T., y Çoşut, B. (2018). Bodipy decorated triazine chemosensors for Ag<sup>+</sup> ions with high selectivity and sensitivity. *Journal Of Luminescence*, 203, 639-645. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2018.06.075>

Sharma, A., El-Faham, A., De la Torre, B. G., y Albericio, F. (2018). Exploring the Orthogonal Chemoselectivity of 2,4,6-Trichloro-1,3,5-Triazine (TCT) as a Trifunctional Linker With Different Nucleophiles: Rules of the Game. *Frontiers In Chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00516>

Shi, Y., Zhang, W., Xue, Y., y Zhang, J. J. (2023). Fluorescent Sensors for Detecting and Imaging Metal Ions in Biological Systems: Recent Advances and Future Perspectives. *Chemosensors*, 11(4), 226. <https://doi.org/10.3390/chemosensors11040226>

Sjöback, R., Nygren, J., y Kubista, M. (1995). Absorption and fluorescence properties of fluorescein. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 51(6), L7-L21. [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(95\)01421-p](https://doi.org/10.1016/0584-8539(95)01421-p)

Sun, Z., Xie, X., Ping, W., Hu, Y., y Cheng, H. (2018). Heavy metal pollution caused by small-scale metal ore mining activities: A case study from a polymetallic mine in South China. *Science Of The Total Environment*, 639, 217-227. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.176>

Synthesis, aromatic character and reaction of Triazines. (2020, 25 abril). [Diapositivas]. SlideShare. <https://es.slideshare.net/slideshow/synthesis-aromatic-character-and-reaction-of-triazines/232641946>

US2838512A - Preparation of cyanuric chloride - Google Patents. (1958, 10 junio). <https://patents.google.com/patent/US2838512A/en>

- V., Lakshman, P. K. C., Prasad, T. K., Manjunath, K., Bairy, S., Vasu, A. S., Ganavi, B., Jasti, S., y Kamariah, N. (2024). Target-based drug discovery: Applications of fluorescence techniques in high throughput and fragment-based screening. *Heliyon*, *10*(1), e23864. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23864>
- Verma, T., Sinha, M., y Bansal, N. (s. f.). *Heterocyclic Compounds Bearing Triazine Scaffold and Their Biological Significance: A Review*. <http://www.eurekaselect.com>. <https://www.eurekaselect.com/article/101947>
- Vidal Mosquera, M. (2016). Chemical modulation of the nociceptive receptor TRPV1: Synthetic, biological and computational studies [Tesis doctoral, nstitute of Advanced Chemistry of Catalonia – CSIC-Universitat Ramon Llul. Barcelona]. <http://hdl.handle.net/10803/369846>
- Wan, J., Zhang, X., Zhang, K., y Su, Z. (2020). Biological nanoscale fluorescent probes: From structure and performance to bioimaging. *Reviews In Analytical Chemistry*, *39*(1), 209-221. <https://doi.org/10.1515/revac-2020-0119>
- Wang, D., Wang, W., Wang, R., Xi, S., y Dong, B. (2021). A fluorescent covalent triazine framework consisting of donor–acceptor structure for selective and sensitive sensing of Fe<sup>3+</sup>. *European Polymer Journal/European Polymer Journal*, *147*, 110297. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110297>
- Wang, T., Tan, Y., Zong Chen, Y., Tan, CH. (2023). Infrared Spectral Analysis for Prediction of Functional Groups Based on Feature-Aggregated Deep Learning. *Journal of Chemical Information and Modeling*. *63* (15), 4615-4622. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jcim.3c00749#>

- Wang, X., Wang, Z., y Li, J. (2019). Effects of a semi-bio-based triazine derivative on intumescent flame-retardant polypropylene. *Polymers For Advanced Technologies*, 30(5), 1259-1268. <https://doi.org/10.1002/pat.4559>
- Wu, L., Huang, C., Emery, B. P., Sedgwick, A. C., Bull, S. D., He, X., Tian, H., Yoon, J., Sessler, J. L., y James, T. D. (2020). Förster resonance energy transfer (FRET)-based small-molecule sensors and imaging agents. *Chemical Society Reviews*, 49(15), 5110-5139. <https://doi.org/10.1039/c9cs00318e>
- Wu, Y., Osman, A. I., Hosny, M., Elgarahy, A. M., Eltaweil, A. S., Rooney, D. W., Chen, Z., Rahim, N. S., Sekar, M., Gopinath, S. C. B., Rani, N. N. I. M., Batumalaie, K., y Yap, P. (2024). The toxicity of mercury and its chemical compounds: molecular mechanisms and environmental and human health implications: A Comprehensive review. *ACS Omega*, 9(5), 5100–5126. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c07047>
- Xu, Z., Chen, J., Liu, Y., Wang, X., y Shi, Q. (2022). Multi-emission fluorescent sensor array based on carbon dots and lanthanide for detection of heavy metal ions under stepwise prediction strategy. *Chemical Engineering Journal*, 441, 135690. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135690>
- Yan, Z., Cai, Y., Zhang, J., y Zhao, Y. (2022). Fluorescent sensor arrays for metal ions detection: A review. *Measurement*, 187, 110355. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2021.110355>
- Yao, J., Kong, Q., Qiu, Z., Chen, L., y Shen, D. (2019). Patterns of heavy metal immobilization by MSW during the landfill process. *Chemical Engineering Journal*, 375, 122060. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122060>

Z. Yan, Y. Cai, J. Zhang, Y. Zhao, (2022). Fluorescent sensor arrays for metal ions detection: a review, *Measurement* 187, 110355, <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2021.110355>.

Zambrano, M. M. (2022, 27 noviembre). Por hallazgo de metales pesados en plantas, fundación no usa matas de Santurbán. *El Tiempo*. <https://www.eltiempo.com/colombia/santander/plantas-de-santurban-estan-contaminadas-con-metales-pesados-720870>

Zaynab, M., Al-Yahyai, R., Ameen, A., Sharif, Y., Ali, L., Fatima, M., Khan, K. A., y Li, S. (2022). Health and environmental effects of heavy metals. *Journal Of King Saud University - Science*, 34(1), 101653. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101653>

Zhu, C., Yang, J., Ni, W., Zeng, W., Xu, J., Zhang, K., Zhan, X., Ma, N., y Tsai, F. (2023). Carbon dots-embedded zinc-based metal-organic framework as an efficient fluorescent sensor for the detection of ferric and phosphate ions. *Journal Of Environmental Chemical Engineering*, 11(6), 111414. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111414>

## Apéndices

**Apéndice A.** *Tabla con los elementos y compuestos químicos diferentes a plaguicidas y su concentración máxima aceptable por la normativa colombiana vigente.*

*Tabla de elementos, compuestos y mezclas químicas con valores máximos aceptables en Colombia*

Elementos, compuestos químicos y mezclas de compuestos químicos diferentes a los plaguicidas y otras sustancias	Expresados como	Valor máximo aceptable (mg/L)
<b>Antimonio</b>	Sb	0,02
<b>Arsénico</b>	As	0,01
<b>Bario</b>	Ba	0,7

<b>Cadmio</b>	Cd	0,003
<b>Cianuro libre y disociable</b>	CN <sup>-</sup>	0,05
<b>Cobre</b>	Cu	1,0
<b>Cromo total</b>	Cr	0,05
<b>Mercurio</b>	Hg	0,001
<b>Níquel</b>	Ni	0,02
<b>Plomo</b>	Pb	0,01
<b>Selenio</b>	Se	0,01
<b>Trihalometanos totales</b>	THMs	0,2
<b>Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos</b>	HAP	0,01

*Tomada de (Resolución 2115 - 2007 / MinVivienda, s. f.)*

**Apéndice B.** *Información detallada sobre la validación del método, rango de linealidad, precisión límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) y veracidad.*

### **Validación del Método**

Una vez realizados los ensayos preliminares, se procederá a la validación del método analítico en la detección y cuantificación de los metales a evaluar. Este es un procedimiento que asegura la confiabilidad de los resultados obtenidos mediante el método analítico implementado, en nuestro caso por detección UV-VIS.

Se logra con una serie de estudios en el laboratorio, en los cuales se evalúan las características representativas del mismo para verificar si cumple con las especificaciones para las

que ha sido elaborado esto incluye análisis de la estructura e interacciones del compuesto, observar y valorar su cinética en acción, entre otros. Desafortunadamente, no se cuentan con suficientes equipos que permitan una validación del método en la universidad. En este sentido, se deben definir los parámetros de validación que aseguren la correcta respuesta del método a la detección de los metales de estudio con los análogos de curcumina que se establecerán como posibles sensores químicos. Para el presente estudio, se establece la linealidad, la precisión, los límites de detección y de cuantificación y la veracidad.

#### 4.1 Rango de linealidad

Para evaluar el rango de trabajo en el que es aplicable la ley de Beer-Lambert, se prepararan las soluciones de los diferentes metales a evaluar, en las que se varia la concentración final del ion metálico. Se realizarán cinco disoluciones, donde el rango de concentraciones del metal será entre 0,1 ppm a 1,5 ppm. A partir de los datos obtenidos se determinará la concentración del ion metálico más elevada para la cual la relación entre la absorción y la cantidad de metal se mantenga lineal (Chaudhry et al., 2023).

La linealidad se llevó a cabo midiendo la absorbancia de la solución de comparación. Además, se determinó la curva de la relación entre concentración frente a la absorción y se determinó la ecuación de regresión lineal y el coeficiente de correlación (x) y el coeficiente de la función de correlación (V<sub>xo</sub>). El coeficiente de la función de regresión (V<sub>xo</sub>) puede calcularse mediante la fórmula siguiente:

$$\begin{aligned}
 S_{y/x} &= \sqrt{\frac{\Sigma(yr-Y)^2}{n-2}} \\
 S_{x_o} &= \frac{syfx}{b} \\
 V_{x_o} &= \frac{Sy/x}{\bar{x}} \times 100\%
 \end{aligned}
 \tag{Ecuación 1}$$

Donde:

$y_r$ : Absorbancia

$S_{y/x}$ : Desviación típica residual

El coeficiente de correlación se considera bueno si  $r$  tiene un valor de  $\geq 0,998$ . El coeficiente de la función de regresión ( $V_{x0}$ ) se considera bueno si tiene un valor  $\leq 5\%$ .

#### 4.2 Precisión

Para medir la precisión del método, se trabajarán los sensores sintetizados análogos de triazinas modificados con los aminoácidos glicina, valina, fenilalanina y soluciones preparadas de metales a evaluar, cuyas concentraciones se encuentran dentro del rango de trabajo. Las concentraciones de estas soluciones se prepararán a partir de la solución madre certificada de cada metal. Cada disolución se utilizó para preparar los complejos metálicos por cuadruplicado. Se midieron una vez cada una, se calculó el promedio, y la desviación estándar,  $s$ , del grupo de medidas. Se repitieron los ensayos por triplicado. Se espera que este parámetro sea mayor cuanto menor sea la dispersión de los valores obtenidos. Se expresa matemáticamente como el coeficiente de variación o la desviación estándar relativa, RSD (por sus siglas en ingles), es expresada en porcentaje (%CV) y es una relación entre la desviación estándar y la media.

$$\%CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

#### 4.3 Límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ)

El límite de detección (LOD; por sus siglas en ingles), es la medición más pequeña que puede ser detectada con certeza razonable para un proceso analítico dado. Mientras, el límite de cuantificación (LOQ; por sus siglas en ingles), es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel de aceptable de precisión de repetitividad y de veracidad (Rao, 2018).

En consideración a lo anterior, se prepararán 10 soluciones del blanco del método, independientes una de la otra. Estas se analizarán según el método establecido para detectar cada uno de los metales de estudio. Se medirán una vez cada una, se calculará el promedio, y la desviación estándar,  $S_{bl}$ , del grupo de medidas. Se repite el ensayo y se obtendrá el promedio de los valores para determinar el LOD y LOQ. La preparación de los blancos del método se realiza con la medida óptima de cada sensor análogo de curcumina modificado con los aminoácidos glicina y valina, determinada en los ensayos preliminares. Finalmente, el cálculo de los límites de detección y cuantificación se obtienen mediante la aplicación de las siguientes ecuaciones:

$$LOD: x_L = \bar{x}_{bl} + kS_{bl} \quad \text{(Ecuación 3)}$$

$$LOQ' = \bar{x}_{bl} + 10S_{bl} \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Donde:

$\bar{x}_{bl}$ : es la media de las mediciones del blanco, valor positivo o cero.

$S_{bl}$ : es la desviación estándar de las mediciones del blanco.

$k$ : es un factor numérico elegido de acuerdo con el nivel de confianza.

Es usual aproximar el valor de  $k = 3$  para un intervalo de confianza al 99%

#### 4.6 Veracidad

La evaluación práctica de la exactitud (veracidad) se basa en la comparación de la media de los resultados de un método con relación a valores conocidos, es decir, la veracidad se determina contra un valor de referencia. Se dispone de dos técnicas básicas:

- Verificación con respecto a los valores de referencia de un material caracterizado y
- Comparación con otro método caracterizado.

Para evaluar la veracidad se trabajará con las soluciones de metales a evaluar rotuladas. Cada solución de empleará para la evaluación de los sensores sintetizados, por cuadruplicado y su cuantificación según el método aquí desarrollado. Se miden una vez cada una, se calculará el promedio, y la desviación estándar,  $s$ , del grupo de medidas. Para cada serie de resultados, se calcula el sesgo.