Resum

En el present treball s'explora si el tractament energètic de mescles químiques de components simples prebiòtics en resulten polímers bioquímics.

Per això, primer es realitza una recerca bibliogràfica per identificar i seleccionar els components químics o precursors més importants de la química prebiòtica. Com també les condicions de temperatura i temps de les reaccions a desenvolupar. Un cop definides les reaccions, es decideixen els factors que es modifiquen en les diverses mostres de cada reacció. Aquests poden ser: la temperatura, les relacions molars entre els reactius, el temps de reacció i la presència o absència de catalitzadors.

Es realitzen un total de 9 reaccions en presència i absència de catalitzadors (vermiculita, alúmina Al_2O_3 i bòrax $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$). Les 7 primeres reaccions són mescles prebiòtiques i les 2 últimes es realitzen amb biomolècules (aminoàcids) per confirmar que s'obtenen substàncies polimèriques aplicant calor. Les reaccions són les següents:

- Reacció 1. Formaldehid amb hidroxilamina
- Reacció 2. Formamida
- Reacció 3. Formamida amb Formaldehid
- Reacció 4. Diaminomaleonitril
- Reacció 5. Formiat d'amoni amb Diaminomaleonitril
- Reacció 6 Glicolonitril
- Reacció 7 Lactonitril
- Reacció 8. Glicina amb àcid glutàmic
- Reacció 9. Àcid aspàrtic

Un cop es desenvolupa cada reacció, es realitza una valoració preliminar amb cromatografia en capa fina, per observar si s'han format substàncies polimèriques. A continuació, s'analitzen dues mostres per cada reacció en cromatografia de permeabilitat en gel i s'obtenen com a resultat els diferents pesos molars (g/mol) de les diferents substàncies polimèriques que s'han pogut formar.

Per últim es caracteritzen algunes de les mostres de les reaccions desenvolupades amb espectrofotometria d'infraroig per transformada de Fourier. I s'obté com a resultat, la informació dels diferents grups funcionals que poden formar les mostres de les reaccions analitzades.

Sumari

RESUM 1

SUMARI 3

1. INTRODUCCIÓ 7

1.1. Motivació del projecte 7
1.2. Abast del projecte 7
1.3. Objectius del projecte 7

2. QUÍMICA PREBIÒTICA 8

2.1. Components essencials primigenis de la vida 9
2.1.1. Condicions en la química prebiòtica 9
2.1.2. Components essencials constituents de la vida 10
2.1.2.1. Aminoàcids 11
2.1.2.2. Àcids Nucleics 13
2.1.2.3. Carbohidrats 15
2.1.2.4. Catalitzadors 16

3. MESCLES PREBIÒTIQUES: REACCIONS A DESENVOLUPAR 18

3.1. "Precursors prebiòtics" 18
3.2. Reaccions a desenvolupar 19

4. TÈCNIQUES D'ANÀLISI I CARACTERITZACIÓ DE LES MACROMOLÈCULES BIOLÒGIQUES 21

4.1. Cromatografia en permeabilitat en gel 21
4.2. Cromatografia en capa fina 25
4.3. Espectrometria d'infraroig per transformada de Fourier FTIR 26

5. PART EXPERIMENTAL 28

5.1. Muntatge general per al desenvolupament de les reaccions 28
5.2. Reacció 1. Formaldehid amb hidroxilamina. 29
5.2.1. Seguretat 29
5.2.2. Productes esperats 29
5.2.3. Preparació de la dissolució d'hidroxilamina a partir de clorur d'hidroxilamoni. 29
5.2.4. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció. 30
5.3. Reacció 2. Formamida. 32
5.3.1. Seguretat 32
5.3.2. Productes esperats 32
5.3.3. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció 33

5.4. Reacció 3. Formaldehid amb formamida 35
5.4.1. Seguretat 35
5.4.2. Productes esperats 35
5.4.3. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció 35
5.5. Reacció 4. Diaminomaleonitril DAMN 41
5.5.1. Seguretat 41
5.5.2. Productes esperats 41
5.5.3. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció 41
5.6. Reacció 5. Formiat d'amoni amb DAMN 44
5.6.1. Seguretat 44
5.6.2. Productes esperats 44
5.6.3. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció 44
5.7. Reacció 6. Glicolonitril 46
5.7.1. Seguretat 46
5.7.2. Productes esperats 46
5.7.3. Preparació de la dissolució 2 M de NaOH 46
5.7.4. Preparació del vial i desenvolupament de la reacció 46
5.7.5. Preparació del viscosímetre i desenvolupament de la reacció. 47
5.8. Reacció 7. Lactonitril 49
5.8.1. Seguretat 49
5.8.2. Productes esperats 49
5.8.3. Preparació del vial i desenvolupament de la reacció 49
5.8.4. Preparació del viscosímetre i desenvolupament de la reacció. 49
5.9. Reacció 8 Glicina amb àcid glutàmic 51
5.9.1. Seguretat 51
5.9.2. Productes esperats 51
5.9.3. Preparació del vial i desenvolupament de la reacció 51
5.10. Reacció 9 Àcid aspàrtic 52
5.10.1. Seguretat 52
5.10.2. Productes esperats 52
5.10.3. Preparació del tub d'assaig i desenvolupament de la reacció 52
5.11. Anàlisi de les mostres amb cromatografia de capa fina 53
5.11.1. Seguretat 53
5.11.2. Procediment 53
5.12. Anàlisi de les mostres amb cromatografia de permeabilitat en gel GPC 57
5.12.1. Seguretat 57

5.12.2. Preparació de la dissolució tampó a pH 7,4 de fosfat de sodi amb d'azida de sodi 57
5.12.3. Preparació del les mostres patró per a la recta de calibratge..... 58
5.12.4. Preparació de les mostres de cada reacció 59
5.13. Anàlisi de les mostres amb espectrofotòmetre d'infraroig de transformada de Fourier FTIR 63

6. ANÀLISI I DISCUSSIÓ DELS RESULTATS ____ 64
6.1. Resultats de la cromatografia en permeabilitat en gel GPC 64
6.2. Resultats de l'espectrometria d'infraroig per transformada de Fourier FTIR 78

7. PLANIFICACIÓ ____ 83

8. ANÀLISI ECONÒMICA DEL PROJECTE ____ 84
8.1. Cost de fase de recerca bibliogràfica i planificació de l'experiment 84
8.2. Cost fase d'experimentació 85
8.2.1. Cost reactius, materials i equips 85
8.2.2. Cost de l'electricitat i l'aigua 89
8.2.3. Cost personal 89
8.2.4. Cost total fase d'experimentació 90
8.3. Cost de la fase d'anàlisi dels resultats 90
8.4. Cost de la fase de l'elaboració de la memòria 91
8.5. Cost global 91

9. ANÀLISI DE L'IMPACTE AMBIENTAL. ____ 92
9.1. Generació de residus 92
9.2. Emissió de compostos orgànics volàtils 93
9.3. Efectes de toxicitat dels reactius 94

CONCLUSIONS ____ 96

AGRAÏMENTS ____ 98

BIBLIOGRAFIA ____ 99
Referències bibliogràfiques 99
Bibliografia complementària 102

1. Introducció

1.1. Motivació del projecte

Fins al moment, nombrosos experiments realitzats en la química prebiòtica han aconseguit l'obtenció diversos compostos orgànics simples. Considerant que aquests compostos orgànics poden reaccionar entre sí, amb el present treball es vol aportar dades concretes de la presència de macromolècules en la química prebiòtica.

1.2. Abast del projecte

Realitzar experiments senzills de laboratori amb components reconeguts que són presents en mescles prebiòtiques amb l'elecció de les condicions adients. Posteriorment, avaluar amb les tècniques analítiques adequades si hi ha molècules polimèriques. Si es possible, caracteritzar estructuralment aquests components.

1.3. Objectius del projecte

L'objectiu general d'aquest projecte és explorar si el tractament energètic de mescles químiques de components simples prebiòtics en resulten polímers bioquímics. Aquest objectiu general es divideix en els objectius particulars següents:

- Identificar, mitjançant recerca bibliogràfica, els components simples o precursors més importants en la química prebiòtica.
- Preparar mescles prebiòtiques, a partir dels components simples identificats, que es poden tractar utilitzant com a font d'energia la calor.
- Seleccionar dues reaccions per comprovar, l'obtenció de biopolímers a partir de compostos orgànics simples aplicant calor.
- Seleccionar les condicions adients i les variables que es modificaran.
- Planificar i realitzar les reaccions de les mescles prebiòtiques.
- Realitzar un anàlisi preliminar dels productes amb cromatografia en capa fina.
- Analitzar els productes de les reaccions amb cromatografia de permeabilitat en gel GPC.
- Caracteritzar els productes de les reaccions amb espectroscòpia d'infraroig per transformada de Fourier FTIR.

2. Química prebiòtica

La síntesi química orgànica és un camp molt actiu d'investigació, en el que els químics, ja poden preparar pràcticament qualsevol molècula desitjada a partir del desenvolupament de metodologies i substàncies químiques. En canvi, la biologia sintètica, que es defineix com la enginyeria dels sistemes biològics per obtenir funcions que no es troben a la naturalesa, és encara un camp en procés de desenvolupament. En la biològica sintètica, és necessari primer conèixer els components que formen els organismes vius i les seves relacions. Un aspecte que tenen en comú, tant la síntesi orgànica com la biologia sintètica és que el producte obtingut, és el resultat del disseny experimental dels científics, que des del principi tenen clar el que es desitja obtenir.

La química prebiòtica comparteix alguns d'aquests aspectes. Quan Stanley L. Miller, sabent la importància dels aminoàcids en els organismes vius, n'obtingué alguns generant una descàrrega elèctrica en un mescla de gasos (NH_3, H_2O, CH_4 i H_2), estava duent a terme una síntesi química. No obstant, aquest experiment és l'exemple per excel·lència que es pren de química prebiòtica, ja que les condicions utilitzades no eren les òptimes, sinó les que probablement estaven presents en les primeres eres de la Terra.

De manera que la química prebiòtica es podria definir com una síntesi química ineficient [1], que inclou processos químics productius i no productius [2], duta a terme en condicions similars a les primeres èpoques de la Terra, que són llunyanes a les condicions òptimes dels objectius. Amb la química prebiòtica, s'haurien d'obtenir els camins amb els quals s'incrementaria la complexitat de la matèria fins a obtenir els primers organismes vius a partir de condicions similars a les presents en les primeres èpoques de la Terra. Aquest factor, és la diferencia entre la química prebiòtica i síntesi química o la biologia sintètica. La química prebiòtica no reprodueix el que es coneix, sinó que inventa possibles vies, que incrementen la complexitat molecular o les relacions entre components que donaran lloc als primers organismes vius.

En aquest últim punt, apareix la necessitat de definir, què és considera organisme viu. No obstant, fins ara no s'ha aconseguit un definició acceptada universalment per tots els científics i sense ambigüitat. Tot i així, es pot establir una escala convencional de "vida", a l'organisme procariota (considerat el sistema biològic més simple) se li assigna un índex i=1. Els components dels organismes procariotes, com ara els ribosomes o les membranes, tindrien un índex superior a 0 però inferior a 1. Totes les molècules que es trobarien només en els procariotes tindrien un índex superior a 0 però inferior a 1. Així, l'aigua tindria un índex i=0 i els aminoàcids també, ja que aquests s'han trobat en meteorits [1] [3].

Actualment, els experiments de la química prebiòtica, tenen com a objectiu la recerca de camins o mecanismes plausibles que condueixen a la formació espontània de biopolímers, sistemes moleculars, sistemes dinàmics, etc., és a dir sistemes amb un índex de vida superior a 0 fins a arribar a la formació de l'organisme viu. S'ha de reconèixer les dificultats que conté aquest tipus de recerca, ja que hi ha una probabilitat considerable d'obtenir resultats negatius [1].

2.1. Components essencials primigenis de la vida

La química prebiòtica té com a objectiu, no només produir els components orgànics que podrien formar els primers organismes vius, sinó que també la recerca del camí de l'autoacoblament dels components d'aquests primers organismes vius [2]. Hi ha molts factors que intervenen en aquesta de recerca. A continuació es tractaran els factors, que s'han considerat més importants i que també condicionen el present treball.

2.1.1. Condicions en la química prebiòtica

Per tal de dur a terme experimentacions en química prebiòtica, es necessari conèixer les condicions que prevalien en les primeres èpoques de la Terra. No obstant, considerant que l'aparició dels primers organismes vius, no va ser probablement un esdeveniment local, moltes condicions diferents podrien haver existit simultàniament [1]. Els condicions a tenir en consideració són les següents:

- **Atmosfera primitiva:** Hi ha diferents opinions en quan a la composició inicial, encara que es acceptat generalment la presència de una petita quantitat d'oxigen, en l'atmosfera primitiva, les opinions varien en la resta de la composició. Les estimacions van des d'una atmosfera reductora (composada per: CH_4+H_2+NH_3+H_2O o CO_2+H_2+N_2) a un atmosfera neutral (composada per: CO_2+N_2+H_2O). Una atmosfera reductora feble o neutra sembla estar més d'acord amb el models actuals de les primeres èpoques de la Terra [4].

- **Escenaris en la Terra primitiva:** Alguns dels escenaris on es podrien desenvolupar les primeres reaccions en la Terra primitiva són els mostrats en la Figura 2.1. que són: en l'atmosfera (on també hi haurien els gasos produïts pels volcans), en els volcans, en la superfície terrestre, en els oceans (on els corrents hidrotermals contribuirien a la formació de components orgànics), meteorits (que serien font d'altres components orgànics), etc.[5].

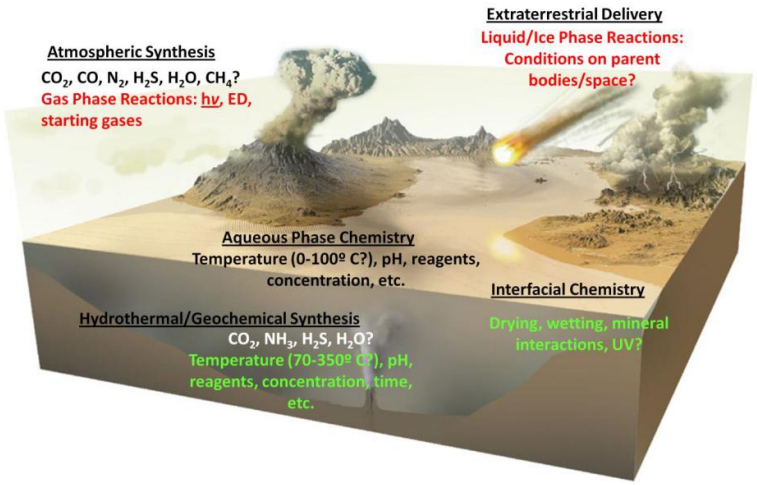


Fig. 2.1. Possibles escenaris en la Terra Primitiva [5]

- **Fonts d'energia**: Les fonts d'energia presents en la Terra Primitiva per la producció dels components inicials serien [6]:
  - La llum ultraviolada UV
  - Les descàrregues elèctriques
  - La calor (volcans)
  - Els raigs còmics
  - La radioactivitat

  Algunes de les fonts d'energia podrien ser més importants en algunes reaccions de síntesi. Per exemple, les descàrregues elèctriques serien més efectives per a la formació de cianur d'hidrogen HCN (més endavant es veurà el paper important d'aquest molècula) a partir de metà CH_4 i amoníac NH_3 o nitrogen N_2. D'altra banda les descàrregues elèctriques es produeixen a prop de la superfície terrestre mentre que les reaccions amb UV es desenvolupen a les capes superiors de l'atmosfera. Qualsevol formació de component orgànic implicaria un transport a l'oceà, i aquestes molècules podrien es destruir pel camí. [7]

2.1.2. Components essencials constituents de la vida

Els aminoàcids, els àcids nucleics, els carbohidrats i els lípids són els components essencials constituents de la vida. Aquestes biomolècules, són el producte de l'activitat biològica així com el material de partida de tots els processos biològics de construcció i composició de les cèl·lules i altres components dels éssers vius [8].

En aquest apartat es revisen alguns dels processos geoquímics plausibles que es podrien haver produït per sintetitzar els aminoàcids, els carbohidrats i els àcids nucleics en la Terra Primitiva [7]. Els lípids queden fóra de l' interès d'aquest projecte. Més endavant es revisaran les característiques principals d'aquestes biomolècules (excepte els lípids).

2.1.2.1. Aminoàcids

Les proteïnes són les molècules orgàniques més abundants en els animals i juguen un paper important en tots els aspectes de l'estructura i funcions de les cèl·lules. Són biopolímers d'aminoàcids, la combinació dels quals confereix les diferents propietats físiques i químiques a les proteïnes que formen. Les subunitats dels aminoàcids individuals estan unides mitjançant "enllaços amida", (com es mostra en la Figura 2.2.) coneguts com enllaços peptídics.

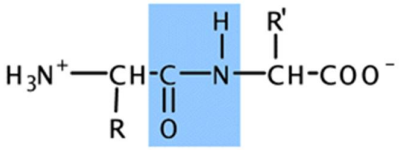


Fig. 2.2. Enllaç peptídic [9]

Existeixen 20 aminoàcids, anomenats aminoàcids estàndard, que formen –amb algunes excepcions- totes les proteïnes de qualsevol espècie biològica.

Existeixen diferents processos prebiòtics que poden formar aminoàcids. Per exemple, en els experiments de descàrrega elèctrica tipus Miller-Urey, en els que es realitzaren vàries descàrregues elèctriques en una mescla de gasos de NH_3, H_2O, CH_4 i H_2, que simulava l'atmosfera primitiva de la Terra. Com a resultat en aquests experiment s'obtingueren quantitats considerables de components orgànics: aminoàcids, hidroxiàcids, petits àcids alifàtics i urea. La presència de grans quantitats de àcid cianhídric HCN, aldehids i cetones, en el recipient d'aigua de l'experiment, que derivaren del metà, amoníac i hidrogen (reactius inicial), mostraren que els aminoàcid no es formaren directament en la descàrrega elèctrica, sinó que es formaren després en una reacció tipus Strecker, que es mostra en la Figura 2.3. [7].

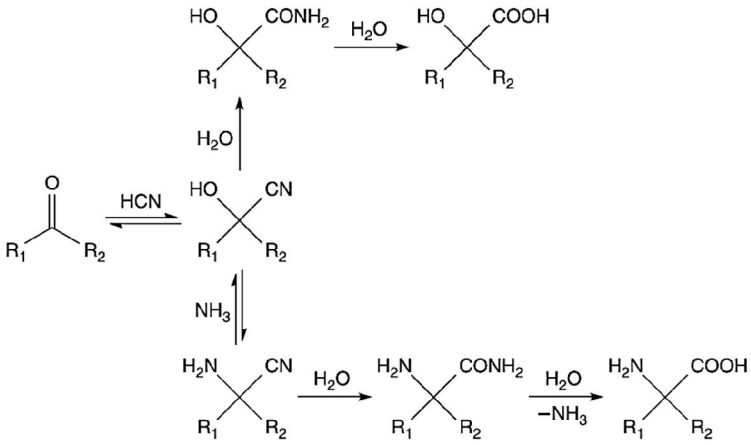


Fig. 2.3. Reacció d'Strecker per a la formació d'aminoàcids [7]

La síntesi d'Strecker requereix la presència d'amoníac NH_3, però aquest es descomposa ràpidament amb la llum UV. Com en l'atmosfera primitiva d ela Terra no hi havia capa d'ozó, la concentració d'amoníac en l'atmosfera haguera estat petita. No obstant l'amoníac és molt solubles en aigua, de maner a que estaria present en els oceans.

Un mecanisme alternatiu, seria el representat en la Figura 2.4. la síntesi de Bucherer-Bergs, la qual seria significativa si es hi hagués una petita quantitat disponible d'amoníac [7].

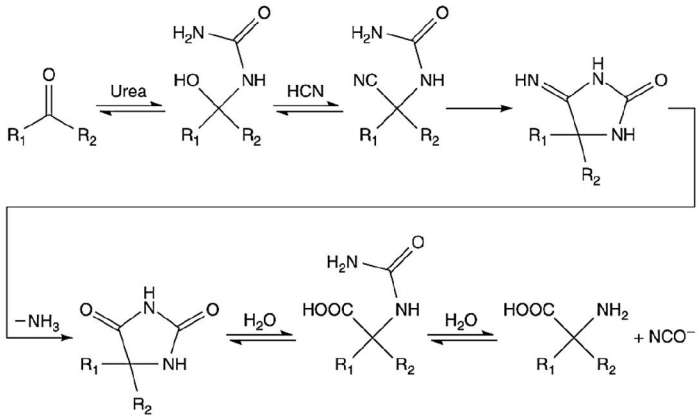


Fig.2.4. Síntesi de Bucherer-Bergs pels aminoàcids [7]

També hi han evidències d'obtenció d'aminoàcids en reaccions d'àcid cianhídric en l'aigua [10]. Una altra via, seria a partir de l'acroleïna, la qual s'obtindria a partir de la reacció del formaldehid i acetaldehid, ambdós precursors prebiòtics presents en la Terra primitiva. En la

Figura 2.5. es mostra la via de reacció dels aminoàcids i altres components orgànics plausibles [7].

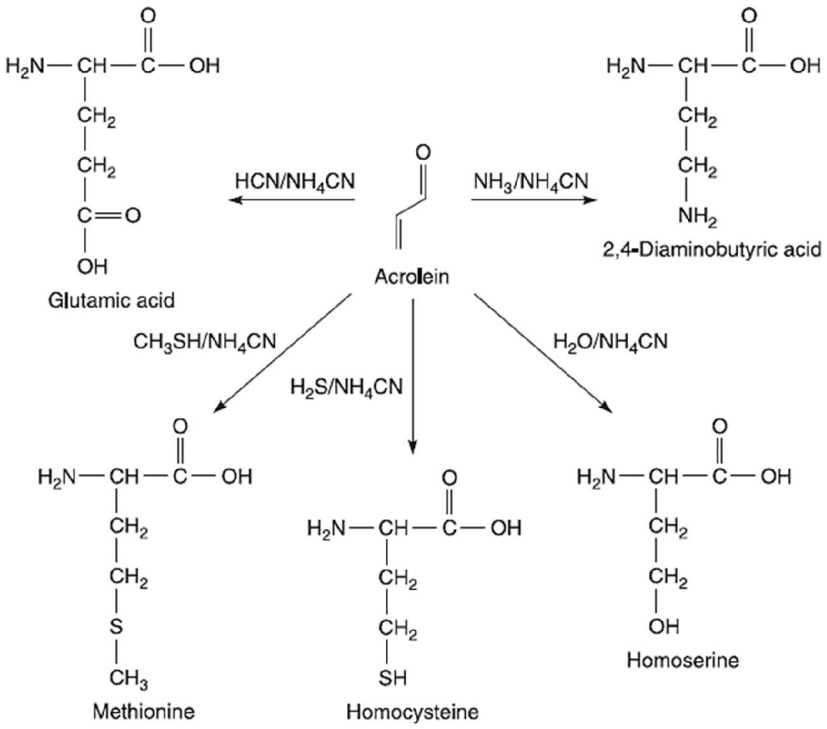


Fig. 2.5. Síntesi d'alguns aminoàcid a partir de l'acroleïna [7]

2.1.2.2. Àcids Nucleics

Els àcids nucleics són polímers formats per bases orgàniques, carbohidrats i àcid fosfòric. Són les macromolècules més llargues trobades en els éssers vius. També són les de la funció biològica més noble i complexa, ja que contenen la codificació, emmagatzemament, transmissió i expressió individual de la informació genètica.

Hi ha 5 bases nitrogenades, (Figura 2.6) que constitueixen la major part dels àcids nucleics. Tres deriven de la pirimidina: la citosina, la timina i l' uracil; i dos deriven de la purina: adenina i guanina.

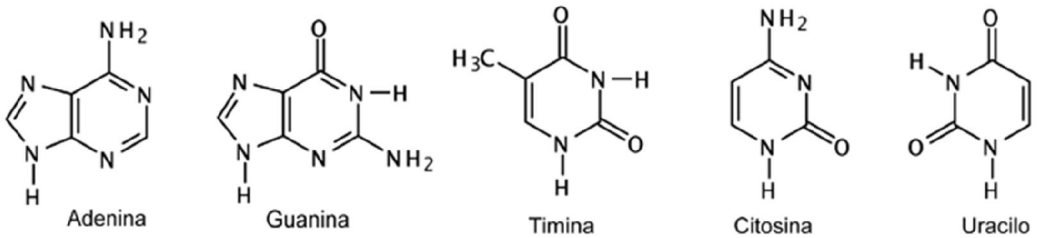


Fig. 2.6. Bases nitrogenades dels àcids nucleics [11]

La primera purina sintetitzada abióticament, es va obtenir al 1961 per J. Oró a partir de dissolucions concentrades de cianur d'amoni NH_4CN. Més tard, Ferris i Orgel al 1966 van obtenir altres purines, a partir de Diaminomaleonitril DAMN (molècula tetràmer d' àcid cianhídric HCN) mitjançant es mecanisme que es mostra en la Figura 2.7. [2].

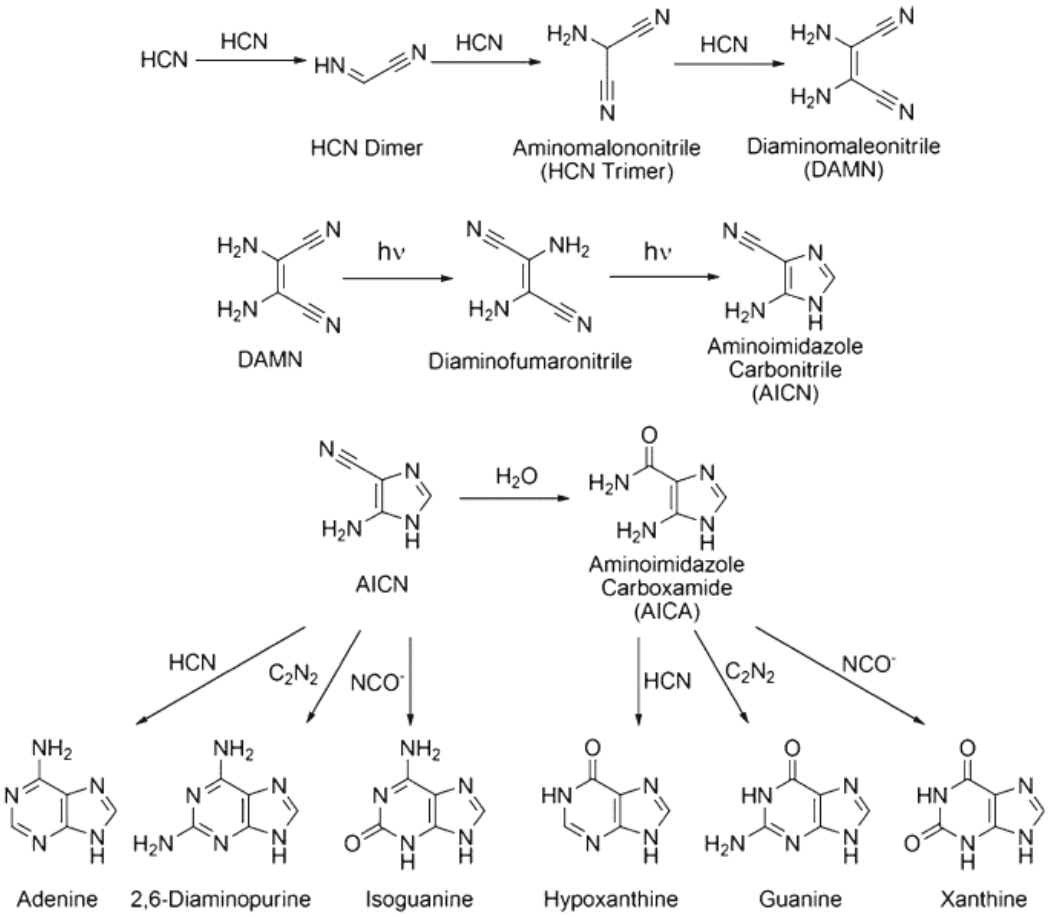


Fig. 2.7. Mecanismes per la formació de les purines [2]

Una altra mecanisme per a l'obtenció de les bases nitrogenades dels àcid nucleic seria l'escalfament de formamida NH_2CHO en presència de diferents catalitzadors (minerals) que també estarien presents en la Terra primitiva. En la Figura 2.8 es mostra un esquema de l'obtenció dels diferents compostos orgànics a partir de la formamida [12].

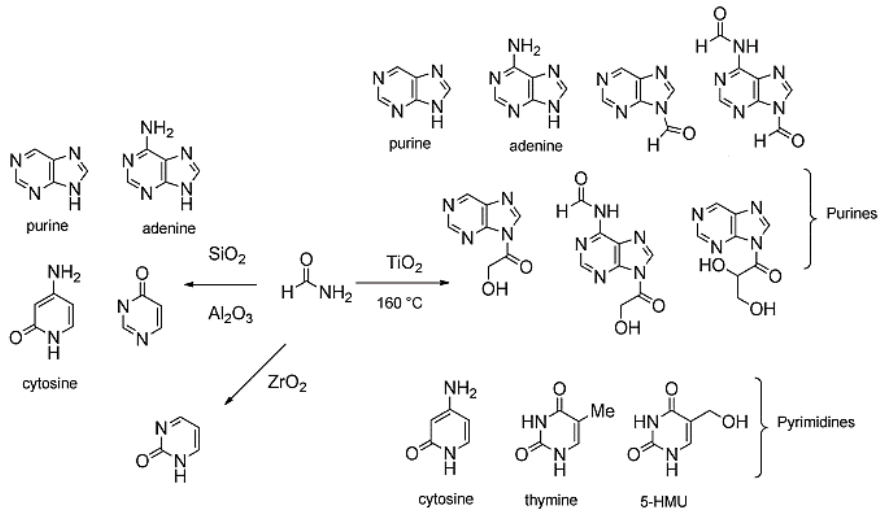


Fig. 2.8. Obtenció dels diferents compostos orgànics a partir de la formamida [12]

2.1.2.3. Carbohidrats

Els carbohidrats són els compostos orgànics més abundants en la naturalesa. Tenen una gran importància biològica i industrial: els més senzills són metabolitzats per les cèl·lules dels organismes vius per suplir les necessitats energètiques (glucosa, fructosa), altres són de reserva o emmagatzemament (midó, glucogen) i alguns tenen funcionalitat estructural (cel·lulosa).

La majoria dels carbohidrats presenten la fórmula empírica $(CH_2O)_n$, fet indicat per Aleksandr Butlerov el 1861, que va mostrar que es podia obtenir una mescla de carbohidrats a partir de la reacció de formaldehid HCHO en condicions bàsiques (Reacció de la formosa). Aquest procés depèn de la presència de catalitzadors, ja que en absència d'aquest pràcticament no s'obtenien carbohidrats. El mecanisme de la reacció es mostra en la Figura 2.9. [2].

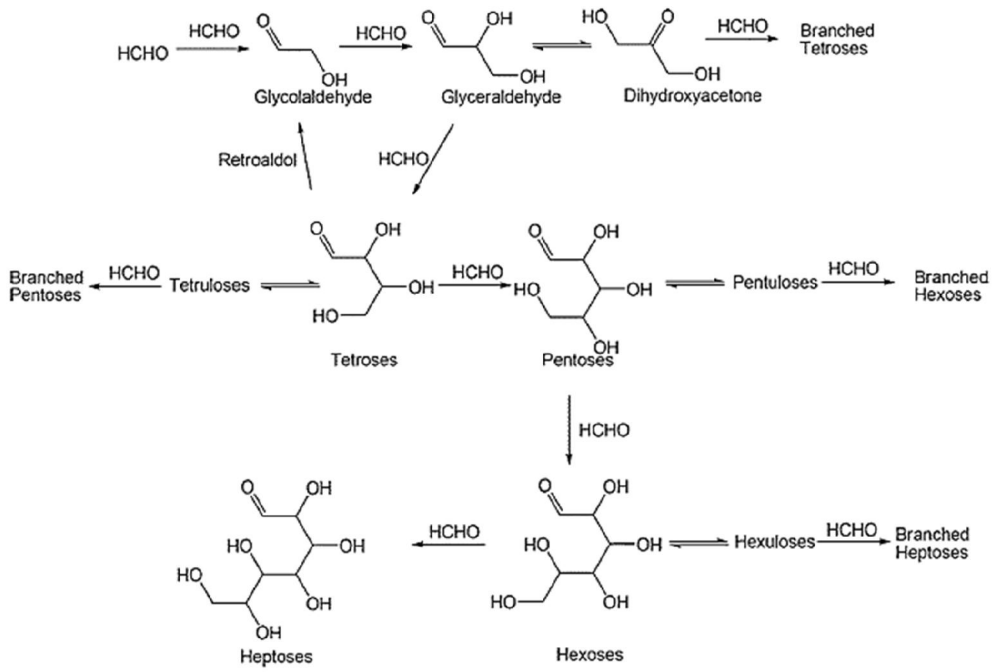


Fig. 2.9. Esquema de la reacció de la formosa [7]

2.1.2.4. Catalitzadors

Tot i que els catalitzadors no formarien part del grup de les biomolècules essencials constituents de la vida, són un factor molt important a tenir en compte, ja que condicionen les reaccions de síntesi.

Els catalitzadors més considerats en la química prebiòtica són :

- Òxids metàl·lics: com òxid de calci CaO, òxid de silici SiO, òxid d'alumini Al_2O_3, etc. .
- Carbonats: com carbonat de calci $CaCO_3$.
- Minerals d'argila: com montmorillonites, zeolites o caolinites.
- Minerals fosfats: com l'apatita, la variscita, etc. .
- Minerals borats: com el bòrax, la ulexita, etc.

La presència de catalitzadors afavoreix en general, la formació dels diferents compostos orgànics. Algunes evidències d'aquests fets són les següents:

- Cadenes de pèptids llargues poden ser sintetitzades en presència de montmorillonita [13].

- Activació dels aminoàcids per la formació de l'enllaç peptídic en presència de (Ni,Fe)S i monòxid de carboni [7].
- La presència d'òxid d'alumini, mostra influència positiva en la síntesi tèrmica prebiòtica del polímer Gly-Glu-$(Gly-Glu)_n$ [14].
- Adenina més la ribosa poden ser condensades per formar un nucleòsid en presència de borat en solució aquosa [13].

Els catalitzadors que s'utilitzaran en la part experimental d'aquest treball són:

- L' òxid de alumini o alúmina Al_2O_3
- Vermiculita (té una estructura similar a la montmorillonita)
- Bòrax o tetraborat de sodi decahidratat $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$

3. Mescles prebiòtiques: reaccions a desenvolupar

3.1. "Precursors prebiòtics"

En els apartats anteriors, s'ha pogut observar que a partir de compostos com àcid cianhídric o la formamida, es poden obtenir adenina, àcid glutàmic, metionina, etc.. Aquests compostos químics són "precursors prebiòtics".

Els "precursors prebiòtics" es podrien definir com els compostos químics que estarien presents en la Terra primitiva, a partir dels quals es formarien les biomolècules essencials de la vida i posteriorment aquestes constituirien les estructures més complexes (macromolècules → "primer organisme viu").

Cal destacar que en molts processos, aquests precursors formen primer uns compostos químics intermedis a partir dels quals es formaran les biomolècules.

L'àcid cianhídric HCN, la formamida NH_2CHO i el formaldehid HCHO podrien ser considerats tres dels precursors més important en la química prebiòtica.

L'àcid cianhídric, és un compost que es produeix fàcilment i en quantitats considerables en els experiments prebiòtics. Fet que indicaria que es trobaria en relativa abundància en la Terra primitiva. L'àcid cianhídric pot polimeritzar espontàniament sota una amplia varietat de condicions experimentals. A més a més, gran diversitat de compostos simples orgànics i biomolècules han estat detectades en els polímers formats per l'HCN [15].

L'HCN forma diversos components intermedis que tenen un paper important en la química prebiòtica. En la Figura 3.1. es poden veure dos dels compostos intermedis que forma: l'aminomaleonitril (trímer d'HCN) i el diaminomaleonitril (tetràmer d'HCN).

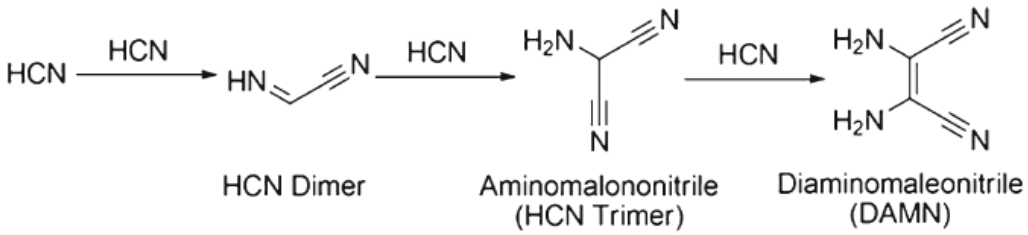


Fig. 3.1. Compostos intermedis formats a partir de l'HCN [7]

Tot i que la formamida també podria formar-se a partir de l'HCN i aigua, com es mostra en la Figura 3.2, també existirien altres vies de síntesi plausibles en l'ambient de la Terra Primitiva.

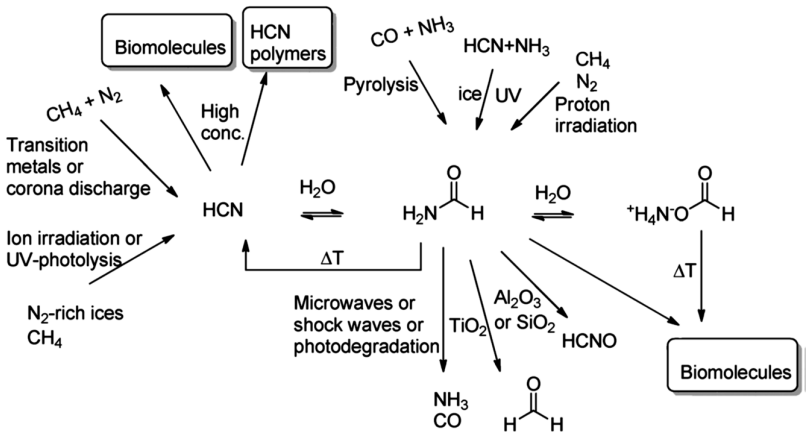


Fig. 3.2. Química del l'àcid cianhídric i la formamida. [12]

De la Figura 3.2., també s'observa que existeix un equilibri entre l'àcid cianhídric HCN, la formamida NH_2CHO i el formiat d'amoni $CHOO^- NH_4^+$.

D'altra banda, la principal font de formació del formaldehid HCHO en la Terra primitiva, probablement era la foto-reducció en fase gas en l'atmosfera del diòxid de carboni CO_2 i l'aigua H_2O [16].

$$\mathbf{CO_2 + H_2O \leftrightarrow HCHO + O_2}$$

El formaldehid també podria formar-se a partir de la formamida, com mostra la Figura 3.2..

S'ha de destacar que el formaldehid reacciona amb l'àcid cianhídric quan es troba dissolt en aigua [16] obtenint glicolonitril com a producte. I en condicions foto-reductores [17] s'obté entre altres productes, el lactonitril.

3.2. Reaccions a desenvolupar

A continuació, es descriuran les reaccions que s'han seleccionat per desenvolupar en la part experimental. Es realitzaran un total de 9 reaccions en presència i absència de catalitzadors (Vermiculita, alúmina Al_2O_3, bòrax $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$). Les 7 primeres reaccions són mescles prebiòtiques (que es realitzen amb alguns dels precursors abans descrits) i les 2 últimes es realitzen amb biomolècules (aminoàcids) per confirmar que s'obtenen substàncies polimèriques aplicant calor.

- **Reacció 1. Formaldehid amb hidroxilamina:** es realitza una versió modificada en condicions de la reacció duta a terme per H. Hatanaka et al. [18]. En la reacció original, s'obtingueren nombrosos aminoàcids. Es realitzarà també en presència de catalitzadors.

- **Reacció 2. Formamida:** Diversos estudis confirmen que per simple escalfament a una temperatura determinada i en presència de catalitzadors [12] [19], la formamida

forma nombrosos compostos orgànics. Es variaran algunes condicions i també es realitzarà en presència de catalitzadors.

- **Reacció 3. Formamida amb Formaldehid:** S'ha trobat que es formen nombroses biomolècules [12] entre les quals adenina i citosina, en la reacció de formamida amb formaldehid en presència de catalitzadors. És realitzaran reaccions a diferents relacions moleculars de formamida i formaldehid, en presència i en absència de catalitzadors.

- **Reacció 4. Diaminomaleonitril DAMN:** Com ja s'ha vist, en l'apartat (2.1.2.2. Àcids nucleics) a partir del DAMN es poder formar les purines. Es realitzaran proves de DAMN a diferents concentracions en aigua i en presència i absència de catalitzadors.

- **Reacció 5. Formiat d'amoni amb Diaminomaleonitril DAMN:** Aquesta reacció es realitza segons el procediment descrit per Hill A. Et al. [20]. El resultat obtingut en aquesta reacció es adenina, però també descriuen la formació de precipitats de color fosc, que no s'analitzen. Es realitzarà amb diferents relacions molars entre Formiat d'amoni i DAMN.

- **Reaccions 6 i 7 Glicolonitril i Lactonitril:** respectivament. Ambdós són productes de reacció del formaldehid amb l'àcid cianhídric com s'ha vist en l'apartat anterior. S'ha demostrat que el glicolonitril oligomeritza a temperatures baixes i en condicions lleugerament bàsiques [21]. Amb aquestes reaccions es comprovarà aquest fet i es veurà si el lactonitril també oligomeritza en les mateixes condicions.

- **Reacció 8. Glicina amb àcid glutàmic:** es realitza aquesta reacció seguint el procediment descrit per Leyton P. Et al. [22], es comprovarà si es formen substàncies polimèriques en presència d' alúmina AL_2O_3.

- **Reacció 9. Àcid aspàrtic:** es realitzarà aquesta reacció segons el procediment descrit per Nakato T. Et al. [23], per comprovar que es poden formar substàncies polimèriques a partir de les biomolècules, en aquest cas l'aminoàcid àcid aspàrtic.

4. Tècniques d'anàlisi i caracterització de les macromolècules biològiques

4.1. Cromatografia en permeabilitat en gel

Els polímers i biopolímers tenen moltes característiques físiques, responsables de la seva versatilitat en quan a funcionalitat i usos. Entre les propietats físiques més beneficioses es troben: la duresa, l'aïllament tèrmic i elèctric, propietats òptiques i la resistència a substàncies químiques. Aquests paràmetres es veuen influenciats pels atributs de cada polímer, com ara els atributs químics: forma, estructura, massa o mida molecular o la presència de ramificacions. Però el factor que més influeix en aquestes, és la mida molecular del polímer [24].

Per causes tècniques i històriques, actualment es mesura la mida dels polímers com al seu pes molecular. En base al nombre d'unitats repetitives que posseeix, es pot definir el pes molecular d'una molècula de polímer com:

$$-(UR)_n- \qquad M=n\cdot M_o \qquad \text{(eq. 4.1)}$$

M= pes molecular de la molècula polimèrica
n= grau de polimerització (nº d'unitats repetitives n) M_o= pes molecular UR

D'altra banda degut a la naturalesa aleatòria de les reaccions de polimerització, els polímers estan formats per molècules de diferents mides o dit d'una altra manera les cadenes són de diferent mida. Es a dir, no contenen un sol tipus de molècules de pes molecular únic - com seria en el cas per exemple de l'aigua-, sinó que hi ha una mescla de mides que condueixen a una distribució de pesos moleculars -representada en la Figura 4.1., ponderada per la concentració de cada mida de cadena [25].

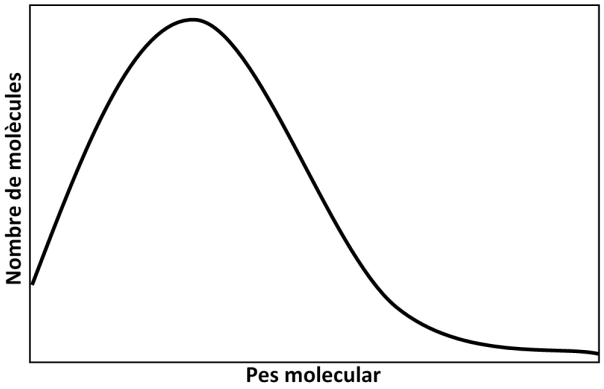


Fig. 4.1.Distribució del pes molecular d'un polímer [25]

Els promitjos més utilitzats són el pes molecular promig en nombre (Mn) i el pes molecular promig en pes (Mw).

$$\overline{\mathrm{Mn}} = \sum \mathrm{Xi} \cdot \mathrm{Mi} = \frac{\sum \mathrm{Ni} \cdot \mathrm{Mi}}{\mathrm{Ni}} \qquad \text{(eq.4.2)}$$

$$\overline{\mathrm{Mw}} = \sum \mathrm{Wi} \cdot \mathrm{Mi} = \frac{\sum \mathrm{Ni} \cdot \mathrm{Mi}^2}{\sum \mathrm{Ni} \cdot \mathrm{Mi}} \qquad \text{(eq 4.3)}$$

$\overline{\mathrm{Mn}}$ = Pes molecular promig en nombre (g/mol)
$\overline{\mathrm{Mw}}$ = Pes molecular promig en pes (g/mol)
Xi= Fracció molar de les molècules de mida i (mols de i/mols totals)
Wi= Fracció màssica de les molècules de mida i (g de i /g totals)
Mi = Pes molecular de les molècules de mida i (g/mol)
Ni= Nombre total de molècules de mida i (mols)

Existeix una tècnica que dóna directament ambdós promitjos (Mn i Mw) i també la corba de distribució. És la cromatografia de permeabilitat en gel GPC (de l'anglès *Gel Permebility Chromatography* GPC) o cromatografia d'exclusió molecular SEC (de l'anglès *Size Exclusion Chromatography* SEC). Aquesta cromatografia és un tipus de cromatografia líquida d'alta pressió HPLC (de l'anglès *High Permormance Liquid Chromatography* HPLC).

Les tècniques cromatogràfiques es basen en la separació dels components d'una mescla, els quals es distribueixen entre dos fases: la fase mòbil i la fase estacionaria. Generalment, mitjançant l'ús d'una columna que conté las fase estacionaria, els compostos a separar son arrastrats per la fase mòbil i analitzats pel detector. La cromatografia de permeabilitat en gel GPC és un tipus de cromatografia líquida en la qual la fase estacionaria és sòlida i la fase mòbil líquida. La seva principal aplicació és la separació de les molècules en funció de la seva mida en dissolució [26] El seu mecanisme consisteix en la capacitat que tenen les diferents molècules en entrat o no als porus de un gel que emplena la columna cromatogràfica. Depenent de la mida dels porus retindran més les molècules petites que les grans. Mentre que en els porus grans es retenen tant molècules petites com grans en els porus petits només ho faran les petites (Figura 4.2.) . En conseqüència les molècules gran elueixen abans, amb la qual cosa temps de retenció més petits; i les molècules petites després amb temps de retenció més grans [25].

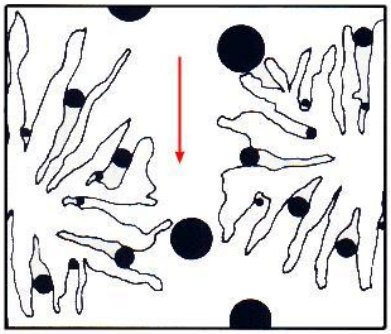


Fig. 4.2. Representació de la interacció del gel amb la mescla dels components a separar. La fletxa indica la direcció del procés. [27]

El resultat, representat en la Figura 4.3.,és un cromatograma on pot apreciarse un pic molt ample corresponent al polímer amb tota de laseva distribució de pes molecular, i si hi han, també es detecten molècules de petita mida, que poden ser altres polímers més petits o impureses.

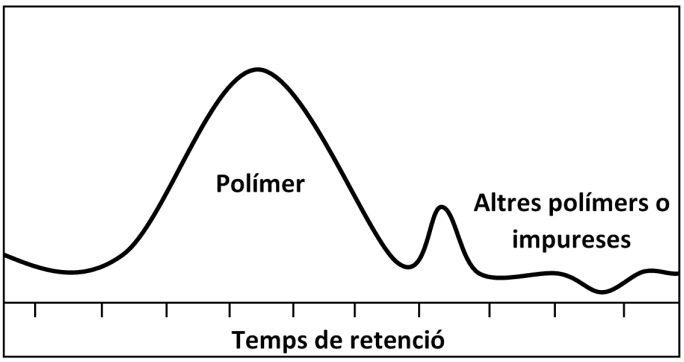


Fig. 4.3. Cromatograma [25]

Per a la determinació absoluta de pesos moleculars s'ha de realitzar abans un cal·librat previ del sistema cromatogràfic amb mostres de pes molecular conegut relacionant el temps de retenció amb el pes molecular.

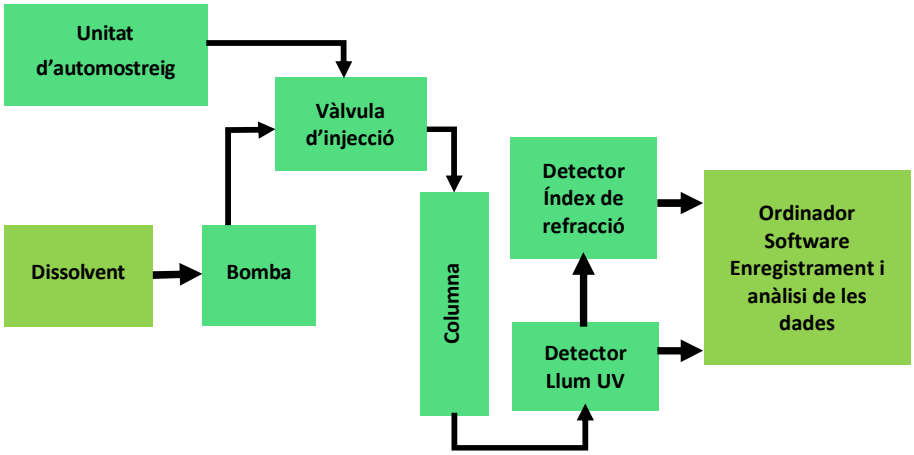


Fig. 4.4.Procés d'anàlisi i components principals de la cromatografia GPC [24]

En la Figura 4.4. es mostra la seqüència que segueix cada component en l'anàlisi de cromatografia GPC en el present treball:

- **Unitat d'automostreig:** és on s'introdueixen les diferents mostres a analitzar en diferents vials. La unitat automàticament (amb una seqüència prèviament establerta en el software del cromatògraf), agafa cada mostra i la porta a la vàlvula d'injecció.
- **Bomba:** impulsa el dissolvent (fase mòvil) a través de les diferents unitats del cromatògraf.
- **Dissolvent:** és la fase mòvil, que es troba en un contenidor que està connectat a la bomba. La selecció del dissolvent depèn del tipus de substàncies a analitzar. En aquest cas, com es tracta de bipolímers, el dissolvent que s'utilitzarà serà una dissolución de di-Hidrogen fosfat de sodi NaH_2PO_4 a pH=7 amb 0,002% en masa d'Azida de sodi NaN_3.
- **Vàlvula d'injecció:** introdueix la mostra en el corrent de la fase mòvil.
- **Columna:** Contè la fase estacionaria, és on es produeix la separació dels diferents components de la mostra. L'elecció de la columna també és un factor important. Per l'anàlisi en cromatografia GPC d'aquest treball s'ha seleccionat la columa PL Aquagel-OH Aqueous SEC d'Agilent Technologies amb un rang de separació de pesos molars de 100-500000 g/mol.
- **Detector de llum UV:** És un dels detectors més utilitzats en la cromatografia líquida HPLC quan la fase mòvil és aquosa. El principi es basa, en que quan la radiació electromàgnètica atravessa determinats grups funcionals dels

compostos orgànics, produeix una excitació electrònica que causa l'absorció d'energia. En el detector que s'utilitza, la mostra es atravessada per llum UV d'una longitud d'ona determinada (fixada a 220 nm) i la variació d'absorció d'energia es captada pel sensor del detector.

- **Detector d'índex de refracció:** Quan un feix de llum passa d'un mitjà a un altre, la direcció i la velocitat de l'ona canvia. El canvi en la direcció es coneix com refracció. El detector d'índex de refracció mesura la desviació d'un feix de llum produïda per la diferència en l'índex de refracció entre els líquids continguts en les cel·les de mostra i de referència.
- **Ordinador:** Connectat al cromatògraf enregistra i analitza les dades provinents dels detectors. També conté el software que permet la manipulació del cromatògraf.

4.2. Cromatografia en capa fina

La cromatografia en capa fina (o en anglès *Thin Layer Chromatography*, TLC) és un tipus de cromatografia té com a objectiu l'anàlisi d'una mescla de components. És la tècnica més versàtil, fàcil d'utilitzar i econòmica que s'empra en el laboratori de química orgànica.

La tècnica de separació, com les altres tècniques cromatogràfiques, consisteix en un sistema de dos fases. La primera és una fase sòlida (fase estacionaria), que s'aplica en forma de capa fina d'absorbent, usualment és d'uns 0,10 a 0,25 mm de gruix. Aquesta capa es fixada en una placa o làmina de vidre, alumini o plàstic que actua com a suport, al conjunt se l'anomena placa cromatogràfica. La placa cromatogràfica es posa en una cubeta que conté un líquid o eluent, que és la fase mòbil que travessa la fase estacionaria, arrossegant els diferents components orgànics. La Figura 4.5. mostra una representació del muntatge d'una cromatografia en capa fina.

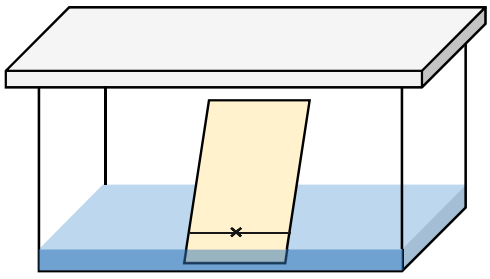


Fig. 4.5. Representació del muntatge de la cromatografia en capa fina.

La fase estacionària es un sòlid fix al suport. El sorbent ha de ser inert, porós i insoluble en l'eluent de la fase mòbil. Existeixen diferents materials inerts però per una separació òptima

és necessari escollir el material adequat. Per al present treball, com s'emprarà aquesta tècnica per fer una primera valoració, s'utilitza la sílica gel, que és de tipus universal, és a dir, per a tot tipus de compost [28]

L'elecció de l'eluent també depèn del component a separar. En aquest cas s'utilitzarà una mescla de cloroform-metanol-amoníac.

Es col·loca una petita quantitat de mostra, en un punt en la part inferior de la placa. Després la placa cromatogràfica es col·loca dins de la cubeta que conté l'eluent. A mesura que l'eluent puja per capil·laritat per sobre de la mostra, els components de la mescla es va separant segons la solubilitat i la força d'adsorció. Un cop l'eluent arriba a la part superior de la placa, es treu de la cubeta i es deixa assecar. Per visualitzar les taques formades pels diferents components de la mescla, es pot veure a simple vista si es tracta de mescles colorimètriques; o bé utilitzar llum ultraviolada UV o utilitzar reactius específics per desenvolupar una coloració en les taques, com la ninhidrina [29].

4.3. Espectrometria d'infraroig per transformada de Fourier FTIR

L'espectrofotometria d'infraroig és una tècnica que s'utilitza per caracteritzar els compostos d'una mostra. Com el seu nom indica, es treballa amb llum infraroja. El principi bàsic consisteix en que les molècules absorbeixen energia de la llum en longituds d'ones específiques, conegudes com les seves freqüències de ressonància (vibració). Per exemple, les molècules d'aigua ressonen (vibren) al voltant del nombre d'ona de 3450 (s'indica com a cm^{-1}), a la regió infraroja de l'espectre electromagnètic [30].

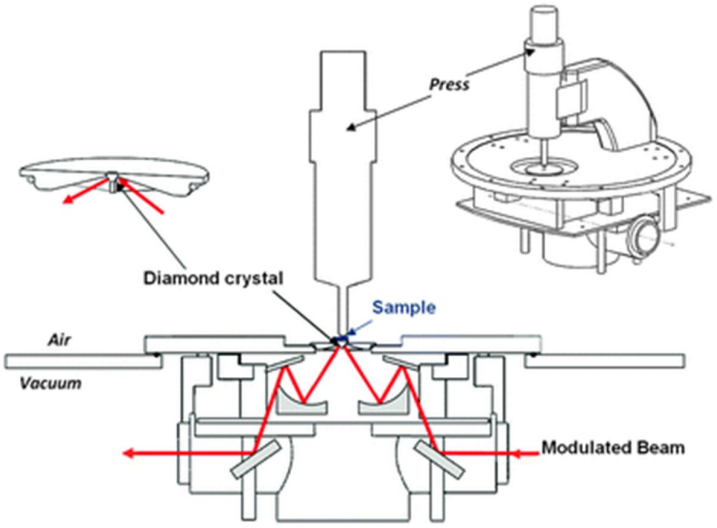


Fig. 4.6. Funcionament de l'espectrofotòmetre FTIR [31]

En la Figura 4.6., es mostra el funcionament. Es col·loca la mostra en la cel·la de l'espectròmetre, on es sotmesa a un raig de llum infraroja, la qual fa un escombratge des de les longituds d'ona de 4000 cm^{-1} fins a 600 cm^{-1} (o les seleccionades per l'usuari) . La intensitat de la llum transmesa a través de la mostra és mesurada en cada nombre d'ona, la qual cosa permet que la quantitat de llum absorbida per la mostra sigui calculada per la diferència entre la intensitat de la llum abans i després de passar per la cel·la de mostra. Això es coneix com l'espectre infraroig de la mostra [30]. Les dades de l'espectre són enregistrades per un software d'un ordinador connectat al espectròmetre.

5. Part experimental

5.1. Muntatge general per al desenvolupament de les reaccions

Totes les reaccions (excepte les reaccions 6 i 7) utilitzen com a font d'energia la calor, per això es realitzaran sobre una placa calefactora. Sobre la placa calefactora es posa un recipient amb silicona líquida, un suport per posar els tubs d'assaig i un termòmetre elèctric per controlar millor la temperatura. La Figura 5.1. mostra el muntatge general sobre el qual es realitzaran les reaccions. Tot el muntatge es col·loca i s'utilitzarà dins la campana extractora de gasos.

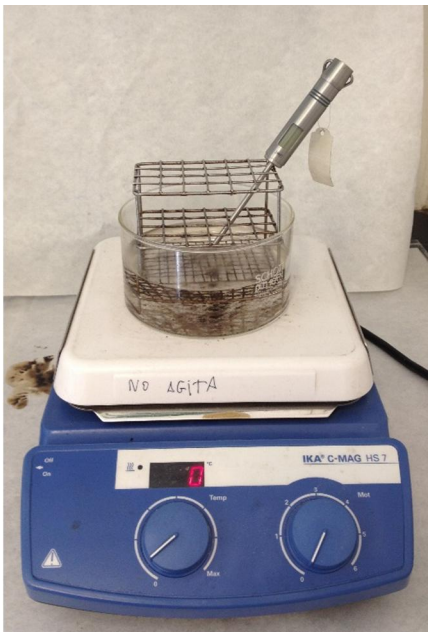


Fig.5.1. Muntatge general per al desenvolupament de les reaccions

5.2. Reacció 1. Formaldehid amb hidroxilamina.

5.2.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 93

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS I ULLERES DE PROTECCIÓ.

5.2.2. Productes esperats

Segons Hatanaka et al. [18] En la reacció de formaldehid amb hidroxilamina s'obtindrà diversos aminoàcids. S'han canviat les condicions de la reacció respecte a Hatanaka i s'espera obtenir en una etapa posterior pèptids.

Formamida + Hidroxilamina → Aminoàcids → Pèptids

Aminoàcids obtinguts: Serina, Leucina, Àcid aspàrtic, Metionina, Homoserina, Alanina, Glicina, Prolina, Valina, Isoleucina

5.2.3. Preparació de la dissolució d'hidroxilamina a partir de clorur d'hidroxilamoni.

Es prepara una dissolució de 25% en massa de hidroxilamina NH_2OH en aigua a partir de la següent quantitat calculada de clorur d'hidroxilamoni NH_3OHCl.

$$\frac{25\ \text{g}\ NH_2OH}{75\ \text{mL}\ H_2O}\cdot\frac{1\ \text{mol}\ NH_2OH}{33\ \text{g}\ NH_2OH}\cdot\frac{1\ \text{mol}\ \ NH_3OHCl}{1\ \text{mol}\ NH_2OH}\cdot\frac{69{,}5\ \text{g}\ \ NH_3OHCl}{1\ \text{mol}\ \ NH_3OHCl}\cong 0{,}720\ \frac{\text{g}\ \ NH_3OHCl}{\text{mL}\ H_2O}$$

$$75\ \text{ml}\ H_2O \rightarrow 52{,}65\ \text{g}\ NH_3OHCl$$

A continuació, es calcula la quantitat de hidròxid de sodi que es necessita de alliberar la hidroxilamina NH_2OH.

$$25\ \text{g}\ NH_2OH\cdot\frac{1\ \text{mol}\ NH_2OH}{33\ \text{g}\ NH_2OH}\cdot\frac{1\ \text{mol}\ \ NaOH}{1\ \text{mol}\ NH_2OH}\cdot\frac{69{,}5\ \text{g}\ NaOH}{1\ \text{mol}\ NaOH}\cong 30{,}3\ \text{g}\ NaOH$$

$$25\ \text{g}\ NH_2OH\cdot\frac{1\ \text{mol}\ NH_2OH}{33\ \text{g}\ NH_2OH}\cdot\frac{1\ \text{mol}\ \ H_2O_{(\text{formada en la reacció})}}{1\ \text{mol}\ NH_2OH}\cdot\frac{18\ \text{g}\ H_2O}{1\ \text{mol}\ H2O}=13{,}6\ \text{g}\ H_2O$$

Es necessiten 30,3 g de hidròxid de sodi NaOH per reaccionar amb 52,65 g de clorur d'hidroxilamoni NH_3OHCl. En la reacció d'alliberació es formaran aproximadament 13 g d'aigua, de manera que en la dissolució només s'afegeixen 62 g (62 mL) d'aigua.

En un erlenmeyer de 100 mL es pesen els 30,3 g NaOH. Es col·loca l'erlenmeyer amb l'NaOH

en un vas de precipitats de plàstic de 1000 mL. Es cobreix el voltant de l'erlenmeyer amb gel aproximadament fins al coll i se li afegeix una mosca d'agitació. Tot el conjunt es posa sobre l'agitador i s'activa l'agitació. S'afegeixen (a l'erlenmeyer) els 62 mL d'aigua destil·lada mesurats amb una proveta de 100 mL. Es deixa que l' NaOH es dissolgui i que la temperatura s'estabilitzi.

En un pesa substàncies es pesen els 52,65 g de clorur d'hidroxilamoni NH_3OHCl i amb l'ajuda d'una espàtula es van afegint a la dissolució de NaOH de mica en mica (aproximadament cada 5 minuts 5-10 grams de substància). S'afegeix més gel si es necessari. Un cop s'ha afegit tot el clorur d'hidroxilamoni NH_3OHCl, es deixa la dissolució en agitació durant 1 hora.

Finalment es para l'agitació i es treu l'erlenmeyer. La dissolució presenta dues fases: en la fase sobrenedant es troba la hidroxilamina en dissolució mentre que la fase precipitada és clorur de sodi.

5.2.4. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció.

En 4 tubs d'assaig de 10 mL, s'afegeixen les quantitats indicades en la Taula 5.1. d'hidroxilamina NH_2OH i para-formaldehid. La hidroxilamina es pipeteja amb molta cura de la solució sobrenedant preparada en l'apartat anterior amb una micropipeta de 1000 µL (1mL).

Taula 5.1. Quantitats de reactius corresponents a cada tub d'assaig.

Tub	Relació molar HCOH : NH_2OH	mL NH_2OH	g HCOH	Catalitzador
1.1	1 : 6	2	0,100	-
1.2	1 : 6	2	0,100	Vermiculita 0,02g
1.3	1 : 3	2	0,202	-
1.4	1 : 3	2	0,202	Vermiculita 0,02g

Un cop preparats els tubs d'assaig, es posen en el suport amb silicona que es troba sobre la placa calefactora. Els tubs s'escalfen durant 4 dies a aproximadament 75-80ºC per tal que s'evapori l'aigua i després es puja la temperatura a 120-125ºC i s'escalfa en aquesta temperatura durant 1 dia. A la Figura 5.2. es pot observar de manera qualitativa l'evolució en l'aspecte visual de la reacció al Tub 1.1.

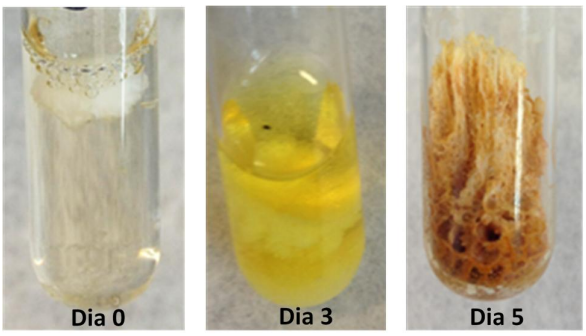


Fig. 5.2. Evolució en l'aspecte visual de la reacció al Tub 1.1.

5.3. Reacció 2. Formamida.

5.3.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS I ULLERES DE PROTECCIÓ.

5.3.2. Productes esperats

En la Figura 5.3. es mostra els productes que s'obtenen en l'escalfament durant 2 dies de la formamida. En el nostre cas, es realitza un escalfament durant 3 dies i s'espera que s'obtingui:

FORMAMIDA NH_2CHO →[Productes Fig. 5.3.]→ Policondensació amb → Biopolímers
NH_2CHO lliure

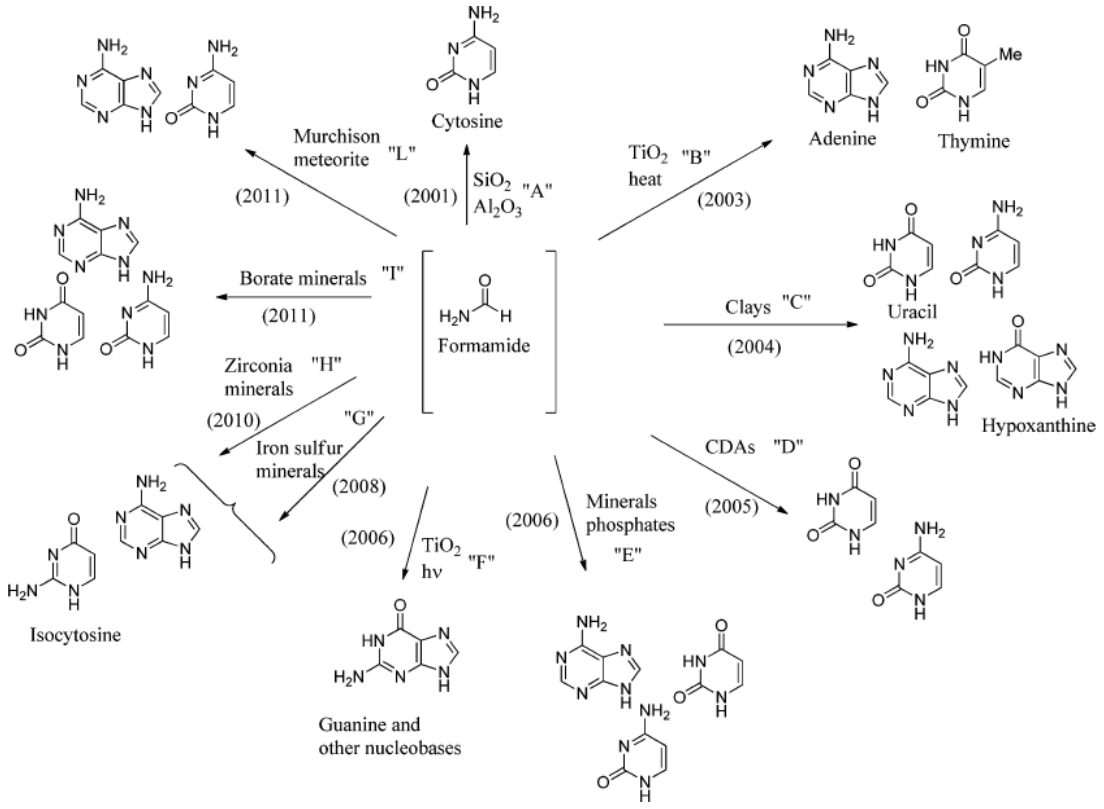


Fig. 5.3. Productes que s'obtenen en l'escalfament durant 2 dies de la formamida en presència de diferents catalitzadors [32]

5.3.3. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció

En 5 tubs d'assaig de 10 ml s'afegeixen les quantitats de formamida i catalitzador indicades a la Taula 5.2. Primer es pesen amb una balança de 0,001 g de sensibilitat la quantitat de catalitzador necessària i després amb una pipeta de 2 mL s'addiciona la formamida.

Taula 5.2. Quantitats de reactius corresponents a cada tub d'assaig i condicions de reacció..

Tub	mL NH_2CHO Formamida	Catalitzador	Temps reacció	Temperatura
2.1	2	-	6 dies	160-165 ºC
2.2	2	-	3 dies	
2.3	2	0,05 g Vermiculita	3 dies	
2.4	2	0,05 g AL_2O_3	3 dies	
2.5	2	0,05 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	3 dies	

En una primera prova, es va posar a la placa calefactora només tub 2.1 obert, que contenia formamida sense cap catalitzador, a 160-165ºC. S'observà un canvi gradual de color, de transparent a groc clar fins al dia 3. A partir d'aquest dia, el color va romandre constant. Es va esperar fins al dia 6, no s'observà cap canvi, de manera que es retirà el tub d'assaig.
En una segona prova, es van posar els tubs 2.2, 2.3, 2.4 i 2.5 oberts (indicats a la Taula 5.2) a la placa calefactora a 160-165ºC durant 3 dies. La Figura 5.4. mostra de manera qualitativa l'evolució en l'aspecte visual de les reaccions dels tubs.

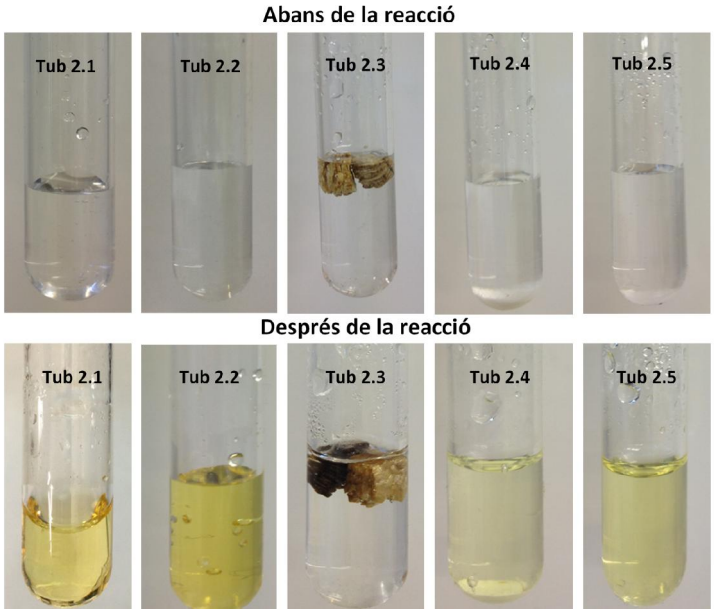


Fig. 5.4. Evolució en l'aspecte visual dels tubs de la reacció 2.

5.4. Reacció 3. Formaldehid amb formamida

5.4.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS I ULLERES DE PROTECCIÓ.

5.4.2. Productes esperats

Els productes segons la font bibliogràfica [12] que s'obtindrien es mostren en la Figura 5.5.

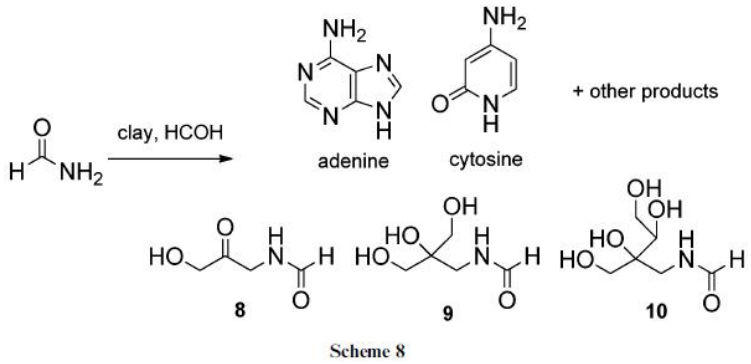


Fig. 5.5. Productes que s'obtenen en l'escalfament de la formamida amb formaldehid en presència de vermiculita [12]

Els productes que s'esperen obtenir sota les presents condicions:

Formamida NH_2CHO +Formaldehid HCHO → [Productes Fig.5.5.]
Policondensació amb
NH2CHO + HCHO lliures→ Biopolímers

5.4.3. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció

En 14 tubs d'assaig de 10 mL s'afegeixen les quantitats de formamida, p-formaldehid i catalitzador indicades a la Taula 5.3. i la Taula 5.4.. Primer en els tubs es pesa la quantitat de formaldehid necessària utilitzant una balança de sensibilitat 0,001 g. A continuació, amb un pesa substàncies es pesa la quantitat de catalitzador (2% en massa) i s'afegeix als tubs. Per últim s'addiciona la formamida mitjançant una pipeta graduada d'1 mL.

Taula 5.3. Quantitats de reactius corresponents a cada tub d'assaig i condicions de reacció.

Tub	Relació molar NH_2CHO : HCOH	mL NH_2CHO	g HCOH	Catalitzador	Temperatura	Temps
3.1	1:1	0,5	0,378	-	130-135ºC	3 dies
3.2	1:2	0,5	0,755	-	130-135ºC	3 dies
3.3	1:3	0,5	1,133	-	130-135ºC	3 dies
3.4	1:1	0,5	0,378	Vermiculita 0,021 g	130-135ºC	3 dies
3.5	1:2	0,5	0,755	Vermiculita 0,030 g	130-135ºC	3 dies
3.6	1:3	0,5	1,133	Vermiculita 0,039 g	130-135ºC	3 dies
3.7	1:1	0,5	0,378	Al_2O_3 0,021 g	130-135ºC	3 dies
3.8	1:2	0,5	0,755	Al_2O_3 0,030 g	130-135ºC	3 dies
3.9	1:3	0,5	1,133	Al_2O_3 0,039 g	130-135ºC	3 dies
3.10	1:1	1	0,755	-	160-165ºC	1 dia

En la primera prova, es van posar els tubs 3.1, 3.2 i 3.3 oberts en la placa calefactora a 130-135ºC durant 3 dies. Es pot observar en la Figura 5.6. de manera qualitativa l'evolució en l'aspecte visual de les reaccions d'aquests tubs.

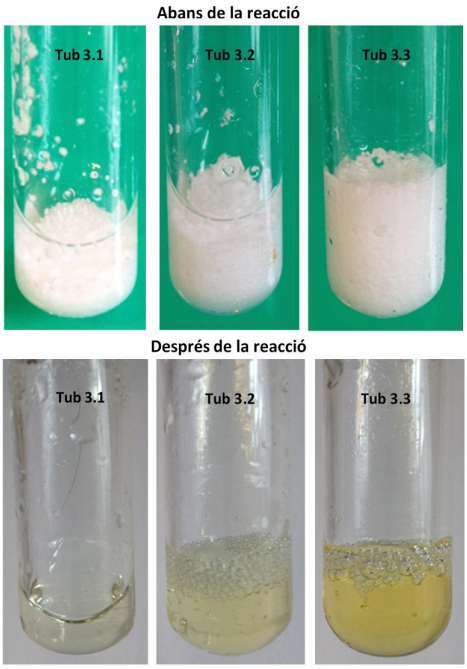


Fig. 5.6. Evolució en l'aspecte visual dels tubs de la reacció 3

En la segona prova, es van posar els tubs 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8 i 3.9 oberts en la placa calefactora a 130-135ºC durant 3 dies. Es pot observar en la Figura 5.7. de manera qualitativa l'evolució en l'aspecte visual. Com es pot apreciar, els tubs de les reaccions en presència d' alúmina Al_2O_3 (tubs 3,7, 3.8 i 3.9) presenten un color més fort que es de presència de vermiculita (tubs 3.4, 3.5 i 3.6).

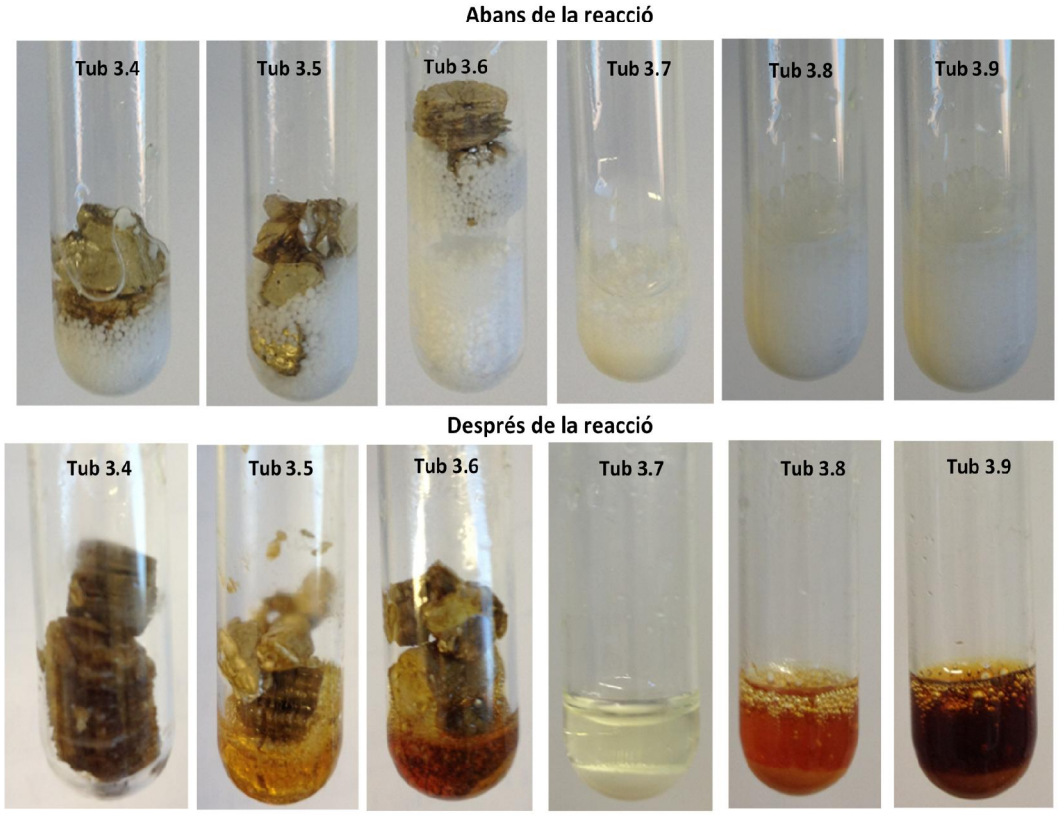


Fig. 5.7. Evolució en l'aspecte visual dels tubs de la reacció 3

En la tercera prova, es va posar el tub 3.10 en la placa calefactora a 160-165ºC. Es va seguir l'evolució en l'aspecte visual i es va observar que al cap de 7 hores el tub presentava un color groc fosc transparent. Després de 24 hores de reacció el tub presentava un color marró-negre com s'observa en la Figura 5.8. es va retirar de la placa calefactora. A mesura que es va anar refredant, la substància del tub 3.10 es va tornar més viscosa.

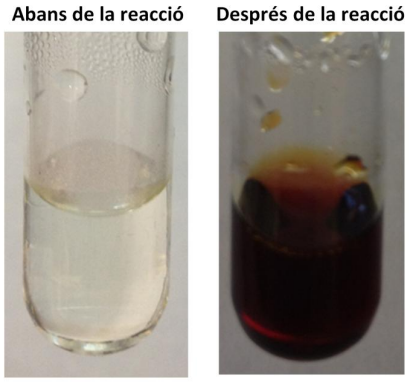


Fig. 5.8. Evolució en l'aspecte visual del tub 3.10

Tant la substància del tub 3.10 com la del tub 3.9 presentaven un color marró més fosc respecte a les altres, però la del tub 3.9 mostrava una viscositat aparent més elevada que el tub 3.10 i formava filaments quan es manipulava amb l'espàtula. De manera que es va considerar seguir l'evolució de la reacció del tub 3.9. Per això es van afegir a 4 tubs d'assaig de 10 mL els reactius corresponents, amb les mateixes condicions que les del tub 3.9. Les quantitats de reactiu afegides en cada tub estan indicades en la Taula 5.4. Noteu que difereixen les quantitats de reactiu respecte al tub 3,9 però la relació molar és la mateixa i s'afegeix també un 2 % en massa de catalitzador alúmina Al_2O_3.

Taula 5.4 Quantitats de reactius corresponents a cada tub d'assaig i condicions de reacció.

Tub	Relació molar NH_2CHO : HCOH	mL NH_2CHO	g HCOH	Catalitzador	Temperatura	Temps
3.11	1:3	0,2	0,453	Al_2O_3 0,015 g	130-135ºC	1 dies
3.12	1:3	0,2	0,453	Al_2O_3 0,015 g	130-135ºC	2 dies
3.13	1:3	0,2	0,453	Al_2O_3 0,015 g	130-135ºC	3 dies
3.14	1:3	0,2	0,453	Al_2O_3 0,015 g	130-135ºC	4 dies

En la quarta prova, es van posar els tubs 3.11, 3.12, 3.13 i 3.14 oberts a la placa calefactora a 130-135ºC i cada dia es va retira un tub de la placa. En comparació a la reacció del tub 3.9, aquesta va durar 1 dia més. En la Figura 5.9. es pot observar de manera qualitativa l'evolució en l'aspecte visual de les reaccions d'aquests tubs.

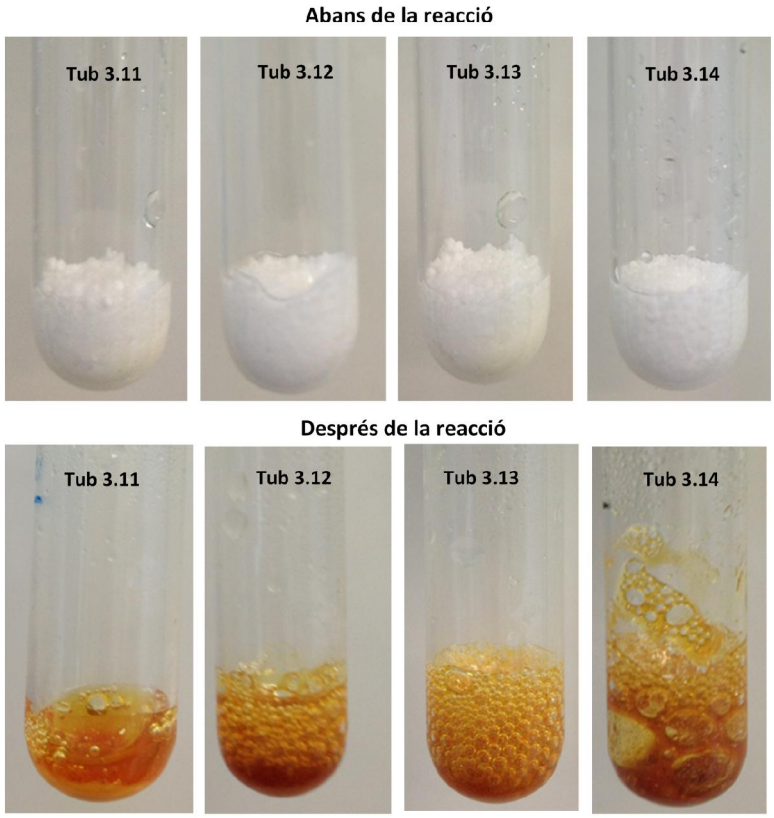


Figura 5.9 Evolució en l'aspecte visual dels tubs de la reacció 3

5.5. Reacció 4. Diaminomaleonitril DAMN

5.5.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS I ULLERES DE PROTECCIÓ.

5.5.2. Productes esperats

Segons les fonts bibliogràfiques [2] els producte que s'obtindran seran purines i pirimidines (Veure Figura 2.7.). En les condicions presents s'espera obtenir:

DAMN + H_2O → [Purines, pirimidines] → policondensació amb aigua → Biopolímers

DAMN + H_2O → HCN Àcid cianhídric → Aminoàcids + Altres → Biopolímers

5.5.3. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció

En 4 tubs d'assaig de 10 mL amb taps, s'afegeixen les quantitats de diaminomaleonitril DAMN, aigua destil·lada i catalitzadors 2% en massa (en cas necessari) indicades en la Taula 5.5. i la Taula 5.6. . Primer es pesa la quantitat de DAMN en el tub amb una balança de sensibilitat 0,001 g, a continuació en un pesa-substàncies es pesa la quantitat de catalitzador necessària i s'afegeix al tub. Finalment amb una pipeta de 2 mL s'addiciona la quantitat corresponent d'aigua destil·lada.

Taula 5.5 Quantitats de reactius corresponents a cada tub d'assaig i condicions de reacció.

Tub	Relació molar DAMN : H_2O	mL H_2O	g DAMN	Catalitzador	Temperatura	Temps
4.1	1:10	0,83	0,503	-	85-90ºC	3 dies
4.2	1:20	1,66	0,502	-	85-90ºC	3 dies

En la primera prova es van posar els tubs 4.1 i 4.2 amb taps en la placa calefactora a 85-90ºC durant 3 dies. Abans de posar-los a la placa calefactora es van agitar, tot i així quan ja portaven un temps en la placa calefactora, en els dos tubs s'observaven 2 fases: la fase inferior hi hauria DAMN sedimentat mentre que la fase superior aquosa contindria una part de DAMN dissolt en l'aigua destil·lada. En la Figura 5.10 es pot observar de manera qualitativa l'evolució en l'aspecte visual de les reaccions d'aquests tubs. Com es pot apreciar al principi, la dissolució presenta un aspecte tèrbol i després de la reacció es torna completament negra.

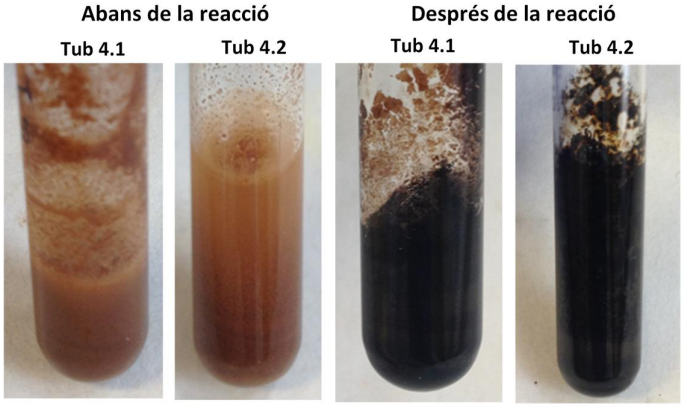


Fig. 5.10 Evolució en l'aspecte visual dels tubs 4.1 i 4.2

Al cap d'una hora aproximadament de posar els tubs a la placa calefactora, es va observar que aparentment, en el tub 4.2 la reacció "començava més abans", ja que apareixien petites partícules negres movent-se en la fase aquosa i la part del DAMN sedimentat que estava en contacte amb la fase aquosa es començà a tornar de color negre. Mentre va durar la reacció no es van agitar els tubs. Tenint en compte aquest fet, es van agafar les condicions del tub 4.2 per dur a terme la reacció en presència de catalitzadors i així es van preparar els tubs 4.3 i 4.4. Tant les quantitats de reactius i catalitzadors afegits en aquests tubs com les condicions de reacció, es mostren en la Taula 5.6

Taula 5.6 Quantitats de reactius corresponents a cada tub d'assaig i condicions de reacció.

Tub	Relació molar DAMN : H_2O	mL H_2O	g DAMN	Catalitzador	Temperatura	Temps
4.3	1:20	1,66	0,500	Vermiculita 0,05 g	85-90ºC	3 dies
4.4	1:20	1,66	0,503	Al_2O_3 0,05 g	85-90ºC	3 dies

En la segona prova es van posar els tubs 4.3 i 4.4 en la placa calefactora a 85-90ºC durant 3 dies. En la Figura 5.11., en pot observar l'aspecte dels tubs abans i després de la reacció.

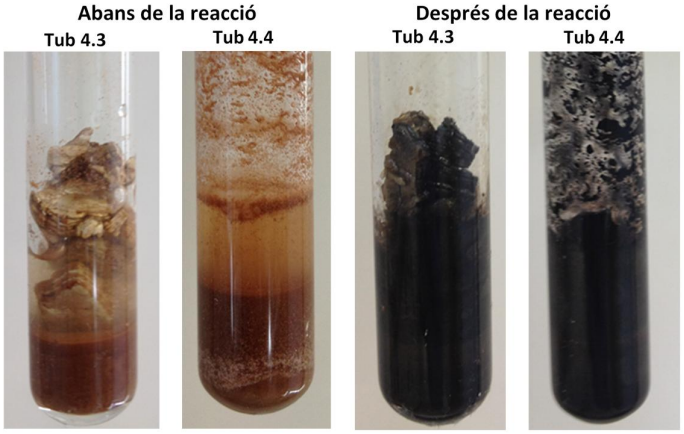


Figura 5.11 Evolució en l'aspecte visual dels tubs 4.3 i 4.4

5.6. Reacció 5. Formiat d'amoni amb DAMN

5.6.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS I ULLERES DE PROTECCIÓ.

5.6.2. Productes esperats

Segons les fonts bibliogràfiques [20] el producte que s'obtindrà serà l'adenina. En les condicions presents s'espera obtenir:

DAMN + Formiat d'amoni → Adenina → policondensació → Biopolímer

5.6.3. Preparació dels tubs d'assaig i desenvolupament de la reacció

En 5 tubs d'assaig de 10 mL, s'afegeixen les quantitats de diaminomaleonitril DAMN i formiat d'amoni indicades en la Taula 5.7.. Primer es pesa la quantitat de DAMN en el tub amb una balança de sensibilitat 0,001 g, a continuació en un pesa-substàncies es pesa la quantitat de formiat d'amoni necessària i s'afegeix al tub.

Taula 5.7. Quantitats de reactius corresponents a cada tub d'assaig i condicions de reacció.

Tub	Relació molar Formiat d'amoni : DAMN	g Formiat d'amoni	g DAMN	Temperatura	Temps de reacció
5.1	1:1	0,291	0,503	110-115ºC	3 dies
5.2	1:2	0,146	0,503	110-115ºC	3 dies
5.3	1:3	0,102	0,502	110-115ºC	3 dies
5.4	2:1	0,293	0,251	110-115ºC	3 dies
5.5	3:1	0,438	0,252	110-115ºC	3 dies

En una única prova, es posen els tubs 5.1, 5.2, 5.3, 5.4 i 5.5 en la placa calefactora a 110-115 ºC durant 3 dies. En la Figura 5.12, es pot observar l'aspecte dels tubs abans i després de la reacció.

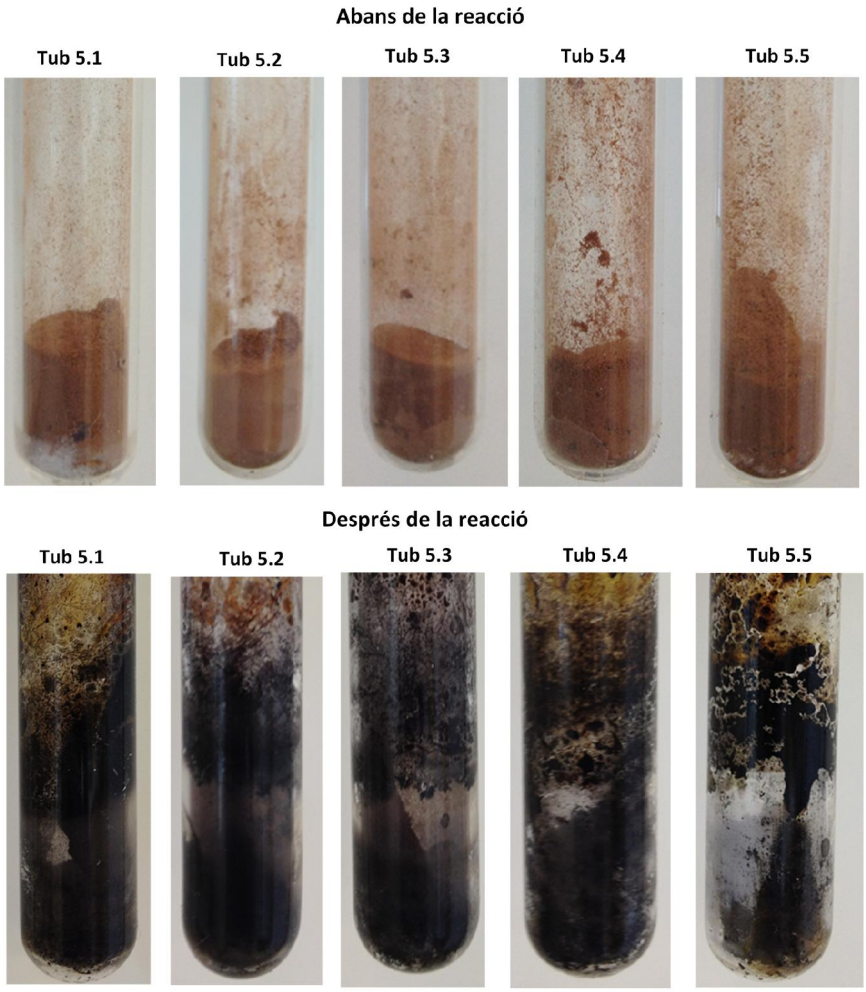


Fig. 5.12. Evolució en l'aspecte visual dels tubs de la reacció 5

5.7. Reacció 6. Glicolonitril

5.7.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS ,ULLERES DE PROTECCIÓ I TREBALLAR EN LA CAMPANA EXTRACTORA DE GASOS

5.7.2. Productes esperats

Segons la font bibliogràfica [21] el glicolonitril s'oligomeritza:

Glicolonitril $HOCH_2CN$ → Oligòmers

5.7.3. Preparació de la dissolució 2 M de NaOH

Es prepara 100 ml de dissolució 2 M de NaOH. Primer es calcula la quantitat de NaOH necessària:

$$0{,}1\text{L dissolució} \cdot \frac{2\text{ mol NaOH}}{1\text{ L dissolució}} \cdot \frac{40\text{ g NaOH}}{1\text{mol NaOH}} \cdot \cong 8\text{ g NaOH}$$

Es pesen 8 g en un vas de precipitats de 100 mL. S'afegeixen aproximadament 50 mL d'aigua destil·lada i es barreja la dissolució amb una vareta. A continuació es traspassa la dissolució a un matràs aforat de 100 mL i s'omple fins a la marca amb aigua destil·lada. Es posa un tap a matràs i s'homogeneïtza la dissolució.

5.7.4. Preparació del vial i desenvolupament de la reacció

En un vial de 5 mL amb tap de goma i tap de xapa d'alumini s'afegeix mitjançant una xeringa 1 mL de glicolonitril. Amb paper indicador es mesura el pH inicial que s'obté de 6 aproximadament. S'afegeix mitjançant una pipeta Pasteur una gota de dissolució 2M d' NaOH preparada prèviament. Es torna a mesurar el pH. Es repeteix el procediment fins a obtenir un pH entre 8-8,5 aproximadament. S'obté aquest pH després d'afegir 7 gotes de la dissolució d'NaOH. Finalment es tapa el vial amb en tap de goma i després es posa el tap de xapa d'alumini el qual es premsa de manera que el vial queda completament tapat. Es deixa el vial en el frigorífic que es troba a una temperatura d' aproximadament 10 ^oC.

En la Figura 5.12. es pot observar de manera qualitativa l'evolució en l'aspecte visual de la reacció en el vial. Com es pot apreciar, la substància es torna cada cop de color més marró i

apareixen més cristalls. Encara que no es pot apreciar en les imatges de la Figura 5.12., també es torna més viscosa.

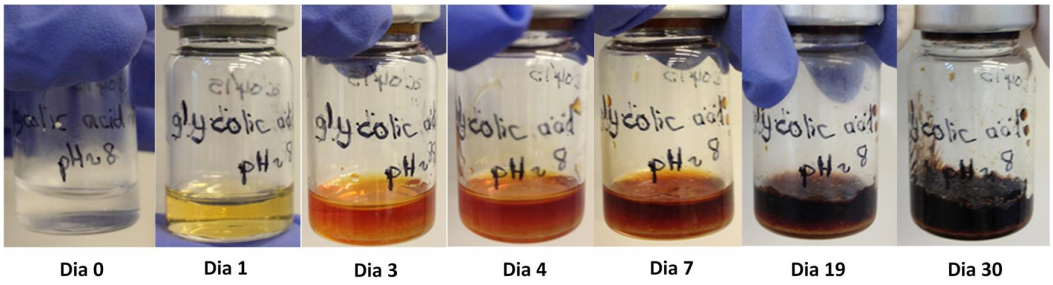


Fig. 5.12 Evolució en l'aspecte visual de la reacció

5.7.5. Preparació del viscosímetre i desenvolupament de la reacció.

Primer de tot, es pesa el viscosímetre que s'utilitzarà i s'anota la seva massa, la qual s'indica en la Taula 5.8.. En un viscosímetre, s'afegeixen 6 mL de glicolonitril. Mitjançant la dissolució 2M de NaOH i el paper indicador de pH s'ajusta la dissolució aproximadament a pH 8-8,5. A continuació es torna a pesar el viscosímetre amb la dissolució i s'anota la seva massa (veure Taula 5.8.). Amb l'ajuda d'un pipetejador es puja la dissolució per sobre les marques i amb un cronòmetre es mesura el temps de buidat (veure Taula 5.8.). Cada dia es repetirà aquest darrer procediment i s'anotarà el temps de buidat.

Taula 5.8. Dades anotades de la part experimental del viscosímetre

Massa viscosímetre buit	78,083 g	
Massa viscosímetre amb dissolució	85,576 g	
Temps de buidat	Dia 1	2 min 21 seg
	Dia 2	-

Al segon dia, van aparèixer cristalls en la dissolució del viscosímetre tal com es mostra en la Figura 5.13; i no es va poder prendre la mesura del temps de buidat ja que el capil·lar del viscosímetre va quedar obstruït i la dissolució no descendia. Es va descartar aquesta part experimental.

(a) (b)

Fig. 5.13 (a) Muntatge del viscosímetre en la primera mesura (b) Detall dels cristalls formats el segon dia que van obstruir el capil·lar del viscosímetre.

5.8. Reacció 7. Lactonitril

5.8.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS ,ULLERES DE PROTECCIÓ I TREBALLAR EN LA CAMPANA EXTRACTORA DE GASOS

5.8.2. Productes esperats

Com el lactonitril té una estructura semblant al glicolonitril, s'espera que també oligomeritzi:

Lactonitril (HO)-(CH)-(CN) → Oligòmers

|

(CH_3)

5.8.3. Preparació del vial i desenvolupament de la reacció

Es realitza en mateix procediment descrit en l'Apartat 5.7 de la reacció del glicolonitril. En quan al lactonitril, s'observa que s'obté un pH de aproximadament 8 després d'afegir 7 gotes de la dissolució 2 M d'NaOH.

En la Figura 5.14 es pot observar de manera qualitativa l'evolució en l'aspecte visual de la reacció en el vial. Com es pot apreciar, la substància es torna cada cop de color més groc fosc i apareixen més cristalls. Encara que no es pot apreciar en les imatges de la Figura 5.14., també es torna més viscosa però no en la mateixa magnitud que en el cas de l'àcid glicolonitril.

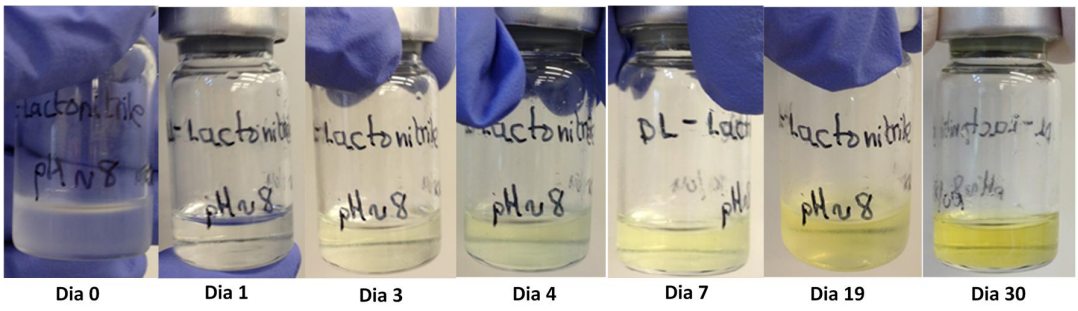


Fig. 5.14. Evolució en l'aspecte visual de la reacció

5.8.4. Preparació del viscosímetre i desenvolupament de la reacció.

Es realitza el mateix procediment descrit en l'Apartat 5.7 de la reacció del glicolonitril. En la Taula 5.9. s'anoten les dades pel lactonitril.

Taula 5.9. Dades anotades de la part experimental del viscosímetre

Massa viscosímetre buit	66,981 g	
Massa viscosímetre amb dissolució	74,416 g	
Temps de buidat	Dia 1	14 min 10 seg
	Dia 2	-

Igual que el glicolonitril, al segon dia van aparèixer cristalls en la dissolució del viscosímetre tal com es mostra en la Figura 5.15.; i no es va poder prendre la mesura del temps de buidat ja que el capil·lar del viscosímetre va quedar obstruït i la dissolució no descendia. Es va descartar aquesta part experimental.

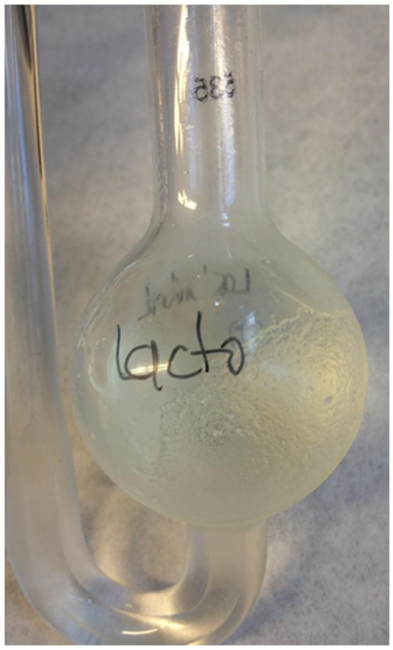


Fig.5.15. Detall dels cristalls formats el segon dia que van obstruir el capil·lar del viscosímetre

5.9. Reacció 8 Glicina amb àcid glutàmic

5.9.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS ,ULLERES DE PROTECCIÓ

5.9.2. Productes esperats

Segons la font bibliogràfica [22] s'obtindrà:

Àcid glutàmic Glu + Glicina Gly → polímer -(Glu-Gly)$_n$

5.9.3. Preparació del vial i desenvolupament de la reacció

En un vial 5 mL s'afegeixen les quantitats d'àcid glutàmic, glicina i alúmina indicades en la Taula 5.10. Primer en el vial es pesa l'àcid glutàmic i després amb l'ajuda d'un pesa substàncies les quantitats de glicina i l'alúmina.

Taula 5.10. Quantitats de reactius corresponents a cada tub d'assaig i condicions de reacció.

Vial	Relació molar Glu : Gly	g Àcid glutàmic	g Glicina	Catalitzador	Temperatura	Temps
8.1	1:2	1,472	1,502	0,1 g Al_2O_3	180-190ºC	1 hora

A continuació, es deixa en vial obert en la placa calefactora a 180-190ºC durant 1 hora. En aquest temps la substància passa de color blanc a color marró. En la Figura 5.16. es mostra l'aspecte final de la substància.

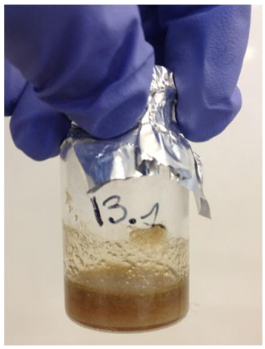


Fig. 5.16. Aspecte final de la substancia

5.10. Reacció 9 Àcid aspàrtic

5.10.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS ,ULLERES DE PROTECCIÓ

5.10.2. Productes esperats

Segons la font bibliogràfica [23] a partir de l'àcid aspàrtic s'obtindrà poliaspàrtic:
Àcid Aspàrtic Asp→ Polímer poli-Asp

5.10.3. Preparació del tub d'assaig i desenvolupament de la reacció

En un tub d'assaig, s'afegeixen 2 g d'àcid aspàrtic i 0,2 g d'àcid orto-fosfòric. Es disposa d'una dissolució d'àcid orto-fosfòric de 85% en massa i densitat 1,7 g/cm^3. Es calcula el volum d'àcid necessari:

$$0{,}2\ \text{g o} - H_3PO_4 \cdot \frac{100\ \text{g dissolució}}{85\ \text{g o}-H_3PO_4} \cdot \frac{1\ \text{mL dissolució}}{1{,}7\ \text{g dissolució}} \cong 0{,}14\ \text{mL dissolució o} - H_3PO_4$$

En un tub d'assaig de 10 mL es pesen 2 g d'àcid aspàrtic i després amb una pipeta d' 1 mL s'afegeixen 0,14 mL d'àcid orto-fosfòric. La mescla es barreja amb una espàtula fins que queda pastosa. A continuació el tub es posa en la placa calefactora a una temperatura de 200ºC durant 6 hores i 30 minuts. Al retirar el tub d'assaig s'observa un sòlid amb grums de color groc claret. Al sòlid obtingut s'anomena polisuccimida. El procediment seguit consisteix en la transformació de la polisuccimida en poliaspàrtic. Per això, per cada mol de succimida cal afegir 1 mol de NaOH. Es calcula la quantitat de NaOH necessari per 2 grams de succimida:

$$2\ \text{g succimida} \cdot \frac{1\ \text{mol succimida}}{99{,}09\ \text{g succimida}} \cdot \frac{1\ \text{mol NaOH}}{1\ \text{mol succimida}} \cdot \frac{40\ \text{g NaOH}}{1\ \text{mol NaOH}} \cong 0{,}80\ \text{g NaOH}$$

Es posa un vas de precipitats de 500 mL amb gel sobre un agitador. En un erlenmeyer de 50 mL es pesen 0,8 g NaOH i amb una proveta de 50 mL es mesuren 20 mL d'aigua destil·lada i s'afegeixen a l'erlenmeyer, es posa una mosca d'agitació i s'agita fins que es dissol. S'afegeixen els 2 g de polisuccimida a la dissolució de NaOH. Es deixa agitar durant 1 hora aproximadament i s'afegeix més gel si es necessari.

Un cop parada l'agitació, la dissolució s'afegeix en un vas de precipitats que contenia

200 mL de metanol mesurats amb una proveta de 200 mL. En afegir la dissolució es forma un precipitat de color blanc. Es filtra la dissolució, es recupera el precipitat blanc i es deixa durant dos dies en un dessecador.

En la Figura 5.17., es podes observar fotografies de les diferents etapes del procés.

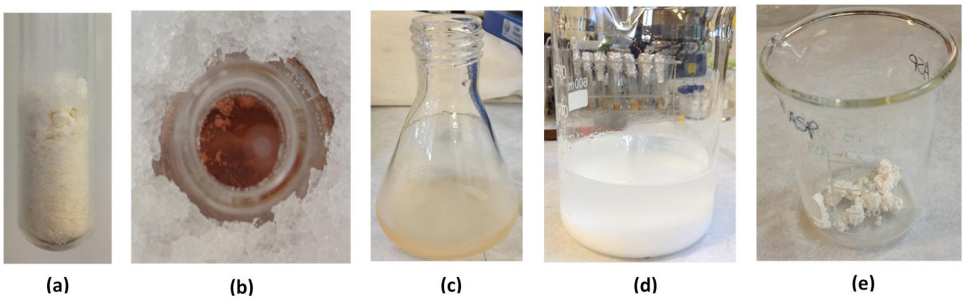


Fig. 5.17. Diferents etapes del procés (a) Aspecte després de la placa calefactor (b) Vista superior de l'erlenmeyer durant l'agitació en la solució de NaOH (c) Aspecte de la solució després de l'agitació (d) Formació del precipitat en la dissolució de metanol (e) Aspecte del poliaspàrtic després del dessecador

5.11. Anàlisi de les mostres amb cromatografia de capa fina

5.11.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS ,ULLERES DE PROTECCIÓ I TREBALLAR EN LA CAMPANA EXTRACTORA DE GASOS

5.11.2. Procediment

Per tenir una primera confirmació de la formació de substàncies biopolimèriques es realitza una cromatografia de capa fina de les reaccions realitzades.

Treballant en tot moment sota una campana extractora de gasos i amb protecció de guants, ulleres de seguretat, es prepara l'eluent barrejant 40 mL de cloroform $CHCl_3$, 40 mL de metanol CH_3OH i 20 mL d'amoníac NH_3 concentrat en un vas de precipitats de 100 mL amb l'ajuda d'una proveta de 100 mL i una pipeta Pasteur per enrasar. L'eluent en posa a dins d'una cubeta, aproximadament fins que cobreix una alçada de 1,5 cm, es posa la tapa a la cubeta i amb molta cura es passa l'eluent per les parets de la cubeta, i es deixa una estona per tal que es vagi creant una atmosfera sobresaturada amb els gasos de l'eluent.

Es prepara una dissolució 45 mM de ninhidrina. Es pesen 100 mg de ninhidrina en un vas de precipitats de 50 ml. S'afegeixen 20 mL de etanol i amb una vareta es dissolen. La dissolució es traspassa a un matràs aforat de 50 mL. S'enrasa en matràs aforat amb etanol i amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur. Es posa un tap al matràs i s'homogeneïtza la dissolució. Aquesta dissolució s' utilitzarà en cas que no es vegi res en la placa cromatogràfica sota la llum ultraviolada, ja que la ninhidrina reacciona amb el nitrogen orgànic.

Per l'anàlisi en la cromatografia en capa fina, es prenen 10 mg de mostra del tub d'assaig de la reacció a analitzar en un eppendorf i es dissolen en 1 mL de metanol.

Es talla una placa cromatogràfica d'aproximadament 3 x 10 cm. Amb un llapis i sense posar els dits sobre la placa cromatogràfica es traça una línia, aproximadament 2-2,5 cm per sobre de la base de la placa. Es marquen 2 punts amb el llapis en els quals es posarà la mostra dissolta en metanol. Es submergeix la punta d'una pipeta Pasteur en la mostra dissolta en l'eppendorf. Per capil·laritat la dissolució pujarà per la pipeta. Es posa la punta de la pipeta a sobre de la marca de la placa cromatogràfica que s'havia realitzar, s'ha de tocar la punta amb la placa per tal que mostra passi a la placa, però s'ha de fer ràpidament per tal que no es formi una rodona molt gran i amb molta cura de lo trencar la gel de sílice de la placa. Després de tocar i treure la punta de la pipeta es bufa per tal que el metanol s'evapori i es repeteix el procediment dos cops més. Es posa la placa cromatogràfica dins la cubeta, aixecant i tancant ràpidament la tapa per tal de no perdre l'atmosfera sobresaturada de gasos de l'eluent. S'ha d'anar amb compte que la línia traçada amb llapis quedi per sobre de l'eluent a l'hora de posar la placa dins la cubeta. S'espera fins que l'eluent puja fins a aproximadament un dit per sota de la part de a dalt de la placa, aproximadament uns 20-30 minuts després. La Figura 5.18. mostra una placa cromatogràfica en la cubeta amb l'eluent.

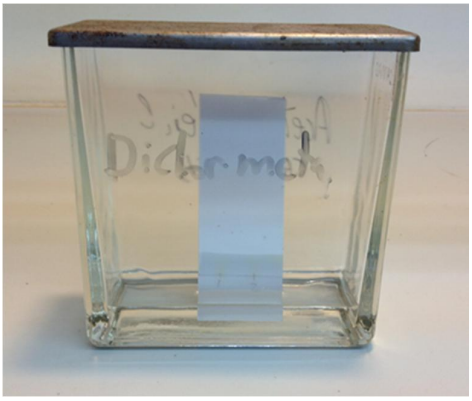


Fig. 5.18. Placa cromatogràfica en la cubeta amb l'eluent

Quan es treu la placa de la cubeta, s'espera a que s'evapori l'eluent de la placa i es posa sota una làmpada de llum UV. Amb un llapis es marquen les taques observades. Si no s'observa res, es posa la placa sobre un paper de filtre en la campana extractora de gasos i amb un pulveritzador (veure Figura 5.19.) , es pulveritza la dissolució de ninhidrina que s'ha preparada prèviament. Es posa la placa uns minuts en l'estufa a 50 ºC després es torna a observar sota la llum UV. Si hi ha reacció amb ninhidrina s'observaran taques sota la llum UV, si es dona el cas es marquen amb llapis.

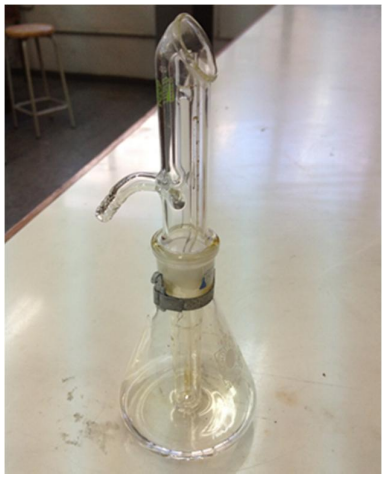


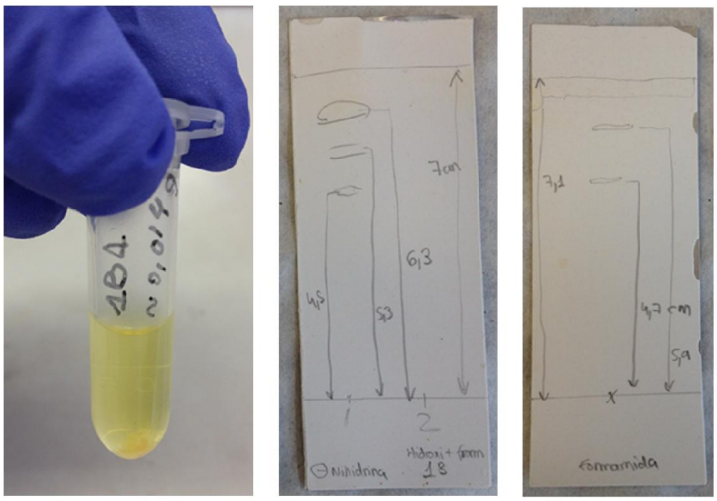
Fig. 5.19. Pulveritzador

Si hi ha formació de biopolímers les taques es trobaran a prop de la marca on s'ha posat la mostra amb la pipeta. En la Taula 5.11. es mostren les observacions i els resultats de la cromatografia en capa fina que s'ha realitzat d'algunes mostres.

Taula 5.11. Resultats i observacions de les cromatografies en capa fina

Tub d'assaig reacció	Massa	Observacions de la placa cromatogràfica sota la llum UV	Reacció amb la ninhidrina	Altres observacions
1.1	0,014 g	S'observen tres taques bastant allunyades de la línia traçada amb llapis. Veure Figura 6.20.	No hi ha reacció amb ninhidrina les taques es mantenen blanques.	Quan es dissol la mostra en l'eppendorf amb metanol, aquesta es dissol ràpid donant una dissolució groc al final i un petit precipitat de color taronja. Veure Figura 6.20.

2.1	0,013 g	S'observen dues taques bastant allunyades de la línia traçada amb llapis Veure Figura 6.20.	No hi ha reacció amb ninhidrina les taques es mantenen blanques.	Quan es dissol la mostra en l'eppendorf amb metanol, aquesta es dissol ràpid donant una dissolució groc fluix.
3.2	0,013 g	No s'observa res tot i repetir la cromatografia	No hi ha reacció amb ninhidrina	Quan es dissol la mostra en l'eppendorf amb metanol, aquesta triga molt en dissoldre's fins i tot hi ha una part que no es dissol.
3.3	0,012 g	No s'observa res tot i repetir la cromatografia	No hi ha reacció amb ninhidrina	Quan es dissol la mostra en l'eppendorf amb metanol, aquesta triga molt en dissoldre's fins i tot hi ha una part que no es dissol.



(a) (b) (c)

Fig. 5.20. (a) Eppendorf a la mostra del Tub 1.1 dissolta en metanol (b) Placa cromatogràfica del tub 1.1 (c) Placa cromatogràfica del tub 2.1

Després dels últims dos resultats negatius, no es realitzen posteriors cromatografies en capa fina. S'esperen als resultats de la cromatografia de permeabilitat en gel (GPC) per saber si s'han format biopolímers.

5.12. Anàlisi de les mostres amb cromatografia de permeabilitat en gel GPC

5.12.1. Seguretat

Veure Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius Apartat 9.3

MESURES DE SEGURETAT: GUANTS ,ULLERES DE PROTECCIÓ

5.12.2. Preparació de la dissolució tampó a pH 7,4 de fosfat de sodi amb d'azida de sodi

Es prepara 1000 mL de dissolució tampó de 0,05 M a pH 7-7,4 amb di-hidrogen fosfat de sodi NaH_2PO_4. Es calcula quina es la quantitat necessària de NaH_2PO_4 :

$$1\ \text{L dissolució} \cdot \frac{0{,}05\ \text{mol}\ NaH_2PO_4}{1\ \text{L dissolució}} \cdot \frac{120\ \text{g}\ NaH_2PO_4}{1\ \text{mol}\ NaH_2PO_4} \cong 6\ \text{g}\ NaH_2PO_4$$

Es disposa de $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, de manera que es calcula la massa real necessària:

$$6\ \text{g}\ NaH_2PO_4 \cdot \frac{1\ \text{mol}\ NaH_2PO_4}{120\ \text{g}\ NaH_2PO_4} \cdot \frac{1\ \text{mol}\ NaH_2PO_4 \cdot H_2O}{1\ \text{mol}NaH_2PO_4} \cdot \frac{138\ \text{g}\ NaH_2PO_4 \cdot H_2O}{1\ \text{mol}\ NaH_2PO_4 \cdot H_2O} \cong 6{,}9\ \text{g}$$

Per l'elaboració d'aquesta dissolució tampó es pesen 6,9 g de $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ en un vas de precipitats de 1000 mL. S'addicionen aproximadament 800 mL d'aigua destil·lada, s'afegeix una mosca d'agitació, es posa sobre l'agitador i es deixa agitar fins que el $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ es dissolgui. Amb una dissolució 2 M de NaOH (veure apartat 5.7.3.) i mitjançant una pipeta Pasteur i paper indicador pH, s'ajusta el pH de la dissolució a aproximadament 7-7,4. Un cop ajustat el pH, s'afegeixen 0,002 % en massa (aproximadament 0,201 g) de azida de sodi NaN_3, es deixa que es dissolgui i es traspassa la dissolució a un matràs aforat de 1000 mL. S'enrasa amb aigua destil·lada, es posa un tap i s'homogeneïtza la dissolució. Per últim es filtra la dissolució amb un filtre de membrana, per tal d'eliminar qualsevol gas que hi hagi quedat dissolt o altres partícules. El filtre de membrana és un filtre de niló de 0,45 µm. Es realitza una filtració al buit utilitzant un embut de membrana, un matràs kitasato 1000 mL, adaptador de goma, un suport amb pinces i nou i l'equip de filtració al buit de l'aixeta. Per tot l'anàlisi de cromatografia de permeabilitat en gel es preparen 4000 mL de dissolució tampó.

5.12.3. Preparació del les mostres patró per a la recta de calibratge

Per realitzar la recta de calibrat es preparen 3 vials amb mostres patró de polietilenglicol. Cada vial que conté tres patrons de polietilenglicol PEG de diferent pes molar. A la Taula 5.12, s'indica els patrons amb la massa exacta que s'ha afegit a cada vial. Els patrons es dissolen en 1,5 mL de dissolució tampó de fosfat que s'ha preparat prèviament. En la Figura 5.21. es pot veure una fotografia del tres vials.

Taula 5.12. Patrons afegits a cada vial

Vial	Patró de polietilenglicol PEG	Massa exacte afegida
1	PEG 782000 g/mol	1,1 mg
	PEG 109000 g /mol	1,1 mg
	PEG 10900 g/mol	1,1 mg
2	PEG 270000 g/mol	1,0 mg
	PEG 54300 g /mol	1,1 mg
	PEG 5160 g/mol	1,1 mg
3	PEG 420000 g/mol	1,3 mg
	PEG 19700 g /mol	1,4 mg
	PEG 1000 g/mol	1,3 mg

Figura 5.21. Fotografia del tres vials amb els patrons de PEG

5.12.4. Preparació de les mostres de cada reacció

Per dur a terme l'anàlisi en cromatografia es preparen en un vial de 2 ml, aproximadament 5 mg (entre 5,0 i 5,5 mg) de mostra de cada reacció en 1,5 mL de dissolució tampó pH 7,4 de fosfat. Inicialment, la dissolució de la mostra es prepara en un eppendorf de 2 mL, ja que es pot donar el cas en que la mostra no es dissolgui en la dissolució tampó o bé l'aparició de precipitat. Cas en que s'ha de procedir a la separació d'aquest precipitat per tal que la columna de cromatografia no s'obstrueixi. Després la dissolució es traspassa de l'eppendorf a un vial amb tap, especial per l'aparell de cromatografia.

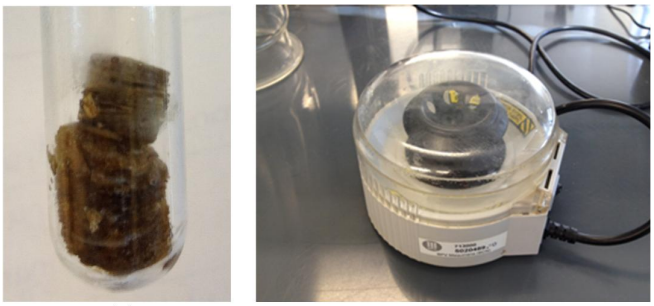
En la Taula 5.13 es mostren els pesos exactes de les mostres de cada tub d'assaig de reacció. L'anàlisi de les mostres de les reaccions es realitza per duplicat de manera que es prenen dues mostres de cada tub. Per poder fer una comparació posterior, també es realitza l'anàlisi dels reactius inicials, però només un cop. Per pesar les mostres s'utilitza una balança de sensibilitat 0,0001 g.

Taula 5.13 Pes exacte de les mostres de cada tub d'assaig de reacció i dels reactius inicials.

Vials per l'anàlisi 1		Vials per l'anàlisi 2	
Reacció	**Massa (g)**	**Reacció**	**Massa (g)**
1.1	0,0053	1.1	0,0054
1.2	0,0051	1.2	0,0052
1.3	0,0055	1.3	0,0051
1.4	0,0053	1.4	0,0054
2.1	0,0054	2.1	0,0051
2.2	0,0055	2.2	0,0054
2.3	0,0055	2.3	0,0054
2.4	0,0055	2.4	0,0052
2.5	0,0053	2.5	0,0055
3.1	0,0050	3.1	0,0054
3.2	0,0053	3.2	0,0053

3.3	0,0053	3.3	0,0054
3.4	0,0208	3.4	0,0210
3.5	0,0052	3.5	0,0053
3.6	0,0051	3.6	0,0055
3.7	0,0050	3.7	0,0054
3.8	0,0054	3.8	0,0055
3.9	0,0054	3.9	0,0053
3.10	0,0051	3.10	0,0052
3.11	0,0051	3.11	0,0052
3.12	0,0052	3.12	0,0054
3.13	0,0053	3.13	0,0053
3.14	0,0053	3.14	0,0055
4.1	0,0052	4.1	0,0053
4.2	0,0051	4.2	0,0054
4.3	0,0051	4.3	0,0055
4.4	0,0051	4.4	0,0054
5.1	0,0055	5.1	0,0055
5.2	0,0052	5.2	0,0055
5.3	0,0055	5.3	0,0052
5.4	0,0055	5.4	0,0055
5.5	0,0054	5.5	0,0054
6.1	0,0055	6.1	0,0053
7.1	0,0054	7.1	0,0054
8.1	0,0055	8.1	0,0055
9.1	0,0050	9.1	0,0054
Formamida	0,0054	-	-
DAMN	0,0052	-	-
Glicolonitril	0,0051	-	-
Lactonitril	0,0053	-	-

En el tub d'assaig de la reacció 3.4, la substància va quedar absorbida per la vermiculita com es pot observar en la Figura 5.22., de manera que es va pesar més quantitat de 5 mg, es va dissoldre en 2 mL de dissolució tampó de fosfat i es van centrifugar amb una centrífuga d'eppendorfs (Figura 5.22.). Després amb una pipeta Pasteur, s'agafa el sobrenedat i es posa en un vial.



(a) (b)

Fig. 5.22. (a) Tub d'assaig de la reacció 3.4 (b) Centrífuga per a eppendorfs.

Les mostres de les reaccions del tubs d'assaig del 4.1 al 5.5, van formar un precipitat de color negre quan es van dissoldre en la dissolució de fosfat. De manera que, també es van centrifugar i després amb una pipeta Pasteur es va passar el sobrenedant al vial. En la Figura 5.23. , es pot observar l'aspecte d'algunes de les mostres després de centrifugar-les.

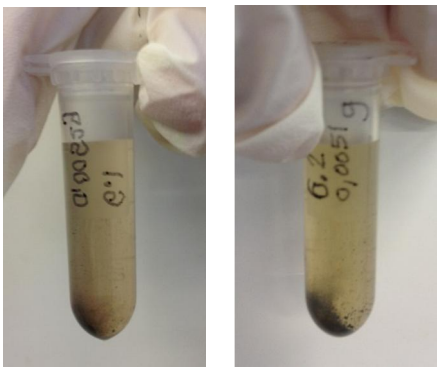


Fig. 5.23. Aspecte dels eppendorfs després de la centrifugació

En la Figura 5.24. es mostren alguns dels vials preparats per l'anàlisi de cromatografia de permeabilitat en gel (GPC).

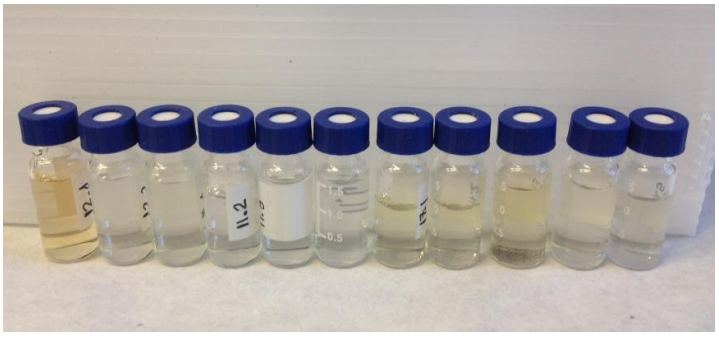


Fig. 5.24. Fotografia d'alguns dels vials preparats per l'anàlisi

L'equip utilitzat per a la realització de la GPC és el cromatògraf Agilent Technologies (1260

Infinity/1200 Series), que es pot observar en la Figura 5.25. El cromatògraf està connectat a un ordinador, previst d'un programa que permet la manipulació del cromatògraf. Aquest software enregistra les dades dels cromatogrames durant l'anàlisi. S'utilitzen dos detectors, un de llum UV i l'altra de detecció per índex de refracció. La columna utilitzada és la columna PL Aquagel-OH Aqueous SEC d'Agilent Technologies.

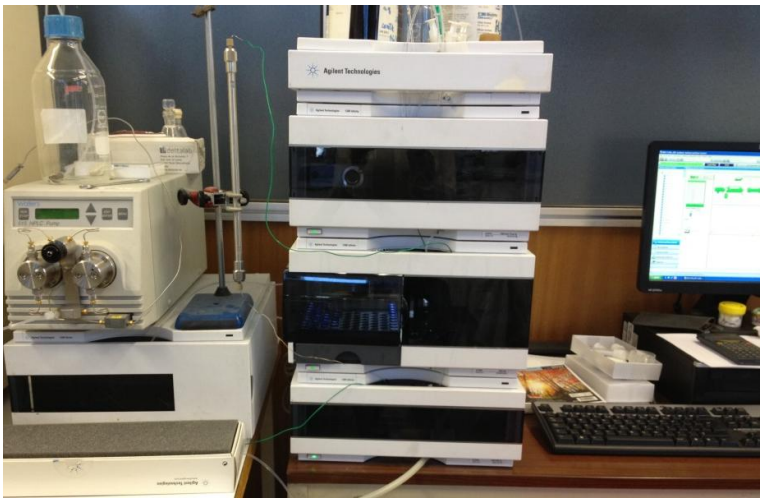


Fig. 5.25. Equip per a realització de la cromatografia de permeabilitat en gel GPC

Un cop es tenen els vials preparats, mitjançant el programa s'estableixen les condicions de l'anàlisi, que són:

- Cabal de la fase mòbil a 0,800 mL/min
- Longitud d'ona del detector UV a 220 nm
- Temps de duració de cada cromatograma de 15 min

A continuació, en el programa, s'estableix la seqüència d'anàlisi dels vials i es col·loquen en la safata del cromatògraf. Un cop s'hagi engegat, automàticament segons la seqüència, el braç robòtic agafarà el vial, el portarà al sistema d'injecció on s'injectarà una quantitat de 50 µL. La Figura 5.26. mostra la safata del cromatògraf.

Figura 5.26. Safata del cromatògraf

5.13. Anàlisi de les mostres amb espectrofotòmetre d'infraroig de transformada de Fourier FTIR

Per caracteritzar algunes de les substàncies es realitza una espectrofotometria d'infraroig. S'utilitza un espectrofotòmetre d'infraroig de transformada de Fourier (FTIR). L'espectrofotòmetre està connectat a un ordinador, on es troba el software on s'enregistren les dades.

Primer es realitza un blanc, és a dir un espectre sense posar mostra i després es realitzen els espectres de les reaccions següents:

- Tub 1.1 Formaldehid amb Hidroxilamina
- Tub 3.9 Formamida amb formaldehid
- Tub 5.4 Formiat d'amoni amb DAMN
- Tub 8.1 Àcid glutàmic amb glicina
- Tub 9.1 Àcid aspàrtic

Entre espectre i espectre s'ha de netejar la cel·la on es col·loca la mostra amb una mica d' acetona. En la Figura 5.27. es mostra La cel·la on es col·loca la mostra.

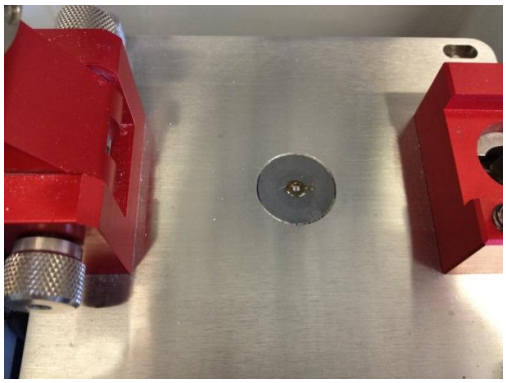


Fig.5.27. La cel·la on es col·loca la mostra

6. Anàlisi i discussió dels resultats

6.1. Resultats de la cromatografia en permeabilitat en gel GPC

Primer de tot a partir dels patrons és realitzen les corbes de calibratge per al mètode de detecció amb llum UV i per al mètode de detecció per índex de refracció. En les Figures 6.1 i 6.2 es mostren els dos gràfics. En els gràfics es representa, el volum d'elució enfront de la massa molar del patró.

El volum d'elució és relaciona amb el temps de retenció segons l'equació:

$$\text{Temps de retenció (min)} = \frac{\text{Volum d'elució(mL)}}{\text{Cabal}\left(\frac{\text{mL}}{\text{min}}\right)} \qquad \text{(Eq. 6.1)}$$

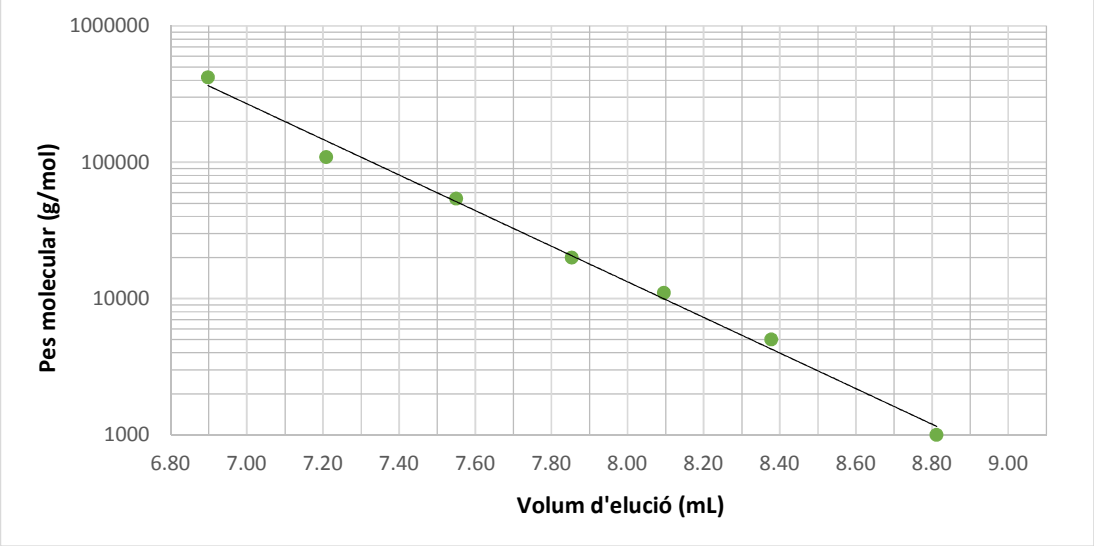


Fig. 6.1 Corba de calibratge per al mètode de detecció amb llum UV

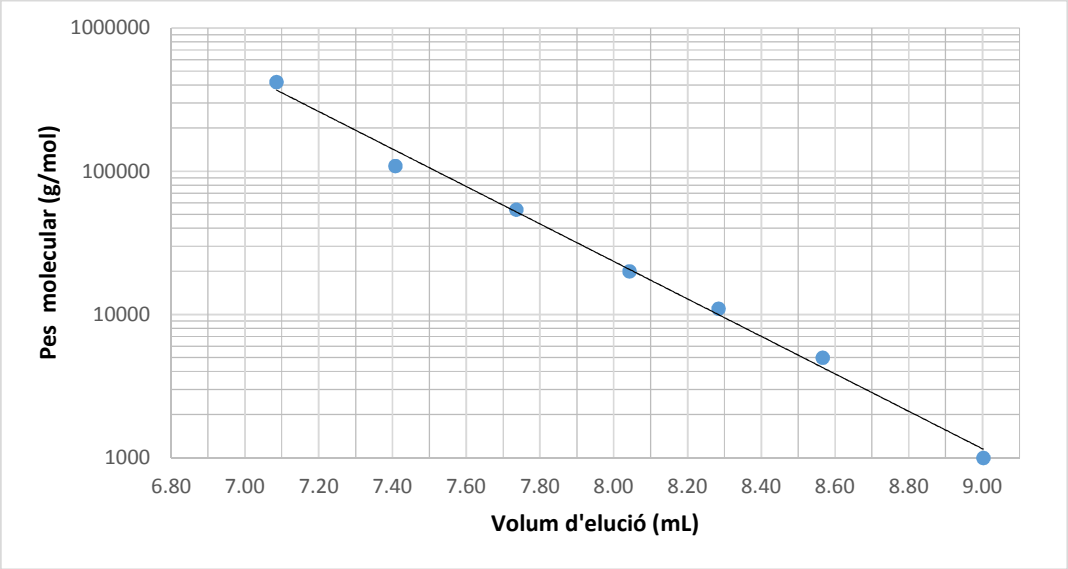


Fig. 6.2 Corba de calibratge per al mètode de detecció per índex de refracció

Per cada mostra analitzada, s'obtenen 2 cromatogrames, corresponents als dos detectors utilitzats (llum UV i índex de refracció). En les Figures 6.3. i 6.4. es mostren els cromatogrames corresponents al Tub 1.1 de la reacció de formamida amb hidroxilamina.

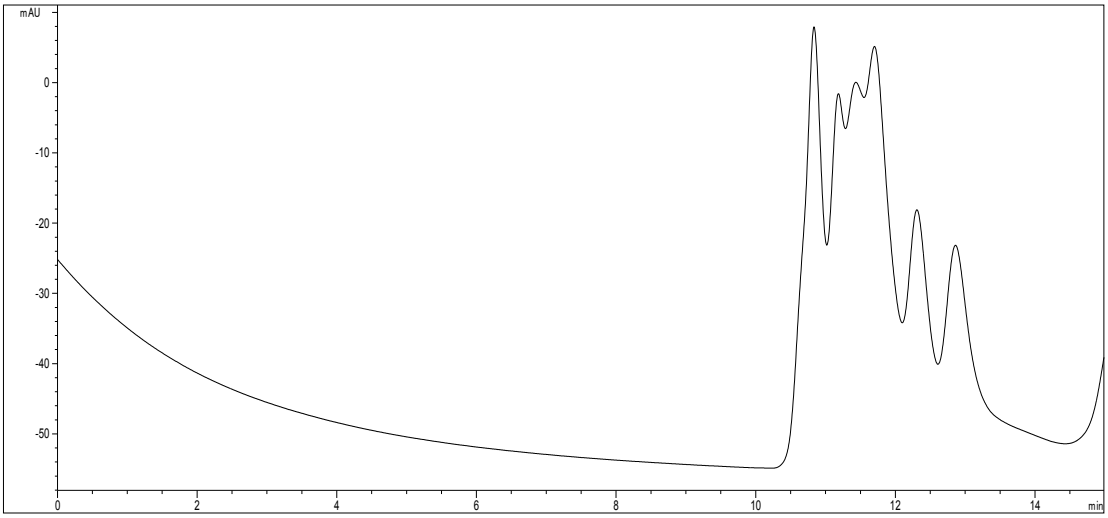


Fig. 6.3. Cromatograma del tub 1.1 amb detector llum UV. Eix d'abscisses: Temps de retenció (min)
Eix ordenades: Resposta del detector: unitats arbitràries d'absorbància (mUA)

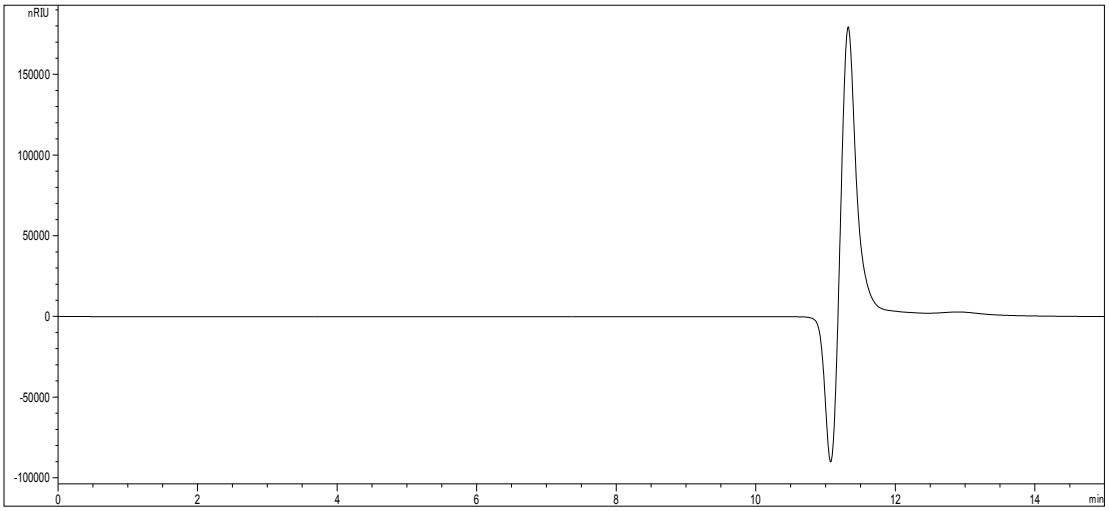


Fig. 6.4. Cromatograma del tub 1.1 amb detector d'índex de refracció Eix d'abscisses: Temps de retenció (min) Eix ordenades: Resposta del detector: unitats arbitràries (nRIU)

La resta dels cromatogrames es troben en l'Annex A. Cal destacar, que en molts dels cromatogrames en l'Annex A, es veurà que apareixen senyals amb temps de retenció molt baixos, fet que donaria a entendre l'obtenció de substàncies de molt alt pes molecular. Aquest senyals no s'accepten, ja que probablement siguin restes de les mostres anteriors o brutícia. Els límits dels temps de retenció acceptats venen determinats pels patrons utilitzats en la recta de calibrat.

A partir de les corbes de calibratge, el software realitza la integració de les corbes del cromatograma i s'obtenen els diferents pesos molars per als diferents biopolímers presents (o no) en la mostra analitzada. S'agafa la màxim pes molar M_p (g/mol), el que correspon al pic de la corba del cromatograma. Per realitzar la integració s'ha de seleccionar la corba del cromatograma en dos extrems, que en les taules a continuació, corresponen als dos valors de volum d'elució.

A partir de les dades mostrades en la Taula 6.1. s'observa, que de la Reacció 1: Formaldehid HCHO amb hidroxilamina NH_2OH s'obté oligòmers de pes molar entre 1576, 55-1705,30 g/mol. Com no es coneix l'estructura dels oligòmers, és pot donar el cas de que o bé cada oligòmer sigui diferent, o bè que es tracti del mateix oligòmer però la llargada de la cadena és diferent. Al presentar pesos molars molt semblants, la segona opció seria la més probable. Un altre factor que podria afavorir aquesta opció és, que en el detector d'índex de refracció no s'hagi obtingut cap senyal que donés algun d'aquests pesos molars. Amb la qual cosa s'intuiria que es tracta de la mateixa substància.

Donat aquest cas, es podria dir que la presència de vermiculita afavoriria la síntesi de cadenes

més llargues, ja que les mostres dels dos tubs que contenen vermiculita, presenten un pes molar lleugerament més elevat.

Taula 6.1. Resultats obtinguts en la cromatografia GPC per la Reacció 1:Formaldehid HCHO amb hidroxilamina NH_2OH

Reacció	Condicions	Primer anàlisi		Segon anàlisi		Promig M_p (g/mol)
		Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	
Detector llum UV						
1.1	HCHO + NH_2OH 1:6	8,540-8,815	1562,70	8,550-8,750	1590,40	1576,55
1.2	HCHO + NH_2OH 1:6Vermiculita	8,060-8,800	1705,30	8,512-8,754	1705,30	1705,30
1.3	HCHO + NH_2OH 1:3	8,600-8,730	1590,30	8,560-8,730	1590,40	1590,35
1.4	HCHO + NH_2OH 1:3Vermiculita	8,520-8,740	1647,10	8,500-8,750	1590,40	1618,75
Detector índex de refracció						
1.1	HCHO + NH_2OH 1:6	-	-	-	-	-
1.2	HCHO+NH_2OH 1:6 Vermiculita	-	-	-	-	-
1.3	HCHO + NH_2OH 1:6	-	-	-	-	-
1.4	HCHO + NH_2OH 1:3 Vermiculita	-	-	-	-	-

En el cas de la Reacció 2, com es dedueix de la Taula 6.2, s'obté probablement un oligòmer de pes molecular d'aproximadament 1400 g/mol. Com els valors obtinguts dels pesos són molt semblant, el reactiu de partida és el mateix (només varia la presència dels catalitzadors), i la temperatura aplicada és igual en tots els tub, seria molt probable que s'hagués obtingut el mateix oligòmer en tots els tubs. No obstant, com es pot veure en la Figura 5.4, el color que mostraven tots els tubs variava una mica. Una justificació d'aquest fet, pot ser que la quantitat formada en els tubs no hagi estat la mateixa i el color depengui de la quantitat. Tanmateix, en el detector d'índex de refracció no s'ha obtingut cap a senyal per a cap tub que indiqui aquest pes molar. Igual que en la reacció anterior, aquest fet podria ser indicatiu de que es tracti del mateix oligòmer.

D'altra banda com s'observa, la presència de catalitzadors no afavoreix la formació d'un altre biopolímer de pes molar més elevat. I la decisió que es va realitzar, a l'hora de considerar que la reacció als tres dies, ja havia format biopolímer, sembla ser correcta, ja que en el tub que es va deixar 6 dies (en les mateixes condicions), mostra un oligòmer del mateix pes molar que el que es va deixar 3 dies.

Taula 6.2. Resultats obtinguts en la cromatografia GPC per la Reacció 2:Formamida NH_2CHO

Reacció	Condicions	Primer anàlisi		Segon anàlisi		Promig M_p (g/mol)
		Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	
Detector llum UV						
2.1	NH_2CHO 6 dies	8,600-8,830	1304,0	8,500-8,86	1534,4	1419,20
2.2	NH_2CHO 3 dies	8,520-9,060	1234,0	8,491-8,791	1590,4	1412,20
2.3	NH_2CHO Vermiculita 3 dies	8,540-9,050	1257,0	8,550-8,784	1618,5	1437,75
2.4	NH_2CHO Alúmina 3 dies	8,520-9,050	1234,0	8,520-8,792	1590,4	1412,20
2.5	NH_2CHO Bòrax 3 dies	8,405-9,080	1234,0	8,500-8,720	1676,0	1455,00
Detector índex de refracció						
2.1	NH_2CHO 6 dies	-	-	-	-	-
2.2	NH_2CHO 3 dies	-	-	-	-	-
2.3	NH_2CHO Vermiculita 3 dies	-	-	-	-	-
2.4	NH_2CHO Alúmina 3 dies	-	-	-	-	-
2.5	NH_2CHO Bòrax 3 dies	-	-	-	-	-

En la Reacció 3: Formaldehid HCHO amb formamida NH_2CHO, en els tubs sense catalitzadors no es detecta amb llum UV, cap substància de tipus oligòmer o biopolímer. En canvi amb el detector d'índex de refracció, es detecta un oligòmer al voltat de 1000 g/mol de pes molar. No obstant, aquest oligòmer s'obté només en un dels dos anàlisis, per això no es

té en compte. Per confirmar la seva presencia, s'hauria de realitzar un tercer anàlisi.

En presència de catalitzadors, es detecten oligòmers. I tant en el cas del catalitzador d'alúmina com en el cas del catalitzador de vermiculita, existeix un petita variació en els pesos molars. La tendència que es mostra, és que s'obté un oligòmer de pes molecular una mica superior quan la quantitat de formaldehid HCHO (en relació molar) disminueix. Com es mostra en la Figura 5.7. Les tres mostres presentaven un aspecte diferent, amb la qual cosa, en aquest cas s'intueix que cada oligòmer es diferent en quant a estructura. Novament, per a aquests tubs en presència de catalitzador, amb el detector d'índex de refracció es detecten altres oligòmers de pesos molar més elevats. Però com en el cas anterior, en general només en un dels dos anàlisi. Per acabar de confirmar s'hauria de realitzar un tercer anàlisi.

D'altra banda, el tub 3.10 (realitzat a T=160ºC, sense catalitzadors i només 1 dia de reacció), s'obté un oligòmer de pes molar 1316,8 g/mol, semblant al tub 3.4 (realitzat a T=130ºC, en presència de vermiculita i 3 dies de reacció). Tot i així, com es pot veure en les figures 5.7. i 5.8., el producte final del tub 3.10 mostrava un color bastant diferent al tub 3.4, fet que del que s'intuiria la formació de dos oligòmers amb estructures diferents. No obstant, tenint en compte tots els factors comentats, es podria dir, que els aspectes que condicionen la formació de biopolímers en aquesta reacció són: la relació molar entre els reactius, la temperatura, el tipus de catalitzador (ja que amb alúmina s'obtenen uns de pes molar relativament més gran, que amb vermiculita) i el temps de reacció, ja que podria ser que si els tubs 3.1, 3.2 i 3.3 s'haguessin deixat més dies en la placa calefactora haguessin aparegut oligòmers o si els altres tubs s'haguessin deixat més dies s'hagueren obtingut biopolímers de pes molar més elevat.

Taula 6.3. Resultats obtinguts en la cromatografia GPC per la Reacció 3: Formamida NH_2CHO amb Formaldehid HCHO

Reacció	Condicions	Primer anàlisi		Segon anàlisi		Promig M_p (g/mol)
		Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	
Detector llum UV						
3.1	NH_2CHO + HCOH 1:1	-	-	-	-	-
3.2	NH_2CHO + HCOH 1:2	-	-	-	-	-
3.3	NH_2CHO + HCOH 1:3	-	-	-	-	-

3.4	NH_2CHO + HCOH 1:1 Vermiculita	8,616-8,808	1211,3	8,54-8,770	1534,4	1372,85
3.5	NH_2CHO + HCOH 1:2 Vermiculita	8,616-8,837	1081,4	8,570-8,796	13533,3	1217,35
3.6	NH_2CHO + HCOH 1:3 Vermiculita	8,621-8,863	1021,1	8,572-8,818	1328,1	1174,6
3.7	NH_2CHO + HCOH 1:1 Alúmina	8,504-8,769	1647,1	8,541-8,827	1378,1	1512,6
3.8	NH_2CHO + HCOH 1:2 Alúmina	8,589-8,757	1454,6	8,596-8,751	1454,6	1454,6
3.9	NH_2CHO + HCOH 1:3 Alúmina	8,596-8,835	1257,0	8,603-8,817	1280,3	1268,65
3.10	NH_2CHO + HCOH 1:1 160ºC 1 dia	8,648-8,779	1280,3	8,642-8,774	1353,3	1316,8
Detector índex de refracció						
3.1	NH_2CHO + HCOH 1:1	8,935-9,401	805,7	8,833-9,103	915,0	860,35
3.2	NH_2CHO + HCOH 1:2	-	-	8,803-9,046	1070,7	1070,70
3.3	NH_2CHO + HCOH 1:3	-	-	8,834-9,100	1006,7	1006,70
3.4	NH_2CHO + HCOH 1:1 Vermiculita	-	-	-	-	-
3.5	NH_2CHO + HCOH 1:2 Vermiculita	8,614-8,830	2287,2	-	-	2287,20
3.6	NH_2CHO + HCOH 1:3 Vermiculita	8,645-8,771	2594,3	-	-	2594,30
3.7	NH_2CHO + HCOH 1:1 Alúmina	8,664-8,747	2930,4	-	-	2930,40
3.8	NH_2CHO + HCOH 1:2 Alúmina	8,871-9,015	945,8	8,822-9,017	1070,7	1013,25

3.9	NH_2CHO + HCOH 1:3 Alúmina	8,476-8,748	3145,6	-	-	3145,60
		8,850-9,021	945,8	8,800-9,026	975,9	960,85
3.10	NH_2CHO + HCOH 1:1 160ºC 1 dia	-	-	-	-	-

Aquest últim fet (temps de reacció) es pot observar en la Figura 6.5, en la que s'observa l'evolució de la reacció del tub 3.9 (realitzada en els tubs 3.11, 3.12, 3.13 i 3.14 com s'explica en l'Apartat 5.4.3.)

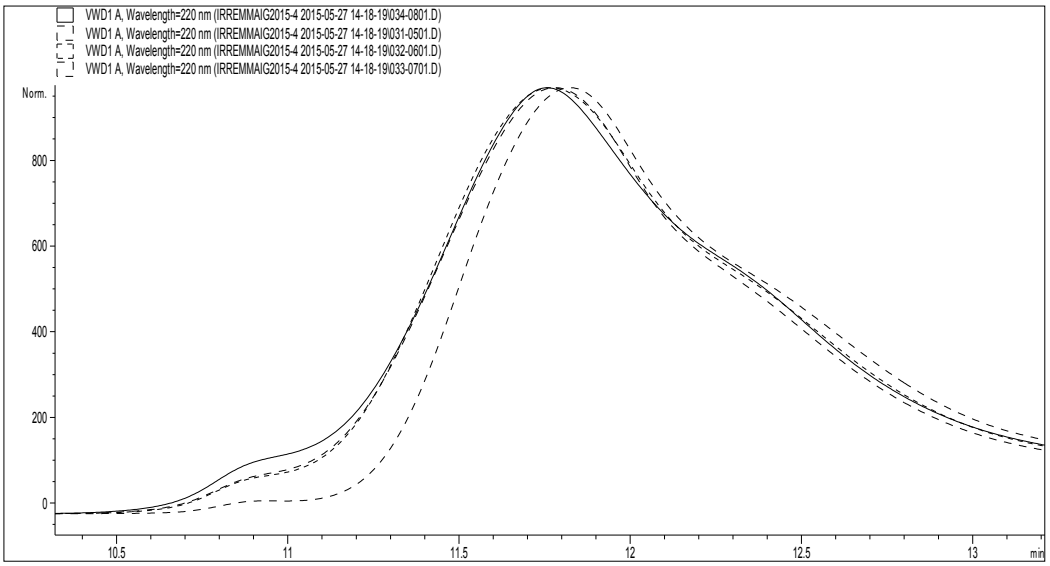


Fig. 6.5. Evolució de la reacció de formaldehid amb formamida en presència d'alúmina (tub d'assaig 3.9) . Els gràfics corresponen als tubs d'assaig 3.11, 3.12, 3.13 i 3.14 respectivament. Eix d'abscisses: Temps de retenció (min) Eix ordenades: Resposta del detector: unitats arbitràries d'absorbància (UA)

A partir de les dades de la Taula 6.4 es dedueix, que en la Reacció 4: Diaminomaleonitril en dissolució aquosa, es formen diversos oligòmer de pes considerable. Per un costat, en la detecció de llum UV, en tots els tubs s'observa que s'obtenen dos tipus d'oligòmers, un de 2800 g/mol de pes molar aproximadament i un altre de pes 1200 g/mol. Com els pesos molars dels dos oligòmers dels 4 tubs són semblants, s'intueix que no influeix la presència de catalitzadors o que la dissolució estigui més o menys diluïda. No obstant, si s'observa els cromatogrames dels tubs 4.1 i 4.2, que estan representats en la Figura 6.6., s'observa que en el tub 4.2 (el més diluït) hi hauria més quantitat d'aquest oligòmer respecte al tub 4.1. Aquest fet estaria relacionat, amb el que es va comentar en l'Apartat 5.5.3. de la part experimental, quan s'observà que la reacció semblava començar més abans en el tub 4.2.

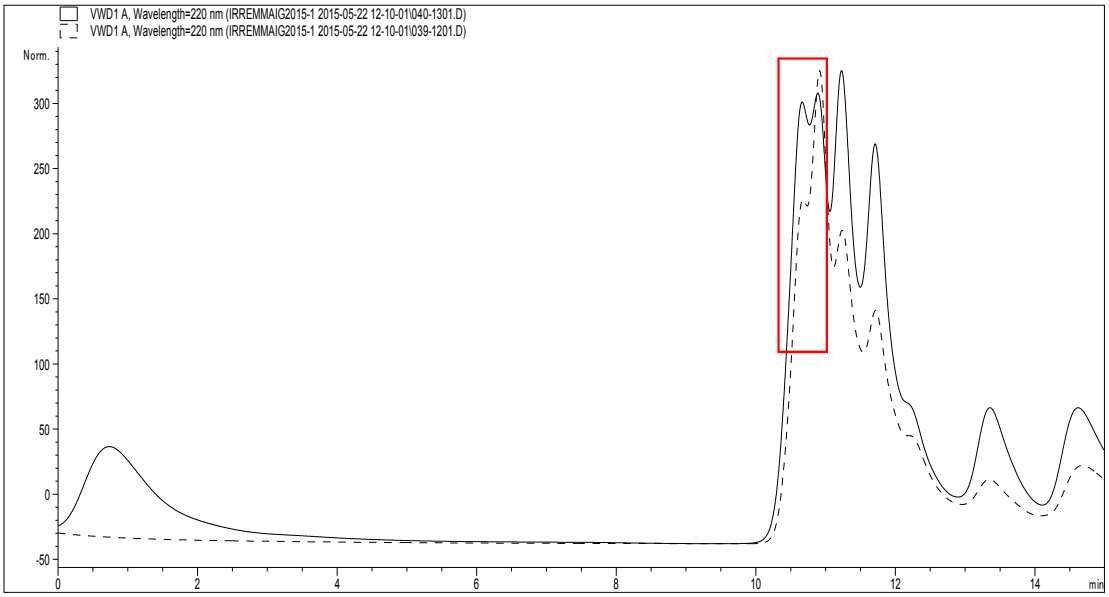


Fig. 6.6. Cromatogrames amb el detector UV dels tubs 4.1 i 4.2. La línia discontinua correspon al tub 4.1 (menys diluït) i la línia continua correspon al tub 4.2 (més diluït). En vermell es marca els dos pics corresponents als dos oligòmers.

Respecte als pesos moleculars obtinguts en la detecció amb índex de refracció, es podria que els que estan senyalat amb color taronja, en la Taula 6.4., podrien correspondre al mateix oligòmer que el detectat amb llum UV, encara que els valors en presència de catalitzador difereixen una mica. Com no s'han detectat en el segon anàlisis, no es pot assegurar aquest fet. Per confirmar, s'hauria d'haver realitzat un tercer anàlisi.

D'altra banda, també s'observa la presència de dos oligòmers diferents: el primer format en els tubs 4.1 i 4.2 (en absència de catalitzador) de pes molar l'ordre de 4900 g/mol i el segon oligòmer format en els tubs 4.3 i 4.4 (en presència de catalitzadors) de l'ordre de 4100 g/mol de pes molar aproximadament. Es consideren oligòmers diferents, ja que la reacció està condicionada per la presència de catalitzadors, amb la qual cosa es creu que probablement aquest fet dona lloc a dos mecanismes de desenvolupament de dos oligòmers diferents.

Taula 6.4. Resultats obtinguts en la cromatografia GPC per la Reacció 4: Diaminomaleonitril DAMN

Reacció	Condicions	Primer anàlisi		Segon anàlisi		Promig M_p (g/mol)
		Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	
Detector llum UV						
4.1	DAMN : H_2O 1:10	8,473-8,590	2924,9	8,477-8,585	2924,9	2924,9
		8,610-8,820	1166,9	8,609-8,827	1188,9	1177,9
4.2	DAMN : H_2O 1:20	8,475-8,613	2880,4	8,477-8,613	2836,4	2858,4
		8,622-8,732	1280,3	8,617-8,757	1304,0	1292,15
4.3	DAMN : H_2O 1:20 Vermiculita	8,414-8,629	2707,5	8,399-8,520	3109,8	2908,65
		8,629-8,820	1001,6	8,590-8,816	1257,0	1129,3
4.4	DAMN : H_2O 1:20 Alúmina	8,490-8,633	2541,3	8,406-8,597	3109,8	2825,55
		8,656-8,846	982,4	8,617-8,793	1257,0	1119,7
Detector índex de refracció						
4.1	DAMN : H_2O 1:10	8,421-8,659	5194,1	8,417-8,713	4687,2	4940,65
		8,659-8,634	2861,1	-	-	2861,1
4.2	DAMN : H_2O 1:20	8,443-8,652	5090,3	8,426-8,752	4687,2	4888,75
		8,652-8,777	2791,5	-	-	2791,5
4.3	DAMN : H_2O 1:20 Vermiculita	8,531-8,683	4306,7	8,403-8,699	4125,8	4216,25
		8,683-8,785	2594,3	-	-	2594,3
4.4	DAMN : H_2O 1:20 Alúmina	8,491-8,719	4215,6	8,313-8,751	3948,2	4081,9
		8,719-8,798	2346,1	-	-	2346,1

Novament, com es mostra en la Figura 6.7., s'intueix que en els tubs 4.1 i 4.2, s'ha format quantitats diferents de l'oligòmer de pes 4900 g/mol.

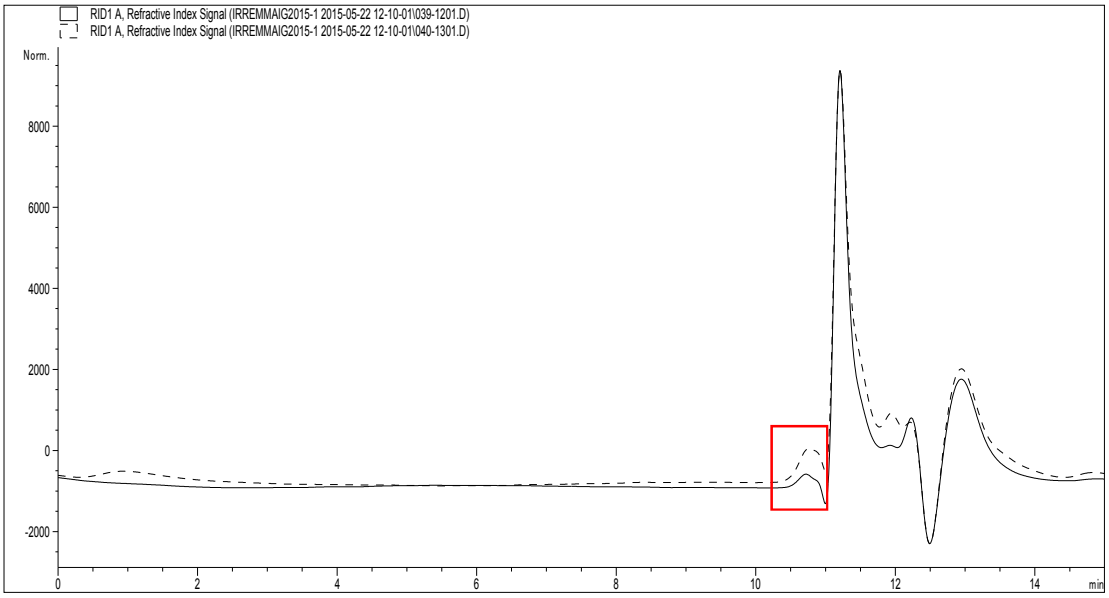


Fig. 6.7. Cromatogrames amb el detector UV dels tubs 4.1 i 4.2. La línia discontinua correspon al tub 4.1 (menys diluït) i la línia continua correspon al tub 4.2 (més diluït). En vermell es marca la corba corresponent a l'oligòmer de pes 4900 g/mol.

En la Reacció 5: Diaminomaleonitril DAMN amb Formiat d'amoni $CHOO^- NH_4^+$, a partir de les dades de la Taula 6.5. es dedueix que s'ha format el mateix oligòmer, ja que els pesos molars són bastant semblants de l'ordre de 1400 g/mol. Tot i així, aquest factor no seria suficient per confirmar aquest fet, ja que per un costat se sap que del DAMN deriven diverses biomolècules possibles, i per l'altra s'ha variat les relacions molars en cada tub, amb la qual cosa també seria possible que s'haguessin format en cada tub oligòmers de pesos molars semblant però estructures diferents. Encara és més probable que la variació en les relacions molars no hagi influït, i s'hagi format el mateix oligòmer en tots els tubs ja que el detector d'índex de refracció no ha donat detectat cap oligòmer amb senyal corresponent a l'odre de1400 g/mol. Fet del que es deduiria que les estructures són la mateixa o semblants.

Taula 6.5 Resultats obtinguts en la cromatografia GPC per la Reacció 5: Diaminomaleonitril DAMN amb Formiat d'amoni $CHOO^- NH_4^+$

Reacció	Condicions	Primer anàlisi		Segon anàlisi		Promig M_p (g/mol)
		Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	
Detector llum UV						
5.1	Formiat d'amoni : DAMN 1:1	8,550-8,910	1304,0	8,503-8,744	1647,1	1475,55

5.2	Formiat d'amoni: DAMN 1:2	8,633-8,848	1304,0	8,467-8,819	1618,5	1461,25
5.3	Formiat d'amoni: DAMN 1:3	8,663-8,872	1188,9	8,452-8,808	1507,4	1348,15
5.4	Formiat d'amoni: DAMN 2:1	8,643-8,859	1211,3	8,461-8,807	1562,7	1387,00
5.5	Formiat d'amoni: DAMN 3:1	8,624-8,853	1234,0	8,529-8,754	1590,4	1412,2
Detector índex de refracció						
5.1	Formiat d'amoni : DAMN 1:1	-	-	-	-	-
5.2	Formiat d'amoni: DAMN 1:2	-	-	-	-	-
5.3	Formiat d'amoni: DAMN 1:3	-	-	-	-	-
5.4	Formiat d'amoni: DAMN 2:1	-	-	-	-	-
5.5	Formiat d'amoni: DAMN 3:1	-	-	-	-	-

En la Reacció 6: Glicolonitril, com es mostra en la Taula 6.6., aparentment només s'obté un oligòmer de pes molecular 1365,7 g/mol.

Taula 6.6. Resultats obtinguts en la cromatografia GPC per la Reacció 6: Glicolonitril $HOCH_2CN$

Reacció	Condicions	Primer anàlisi		Segon anàlisi		Promig M_p (g/mol)
		Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	
Detector llum UV						
6.1	Glicolonitril 30 dies	8,600-8,884	1378,1	8,616-8,877	1353,3	1365,7
Detector índex de refracció						
6.1	Glicolonitril 30 dies	-	-	-	-	-

Però si es s'observa més detingudament el cromatograma, comparant-lo amb el cromatograma del glicolonitril inicial (reactiu), com es mostra en la Figura 6.8., inicialment hi havies dos tipus de molècules (les marcades amb les fletxes lila en el cromatograma) un correspondria a l'oligòmer i l'altra probablement és el monòmer, o sigui el glicolonitril. Després de 30 dies de reacció, apareix un compost intermedi (marcat amb la fletxa vermella en el cromatograma) i es modifiquen les quantitats dels altres dos, degut a que varia l'altura de les

corbes. Aquesta variació deu ser deguda a la formació del compost intermedi i la formació de més quantitat de oligòmer.

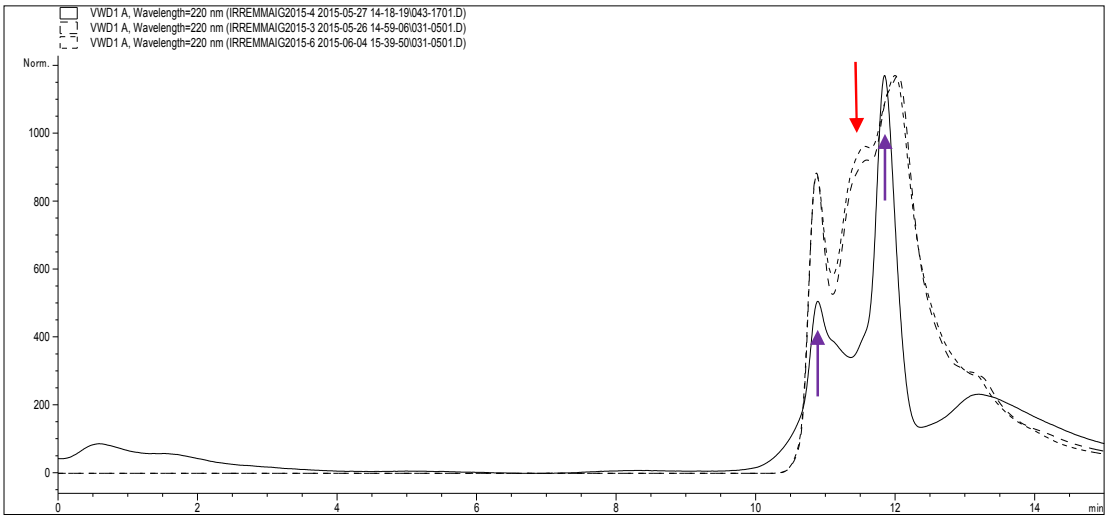


Fig. 6.8. Cromatogrames del detector UV del les dues mostres analitzades de glicolonitril 30 dies de reacció i del glicolonitril inicial (reactiu). La línia discontinua correspon a les dues mostres de glicolonitril 30 dies de reacció i la línia continua correspon glicolonitril inicial (reactiu)

En la Reacció 7: Lactonitril C_3H_5ON, a partir de les dades obtingudes en la Taula 6.7., s'observa l'aparició de dos oligòmers. El primer obtingut amb el detector de llum UV, de pes molar 1040,50 g/mol i el segon obtingut amb el detector d'índex de refracció amb pes molar de 4310,55 g/mol.

Taula 6.7. Resultats obtinguts en la cromatografia GPC per la Reacció 7: Lactonitril C_3H_5ON

Reacció	Condicions	Primer anàlisi		Segon anàlisi		Promig M_p (g/mol)
		Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	
Detector llum UV						
7.1	Lactonitril 30 dies	8,567-9,035	1081,4	8,605-9,066	1001,6	1040,50
Detector índex de refracció						
7.1	Lactonitril 30 dies	8,460-8,667	4495,3	8,460-8,667	4125,8	4310,55

Si és realitza la comparativa en els cromatogrames del lactonitril 30 dies de reacció amb el lactonitril inicial (reactiu), com es mostra en la Figura 6.9., S'observa que també hi havia en el reactiu inicial una mica de oligòmer de 1040,50 g/mol. També s'observa com després de 30 dies, desapareix pràcticament el lactonitril inicial, i després de trenta dies es forma l'oligòmer.

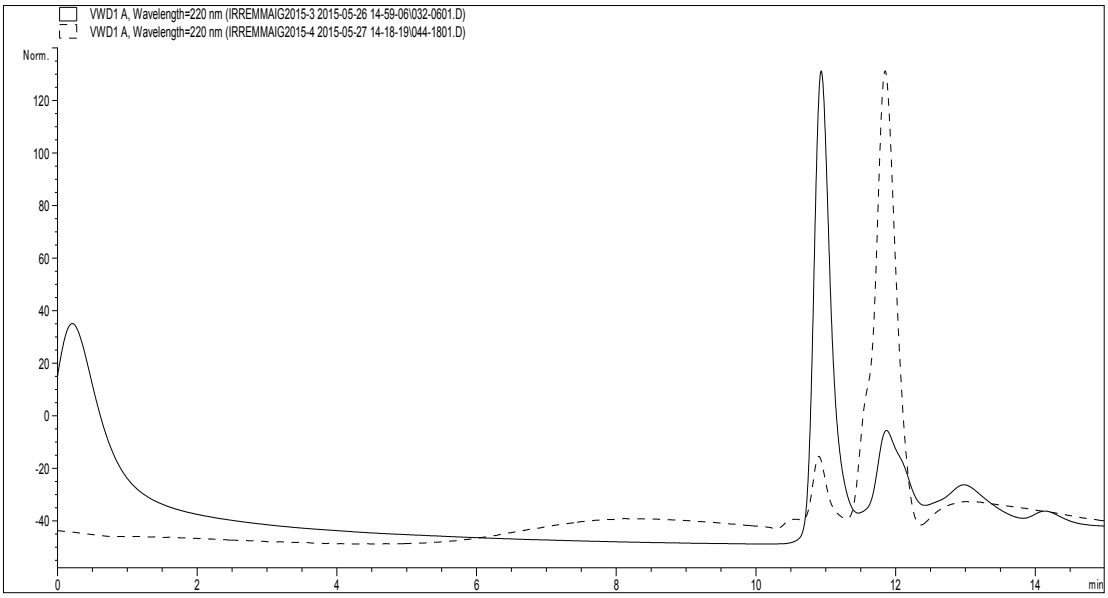


Fig. 6.9. Cromatogrames del detector UV d'una de les mostres analitzades de lactonitril 30 dies de reacció i del lactonitril inicial (reactiu). La línia discontinua correspon al lactonitril inicial (reactiu) i la línia continua correspon lactonitril 30 dies de reacció.

En la Taula 6.8., és mostren els pesos molars dels pèptids obtinguts en el tractament tèrmic en presència de d'alúmina de l'àcid glutàmic i la glicina (Reacció 8). Amb aquesta reacció s'ha comprovat la formació de biopolímers a partir de biomolècules com els aminoàcids.

Taula 6.8. Resultats obtinguts en la cromatografia GPC per la Reacció 8: Àcid glutàmic amb glicina

Reacció	Condicions	Primer anàlisi		Segon anàlisi		Promig M_p (g/mol)
		Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	
Detector llum UV						
8.1	Àcid glutàmic:Glicina 1:2 Alúmina	8,417-9,001	1280,3	8,268-9,001	1280,3	1280,3
Detector índex de refracció						
8.1	Àcid glutàmic:Glicina 1:2 Alúmina	8,281-8,731	3613,1	8,272-8,768	3296,9	3455,0

L'altra reacció per comprovar la formació de biopolímers a partir de biomolècules és la Reacció 9: Àcid aspàrtic. Com es pot comprovar en la Taula 6.9. s'obté el polímer poli(aspàrtic) de l'ordre de 23000 g/mol de pes molar i es detectat tant per llum UV com per índex de refracció.

Taula 6.9. Resultats obtinguts en la cromatografia GPC per la Reacció 9: Àcid Aspàrtic

Reacció	Condicions	Primer anàlisi		Segon anàlisi		Promig M_p (g/mol)
		Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	Volum d'elució (mL)	M_p (g/mol)	
Detector llum UV						
9.1	Àcid aspàrtic	7,151-8,510	23295,0	7,188-8,548	21776,0	22,535,5
Detector llum UV						
9.1	Àcid aspàrtic	7,384-8,614	23925,0	7,384-8,711	22980,0	23451,00

6.2. Resultats de l'espectrometria d'infraroig per transformada de Fourier FTIR

A continuació es mostren els espectres d'absorbància de les mostres que s'han caracteritzat mitjançant espectrometria FTIR. Les Figures 6.10., 6.11., 6.12., 6.13. i 6.14. corresponen als espectres de les mostres analitzades següents:

- Tub 1.1 Formaldehid amb hidroxilamina
- Tub 3.9 Formamida amb formaldehid
- Tub 5.4 Formiat d'amoni amb DAMN
- Tub 8.1 Àcid glutàmic amb glicina
- Tub 9.1 Àcid aspàrtic

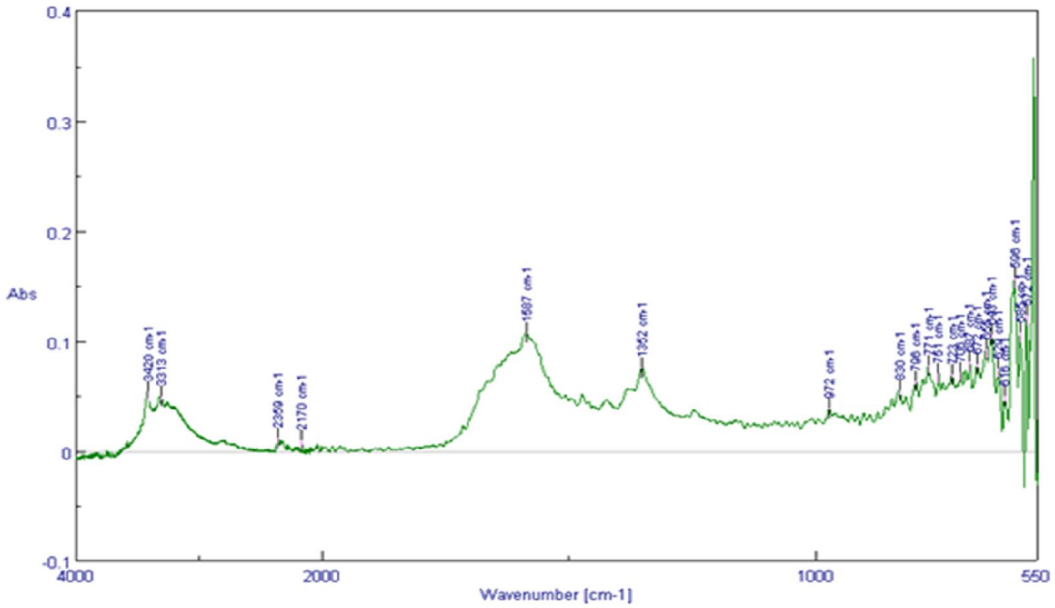


Fig. 6.10. Espectre d'infraroig de la Reacció 1:Formaldehid HCHO amb hidroxilamina NH_2OH

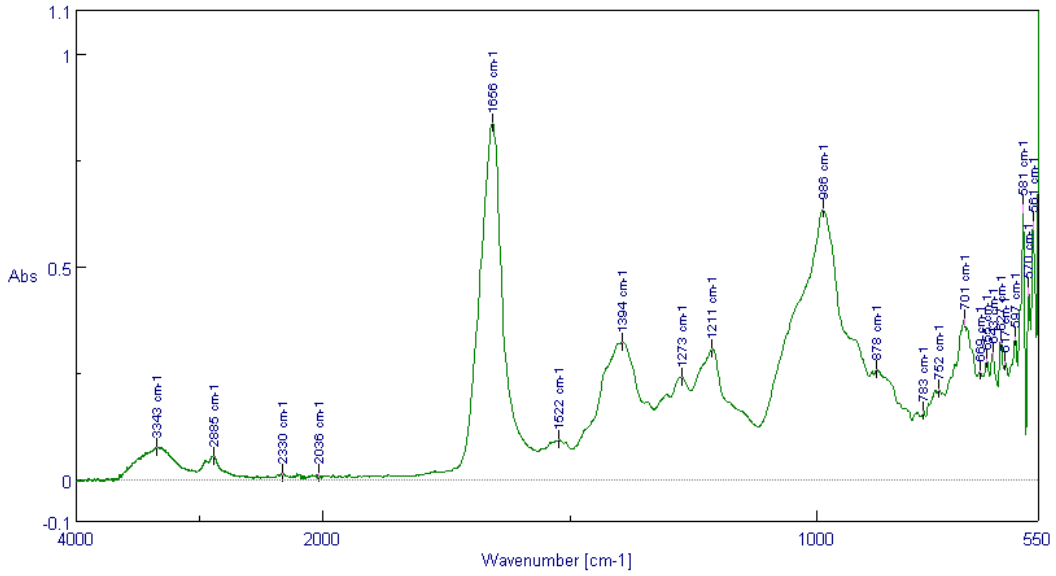


Fig. 6.11. Espectre d'infraroig de la Reacció 3: Formamida NH_2CHO amb Formaldehid HCHO

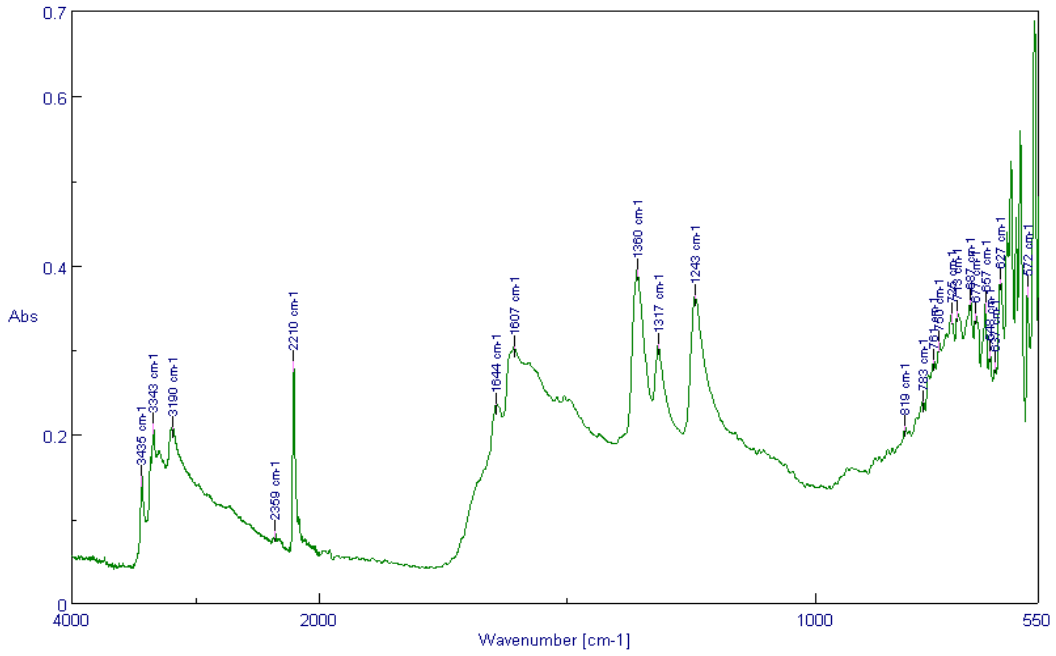


Fig. 6.12. Espectre d'infraroig de la Reacció 5: Diaminomaleonitril DAMN amb Formiat d'amoni $CHOO^- NH_4^+$

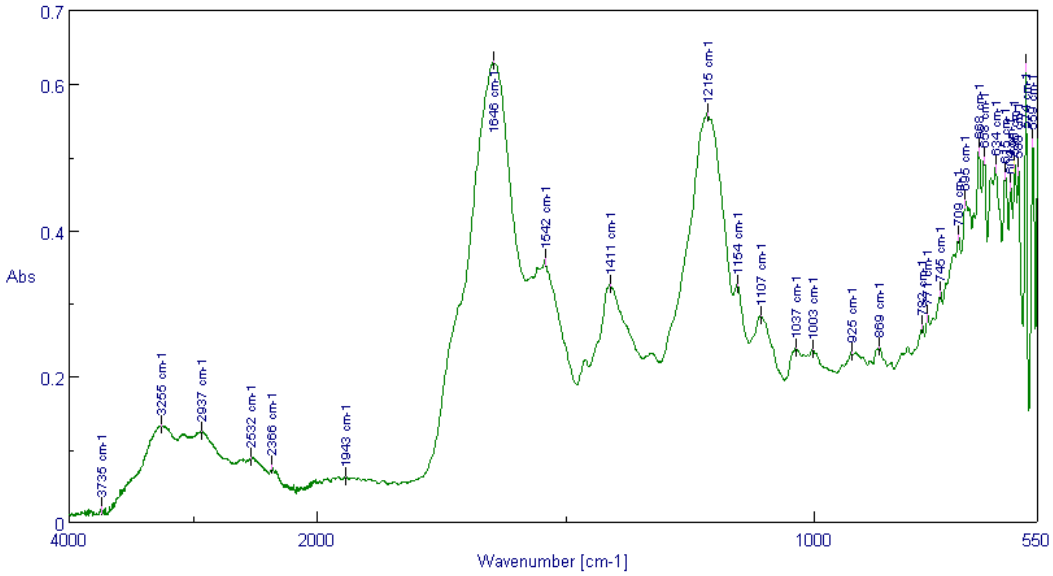


Fig. 6.13. Espectre d'infraroig de la Reacció 8: Àcid glutàmic i glicina

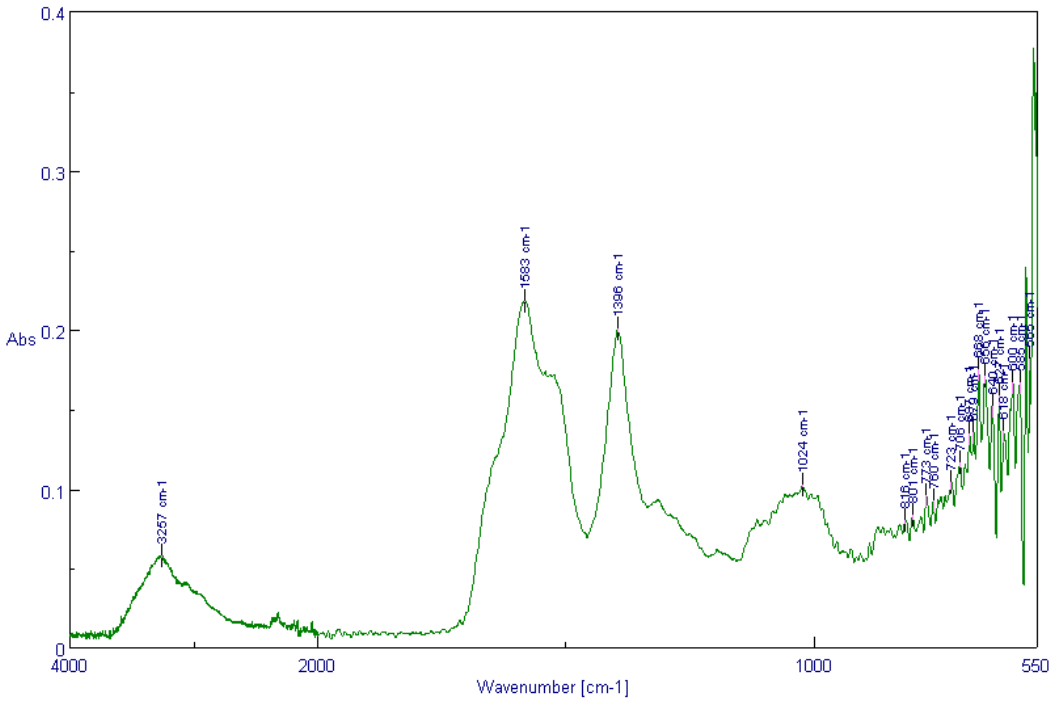


Fig. 6.14. Espectre d'infraroig de la Reacció 9: Àcid aspàrtic

A continuació s'identifiquen les bandes característiques de cada mostra amb els grups funcionals:

- Tub 1.1 Formaldehid amb hidroxilamina
  - 3420 cm^{-1}→ 3450-3200 cm^{-1} O-H Alcohol i fenol
  - 3420 cm^{-1} → 3450-3200 cm^{-1} N-H amina i amida
  - 3313 cm^{-1}→ 3300-2500 cm^{-1} OH Àcid carboxílic
  - 2359 cm^{-1}→3000-2000 cm^{-1} Sal d'amoni (-NHR_3+)
  - 2170 cm^{-1}→3000-2000 cm^{-1} Sal d'amoni (-NHR_3+)
  - 1587 cm^{-1}→ 1550-1600 cm^{-1} N-H amida
  - 1352 cm^{-1}→1350-1200 cm^{-1} Alcà, Alquil, C-O
  - 700-1200 cm^{-1}→ Alcà, Alquil, enllaç senzill

- Tub 3.9 Formamida amb formaldehid
  - 3343 cm^{-1}→3450-3200 cm^{-1} N-H amina i amida
  - 2885 cm^{-1}→3300-2500 cm^{-1} OH Àcid carboxílic
  - 1656 cm^{-1}→1690-1650 cm^{-1} C=O amida
  - 1273 cm^{-1}→1350-1200 cm^{-1} Alcà, Alquil, C-O
  - 986 cm^{-1}→ 1000-700 cm^{-1} Alquens =C-H
  - 700-1200 cm^{-1}→ Alcà, Alquil, enllaç senzill

- Tub 5.4 Formiat d'amoni amb DAMN
  - 3435 cm^{-1}→3500-3200 cm^{-1} N-H amina (2 bandes si és primària)
  - 3343 cm^{-1}→ 3500-3200 cm^{-1} N-H amina
  - 3190 cm^{-1}→ 3200-2500 cm^{-1} O-H àcid carboxílic
  - 2210 cm^{-1}→2280-2200 cm^{-1} C≡ N nitril
  - 1644 cm^{-1}→1680-1620 cm^{-1} C=C alquè doble enllaç
  - 1607 cm^{-1}→1550-1600 cm^{-1} N-H amida
  - 1360 cm^{-1}→1360-1180 cm^{-1} C-N amina, amida
  - 1317 cm^{-1}→1350-1200 cm^{-1} Alcà, Alquil, C-O
  - 1243 cm^{-1}→1350-1200 cm^{-1} Alcà, Alquil, C-O
  - 700-1200 cm^{-1}→ Alcà, Alquil, enllaç senzill

- Tub 8.1 Àcid glutàmic amb glicina
  - 2937 cm^{-1}→ -C-H alcans o grups alquils
  - 3200-2500 cm^{-1} → O-H àcid carboxílic
  - 1646 cm^{-1}→1700-1650 cm^{-1} C=O amida
  - 1542 cm^{-1}→1600-1550 cm^{-1} N-H amida
  - 1215 cm^{-1}→ 1000-1300 cm^{-1} Alcà, Alquil, C-O
  - 1360-1180 cm^{-1}→ C-N amina, amida
  - 1200-700 cm^{-1} → C-C alcans

- Tub 9.1 Àcid aspàrtic
  - 3257 cm^{-1} → 3500-3200 cm^{-1} N-H amina/ amida
  - 1583 cm^{-1} → 1550-1600 cm^{-1} N-H amida
  - 1024 cm^{-1} → 1300-1300 cm^{-1} C-O àcids carboxílics
  - 600- 800 cm^{-1} (variables)→ Alcans

Com era d'esperar, en els Tubs 8.1 i 9.1 s'han obtingut les bandes característiques dels grups funcionals dels aminoàcids (amina i àcid carboxílic entre altres) i de l'enllaç peptídic (amida)

En quan al Tub 1.1, corresponent a la reacció de formaldehid amb hidroxilamina sense catalitzadors, s'obtenen bandes característiques, als grups funcionals d' amida, amina i àcid carboxílic, entre d'altres. Com s'ha esmentat abans són els grups formats en l'enllaç peptídic i els presents en els aminoàcids. A partir d'aquest fet s'infereix que l'oligòmer format en el tub 1.1 (indicat en la Taula 6.1) és de tipus proteic.

En la reacció del Tub 3.9 , formaldehid amb formamida en presència d' alúmina, es pot pensar en un principi que les bandes del grup funcional d' amida corresponen a la formamida. Però també s'obtenen les bandes de l'àcid carboxílic i amina. Amb això es dedueix que els l'oligòmer obtingut en aquesta reacció (indicat a la Taula 6.3) és també de tipus proteic.

Finalment en la reacció 5 de diaminomaleonitril amb formiat d'amoni, s'observen les bandes característiques dels grups funcionals en el diaminomaleonitril, que són el nitril C≡N, l'alquè C=C i l'amina primària -NH_2. Però també s'observen altres bandes de grups funcionals com amida i àcid carboxílic, que juntament amb l'amina serien les relacionades amb els aminoàcids i l'enllaç peptídic. Novament, es podria considerar que els oligòmers obtinguts són de tipus proteic.

No obstant, aquest anàlisis no es massa exhaustiu, per poder afirmar aquests fets de manera segura, caldria realitzar una espectroscòpia de ressonància magnètica nuclear.

7. Planificació

L' inici del projecte s'estableix en el moment en que queda acordat el tema a desenvolupar. El TFG es divideix en 5 fases:

- **Fase 1:** Fase del projecte en la que es realitza la recerca bibliogràfica, per obtenir la informació necessària de la teoria i la part experimental. Es decideixen les reaccions que es duran a terme, el material i els equips necessaris. Posteriorment es planifiquen les reaccions per a la part experimental.
- **Fase 2:** Fase que emmarca la part experimental del projecte. Aquesta inclou la realització de les reaccions, l'anàlisi d'algunes mostres amb cromatografia en capa fina, l'anàlisi de totes les mostres amb GPC i la caracterització d'algunes de les mostres amb espectrofotometria FTIR.
- **Fase 3:** Fase en la que es s'analitzen i es discuteixen els resultats obtinguts tant en GPC com en la caracterització amb espectrofotometria FTIR. Noteu que els resultats de la cromatografia en capa fina són de caire qualitatiu són analitzats al mateix moment de la realització de la cromatografia.
- **Fase 4:** Aquesta fase inclou l'elaboració de la memòria. Tot i que s'ha treballat durant tot el procés, la major part d'aquesta elaboració es concentra en les darreres setmanes.
- **Fase 5:** Última fase, que inclou l'entrega, la presentació i defensa del TFG.

Les tasques de les diferents fases s'han dividit i organitzat segons el diagrama de Gantt que es en mostra la Figura 7.1. Noteu que la interrupció en la realització de les reaccions (setmana 9) és la setmana festiva de Setmana Santa.

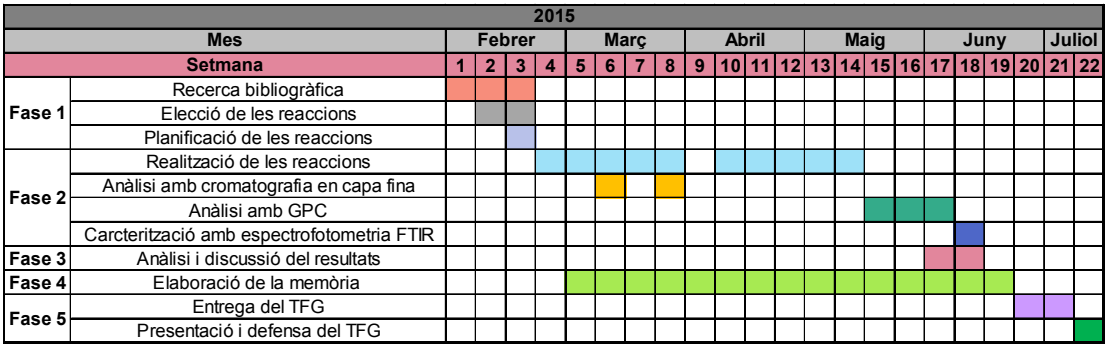


Fig. 7.1 Diagrama de Gantt del TFG

8. Anàlisi econòmica del projecte

En aquest apartat s'avaluarà el cost econòmic que ha suposat la realització d'aquest TFG. Per realitzar una avaluació econòmica més acurada, s'han considerat les quatre primeres fases que s'han esmentat en l'apartat anterior:

- Fase de recerca bibliogràfica i planificació de l'experiment
- Fase d'experimentació
- Fase d'anàlisi de resultats
- Fase d'elaboració de la memòria

La última fase es considera que queda fóra del marc de l'anàlisi econòmic, ja que no té associats costs considerables.

Després del càlcul de costs en cada fase, es calcula el cost global del projecte. Cal dir, que en el cost calculat es de caire aproximat, ja que no s'han determinat amb exactitud les hores invertides en cada fase, ni s'ha comptabilitzat la pèrdua o trencament de materials i reactius, com tampoc s'ha tingut en compte la possibilitat de repetir algun dels experiment.

8.1. Cost de fase de recerca bibliogràfica i planificació de l'experiment

El càlcul del cost d'aquesta fase es mostra en la Taula 8.1. . En l'apartat de material, alguns articles eren d'accés lliure, però en altres s'havia de pagar per poder accedir a ells. La UPC està subscrita en les revistes d'aquests articles i per al càlcul s'ha considerat un preu mitjà de 35 €. En l'apartat de cost personal, S'han invertit aproximadament unes 95 h en la recerca bibliogràfica i unes 5 h en la planificació de l'experiment i per als dos s'ha establert un preu de 15€/h.

Taula 8.1. Cost de la fase de recerca bibliogràfica i planificació de l'experiment.

Concepte	Quantitat/Hores	Preu	Vida útil	Cost (€)
Material				
Ordinador personal	100 h	549,00 €	3 anys	2,08 €
Material d'oficina	-	-	-	10,00 €
Articles	10	35 €/ article		350,00 €
Cost personal				
Recerca bibliogràfica	95 h	15 €/h	-	1.425,00 €
Planificació de l'experiment	5 h	15 €/h		75,00 €
Electricitat				
Ordinador personal	40 kW·h	0,126 €/kW·h	-	5,04 €
TOTAL				**1.867,04 €**

8.2. Cost fase d'experimentació

El càlcul del cost d'aquesta fase és més extens respecte als altres. De manera que es divideix en tres subapartats i posteriorment es calcula el cost total de la fase.

8.2.1. Cost reactius, materials i equips

El càlcul del cost del reactius es mostra en la Taula 8.2.. Per aquest càlcul, s'han tingut en compte tots els reactius utilitzats en les reaccions, com en l'anàlisi en cromatografia en capa fina, cromatografia GPC i espectrofotometria FTIR. El cost s'ha calculat a partir de la quantitat necessària de cada reactiu.

Taula 8.2. Cost dels reactius

Reactiu	Quantitat necessària	Preu	Cost
Silicona líquida	250 mL	183,50 €/1L	45,87 €
Clorur d'hidroxilamoni	52,65 g	32,00 €/ 100g	16,85 €
para-Formaldehid	9,97 g	35,10 €/ 500 g	0,70 €
Hidròxid de sodi	38,3 g	37,00 €/ 1000g	1,42 €
Formamida	16,3 mL	20,10 €/ 250 mL	1,31 €
Diaminomaleonitril	4,019 g	33,60 €/ 25 g	5,40 €
Formiat d'amoni	1,27 g	70,70 €/ 100 g	0,90 €
Àcid glicolonitril	7 mL	65,80 €/ 10 mL	46,06 €
DL-Lactonitril	7 mL	43,70€/ 25 mL	12,23 €
Glicina	1,502 g	55,10 €/ 50 g	1,65 €
Àcid glutàmic	1,472 g	119,00 €/ 5000 g	0,04 €

Àcid aspàrtic	2 g	119,00 €/ 5000 g	0,05 €
Àcid orto-fosfòric 85%	0,14 mL	65,54 €/ 5L	0,002€
Cloroform	80 mL	87,40 €/ 1L	6,99 €
Amoníac 30 %	40 mL	19,60 €/ 1L	0,78 €
Metanol	300 mL	26,70 €/ 1L	8,01 €
Ninhidrina	100 mg	167,00 €/ 100 g	16,7 €
Azida de sodi	0,804 g	11,50 €/ 5 g	1,85 €
di-Hidrogen fosfat de sodi hidratat	27,6 g	27,40 €/ 250 g	3,02 €
Acetona	20 mL	51,60 €/ 1 L	1,03 €
Polietilenglicol 782000	1,1 mg	290,00 €/1 g	0,32 €
Polietilenglicol 109000	1,1 mg	290,00 €/1 g	0,32 €
Polietilenglicol 420000	1,3 mg	290,00 €/1 g	0,38 €
Polietilenglicol 270000	1,0 mg	290,00 €/1 g	0,29 €
Polietilenglicol 19700	1,4 mg	290,00 €/1 g	0,41 €
Polietilenglicol 54300	1,1 mg	290,00 €/1 g	0,32 €
Polietilenglicol 10900	1,1 mg	290,00 €/1 g	0,32 €
Polietilenglicol 5160	1,1 mg	290,00 €/1 g	0,32 €
Polietilenglicol 1000	1,3 mg	290,00 €/1 g	0,38 €
Vermiculita	0,23 g	130,50 €/ 9,4 kg	0,002 €
Alúmina	0,25 g	83,80 €/ 100g	0,21 €
Bòrax	0,05 g	28,80 €/500g	0,003 €
Gel de sílice	500 g	14,79 €/ 1 kg	7,39 €
TOTAL			**181,53 €**

El cost de tot el material utilitzat durant la fase experimental es mostra en la Taula 8.3.

Taula 8.3 Cost del material

Material	Quantitat	Preu	Cost
Cristal·litzador de 600 mL	1	5,10 €/u	5,10 €
Cubeta de vidre amb tapa	1	146,90 €/u	146,90 €
Dessecador 10L	1	102,43 €/u	102,43 €
Embut Büchner de polipropilè	1	4,14 €/u	4,14 €
Equip de filtració per membranes amb	1	154,98 €/u	154,98 €

matràs Kitasato de 1000 mL, embut de filtre de membranes i pinça d'alumini			
Eppendorf graduat de 2 mL	80	26,74 €/1000 u	2,14 €
Trompa d'aigua per al buit	1	11,36 €/u	11,36 €
Erlenmeyer de 100 mL	1	11,52 €/12u	0,96 €
Erlenmeyer de 50 mL	1	9,93 €/12u	0,83 €
Espàtula	1	8,49 €/5u	1,70 €
Tetina	2	13,27 €/100u	0,26 €
Guants nitril	100	6,44 €/100u	6,44 €
Graella per als tubs d'assaig 4 x 6 tubs	3	17,70 €/u	53,10 €
Matràs aforat de 50 mL amb tap plàstic	1	4,71 €/2 u	2,36 €
Matràs aforat de 100 mL amb tap plàstic	1	5,31 €/2u	2,66 €
Matràs Kitasato 250 mL	1	3,31 €/u	3,31 €
Filtre de membrana niló 0,45µm	4	30,90 €/100u	1,24 €
Micropipeta de 1000 µL	1	75,05 €/u	75,05 €
Mosca d'agitació	1	9,50 €/ 5 u	1,90 €
Nous	2	11,65 €/4u	5,82 €
Paper d'alumini	1 m	2,50 €/30 m	0,08 €
Paper de filtre	1	2,12 €/100u	0,02 €
Paper indicador pH	1	6,69 €/u	6,69 €
Paper absorbent	30 m	70,50 €/ 2000 m	1,05 €
Parafilm	1 m	25,71 €/38 m x 10 cm	0,68 €
Pesa substàncies	4	29,27 €/ 500u	0,06 €
Pinces	2	9,88 €/u	19,76 €
Pinces de fusta	1	1,72 €/2u	0,83 €
Pipeta graduada d'1 mL	1	6,81 €/ 5u	1,36 €
Pipeta graduada de 2 mL	1	5,49 €/ 5u	1,10 €
Pipeta Pasteur	7	9,53 €/250u	0,03 €
Placa cromatogràfica silica gel	1	142,50 €/25u	5,70 €
Proveta 250 mL	1	7,59 €/u	7,59 €
Proveta 50 mL	1	3,63 €/u	3,63 €
Proveta de 100 mL	1	4,21 €/u	4,21 €
Pulveritzador	1	179,41 €/u	179,41 €
Puntes micropipeta	1	6,32 €/500u	0,01 €
Retolador permanent	1	2,50 €/u	2,50 €
Pipetejador	1	30,08 €/ u	30,08 €
Suport	1	26,29 €/ 1 u	26,29 €

Tubs d'assaig de 10 mL	30	23,39 €/250u	2,82 €
Tubs d'assaig de 10 mL amb rosca i tap	4	90,34 €/250u	1,44 €
Tubs de goma	0,5 m	3,50 €/2m	0,87 €
Vareta de vidre	1	3,21 €/5u	0,64 €
Vas de precipitats de 50 mL	1	7,40 €/12u	0,62 €
Vas de precipitats de 25 mL	1	4,69 €/12u	0,39 €
Vas de precipitats de 500 mL	1	6,28 €/6u	1,05 €
Vas de precipitats de plàstic de 1000 mL	1	13,29 €/6u	2,22 €
Vial 10 mL	1	27,36 €/195u	0,14 €
Vial 10 mL amb boca capsulable	2	27,36 €/195u	0,28 €
Càpsula d'alumini per vial	2	2,31 €/100u	0,04 €
Tap de goma per vial capsulable	2	5,13 €/100u	0,10 €
Encapsulador per vial	1	223,52 €/u	223,52 €
Vial per a cromatògraf de 1,5 mL	23	9,36€ /100u	0,21 €
Taps per vial cromatògraf	23	14,91 €/100 u	3,45 €
Viscosímetre	2	106,22 €/u	212,44 €
Xeringa 5 mL	2	10,39 €/ 100u	0,20 €
Total			**1.324,19 €**

El cost dels equips, que es mostra en la Taula 8.4, es calcula com a cost d'amortització, tenint en compte que el temps d'amortització són les hores de funcionament de l'equip.

Taula 8.4 Cost dels equips

Equip	Hores	Cost (€)	Vida útil (anys)	Cost amortització (€)
Placa calefactora	872	499,00	5	9,93
Termòmetre elèctric	872	8,80	5	0,18
Agitador magnètic	3	499,00	5	0,03
Balança de sensibilitat 0,001 g	2	616,00	5	0,03
Frigorífic	960	576,00	10	6,31
Bomba de buit	0,25	394,31	5	0,002
Centrífuga per eppendorfs	0,5	199,00	5	0,002
Cromatògraf Agilent Technologies (1260 Infinity/1200 Series) Amb detector UV i detector d'índex de refracció	30	30000,00	10	10,27

Columna GPC/SEC per al cromatògraf	30	1200,00	5	0,82
Ordinador Cromatògraf	50	800,00	10	0,46
Balança de sensibilitat 0,0001 g	7	904,80	5	0,14
Espectrofotòmetre FTIR	1	20000,00	10	0,23
Ordinador Espectrofotòmetre	1	800,00	10	0,01
TOTAL				**28,42 €**

8.2.2. Cost de l'electricitat i l'aigua

Es calcula el cost de l'electricitat (Taula 8.5.), tenint en compte els equips que més cost poden generar. L'apartat d'altres inclouria els llums i altres equips.

Taula 8.5. Cost de l'electricitat

Equip	Potència màxima (W)	Temps (Hores)	Consum (kW·h)	Preu (€/kW·h)	Cost (€)
Placa calefactora	1020	872	889,44	0,126	133,42
Frigorífic	160	960	153,6	0,126	23,04
Cromatògraf	2000	30	60	0,126	9,00
Ordinador cromatògraf	400	50	20	0,126	3,00
Espectrofotòmetre FTIR	3000	1	3	0,126	0,45
Ordinador Espectrofotòmetre	400	1	0,4	0,126	0,06
Altres	-	-	25	0,126	3,75
TOTAL					**145,08 €**

Finalment, en la Taula 8.6. es calcula el cost de l'aigua de l'aixeta utilitzada per netejar el material i per la filtració al buit; i l'aigua destil·lada emprada per les dissolucions i altres tasques.

Taula 8.6. Cost de l'aigua

Concepte	Quantitat	Preu	Cost
Aigua aixeta (per netejar i per la filtració al buit)	1000 L	1,95 € /m^3	1,95 €
Aigua destil·lada	30 L	0,60 €/L	18,00 €
TOTAL			**19,95 €**

8.2.3. Cost personal

En aquest subapartat es calcula el cost personal (Taula 8.7) de la fase d'experimentació, tenint

en compte que s'han necessitat aproximadament 400 hores. S'ha establert un preu de 15 €/h en base a la formació específica requerida en aquesta fase.

Taula 8.7 Cost personal

Concepte	Hores	Preu(€/h)	Cost (€)
Experimentació	335	15	5.025,00
TOTAL			**5.025,00 €**

8.2.4. Cost total fase d'experimentació

En la Taula 8.8, es mostra el cost total de la fase d'experimentació.

Taula 8.8 Total de la fase d'experimentació

Concepte	Cost (€)
Reactius	181,53
Material	1.324,19
Equips	28,42
Electricitat	145,08
Aigua	19,95
Cost personal	5.025,00
TOTAL	**6.724,17 €**

8.3. Cost de la fase d'anàlisi dels resultats

En la Taula 8.9 es mostra el cost de la fase d'anàlisi dels resultats. S'han necessitat aproximadament 15 h per analitzar els resultats de la cromatografia GPC i l'espectrofotometria FTIR. En l'apartat de cost personal s'ha establert un preu de 15 €/h en base a la formació específica requerida en aquesta fase.

Taula 8.9 de la fase d'anàlisi dels resultats

Concepte	Quantitat/Hores	Preu	Vida útil	Cost
Material				
Ordinador personal	15 h	549,00 €	3 anys	0,31 €
Material d'oficina	-	-	-	10,00 €
Cost personal				
Anàlisi dels resultats	15 h	15€/h	-	225,00 €
Electricitat				

Ordinador	6 kW·h	0,126 €/kW·h	-	0,76 €
TOTAL				**236,07 €**

8.4. Cost de la fase de l'elaboració de la memòria

En la Taula 8.10 es mostra el cost de la fase d'elaboració de la memòria. El cost personal s'ha calculat tenint en compte que s'han emprat aproximadament 150 hores per l'elaboració de la memòria a un preu establert de 15 €/h.

Taula 8.10 Cost de la fase d'elaboració de la memòria

Concepte	Quantitat/Hores	Preu	Vida útil	Cost
Material				
Ordinador personal	150 h	549,00 €	3 anys	3,13 €
Material d'oficina	-	-	-	10,00 €
Cost personal				
Elaboració de la memòria	150 h	15 €/h	-	2.250,00€
Electricitat				
Ordinador	60 kW·h	0126 €/kW·h	-	7,56 €
TOTAL				**2.270,69 €**

8.5. Cost global

Finalment, a partir del cost de cada fase i tenint en compte l'IVA es calcula el cost global, que es mostra a la Taula 8.11.

Taula 8.11 Cost global del projecte

Concepte	Cost (€)
Cost de la fase recerca bibliogràfica i planificació	1.867,04
Cost de la fase d'experimentació	6.724,17 €
Cost de la fase d'anàlisis de resultats	236,07
Cost de la fase d'elaboració de la memòria	2.270,69
SUBTOTAL	**11.097,97 €**
IVA (21 % del SUBTOTAL)	2.330,57 €
TOTAL	**13.428,54 €**

Per tant, el cost global d'aquest projecte és d' aproximadament TRETZE MIL CINC-CENTS EUROS 13 500 €.

9. Anàlisi de l'impacte ambiental.

En aquest apartat s'analitza l'impacte ambiental que produeix la realització d'aquest projecte. L'impacte s'avalua considerant els següents factors:

- La generació de residus
- L'emissió de compostos orgànic volàtils
- El consum d'electricitat i aigua
- Efectes de la toxicitat dels reactius

9.1. Generació de residus

En les diferents tasques realitzades durant la fase experimental, s'han generat residus que s'ha de separar adequadament en contenidors especials, degut a la seva naturalesa química. Posteriorment aquests residus seran tractats per una empresa externa de gestió de residus de laboratori. D'acord a les recomanacions de la UPC [33] els residus generats en aquest projecte s'ha classificat segons la Taula 9.1.

Taula 9.1 Gestió dels residus

Classificació		Descripció	Residu
Dissolvents	Halogenats	Productes líquids orgànics amb més del 2% d'halogen	Dissolució que conté cloroform
	No halogenats	Líquids orgànics que contenen menys d'un 2% d'halògens	Metanol Acetona
Sòlids	Envasos de plàstic contaminats	Envasos contaminats amb productes químics	Eppendorfs contaminats
	Envasos de vidre contaminats	Envasos contaminats amb productes químics	Tubs d'assaig contaminats Pipetes Pasteur
	Absorbents contaminats	Substàncies que absorbeixen productes químics	Guants Paper contaminat
	Pastosos orgànics halogenats	Productes químics de naturalesa orgànica o contaminats amb productes químics orgànics	Residus de les reaccions
	Pastosos orgànics no halogenats	Productes químics de naturalesa orgànica o contaminats amb productes químics orgànics	Residus de les reaccions

9.2. Emissió de compostos orgànics volàtils

Durant la realització de la fase experimental, s'ha utilitzat reactius com: cloroform, acetona o metanol, que a temperatura ambient s'evaporen una mica i generen compostos orgànic volàtils. La majoria d'aquests reactius s'han manipulat sota la campana extractora de gasos, de manera que s'ha produït una emissió cap a l'exterior d'aquests gasos.

Com s'ha procurat tenir cura, a l'hora de la utilització, de deixar aquests reactius tapats la major part de temps possible i les quantitats utilitzades són relativament petites, es consideren negligibles les quantitats de compost orgànic volàtil que s'hagin pogut formar.

8.3 Consum d'electricitat i aigua

Tant del consum d'electricitat com del consum d'aigua, es deriven indirectament emissions de gasos amb efecte hivernacle (GEH). Com que el diòxid de carboni CO2 és el gas que més contribueix al canvi climàtic, els sis gasos amb efecte d'hivernacle que recull el Protocol de Kyoto: diòxid de carboni (CO_2), metà (CH_4), òxid de nitrogen (N_2O), hidrofluorocarburs (HFC), perfluorocarburs (PFC) i hexafluorur de sofre (SF_6);es refereixen com a CO_2 equivalent ($CO_{2\ eq}$).

Per al càlcul de les emissions derivades del consum elèctric, s'aplica un factor d'emissió de CO_2 anomenat mix elèctric (g de $CO_{2\ eq}$/kWh). Aquest factor contempla la producció bruta de la xarxa elèctrica peninsular i sense incloure els kWh provinents de fonts d'energia renovable.

Per al càlcul de les emissions derivades del consum d'aigua, s'aplica un factor d'emissió de CO_2 (g de $CO_{2\ eq}$/kWh) que contempla: la captació, la potabilització, la distribució, el sistema de clavegueram, el tractament d'aigua residual, el retorn de l'aigua depurada al medi i la reutilització [34].

En la Taula 9.2, es mostra els dos factors d'emissió de CO_2 aplicats i les emissions de CO_2 obtingudes per al consum d'aigua i d'electricitat en aquest projecte.

Taula 9.2. Emissions de CO2 per al consum d'aigua i electricitat

Concepte	Consum	Factor d'emissió de CO_2	Emissió de CO_2
Electricitat	1257,44 kW·h	267 g de $CO_{2\ eq}$/kWh	335736,48 g de $CO_{2\ eq}$
Aigua	1 m^3	395 g de $CO_{2\ eq}$/m^3	395 g de $CO_{2\ eq}$
TOTAL			**336,13 kg de $CO_{2\ eq}$**

Les emissions totals de $CO_{2\ eq}$ han estat aproximadament de 336,16 kg de $CO_{2\ eq}$. Per fer-se una idea, un viatge des de Barcelona fins a Ourense (aproximadament 1748 km) amb Renfe AVE s'emetrien uns 448,71 kg de $CO_{2\ eq}$. [34]

9.3. Efectes de toxicitat dels reactius

Taula 9.3. Matriu per l'avaluació de l'efecte dels reactius. Llegenda: (X)=Sí (-) = Sense dades disponibles *Cancerigen si es descomposa.

Reactius	Salut humana							Protecció			Informació ecològica				
	Tòxic	Corrosiu	Cancerigen	Irritació ocular	Irritació pell	Irritació del tracte respiratori	Efectes molt greus per ingestió	Guants	Ulleres de protecció	Treballar en la campana extractora	Tòxic en general	Tòxic pels organismes aquàtics	És bioacumulable	És persistent	És degradable
Silicona líquida	-			X	X			X	X		-	X	-	-	-
Clorur d'hidroxilamoni				X	X	X	X	X	X						
para-Formaldehid	X		*	X	X	X	X	X	X		X	X	-	-	X
Hidròxid de sodi		X		X	X	X	X	X	X		X	X	-	-	-
Formamida			X			X	X	X	X		X	X	-	-	X
DAMN	X			-	-	-	-	X	X		-	-	-	-	-
Formiat d'amoni	X			X	X	X		X	X		-	-	-	-	-
Àcid glicolonitril	X			-	-	-	X	X	X	X	-	-	-	-	-
DL-Lactonitril	X			-	-	-	X	X	X	X	-	-	-	-	-
Glicina															
Àcid glutàmic															
Àcid aspàrtic															
Àcid orto-fosfòric 85%		X		X	X	X		X	X			X	-	-	-
Cloroform	X		X	X	X		X	X	X	X	-	X	X		
Amoníac 30 %	X	X		X	X	X		X	X	X	X	X		-	
Metanol	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X
Ninhidrina	X			X	X	X		X	X		-	-	-	-	-
Azida de sodi	X			X	X	X	X	X	X		X	X	-	-	-
di-Hidrogen fosfat de sodi															
Acetona	X			X	X	X		X	X		-	X			X
Polietilenglicol				X	-	-		X	X		-	-	-	-	-
Vermiculita															
Alúmina															
Bòrax				X	X	X	X	X	X		-	X	-	-	-
Gel de sílice	X	-	-	-	-	-	-	X	X		-	X	-	-	-

La Taula 9.3. mostra una matriu, on s'avalua de manera qualitativa els efectes dels reactius sobre la salut humana, la protecció adient per a la seva manipulació i l'efecte sobre altres organismes vius.

Tot i que en alguns casos no es necessari la utilització de guants, és recomanable per evitar accidents sempre portar guants i ulleres de protecció quan es treballa en el laboratori.

Conclusions

Després de l'anàlisi amb cromatografia de permeabilitat en gel dels diferents productes obtinguts en les reaccions i de la caracterització amb espectroscòpia FTIR d'algunes de les mostres, és poden realitzar les següents conclusions particulars:

- Els oligòmers de pes molar entre 1576, 55-1705,30 g/mol, obtinguts en la reacció del formaldehid amb hidroxilamina (reacció 1), són pèptids formats pels aminoàcids que obtingueren Hatanaka et al., ja que en la caracterització amb espectroscòpia FTIR s'han obtingut les bandes característiques dels grups funcionals dels aminoàcids i l'enllaç peptídic. D'altra banda, la variació en les condicions de relació molar i presència o absència de catalitzador no ha condicionat la formació d'un altre tipus de pèptid, de pes molar més gran.

- En la reacció de la formamida (reacció 2), els catalitzadors no afavoreixen la formació de polímers de més alt pes molar, ja que s'obté un oligòmer de pes molar semblant (aproximadament 14000 g/mol) tant en presència com en absència de catalitzador.

- En la reacció de la formamida més formaldehid (reacció 3), la presència de catalitzadors afavoreix la formació de oligòmers. Aparentment, la relació molar formamida:formaldehid 1:1 seria l'adequada, ja que s'obté un oligòmer de pes molar lleugerament més elevat respecte els altres. L'alúmina afavoreix més en la formació de l'oligòmer, ja que en presència d'aquesta, els pesos molars obtinguts són una mica més grans que en presència de vermiculita. L'espectroscòpia FTIR, mostra la presència de substàncies tipus aminoàcids o pèptids.

- En la reacció del diaminomaleonitril en solució aquosa (reacció 4), la formació de substàncies polimèriques queda afavorida per la dilució, a un mateix temps de reacció, es a dir, que s'obté més quantitat.

- En la reacció del diaminomaleonitril amb el formiat d'amoni (reacció 5), la variació en les relacions molars dels reactiu, no condiciona la formació d'un tipus o un altre de substància polimèrica, ja que els oligòmers obtinguts són de pes molar semblant(1400 g/mol).

- Les reaccions 6 i 7 del glicolonitril i lactonitril (productes de la reacció del HCN amb aldehids) en medi lleugerament bàsic dona substàncies oligomèriques (entre 1000 i 4000 g/mol) de natura desconeguda.

- S'ha comprovat en les reaccions de glicina amb àcid glutàmic (reacció 8) i àcid aspàrtic (reacció 9) es formen substàncies polimèriques de tipus peptídic per l'escalfament de biomolècules, tals com aminoàcids.

Finalment, es pot dir que s'ha assolit l'objectiu general, obtenint que del tractament energètic de mescles prebiòtiques en resulten polímers bioquímics.

Agraïments

En primer lloc, vull agrair sincerament, al meu tutor Jordi Bou Serra, per haver-me ofert aquesta gran oportunitat amb aquest projecte, per les seves ensenyances en el laboratori , pels consells, la infinita paciència en resoldre tots els dubtes i preguntes i sobretot per la seva dedicació. Moltes gràcies!

M'agradaria agrair a totes les persones que han compartit el laboratori amb mi i que en algun moment m'han ajudat a resoldre algun problema o simplement s'han interessat pel meu treball, en especial, a la Belén, al Martí i a la Manel.

També m'agradaria agrair al professor Jordi Puiggalí, per deixar-me utilitzar l'espectrofotòmetre d'infraroig per realitzar els anàlisis necessaris de la part experimental.

I finalment, vull agrair de tot cor a la meva família, a Brenda, a Deisy, Jessica i a Patricia que m'han donat suport incondicional per arribar fins aquí.

A TOTS MOLTES GRÀCIES!

Bibliografia

Referències bibliogràfiques

[1] BRUYLANTS, G., BARTYK, K., REISSE, J. *Prebiotic chemistry: A fuzzy field. Comptes Rendus Chimie,* Vol.14, 2011, p.388-391.

[2] CLEAVES II, H.J. *Prebiotic chemistry: What we know, what we don't. Evolution Education and Outreach,* Vol. 5, 2012, p. 342-360.

[3] KVENVOLDEN, K.A., LAWLESS, J.G., PONNAMPERUMA, C. No*nprotein Aminoacids in the Murchison Meteorite. Proceedings of the National Academy of Sciences,* Vol. 68(2), 1971, p. 486-490.

[4] CLEAVES II, H.J., CHALMERS, J.H., LAZCANO, A., MILLER, S.L., BADA, J.L. A Reassessment of Prebiotic Organic Synthesis in Neutral Planetary Atmospheres, Origin of Life and Evolution of Biospheres, Vol. 38, 2008, p. 105-115.

[5] CLEAVES II, H.J. *Prebiotic Chemistry: Geochemical Context and Reaction Screening. Life,*Vol. 3, 2013, p.331-345.

[6] MILLER, S.L. *Production of Some Organic Compounds under Possible Primitive Earth Conditions, Journal of the American Chemical Society,* Vol. 77(9), 1955, p. 2351-2361.

[7] MILLER, S.L, CLEAVES, H.J. *Prebiotic Chemistry on the Primitive Earth, Systems Biology*, Vol. 1(1), 2007, p. 3-56.

[8] Werner Müller-Esterl "*Bioquímica.Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida", Editorial Reverté*, 2008, p.3-15.

[9] THE UNIVERSITY OF ARIZONA. Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental,[http://toxamb.pharmacy.arizona.edu/c1-1-1-2.html, Maig del 2015]

[10] FERRIS JP, WOS JD, NOONER DW, ORÓ J. *Chemical evolution. XXI. The amino acids released on hydrolysis of HCN oligomers, Journal of Molecular Evolution*, Vol. 3(3), 1974, p. 225-231

[11] THE UNIVERSITY OF ARIZONA. Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental,[http://toxamb.pharmacy.arizona.edu/c1-1-1-3.html, Maig del 2015]

[12] SALADINO, R., BOTTA, G., PINO, S., COSTANZO, G., DI MAURO, E. *Genetics first*

or metabolism first? The formamide clue. Chemical Society Reviews, Vol. 41, 2012, p.5526–5565.

[13] *Peter van der Gulik; Serge Massar; Dimitri Gilis; . (2009). The first peptides: The evolutionary transition between prebiotic amino acids and early proteins. Journal of Theorical Biology.*

[14] LEYTON, P. et al. *Influence of aluminium oxide on the prebiotic thermal synthesis of Gly-Glu-(Gly-Glu)$_n$ polymer*. BioSystems, Volume 104, 2011 p.118-126.

[15] Ruiz-Bermejo, M., Zorzano, M.P., Osuna-Esteban, S., *Simple Organics and Biomonomers Identified in HCN Polymers: An Overview*, Life, Vol.3, 2013, p.421-448.

[16] CLEAVES II, H.J., *The prebiotic geochemistry of formaldehyde, Precambrian Research*, Vol. 164, 2008, p.111-118.

[17] RITSON, D.J., SUTHERLAND, J.D., *Synthesis of Aldehydic Ribonucleotide and Amino Acid Precursors by Photoredox Chemistry, Angewandte Chemie International Edition in English*, Vol. 52(22), 2013, p. 5845-5847.

[18] HATANAKA, H., EGAM, F., *Selective Formation of Certain Amino Acids from Formaldehyde and Hydroxylamine in a Modified Sea Medium Enriched with Molybdate, Journal of Biochemistry*, Vol.82, 1977, p.499-502.

[19] SALADINO, R., BARONTINI, M., COSSETTI, C., DI MAURO, E., CRESTINI, C., The *Effects of Borate Minerals on the Synthesis of Nucleic Acid Bases, Amino Acids and Biogenic Carboxylic Acids from Formamide, Origen of Life and Evolution of Biospheres*, Vol. 41, 2011, p.317-330.

[20] HILL, A., ORGEL, L.E.*, Synthesis of adenine from HCN tetramer and ammonium formate, Origin of Life and Evolution of the Biospheres*, Vol.32, 2002, p.99-102.

[21] ARRHENIUS, G., BALDRIDGE, K.K., RICHARDS.GROSS, S., SIEGEL, J.S., *Glyconitrile Oligomerazation: Structures of Isolated Oxazolines, Potencial Heterocycles on the Early Earth, Journal of Organic Chemistry*.Vol. 62 (16), 1997,pp 5522–5525.

[22] Leyton, P. *Influence of aluminium oxide on the prebiotic thermal synthesis of Gly-Glu-(Gly-Glu)$_n$ polymer*. BioSystems, Volume 104, 2011 p.118-126.

[23] NAKATO, T. KUSUNO, A., KAKUCHI, T., *Synthesis of Poly(succinimide) by Bulk*

Polycondesation of L-Aspartic Acid with an Acid Catalyst, Journal of Polymer Science, Vol. 38, 2000, p.117-122.

[24] AGILENT TECHNOLOGIES, *An Introduction to Gel Permeation Chromatography and Size Exclusion Chromatography*. [http://www.chem.agilent.com /Library/primers/Public/5990-6969EN%20GPC%20SEC%20Chrom%20Guide.pdf, Febrer del 2015]

[25] BOU, J., "Determinación de pesos moleculares de polímeros por GPC". Departament d'Enginyeria Química ETSEIB 2014.

[26] GUTIÉRREZ-BOUZÁN, M.C., BURDÓ, A., CEGARRA ,J., *La cromatografía de exclusión: análisis de la distribución de pesos moleculares en siliconas por GPC*, BOLETÍN INTEXTER (U.P.C.) 2009. Nº. 135.

[27] WATERS, GPC Basic Chemistry, [http://www.waters.com/waters/es_ES/GPC-Basic-Chemistry/nav.htm?cid=10167593, Març del 2015]

[28] ANDERSON, G., MARTÍNEZ, P.N., *Experimentos de Química Orgànica. Con enfoque en ciencias de la vida*, Ediciones Elizcom: 2008, p. 101-103

[29] UNIVERSITAT DE BARCELONA, Operaciones básicas en el laboratorio de química, Barcelona, 2015. [http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/index1.html#, Març del 2015]

[30] NORIA CORPORATION, Espectrometría infrarroja por Transformadas de Fourier, Mèxic, 2014.[http://noria.mx/lublearn/espectrometria-infrarroja-por-transformadas-de-fourier/, Març del 2015]

[31] CAËR. L.S. *A trapped water network in nanoporous material: the role of interfaces. Physical Chemistry Chemical Physics,* Vol. 13, 2011, p. 17658-17666.

[32] Saladino, R., Crestini C., Pino, S., Costanzo, G., Di Mauro, E., *Formamide and the origin of life,Physics of Life Reviews*, Vol. 9, 2012, p.84-104

[33] UNIVERSITAT POLITÉCNICA DE CATALUNYA. RECURSOS I SERVEIS PER A LA GESTIÓ SOSTENIBLE. *Residus.* [http://www.upc.edu/gestiosostenible/residus, juny de 2015]

[34] OFICINA CATALANA DEL CANVI CLIMÀTIC. *Guia pràctica per al càlcul d'emissions De gasos amb efecte d'hivernacle (GEH).* Març 2015. [http://canviclimatic.gencat.cat/ca/redueix_emissions/guia_de_calcul_demissions_de_co2/, Juny de 2015]

Bibliografia complementària

INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO. *Fichas de Seguridad. [http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.a82abc159115c8090128ca10 060961ca/?vgnextoid=4458908b51593110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD,* Febrer del 2015]

MSDS. *Material Safety Data Sheet* [http://www.msds.com/, Febrer del 2015]