

**OXIDACIÓN DE LINOLEATO DE METILO CON OXÍGENO SINGULETE
GENERADO QUÍMICAMENTE POR EL SISTEMA $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$**

FREDDY ALONSO LEÓN VILLAMIZAR

**Universidad Industrial de Santander
Facultad de Ciencias
Escuela de Química
Bucaramanga
2007**

**OXIDACIÓN DE LINOLEATO DE METILO CON OXÍGENO SINGULETE
GENERADO QUÍMICAMENTE POR EL SISTEMA $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$**

FREDDY ALONSO LEÓN VILLAMIZAR

Tesis de grado como requisito para optar el título de
Químico

Directores:

Dra. Martha Cecilia Daza Espinosa

Dr. Fernando Martínez Ortega

Co-director:

Químico Carlos Enrique Díaz Uribe

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2007

***“A mis padres, Zoraida y Alonso;
A mi tía María, y demás familia
que quiero mucho,
quienes siempre me brindaron
su comprensión y apoyo.....”***

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos los que de cualquier forma han contribuido a mi formación como persona y profesional, muy especialmente a:

A Colciencias y al grupo de investigación en bioquímica teórica, por su aporte financiero, también al grupo de investigación catalítica, por proporcionar las instalaciones para la realización del trabajo.

A los doctores Martha Cecilia Daza y Fernando Martínez por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación.

Al químico Carlos Díaz por la colaboración y constante asesoría en la ejecución del trabajo

Al doctor Enrique Mejía y al químico José Carlos Gutiérrez, por aceptar evaluar este estudio, sus recomendaciones y contribuciones.

A mis compañeros del centro de investigación en catálisis (en especial a la magíster Adriana Becerra por su colaboración) y los del grupo de investigación en bioquímica teórica

A mis amigos de carrera (Melbita, Néstor, J. Pablo, Maria Tere, Johan, Ederson y Carlos) por los días y noches de esfuerzos y alegrías.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	5
1.1. OXÍGENO SINGULETE	5
1.2. PROPIEDADES DEL OXÍGENO SINGULETE	5
1.3. GENERACIÓN DEL OXÍGENO SINGULETE	6
1.3.1. Métodos químicos	6
1.3.1.1. Reacciones de descomposición del peróxido de hidrógeno	7
1.3.1.1.1. <i>Descomposición de peróxido de hidrógeno con iones molibdato</i>	7
1.3.1.1.2. <i>Descomposición del peróxido de hidrógeno con hipoclorito de sodio</i>	8
1.3.1.2. Reacción de triarilfosfato y ozono	8
1.3.1.3. Descomposición de endoperóxidos policicloaromáticos	9
1.3.2. Métodos físicos	9
1.4. REACCIONES DEL OXÍGENO SINGULETE	10
1.4.1. Reacción de ciclo adición $[4\pi + 2\pi]$	11
1.4.2. Reacción “ene”	12
1.4.3. Reacción de adición $[2\pi + 2\pi]$	14

1.4.4. Reacción de oxidación de átomos con pares de electrones libres	15
1.5. DETECCIÓN DEL OXÍGENO SINGULETE	15
1.5.1. Métodos directos	15
1.5.2. Métodos indirectos	16
1.6. DESACTIVACIÓN DEL OXÍGENO SINGULETE	17
1.7. GENERALIDADES DE LAS MICROEMULSIONES	17
1.8. EFECTOS BIOLÓGICOS DEL OXÍGENO SINGULETE	20
2. ESTADO DEL ARTE	22
3. METODOLOGÍA	27
3.1. REACTIVOS Y EQUIPOS	27
3.2. PREPARACIÓN DE LA MICROEMULSIÓN (W/O)	28
3.3. GENERACIÓN QUÍMICA DEL $^1\text{O}_2$ Y OXIDACIÓN DE SUSTRATOS ORGÁNICOS	29
3.4. DETECCIÓN INDIRECTA DEL $^1\text{O}_2$	30
3.4.1. Atrapamiento químico con antraceno	30
3.4.2. Desactivación del $^1\text{O}_2$ con NaN_3	31
3.5. DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN CINÉTICA DE LA REACCIÓN DE OXIDACIÓN DEL ANTRACENO CON EL $^1\text{O}_2$	31
3.6. DETECCIÓN DEL RADICAL HIDROXILO ($\cdot\text{OH}$) CON EL TEREFTALATO DISÓDICO	32

3.7. IDENTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL	32
LINOLEATO DE METILO CON $^1\text{O}_2$	
3.8. DETERMINACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL	33
ANTRACENO Y DEL LINOLEATO DE METILO CON $^1\text{O}_2$	
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1. GENERACIÓN DE $^1\text{O}_2$	35
4.1.1. Atrapamiento químico del $^1\text{O}_2$ con antraceno	36
4.1.1.1. Estudio de la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ por	36
espectroscopía UV-Vis	
4.1.1.2. Determinación de la expresión cinética de la oxidación del	39
antraceno con el $^1\text{O}_2$	
4.1.1.3. Análisis de la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ por GC-MS	41
4.1.1.4. Detección del radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) con el tereftalato	45
disódico	
4.1.2. Inhibición del $^1\text{O}_2$ con azida de sodio	46
4.2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL	47
LINOLEATO DE METILO CON EL $^1\text{O}_2$	
4.2.1. Identificación de los productos de oxidación del linoleato de	48
metilo con el $^1\text{O}_2$ por espectroscopía UV-Vis	
4.2.2. Identificación de los productos de oxidación del linoleato de	49
metilo con el $^1\text{O}_2$ por GC-MS	
4.3. IDENTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL	58

LINOLEATO DE METILO CON EL $^1\text{O}_2$ POR HPLC

5. CONCLUSIONES	60
6. RECOMENDACIONES	62
7. BIBLIOGRAFÍA	63
7. ANEXOS	70

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Porcentaje de conversión del antraceno en su oxidación con $^1\text{O}_2$ en función del tiempo.	38
Tabla 2. Efecto de la concentración de antraceno y de H_2O_2 sobre el % de $^1\text{O}_2$ que reacciona con el antraceno en 15 minutos de reacción.	41
Tabla 3. Efecto de la NaN_3 sobre la concentración de antraceno en la reacción de oxidación del antraceno con $^1\text{O}_2$.	47
Tabla 4. Iones comunes para las cuatro cetonas alílicas isómeras e intensidades relativas (%).	51
Tabla 5. Iones característicos y sus intensidades relativas (%) en el espectro de masas para cada una de las cetonas alílicas.	51
Tabla 6. Iones comunes para los cuatro alcoholes alílicos isómeros e intensidades relativas (%).	55
Tabla 7. Iones característicos y sus intensidades relativas (%) en el espectro de masas para cada una de los alcoholes alílicos.	56

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diagrama de energías y distribución de los electrones en los orbitales π^*2p , de las especies excitadas del oxígeno $^1\Delta_g O_2$ y $^1\Sigma_g O_2$.	6
Figura 2. Representación de los mecanismos de adición del 1O_2 al dieno conjugado.	12
Figura 3. Esquemas de reacción propuestos para la reacción “ene” del 1O_2 .	13
Figura 4. Esquemas de formación del intermediario peróxido polar, en la reacción “ene” del oxígeno singulete con un doble enlace.	13
Figura 5. Esquema de la fragmentación del dioxetano a carbonilos.	14
Figura 6. Vías de desactivación o apagamiento del oxígeno singulete.	17
Figura 7. Representación de la microemulsión (W/O) utilizada para oxidar sustratos orgánicos con oxígeno singulete generado por el sistema MoO_4^{-2}/ H_2O_2 .	19
Figura 8. Productos de autooxidación del linoleato de metilo en presencia de α -tocoferol (ArOH).	22
Figura 9. Productos de fotooxidación del linoleato de metilo vía radicales libres y oxígeno singulete.	23
Figura 10. Oxidación fotosensibilizada del linoleato de metilo vía	24

radicales libres y $^1\text{O}_2$.

Figura 11. Generación del oxígeno singlete por descomposición del intermediario oxotriperoxomolibdato a través de una reacción redox entre dos ligandos peroxo del complejo de molibdeno. 25

Figura 12. Competencia entre la oxidación de sustrato hidrofílico con oxígeno singlete y su epoxidación con el intermediario $\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$ generador de la especie activa. 26

Figura 13. Preparación de la microemulsión (W/O). 29

Figura 14. Extracción de la fase orgánica del medio de reacción. 34

Figura 15. Oxidación del antraceno con $^1\text{O}_2$ generado por el sistema $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$ en función del tiempo. 37

Figura 16. Porcentaje de conversión del antraceno en su reacción de oxidación con $^1\text{O}_2$ en función del tiempo. 39

Figura 17. Efecto de la concentración del antraceno y del H_2O_2 sobre el % de conversión del antraceno en la oxidación con $^1\text{O}_2$. 40

Figura 18. Ruta de fragmentación del espectro MS de la 9,10-antraquinona. 42

Figura 19. Ruta de fraccionamiento del espectro MS de la antrona. 43

Figura 20. Ruta de fraccionamiento del espectro MS de la 9-hidroxiantrona. 43

Figura 21. Ruta de fragmentación del endoperóxido-9,10-antraceno.	44
Figura 22. Reacciones del antraceno con el $^1\text{O}_2$ que ocurren en el medio de reacción y en el puerto de inyección del cromatógrafo.	45
Figura 23. Formación del 2-hidroxitereftalato disódico en el medio de reacción en función del tiempo.	46
Figura 24. Atrapamiento del $^1\text{O}_2$ por NaN_3 durante la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$.	46
Figura 25. Desactivación del $^1\text{O}_2$ por la NaN_3 para regenerar el oxígeno triplete.	47
Figura 26. Oxidación de linoleato de metilo con $^1\text{O}_2$ en función del tiempo.	48
Figura 27. Formación de los hidroperóxidos alílicos de dienos conjugados en la oxidación de linoleato de metilo con $^1\text{O}_2$.	49
Figura 28. Patrón de fraccionamiento del ión molecular de las cetonas provenientes de los hidroperóxidos de la oxidación del linoleato de metilo con $^1\text{O}_2$.	50
Figura 29. Patrón de fragmentación del ión molecular de la 9-ceto-10,12-octadecadienoato de metilo (1).	52
Figura 30. Patrón de fragmentación del ión molecular de la 13-ceto-9,11-octadecadienoato de metilo (2).	53
Figura 31. Patrón de fragmentación del ión molecular de la 10-ceto-	53

8,12-octadecadienoato de metilo (3).

Figura 32. Patrón de fragmentación del ión molecular de la 12-ceto- 54
9,13-octadecadienoato de metilo (4).

Figura 33. Patrón de fraccionamiento del ión molecular de los alcoholes 55
provenientes de los hidroperóxidos de la oxidación del LM con $^1\text{O}_2$.

Figura 34. Patrón de fragmentación del ión molecular del 9-hidroxi- 56
10,12-octadecadienoato de metilo (1).

Figura 35. Patrón de fragmentación del ión molecular del 13-hidroxi- 57
9,11-octadecadienoato de metilo (2).

Figura 36. Patrón de fragmentación del ión molecular del 10-hidroxi- 57
8,12-octadecadienoato de metilo (3).

Figura 37. Patrón de fragmentación del ión molecular del 12-hidroxi- 58
9,13-octadecadienoato de metilo (4).

Figura 38. Cromatogramas de HPLC de los hidroperóxidos alílicos 59
producidos en la oxidación del linoleato de metilo con el $^1\text{O}_2$.

Figura 39. Columna de intercambio aniónico Amberjet 4200 con grupos 71
funcionales $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ usada para la separación de productos.

Figura 40. Determinación del SDS con azul de metileno en la post- 72
oxidación.

Figura 41. Curva de Calibración del antraceno en etanol absoluto para 73
el UV-Vis.

Figura 42. Espectro de UV-Vis de los patrones utilizados en la curva de calibración del antraceno. 73

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXOS I. ESPECTRO UV-VIS DEL ANTRACENO EN ETANOL ABSOLUTO.	70
ANEXOS II. PREPARACIÓN DE LA COLUMNA DE INTERCAMBIO ANIÓNICO.	71
ANEXOS III. DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS CON AZUL DE METILENO.	72
ANEXOS IV. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ANTRACENO PARA EL UV-VIS.	73
ANEXO V. ESPECTRO DE MASAS DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL ANTRACENO CON EL $^1\text{O}_2$ GENERADO POR EL SISTEMA QUÍMICO $\text{MoO}_4^{-2}/\text{H}_2\text{O}_2$.	74
ANEXO VI. ESPECTRO DE MASAS DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL LINOLEATO DE METILO CON EL $^1\text{O}_2$ GENERADO POR EL SISTEMA QUÍMICO $\text{MoO}_4^{-2}/\text{H}_2\text{O}_2$	76

ABREVIATURAS

H_2O_2	Peróxido de hidrógeno
$^1\text{O}_2$	Oxígeno singulete
LM	Linoleato de metilo
$\cdot\text{OH}$	Radical Hidroxilo
λ	Longitud de onda
MoO_4^{2-}	Ión molibdato
W/O	Agua en aceite o micela invertida
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Molibdato de sodio dihidratado
NaN_3	Azida de sodio
SDS	Dodecil sulfato de sodio
GC	Cromatografía de gases
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
GC-MS	Cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas
UV-Vis	Ultravioleta visible
μs	Microsegundos
min	Minutos

OXIDACIÓN DE LINOLEATO DE METILO CON OXÍGENO SINGULETE GENERADO QUÍMICAMENTE POR EL SISTEMA $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$

Freddy Alonso León Villamizar*, Martha Cecilia Daza Espinosa**, Fernando Martínez Ortega**, Carlos Enrique Díaz Uribe***.

Grupo de investigación en Bioquímica teórica-GBQT, Centro de investigación en catálisis-CICAT, Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

Palabras Clave: Oxígeno singulete, linoleato de metilo, Oxidación lipídica, microemulsión, radical hidroxilo.

RESUMEN

En el siguiente trabajo se estudio la oxidación del LM con el $^1\text{O}_2$, el cual se generó por el sistema químico $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$, utilizando como medio de reacción una micela tipo (W/O). La identificación indirecta del oxígeno singulete se llevó a cabo por dos métodos, el primero consistió en la captura de esta especie por el antraceno y el segundo mediante la desactivación del oxígeno singulete con azida de sodio. El seguimiento de la reacción se realizó por espectrofotometría UV-Vis, midiendo la absorbancia en la banda de 375 nm. La antraquinona, el 9,10-endoperóxido, la 9-hidroxiantrona, y la antrona fueron caracterizados por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM), los resultados indican la participación de otra sustancia radicalaria diferente al oxígeno singulete

Los hidroperóxidos dieno conjugados se identificaron por espectrofotometría UV-Vis, basándose en la absorbancia que presentan los dieno conjugados en la banda comprendida entre 224 y 240 nm.

La determinación por CG-MS de los hidroperóxidos dienos conjugados 10-hidroperóxi-trans-8-cis-12-octadecadienoato de metilo, y 12-hidroperóxi-cis-9-trans-13-octadecadienoato de metilo y los dienos no conjugados 10-hidroperóxi-trans-8-cis-12-octadecadienoato de metilo, y 12-hidroperóxi-cis-9-trans-13-octadecadienoato de metilo, obtenidos en la oxidación del LM con el $^1\text{O}_2$, se llevó a cabo mediante el análisis de masa de los alcoholes y cetonas provenientes de la descomposición térmica de estos hidroperóxidos. Sin embargo, estos productos se detectaron por HPLC en la de longitud de onda de 200 nm para los hidroperóxidos dieno conjugados, y de 233 para los dienos no conjugados.

Además por medio de la reacción del tereftalato disódico se detecto el radical $\cdot\text{OH}$, el cual pudo generarse a partir del $^1\text{O}_2$ y el H_2O_2 , por la basicidad del medio según la reacción propuesta por Lau.

* Trabajo de grado en química

** Directores de tesis, facultad de ciencias, escuela de química

*** Co- Directores de tesis, facultad de ciencias, escuela de química

OXIDATION OF METHYL LINOLEATE BY SINGLET OXIGEN GENERATED CHEMICALLY BY THE $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$ SYSTEM

Freddy Alonso León Villamizar*, Martha Cecilia Daza Espinosa**, Fernando Martínez Ortega**, Carlos Enrique Díaz Uribe***.

Grupo de investigación en Bioquímica teórica-GBQT, Centro de investigación en catálisis-CICAT, Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

Key words: singlet oxigent, methyl linoleate , lipid Oxidation, microemulsion, hydroxile radical.

Abstract

In the following work study the oxidation of the LM with $^1\text{O}_2$, which was generated by the chemical system $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$, using like means of reaction one micela type (W/O). The indirect identification of I singlet oxigent was carried out by two methods, first it consisted of the capture of this species by the anthracene and the second by means of the scavenger of singlet oxigent following with azide of sodium. The pursuit of the reaction was made by UV-Vis Spectrophotometry, having measured the absorbencia in the band of 375 nm. Antraquinona, the 9,10-endoperoxide, 9-hidroxi-antrona, and antrona was characterized by chromatography of gas-spectrometry of masses (GC-MS), the results indicate the participation of another radioactive substance different from following oxygen

The conjugated hidroperóxide dienos were identified by UV-Vis Spectrophotometry, being based on the absorbencia that present the dieno conjugated in the band between 224 and 240 nm.

The determination by CG-MS of the conjugated hidroperoxide diene 10-hidroperoxy-trans-8-cis-12-octadecadienoate of methyl, and 12-hidroperoxy-cis-9-trans-13-octadecadienoate of methyl and the nonconjugated diene 10-hidroperoxy-trans-8-cis-12-octadecadienoate of methyl, and 12-hidroperoxy-cis-y-trans-13-octadecadienoate of methyl, obtained in the oxidation of the LM with $^1\text{O}_2$ was carried out by means of the analysis of mass of the alcohol and originating ketones of the thermal decomposition of these hidroperoxide. Nevertheless, these products were detected by HPLC in the one of wavelength of 200 nm for the conjugated hidroperoxide diene, and of 233 for the nonconjugated diene.

Also by means of the reaction to the disodium tereftalate detect radical $\cdot\text{OH}$, it which could be generated from $^1\text{O}_2$ and the H_2O_2 , by the basicity of the average one according to the propose reaction by Lau.

* Trabajo de grado en química

** Directores de tesis, facultad de ciencias, escuela de química

*** Co- Directores de tesis, facultad de ciencias, escuela de química.

INTRODUCCIÓN

El primer estado excitado del oxígeno molecular, $O_2 (^1\Delta_g)$, desempeña un papel importante en muchos procesos fotoquímicos y fotobiológicos, tales como la fotodegradación y el envejecimiento, incluidos los de fotocarcinogénesis. Las reacciones del $O_2 (^1\Delta_g)$ están asociadas con aplicaciones muy significativas en campos tales como: síntesis orgánica, procesos de blanqueo, y la terapia fotodinámica del cáncer, la cual ha tenido la aprobación en muchos países para diferentes tipos de tumores. [1,2,3,4]

El $O_2 (^1\Delta_g)$ reacciona con un amplio rango de sustratos biológicos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. La interacción del $O_2 (^1\Delta_g)$ con lípidos insaturados de membranas biológicas genera hidroperóxidos alterando su estructura y su permeabilidad. [1,5]

El oxígeno singlete se puede producir fotoquímicamente utilizando sensibilizadores, excitando el oxígeno molecular triplete al estado singlete, aunque por esta vía también se puede generar el anión radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) [6], además la presencia de la luz lleva a que los productos de oxidación de sustratos orgánicos con el oxígeno singlete generen especies radicalarias. Sin embargo, la generación química basada en la descomposición del peróxido de hidrógeno por sales de molibdato producen el oxígeno singlete con una

¹ SCHWEITZER C. and SCHMIDT R. 2003. Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen. En: *Chem. Rev.* Vol.103, Pág. 1685.

² SORG U. 2004. Oxidative stress: a Theoretical model a biological reality. En: C.R. Biologics. Vol. 327, pag. 649.

³ HARRISON D., GRIENDLING K., LANDMESSER U., HORNIG B., DREXLER H. 2003. Role of oxidative stress in atherosclerosis. En: Am. J. Cardiol. Vol. 91, Pág, 7.

⁴ PAREDES S., GIRONA J., HURT-CAMEJO E., VALLE J. OLIVES S., HERAS M. 2002. Antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis: association with inflammatory markers. En: J. Rheumatol. Vol. 29, Pág. 2271.

⁵ NARDELLO V., MARTI M., PIERLOT C. 1999. Photochemistry with a Chemical Source of Singlet Molecular Oxygen ($^1O_2, ^1\Delta_g$). En: *J. Chem. Ed.* Vol. 76, Pág. 1285.

⁶ PAILLOUS N. 1994. Interest of photochemical methods for induction of lipids peroxidation. En: Biochimie. Vol. 76, Pág. 355.

eficiencia del 100%, esta fue la razón por la cual se implementó el método químico para la generación del $O_2(^1\Delta_g)$ en este trabajo. [5,7]

En la generación del 1O_2 se empleó como medio de reacción una microemulsión agua en aceite (W/O) llamada micela invertida, la cual esta constituida por una fase orgánica que contiene el sustrato lipofílico (linoleato de metilo o antraceno) y una fase acuosa que contiene el sistema generador del 1O_2 . Este medio de reacción se implemento debido a la solubilidad de los sustratos orgánicos y al tiempo de vida media del oxígeno singulete. [8,9]

Con la finalidad de comprender mejor el papel del oxidante en las reacciones de oxidación lipídica, se estudio la reacción de oxidación del oxígeno singulete con el linoleato de metilo (9,12-octadecadienoato de metilo), lípido constituyente de membranas biológicas. Los productos de esta reacción (9-hidroperóxi-10,12-octadecadienoato de metilo, 10-hidroperóxi-8,12-octadecadienoato de metilo, 12-hidroperóxi-9,13-octadecadienoato de metilo y 13-hidroperóxi-9,11-octadecadienoato de metilo) se determinaron por espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), observándose el cambio de la absorbancia de la banda entre 224 y 240 nm atribuida a los dienos conjugados de los hidroperóxidos producidos [10,11]. Además se utilizó la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) realizando la detección en las longitudes de onda de 200 y 233 nm, [12] y la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC-MS). Sin embargo, el análisis de masas no se

⁷ NARDELLO V., MARKO J., VERMEERSCH G. and AUBRY. 1995. ^{95}Mo NMR and Kinetic Studies of Peroxomolybdc Intermediates involved in the Catalytic Disproportionation of Hydrogen Peroxide by Molibdate Ions. En: Inorg. Chem. Vol. 34, Pág. 4950.

⁸ AUBRY J. and BOUTTEMY S. 1997. Preparative oxidation of Organic Compounds in Microemulsions with Singlete Oxigen Generated Chemically by the Sodium Molibdate/hydrogen Peroxide System¹. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 119, Pág. 5286.

⁹ CARON L., NARDELLO V., MUGGE J., HOVING E., ALSTERS P., AUBRY J. 2005. Continuous process for singlet oxygenation of hydrophobic substrates in microemulsion using a pervaporation membrane. En: Journal of Colloid and Interface Science. Vol. 282, Pág. 478.

¹⁰ CHACÓN J., GAGGINI P., SINCLAIR R. 2000. Photo- and thermal-oxidation studies on methyl and phenyl linoleate: anti-oxidant behaviour and rates of reaction. En: Chemistry and Physics of Lipids. Vol. 107, Pág. 107.

¹¹ KIWI J. and NADTOCHENKO V. 2004. New Evidence for TiO_2 Photocatalysis during Bilayer Lipid Peroxidation. En: J. Phys. Chem. B. Vol 108, Pág. 17675.

¹² SAMADI A., A L., MARTÍNEZ, MIRANDA M. AND MORERA I. 2001. Mechanism of Lipid Peroxidation Photosensitized by Tiaprofenic Acid: Product Studies Using Linoleic Acid and 1,4-Cyclohexadienes as Model Substrates. En: Photochemistry and Photobiology. Vol. 7, Pág. 3359.

realizó directamente sobre los hidroperóxidos alílicos producidos, sino que se realizó sobre las cetonas y alcoholes alílicos provenientes de la descomposición térmica de estos hidroperóxidos, ocasionada en el puerto de inyección.

La detección del $^1\text{O}_2$ se llevó a cabo de manera indirecta por un atrapamiento químico con antraceno para formar el producto específico endoperóxido-9,10-antraceno y mediante su inactivación con la azida de sodio (NaN_3), estas reacciones fueron seguidas por espectroscopía UV-Vis determinado la absorbancia en la banda a 375 nm y GC-MS.

El endoperóxido-9,10-antraceno fue identificado por la absorbancia en las bandas en 270 y 212 nm, correspondientes al primer estado singulete excitado ($\text{S}_0 \rightarrow \text{S}_1$) de simetría B_2 y a la transición $1'A_1 \rightarrow 2'B_2$, respectivamente. [13,14] Evidenciando de esta manera la generación del oxígeno singulete por este sistema químico.

Sin embargo, además del oxígeno singulete también se detectó la presencia del radical hidroxilo, el cual pudo ser generado por la interacción del oxígeno singulete y el peróxido de hidrógeno debido a la basicidad del medio, según la reacción propuesta por Lau. [15]

Este trabajo de grado hace parte del proyecto “Estudio teórico y experimental de interacciones entre 1,4-dienos y especies reactivas del oxígeno”, código 1102-05-16921 financiado por COLCIENCIAS y de la línea de investigación “Caracterización estructural y de reactividad química de moléculas de interés

¹³ KLEIN A., KALB M. AND GUDIPATI. 1999. New Assignment of the Electronically Excited States of Anthracene-9,10-endoperoxide and Its Derivatives: A Critical Experimental and Theoretical Study. *En: J. Phys. Chem. A*. Vol. 103, Pág. 3843.

¹⁴ GUDIPATI M. AND KLEIN A. 2000. Reply to the Comment on “New Assignment of the Electronically Excited States of Anthracene-9,10-endoperoxide and Its Derivatives: A Critical Experimental and Theoretical Study”. *En: J. Phys. Chem. A*. Vol. 104, Pág. 166.

¹⁵ LAU C., LU J. and KAI M. 2003. Chemiluminescence determination of tetracycline based on radical production in a basic acetonitrile–hydrogen peroxide reaction. *En: Analytica Chimica Acta*. Vol. 503, Pág. 235.

biológico” del Grupo de Bioquímica Teórica que desarrolla en colaboración con el Laboratorio de Fotocatálisis del CICAT.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. OXÍGENO SINGULETE

El oxígeno singulete ($^1\text{O}_2$) es una especie activada del oxígeno altamente reactiva capaz de peroxidar lípidos, y es una de las especies activas responsables de la fotooxidación de compuestos orgánicos y la fotodegradación de algunos polímeros. [16]

El $^1\text{O}_2$ se descubrió en 1963 cuando Khan y Kasha generaron esta especie en la reacción entre iones hipoclorito (ClO^-) y H_2O_2 .

La selectividad del $^1\text{O}_2$ por las reacciones con moléculas ricas en electrones (olefinas con dienos conjugados, hidrocarburos policíclicos aromáticos, fenoles y heterociclos) es una herramienta de gran utilidad en la síntesis orgánica. [8]

1.2. PROPIEDADES DEL OXÍGENO SINGULETE

El $^1\text{O}_2$ es una molécula altamente reactiva y electrofílica, y puede ser generado fácilmente por fotosensibilización o por una gran variedad de reacciones químicas. [17]

Un reordenamiento de los electrones ubicados en los orbitales π^*2p del nivel más alto de energía en el estado fundamental triplete del oxígeno ($^3\Sigma_g^- \text{O}_2$) lleva a la formación de la especie excitada singulete ($^1\text{O}_2$). El reordenamiento consiste en invertir el espín de uno de los electrones de estos orbitales por la absorción de energía, originando el apareamiento de espín en los orbitales π^*2p , proporcionando el comportamiento no radical al $^1\text{O}_2$. [17]

¹⁶ KAZUSH É., SAGUN E., TIRZIT G., and DABUR G. 1994. Quenching of singlet oxygen by electron donating derivatives of 1,4 dihydropyridine. En: Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 30, Pág., 562.

¹⁷ MIN D. and BOFF J. 2002. Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods. En: Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 1, Pág. 58.

Hay dos formas del $^1\text{O}_2$ que difieren en energía, distribución de los electrones en los orbitales π^*2p , y tiempo de vida. Estas especies son $^1\Delta_g \text{O}_2$ (tiene los dos electrones más externos apareados en un mismo orbital π^*2p) y $^1\Sigma_g \text{O}_2$ (posee los dos electrones más externos apareados en los dos orbitales π^*2p , como se muestra en la figura 1), y es la más estable con energía 22,4 kcal, mayor tiempo de vida y presente en las reacciones de oxidación en lípidos es la especie $^1\Delta_g \text{O}_2$. [18]

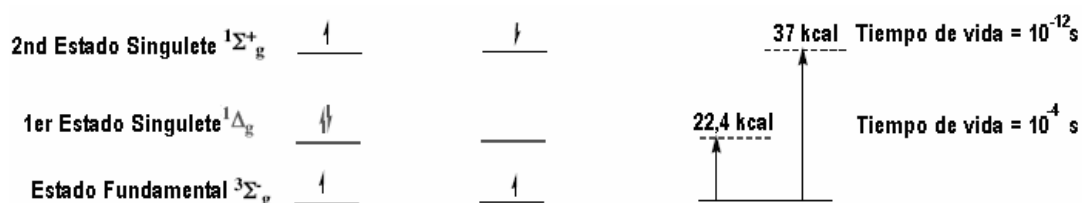


Figura 1. Diagrama de energías y distribución de los electrones en los orbitales π^*2p , de las especies excitadas del oxígeno $^1\Delta_g \text{O}_2$ y $^1\Sigma_g \text{O}_2$.

El tiempo de vida del $^1\text{O}_2$ es un parámetro importante que afecta la eficiencia de las reacciones de oxidación de los sustratos orgánicos, y varía significativamente dependiendo del solvente. En solventes deuterados y orgánicos, el $^1\text{O}_2$ presenta un mayor tiempo de vida media con valores de 67 μs y 97 μs para los solventes orgánicos acetonitrilo y diclorometano respectivamente. [19]

1.3. GENERACIÓN DEL OXÍGENO SINGULETE

Se puede generar $^1\text{O}_2$ por métodos físicos y químicos

1.3.1. Métodos químicos

El $^1\text{O}_2$ puede ser generado en la descomposición de H_2O_2 y peroxiácidos o en la termólisis del intermediario ozonida fosfita generado en la reacción entre

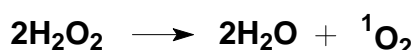
¹⁸ STEPHENSO L., GRDINA M. AND ORFANOPOULOS.1980. Mechanism of the Ene Reaction between Singlet Oxygen and Olefins. *En: Acc. Chem. Res.* Vol. 13, Pág. 419.

¹⁹ NARDELLO V., BOGEART S., ALSTERS P. 2002. Singlet oxygen generation from $\text{H}_2\text{O}_2/\text{MoO}_4^{2-}$: peroxidation of hydrophobic substrates in pure organic solvents. *En: Tetrahedron Letters.* Vol. 43, Pág. 8731.

triaril fosfato y ozono, también al romperse el puente de dióxígeno en los endoperóxidos policicloaromáticos cuando son irradiados con λ mayores a 280 nm. Sin embargo, los dos últimos métodos poseen la desventaja de generar una gran cantidad de subproductos. [20]

1.3.1.1. Reacciones de descomposición del peróxido de hidrógeno

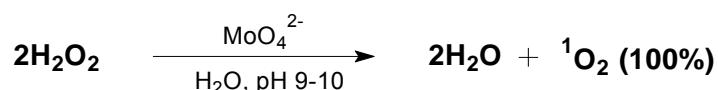
El H_2O_2 puede descomponerse generando $^1\text{O}_2$ en medio acuoso, lo cual es termodinámicamente permitido pero cinéticamente inhibido. [21]



Sin embargo, Aubry [21] reporta que varios compuestos inorgánicos pueden catalizar esta reacción en medios acuosos básicos. Entre estos catalizadores inorgánicos se encuentran las sales de molibdato, tungstanato y de hipoclorito.

1.3.1.1.1. Descomposición de peróxido de hidrógeno con iones molibdato

El sistema $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$, genera $^1\text{O}_2$ aprovechando la facilidad de descomposición del H_2O_2 por los iones molibdato (MoO_4^{2-}) para formar complejos intermediarios oxotriperoxomolibdato $\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$, los cuales se descomponen térmicamente liberando $^1\text{O}_2$. La descomposición del H_2O_2 para generar $^1\text{O}_2$ también se puede realizar con iones tungstato (WO_4^{2-}) obteniéndose altos rendimientos. [7]



Esta reacción se lleva a cabo en medios acuosos alcalinos o altamente polares, teniendo como ventaja el hecho de no requerir una fuente lumínica, ni equipos fotoquímicos para la generación de oxígeno singulete. Sin embargo, la

²⁰ NARDELLO V., CARON L., AUBRY J. 2004. Reactivity, Chemoselectivity, and Diastereoselectivity of the Oxyfunctionalization of Chiral Allylic Alcohols and Derivatives in Microemulsions: Comparison of the Chemical Oxidation by the Hydrogen Peroxide/Sodium Molybdate System with the Photooxygenation. *En: J. Am. Chem. Soc.* Vol. 126, Pág. 10692.

²¹ BÖHME K., BRAUER H. 1992. Generation of Singlet Oxygen from Hydrogen Peroxide Disproportionation Catalyzed by Molybdate Ions. *En: Inorg. Chem.* Vol. 31, Pág. 3468.

oxidación de sustratos orgánicos con el $^1\text{O}_2$ en estos medios de reacción, origina bajos rendimientos por la poca solubilidad de los sustratos y el pequeño tiempo de vida media del $^1\text{O}_2$ en estos medios acuosos. Además los sustratos orgánicos insaturados en estos medios de reacción poseen una mayor probabilidad de tener un contacto directo con el complejo $\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$ generador del $^1\text{O}_2$, originando de esta manera reacciones de epoxidación. [20] Una forma de resolver este problema es implementar las microemulsiones agua en aceite (W/O) o micela invertida.

1.3.1.1.2. *Descomposición del peróxido de hidrógeno con hipoclorito de sodio*

El ión hipoclorito al igual que el ión molibdato puede realizar la descomposición del H_2O_2 generando el $^1\text{O}_2$ con una eficiencia del 100 %, [22] pero el alto poder oxidante del ión hipoclorito, origina productos altamente energéticos que reaccionan colateralmente con el sustrato, problema que no permite aplicar este método químico en síntesis orgánica.

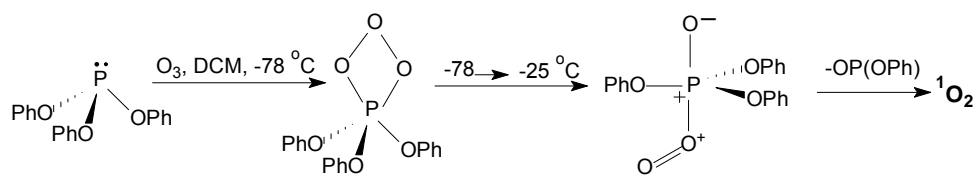


Sin embargo, se ha encontrado buena eficiencia en la generación de $^1\text{O}_2$ gaseoso requerido por su potencial químico para láser de yodo. [8]

1.3.1.2. *Reacción de triarilfosfato y ozono*

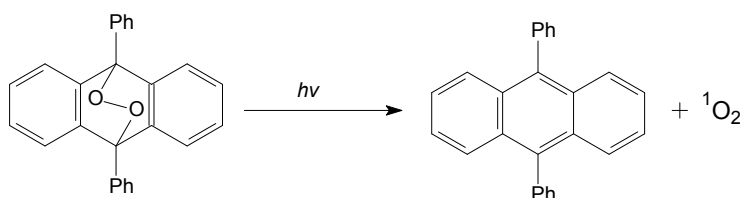
Los triarilfosfatos en presencia de ozono y a temperaturas de $-78\text{ }^\circ\text{C}$ forman sólidos aductos (ozonida fosfita), los cuales generan $^1\text{O}_2$ al descomponerse térmicamente alrededor de $-25\text{ }^\circ\text{C}$. [20]

²² AUBRY J. 1987. Search for Singlet Oxygen in the Decomposition of Hydrogen Peroxide by Mineral Compounds in Aqueous Solutions. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol.107,Pág. 5844.



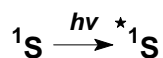
1.3.1.3. Descomposición de endoperóxidos policicloaromáticos

Los endoperóxidos policicloaromáticos como el producido por el sustrato 9,10-difenilantraceno (DPA), pueden sufrir una rotura del puente dioxígeno cuando se irradia con longitudes de onda mayores a 280 nm, generando $^1\text{O}_2$, como se muestra en la siguiente ecuación. [13]

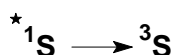


1.3.2. Métodos físicos

El método físico de generación del $^1\text{O}_2$ consiste en usar reacciones de fotosensibilización, con irradiación de luz de longitud de onda comprendida entre 320 – 400 nm. [23] La absorción de luz excita los fotosensibilizadores de su estado fundamental singlete ^1S a un estado excitado $^*1\text{S}$.

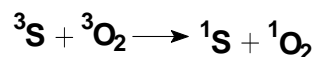


Luego ocurre un proceso de entrecruzamiento entre el estado excitado $^*1\text{S}$ y el estado triplete del sensibilizador ^3S .



²³ DEMOULINS-GIACCO N., TIRACHE I., MORLIÈRE P. 1995. Involvement of singlet oxygen in ultraviolet A-induced lipid peroxidation in cultured human skin fibroblasts. En: *Arch Dermatol Res*. Vol. 287, Pág. 338.

El estado triplete del sensibilizador retorna a su estado singulete fundamental al transferir su energía de excitación a una molécula adyacente de oxígeno triplete $^3\text{O}_2$ formando la especie excitada singulete $^1\text{O}_2$. [10,24]



Entre los sensibilizadores más usados se encuentran el rosa de bengala, tetrafenilporfirinas (TPP fotosensibilizadores hidrofílicos y TPPS hidrofóbicas), o porfirinas modificadas químicamente (con el anclaje de especies cromóforas) y el azul de metileno (soluble en buffer). [25,26,27]

Las células también tienen fotosensibilizadores tales como: los tetrapirroles (bilirrubina), flavinas, clorofila, hemoproteínas y nucleótidos piridina reducidos como el NADH. Algunos otros sensibilizadores se encuentran en alimentos, cosméticos y en algunas drogas (como tetraciclinas, amiodarona y cloropromacina que puede ingresar a las células). [24,28]

1.4. REACCIONES DEL OXÍGENO SINGULETE

El $^1\text{O}_2$ oxida moléculas ricas en electrones (olefinas con dienos conjugados, hidrocarburos policíclicos aromáticos, fenoles y heterociclos) por medio de una adición electrofílica, presentándose una competencia entre las reacciones “ene”, adición $[4\pi + 2\pi]$, adición $[2\pi + 2\pi]$ y oxidación de átomos con pares de electrones libres. El tipo de reacción a llevarse a cabo esta determinada por la

²⁴ STRATTON S. and LIEBLER D. 1997. Determination of Singlet Oxygen- Specific versus Radical-Mediated Lipid Peroxidation in Photosensitized Oxidation of Lipid Bilayers: effect of β -Carotene and α -Tocopherol. En: *Biochemistry*. Vol. 108, Pág. 17675.

²⁵ WATANABE N., MATSUMOTO Y. 2005. Base-induced decomposition of dioxetanes bearing a 3-hydroxyphenyl moiety substituted with a proton-donating group at the 4-position: effect of intramolecular hydrogen bonding on decomposition rate and chemiluminescence. En: *Tetrahedron Letters*. Vol. 46, Pág. 4871.

²⁶ DICHTEL W., SERIN J., EDDER C. 2004. Singlet Oxygen Generation via Two-Photon Excited FRET. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 126, Pág. 5380.

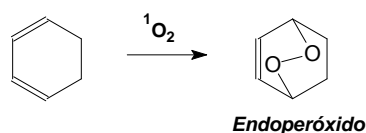
²⁷ ADAM W., BOSIO S. and TURRO N. 2002. Highly Diastereoselective Dioxetane Formation in the Photooxygenation of Enecarbamates with an Oxazolidinone Chiral Auxiliary: Steric Control in the $[2 + 2]$ Cycloaddition of Singlet Oxygen through Conformational Alignment. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 124, Pág. 8814

²⁸ TEJERO I., GONZALES-LAFONT A. LLUCH J. 2004. Photooxidation of lipids by singlet oxygen: a theoretical study. En: *Chemical Physics letters*. Vol. 398, Pág. 336.

estructura del sustrato y en algunos casos por el medio de reacción. A continuación se encuentran algunos aspectos relevantes de los esquemas de reacción.

1.4.1. Reacción de ciclo adición $[4\pi + 2\pi]$

La reacción de ciclo adición $[4\pi + 2\pi]$ es llevada a cabo en aceptores como los dienos conjugados cis (1,3-dienos) o hidrocarburos aromáticos. El $^1\text{O}_2$ se adiciona al dieno originando un puente comprendido entre los átomos de carbono C-1 y C-4 que conformaban el dieno, y un solo enlace doble comprendido entre los carbonos C-2 y C-3, el producto de la reacción con $^1\text{O}_2$ recibe el nombre de endoperóxido.



Hasta el momento se han planteado 3 posibles mecanismos para la formación de los endoperóxidos. El primero es análogo a la ciclo adición Diels-Alder ($2_s + 4_s$), y propone una adición concertada del $^1\text{O}_2$ al 1,3-dieno para formar el endoperóxido a través de un anillo de seis miembros como se indica en la figura 2 (ruta a). El segundo se basa en cálculos teóricos y sugiere que la etapa determinante de la velocidad es la formación de un perepóxido seguido de un reordenamiento a endoperóxido (ver ruta b de la figura 2). Se han encontrado soportes para este mecanismo en la formación de endoperóxidos en el 1,1,4,4-tetrafenil y tetrametilbutadienos. [29] El tercero (ruta c) es el propuesto por Ogryzlo [29] quien plantea una transferencia de carga, debido a alguna correlación entre las energías de ionización de los dienos y el oxígeno reactivo.

²⁹ FRIMER A. 1979. The Reaction of Singlet Oxygen with Olefins: The Question of Mechanism. En: Chemical Reviews. Vol. 79, Pág. 359.

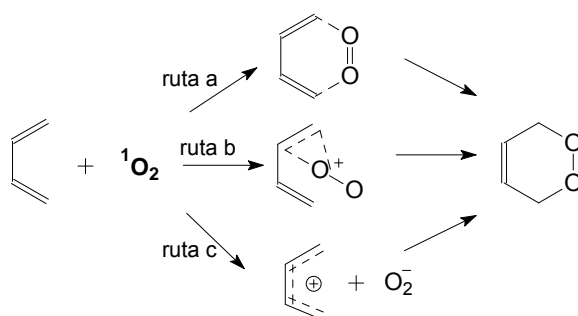
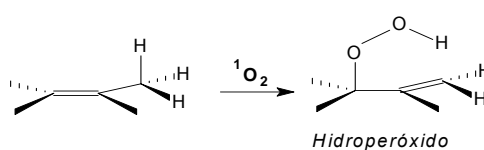


Figura 2. Representación de los mecanismos de adición del $^1\text{O}_2$ al dieno conjugado.

Los endoperóxidos en general son lábiles térmicamente y fotoquímicamente. Sin embargo, son más estables que los dioxetanos. La termólisis de los endoperóxidos puede originar una retroinversión a $^1\text{O}_2$ y el hidrocarburo aromático o la formación de bisepóxidos y/o epoxialdehídos.

1.4.2. Reacción “ene”

La reacción “ene” del $^1\text{O}_2$ fue propuesta en 1943 por Schenck, [29,30] y consiste en una adición 1,3 del $^1\text{O}_2$ con un sólo doble enlace del sustrato olefínico para formar hidroperóxidos alílicos con una migración del doble enlace.



Se han propuesto cuatro mecanismos para explicar la reacción “ene” del $^1\text{O}_2$, los cuales son: mecanismo concertado, mecanismo diradical, mecanismo zwitteriónico de cadena abierta y mecanismo de intermediario perepóxido. [29,30,31] (Ver figura 3)

³⁰ HARDING L. and GODDARD III W. 1980. The Mechanism of the Ene Reaction of Singlet Oxygen with Olefins. *En: J. Am. Chem. Soc.* Vol. 102, Pág. 439.

³¹ SEVIN F. and MCKEE M. 2001. Reactions of 1,3-Cyclohexadiene with Singlet Oxygen. A Theoretical Study *En: J. Am. Chem. Soc.* Vol.123,Pág. 4591.

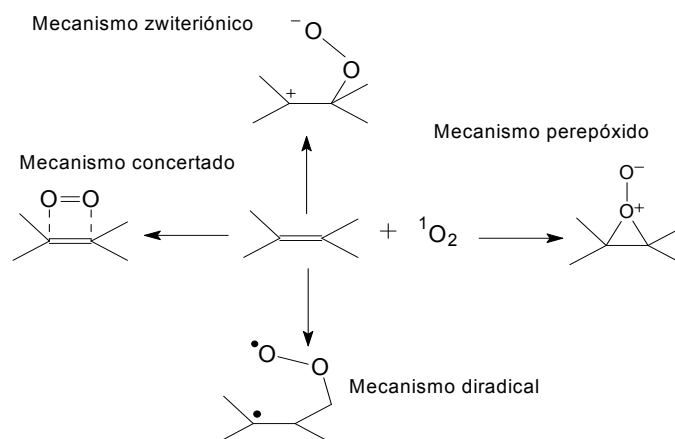


Figura 3. Esquemas de reacción propuestos para la reacción “ene” del $^1\text{O}_2$.

Los mecanismos con mayor aceptación son el diradicalario y el perepóxido. Sin embargo, según estudios de interacción de orbital, la adición de $^1\text{O}_2$ a olefinas parece proceder efectivamente vía una estructura perepóxido polar. Este estado de transición determina la velocidad de reacción y puede ocurrir al principio de la interacción de la especie activa del oxígeno debido a la rotura del enlace C-H y a la formación del enlace O-H. Este mecanismo es afectado por la polaridad del solvente, debido al carácter polar del intermediario perepóxido. [34] (Ver figura 4)

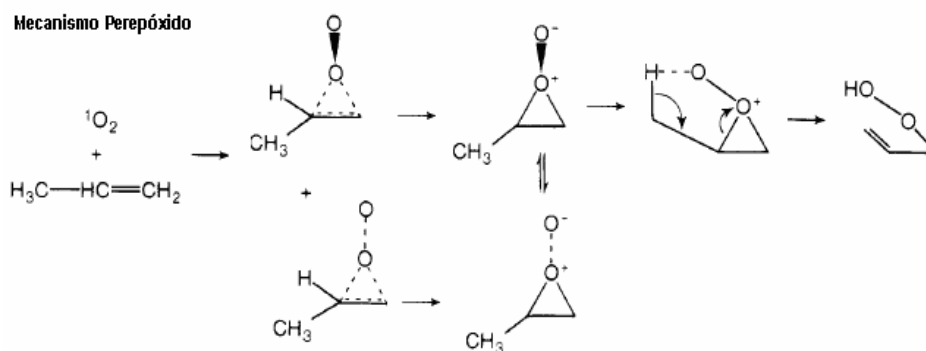


Figura 4. Esquemas de formación del intermediario perepóxido polar, en la reacción “ene” del oxígeno singulete con un doble enlace.

1.4.3. Reacción de adición [2π + 2π]

Este tipo de reacción se lleva a cabo en sistemas ricos en electrones (olefinas) e impedidos estéricamente, los dioxetanos resultantes poseen poca estabilidad y se descomponen térmica o fotoquímicamente en fragmentos carbonilos. La velocidad de descomposición de los dioxetanos aumenta en presencia de trazas de metales, sílica gel, y donadores de electrones como enoles, éteres, aminas y fosfinas. Sin embargo, Kopecky [29] ha encontrado una estabilidad considerable de los dioxetanos en presencia de ácidos próticos fuertes.

El mecanismo de descomposición del dioxetano no se ha logrado esclarecer de forma consistente, aun que Mc Crapa y Karns [29] postula una fragmentación en el enlace O-O y C-C de una manera concertada, Turro [29] explico este enfoque sugiriendo un cambio en la multiplicidad de espín ocurrida coincidentalmente cuando se fraccionaba el enlace. Richardson [29] sugirió un mecanismo 1,4-diradical formando el fraccionamiento del enlace O-O, el cual esta seguido de una β-fragmentación. (Ver figura 5)

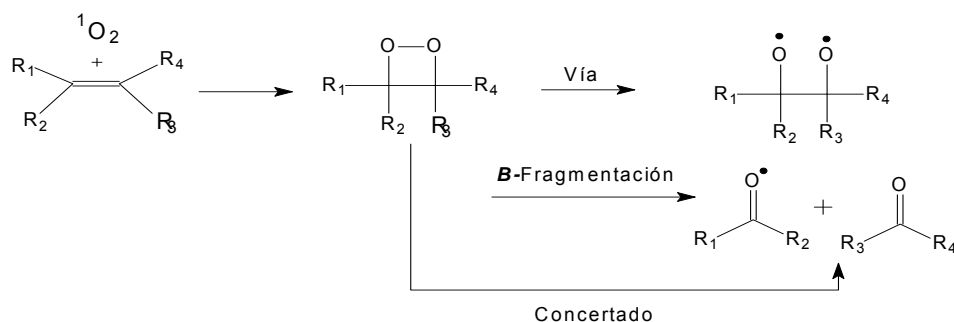


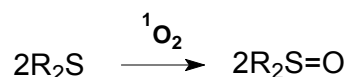
Figura 5. Esquema de la fragmentación del dioxetano a carbonilos.

El mecanismo propuesto para la formación del dioxetano depende de los sustituyentes del doble enlace, cuando estos son -H y -OCH₃ el dioxetano se produce vía peroxirano pasando primero por un intermediario diradical. Esta información es obtenida de los cálculos de las energías para la oxidación con ¹O₂ de sustratos que poseen estos sustituyentes. Mientras que en el caso de la molécula butadieno la cual posee como sustituyente el -CH=CH₂, la barrera

energética para el intermediario peroxirano es muy alta, debido a ello se presenta primero el intermediario peroxirano seguido del diradical para la formación del dioxetano, según cálculos teóricos. [32]

1.4.4. Reacción de oxidación de átomos con pares de electrones libres

El $^1\text{O}_2$ también puede reaccionar con átomos donadores de electrones, permitiendo reacciones con el ADN, carotenos, metionina, cisteína, histidina y NADPH. Además el $^1\text{O}_2$ puede oxidar aminoácidos y causar modificaciones en la bioquímica de las proteínas. La siguiente ecuación muestra un ejemplo de oxidación de un átomo con pares de electrones libres con $^1\text{O}_2$. [8]



1.5. DETECCIÓN DEL OXÍGENO SINGULETE

Los siguientes métodos de detección evidencian la formación del $^1\text{O}_2$ sin ninguna ambigüedad. Según la literatura [19,21,33], entre estos se encuentran:

1.5.1. Métodos directos.

- ✦ *Método de emisión infrarroja.* Este método se basa en determinar la especie activa del oxígeno de acuerdo a las bandas de emisión de la fosforescencia infrarroja (quimiluminiscencia), la cual es detectada perpendicularmente con un fotodiodo de germanio y la señal es recolectada en un osciloscopio. La banda de emisión para el $^1\text{O}_2$ se encuentra a 1270 nm.

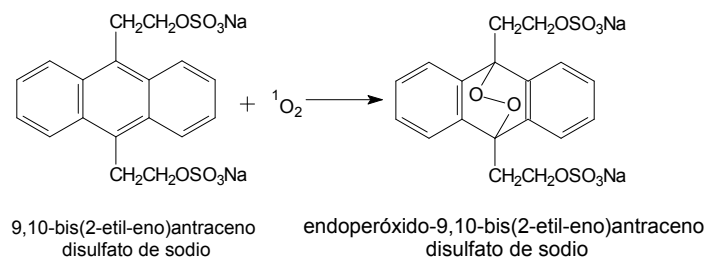
³² MARANZANA A., GHIGO G. and TONACHINI G. 2000. Diradical and Peroxirane Pathways in the $[\pi 2 + \pi 2]$ Cycloaddition Reactions of $^1\Delta_g$ Dioxygen with Ethene, Methyl Vinyl Ether, and Butadiene: A Density Functional and Multireference Perturbation Theory Study. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 122, Pág. 1414.

³³ WENLI Y., YAPING Z. 2005. Chemiluminescence evaluation of oxidative damage to biomoléculas induced by singlet oxygen and the protective effects of antioxidants. En: Biochimica et Biophysica. Acta 1725 Pág. 30.

1.5.2. Métodos indirectos

Los métodos indirectos se basan en la capacidad de ciertos reactivos para capturar $^1\text{O}_2$, originando productos específicos.

Reacciones de atrapamiento químico. Estas reacciones se llevan a cabo por una ciclo adición $[4\pi + 2\pi]$ produciendo endoperóxidos específicos indicando la presencia del $^1\text{O}_2$. Estos productos se pueden identificar por técnicas instrumentales como espectrometría de masas (MS) y resonancia magnética nuclear (RMN). Entre los reactivos más utilizados como indicadores de la presencia del oxígeno singulete se encuentran el RTC (Rubreno-2,3,8,9-tetracarboxilato de tetrapotasio) y derivados del Rubreno, y el 9,10-bis(2-etileno) antraceno disulfato de sodio, los cuales originan endoperóxidos, mediante la reacción de cicloadición $[4\pi + 2\pi]$. [21,34]



En este trabajo se utilizó el antraceno para realizar la detección indirecta del $^1\text{O}_2$, debido a su alta densidad electrónica, la cual proporciona el comportamiento de atrapador del $^1\text{O}_2$, además de su semejanza estructural con los derivados del rubreno.

El $^1\text{O}_2$ también puede detectarse por una reacción de atrapamiento de espín con 2,2,6,6-tetrametil-4-piperidina (TMPD), formando el aducto radical nitro estable 2,2,6,6-tetrametil-4-piperidina-N-oxil (TAN) el cual puede ser detectado por resonancia de espín de electrones (ESR). [17] Las otras especies como el $\cdot\text{OH}$ y $\text{O}_2\cdot^-$ pueden reaccionar con (TMPD) pero no producen el (TAN).

³⁴ NIU Q., FOOTE C. 1992. Singlet Molecular Oxygen Generation from the Decomposition of Sodium Peroxotungstate and Sodium Peroxomolybdate. *En: Inorg. Chem.* Vol. 31, Pág. 3472.

1.6. DESACTIVACIÓN DEL OXÍGENO SINGULETE

La desactivación o apagamiento del $^1\text{O}_2$ se obtiene por las siguientes vías: interacción física con el solvente y moléculas del sustrato, interacción química (en la cual se obtiene los productos de oxidación con esta especie) y fosforescencia infrarroja a 1270 nm, esta última es una evidencia inequívoca de la generación del $^1\text{O}_2$. Los estudios cinéticos realizados sobre el apagamiento de esta especie activa del oxígeno vía fosforescencia reportan una cinética de primer orden. [8] (Ver figura 6)

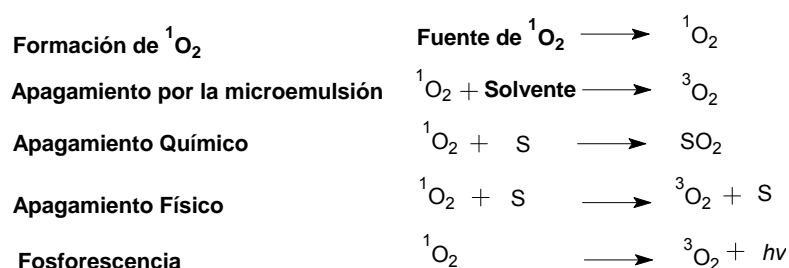


Figura 6. Vías de desactivación o apagamiento del oxígeno singulete.

Sin embargo, se ha encontrado que las vías de desactivación o apagamiento del $^1\text{O}_2$ predominantes en su cinética son las vías de apagamiento físico y apagamiento químico. [8]

Las moléculas denominadas inhibidores del $^1\text{O}_2$ poseen una mayor capacidad de capturar esta especie excitada y desactivarla mediante la vía física y química generando productos poco peligrosos biológicamente. Entre estas se encuentra el β -caroteno [24] y la vitamina B₆ (una piridoxina utilizada por hongos fototóxicos como la *Cercospora keidi*). [35]

1.7. GENERALIDADES DE LAS MICROEMULSIONES

En este trabajo se utiliza una microemulsión (W/O) como medio de reacción debido a que proporciona un mayor tiempo de vida media al $^1\text{O}_2$, en

³⁵ OHTA B. and FOOTE C. 2002. Characterization of Endoperoxide and Hydroperoxide Intermediates in the Reaction of Pyridoxine with Singlet Oxygen. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 124, Pág. 12064.

comparación de otros medios (especialmente el medio acuoso), a demás de la buena solubilidad que presentan los sustratos antraceno y linoleato de metilo en esta microemulsión.

Las microemulsiones son dispersiones de coloides liofóbicos (coloides que evitan el solvente, y que llevan a la formación de dos fases) los cuales forman las llamadas micelas y consisten en gotas monodispersas de aceite en agua (O/W) micelas directas, en donde el agua es la fase continua, o agua en aceite (W/O) micelas invertidas, en las cuales la fase continua es el aceite. Los tamaños de estas gotas se encuentran comprendidos en el intervalo de 10 y 100 nm de diámetro. [5,8,19,36] Las microemulsiones son fluidos isotrópicos, óptimamente transparentes y termodinámicamente estabilizados por acción de una película interfacial. [37,38]

Estos sistemas homogéneos macroscópicamente pero heterogéneos microscópicamente, están constituidas por un líquido lipofílico poco polar como CH_2Cl_2 , uno líquido hidrofílico (altamente polar), un surfactante (emulsificante que estabiliza las microemulsiones generalmente es SDS) el cual normalmente es una especie anfipática que forma una película superficial sobre la interfase entre cada micela ó gota coloidal y el medio de dispersión, reduciendo la tensión superficial e impidiendo la coagulación, y un cosurfactante generalmente un alcohol de bajo peso molecular como butanol o pentanol (en algunos casos etanol), que facilita la formación de la película interfacial sobre las superficies de las micelas. Su ausencia en la microemulsión la desestabiliza volviéndola turbia y creando burbujas más grandes. [39,40]

Las microemulsiones (W/O) utilizadas en la generación de $^1\text{O}_2$ están compuestas por burbujas acuosas (llamadas por algunos autores

³⁶ MENDER F. AND ELRINGTON A. 1991. Organic Reactivity in Microemulsion Systems. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 113, Pág. 9621.

³⁷ LEVINE I. FISICOQUIMICA. Vol. 1. New York. Mc-Graw Hill. 5^{ta} ed. 2002. Pág. 489.

³⁸ CASTELLAN G. FISICOQUÍMICA. México. Pearson Education, 2^{da} ed. 1974. Pág. 462.

³⁹ LISSANT K. EMULSIONS AND EMULSION TECHNOLOGY. New York. Marcel Dekker. 1984. Vol 6, Pág. 1.

⁴⁰ ROSANO AND CLAUSE. MICROEMULSIONS SYSTEMS. New York. Marcel Dekker. 1987. Vol. 24, Pág. 15.

microreactores) en las cuales se encuentran compactados el MoO_4^{2-} y H_2O_2 para genera el oxígeno singulete con eficiencias del 100 %. El pequeño tamaño de dichas burbujas contribuyen aumentar el tiempo de vida media del $^1\text{O}_2$ en la microemulsión a 42,4 μs , debido a que en este medio la especie activa recorre una distancia aproximada de 10 nm (correspondiente al diámetro de burbuja acuosa) antes de reaccionar con el sustrato, mientras en agua el $^1\text{O}_2$ recorre una distancia mucho mayor (aprox. de 200 nm) antes de reaccionar con el sustrato aumentando la posibilidad de desactivación física por el medio de reacción. [8,9] (Ver figura 7).

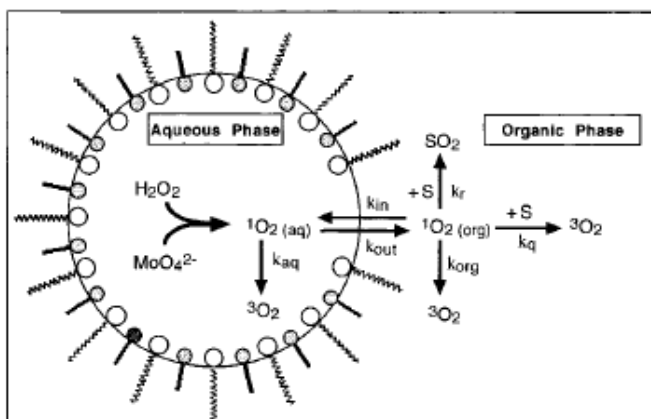


Figura 7. Representación de la microemulsión (W/O) utilizada para oxidar sustratos orgánicos con oxígeno singulete generado por el sistema $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$.

Estas micelas (W/O) se estabilizan como consecuencia de la doble capa eléctrica en la superficie de las mismas, el decrecimiento de la repulsión entre las cargas negativas de los grupos del SDS, producido por los cationes como los Na^+ (proporcionados por el catalizador en sistema $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$ de generación de $^1\text{O}_2$) favorece la formación de las micelas. [8]

La velocidad de intercambio entre la capa interfacial (fase acuosa fase orgánica) es lenta debido a la rigidez que puede llegar a tener la película interfacial como resultado del compactamiento de los grupos polares Sin embargo en el caso del oxígeno singulete, debido a que este es una especie pequeña y no cargada se difunde libremente en la capa interfacial.

En conclusión las microemulsiones presentan las siguientes ventajas: [19,20]

- ▲ Son idóneas para oxidar químicamente sustratos altamente lipofílicos a escala preparativa con $^1\text{O}_2$.
- ▲ Protege los sustratos y productos sensibles a condiciones alcalinas.
- ▲ Limita el contacto directo del complejo $\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$ con los sustratos y productos, evitando la posible epoxidación.

Pero para obtener buenos rendimientos en la oxidación con esta especie activa se requiere las siguientes pautas: [8]

- ▲ Garantizar que durante el almacenamiento y la reacción de oxidación no haya separación de fases.
- ▲ Alta solubilidad del catalizador (MoO_4^{2-}), peróxido de hidrógeno y sustratos en el medio de reacción.
- ▲ Fácil recuperación de los productos de oxidación, del surfactante (SDS), y del MoO_4^{2-} .

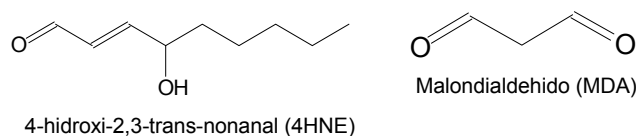
1.8. EFECTOS BIOLÓGICOS DEL OXÍGENO SINGULETE

El incremento de la peroxidación lipídica (LPO) inducido por la presencia del $^1\text{O}_2$ es considerado como el mecanismo que produce la destrucción celular afectando la permeabilidad de la membrana mitocondrial debido a los productos citotóxicos generados durante el proceso de LPO. Estos productos son altamente tóxicos en vivo y en vitro. Inactivan enzimas modificando biomoléculas e iniciando la destrucción vía radicales libres de ácidos nucleicos, proteínas y lípidos. En los sistemas vivos los productos finales de peroxidación de lípidos inducen a la mutagénesis y tienen propiedades carcinogénicas. [10]

Algunos científicos piensan que los productos peroxidados llevan a la formación de otros productos de mayor toxicidad, los cuales pueden originar el desarrollo de enfermedades como Alzheimer y la arteriosclerosis, esta última

se estima que es el resultado de una poderosa oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL). [18]

El ácido linoléico es uno de los muchos ácidos grasos en lípidos de membrana y en lipoproteínas de baja densidad (LDLs), es fácilmente oxidado ante el ataque electrofílico del $^1\text{O}_2$, sus productos de oxidación inicialmente son de vida muy corta y pueden reducirse a alcoholes del ácido graso por acción de la glutathion reductasa. La descomposición lleva a la formación de aldehídos, epóxidos, ceto o hidroxicompuestos. Los aldehídos más tóxicos de la oxidación de este ácido graso con $^1\text{O}_2$ son el 4-hidroxi-2,3-trans-nonanal (4HNE) y el malonaldehído (MDA). [28]



El primero es el resultado de la descomposición del ácido 13-hidroperóxi-9,11-octadecadienoico y se piensa que está involucrado en la carcinogénesis y muerte celular. Mientras el MDA es muy mutagénico y carcinogénico cuando reacciona con bases como la guanina, citosina y adenina produce compuestos oxo de estas bases. El MDA también se añade a sitios de la cadena de aminoácidos, y se piensa que estas reacciones modifican la bioquímica de las proteínas. [28]

El estudio de la reacción del LM con el $^1\text{O}_2$ permite dar información acerca de la reactividad de esta especie activa del oxígeno, con moléculas presentes en los medios biológicos como el LM, el cual es un lípido constituyente de las membranas biológicas, y de esta manera contribuir a comprender de las reacciones de peroxidación lipídica.

2. ESTADO DEL ARTE

La oxidación de los 1,4-dienos (como el ácido linoleico o sus esteres) por acción de especies activas del oxígeno se ha estudiado tanto de forma experimental como teórica, utilizando procesos de autooxidación y fotooxidación, [28] obteniéndose información para comprender las causas de una gran cantidad de problemas biológicos, originados por la oxidación (peroxidación) de moléculas biológicas con sistemas 1,4-dienos en su estructura.

Porter [41,42] estudió los productos generados en la autooxidación de linoleato de metilo, inducida por la presencia del radical 2,2,5,5-tetrametil-3,4-hexadiona, el cual produce la ruptura homolítica entre el hidrógeno de carácter dialílico y el carbono C-11 del ácido linoléico generando el radical pentadienil comprendido entre los carbonos C-9 y C-13 de la estructura del ácido linoléico. Este radical pentadienil reacciona vía radicales libres con el oxígeno triplete disuelto en clorobenceno (solvente utilizado como medio de reacción en la autooxidación de lípidos) produciendo los hidroperóxidos dieno conjugados en los carbonos C-9 y C-13, e hidroperóxidos no conjugados en el carbono C-11 cuando está presente el antioxidante α -tocoferol (ArOH) (Ver figura 8)

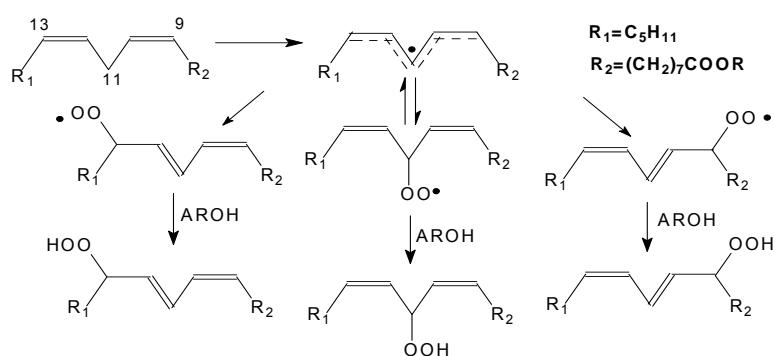


Figura 8. Productos de autooxidación del linoleato de metilo en presencia de α -tocoferol (ArOH).

⁴¹ PORTER N, WUJEK D. 1984. Autoxidation of Polyunsaturated Fatty Acids, an Expanded Mechanistic Study. *En: J. Am. Chem. Soc.* Vol. 106, Pág. 2626.

⁴² PORTER N., TALLMAN K., PRAT. 2001. Kinetic Products of Linoleate Peroxidation: Rapid β -fragmentation of Nonconjugated peroxy radicals. *En: J. Am. Chem. Soc.* Vol. 123, Pág. 11827.

Los productos de la autooxidación fueron reducidos a alcoholes con trifenilfosfinas y analizados por HPLC.

En las reacciones de autooxidación del linoleato de metilo las proporciones de los hidroperóxidos formados en los carbonos C-9 y C-13 son aproximadamente iguales cuando el medio de reacción es clorobenceno, y la reacción se realiza a 30 °C. Sin embargo, la presencia del 1,4-ciclohexadieno en concentraciones entre (1,5 - 3 M) modifica esta equivalencia. [41]

Además el hidroperóxido dieno no conjugado en el carbono C-11, es producido en la autooxidación del linoleato de metilo por medio de una β -fragmentación, que se origina por la presencia del antioxidante α -tocoferol, en concentraciones de aproximadamente de 0,1 M.

Los procesos fotoquímicos de la oxidación del linoleato de metilo por acción de sensibilizadores como el rosa de bengala, el azul de metileno y la tetrametilporfirinas, se lleva cabo vía radicales libres y vía $^1\text{O}_2$. Los hidroperóxidos obtenidos en la fotooxidación vía radicales libres se encuentran en las posiciones C-9 y C-13 de linoleato de metilo, mientras que los obtenidos por la vía $^1\text{O}_2$ se encuentran en las posiciones C-9, C-10, C-12 y C-13 del mismo lípido. (Ver figura 9) [24]

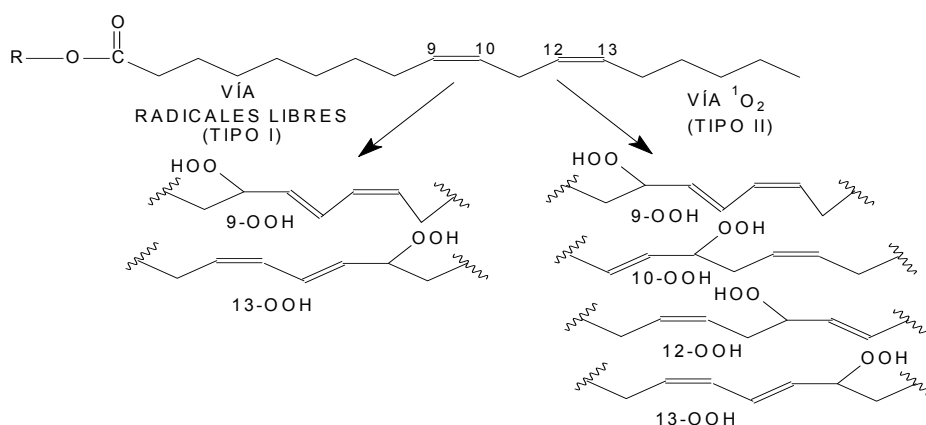


Figura 9. Productos de fotooxidación del linoleato de metilo vía radicales libres y oxígeno singlete.

Se ha encontrado que la oxidación vía $^1\text{O}_2$ no inicia una peroxidación en cadena, pero sus productos hidroperóxidos del linoleato de metilo obtenidos en la reacción de oxidación pueden iniciar una reacción en cadena en presencia de un metal de transición o hasta con el mismo sensibilizador por medio de la pérdida de un hidrógeno de los productos hidroperoxidados. (Ver Figura 10) [24]

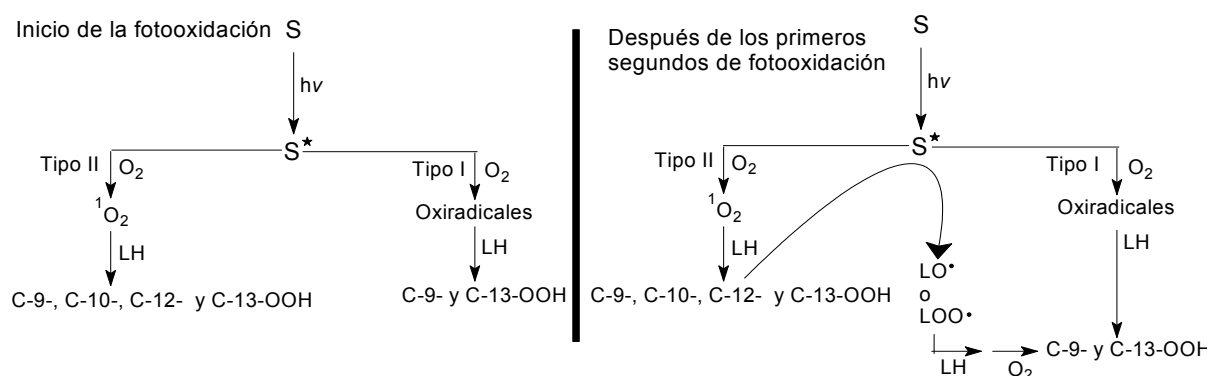


Figura 10. Oxidación fotosensibilizada del linoleato de metilo vía radicales libres y $^1\text{O}_2$. Al inicio de la reacción y después de transcurrido unos segundos.

La generación del $^1\text{O}_2$ mediante sensibilizadores, es un método versátil y conveniente que puede llevarse a cabo en una gran variedad de solventes polares y apolares, en un amplio rango de temperatura (-100 a 100 °C), particularmente es más ventajoso a bajas temperaturas debido a la labilidad de los productos de oxidación. [20] Pero el método posee la desventaja de necesitar grandes lapsos de tiempo para generar $^1\text{O}_2$, y la producción de otras especies activas del oxígeno.

Debido a que el $^1\text{O}_2$ no es la única molécula activa del oxígeno presente en la oxidación de lípidos en procesos fotoquímicos, varios científicos como Nardello [7] Böhme [21], y Niu [34] entre otros han generado oxígeno singulete con una eficiencia del 100 % mediante el sistema químico $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$, en el cual se ha encontrado que la interacción entre la sal de molibdato con H_2O_2 produce intermediarios mono, di, tri y tetra peroxomolibdado, de los cuales el intermediario generador de $^1\text{O}_2$ es el oxotriperoxomolibdato (según estudios de RMN ^{95}Mo y cinéticos) el cual al descomponerse térmicamente genera esta

especie activa del oxígeno en términos de la conservación de espín a través de una reacción redox entre dos peroxo ligandos enlazados al mismo átomo de molibdeno. [7] (Ver figura 11)

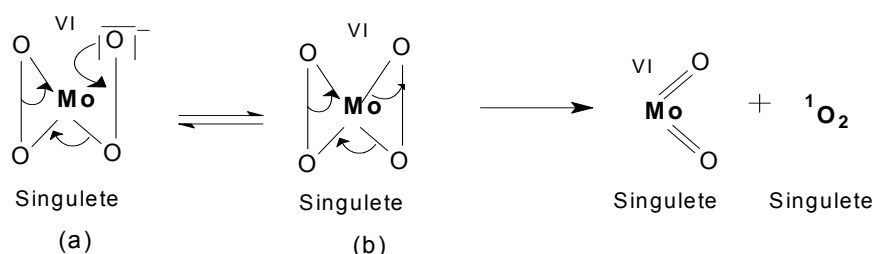


Figura 11. Generación del oxígeno singlete por descomposición del intermediario oxotriperoxomolibdato a través de una reacción redox entre dos ligandos peroxo del complejo de molibdeno.

La generación química del oxígeno singlete se ha realizado en medios acuosos básicos, orgánicos y microemulsionados, reportándose mayores eficiencias en la oxidación de sustratos orgánicos lipofílicos al implementar las microemulsiones de micela inversa o (W/O) [20,43], mientras que el medio acuoso básico poseen el problema de la poca o nula solubilidad del sustrato orgánico lipofílico, además del corto tiempo de vida de la especie activa. [21] Los solventes orgánicos como medio de reacción proporcionan mayor tiempo de vida media al oxígeno singlete, pero posee el problema de la poca solubilidad del catalizador MoO_4^{2-} , sin embargo, se han obtenido mejores rendimientos para sustratos lipofílicos en este medio, que en el medio acuoso. Entre los solventes orgánicos con mayores eficiencias se encuentran el metanol y etanol. [19]

Un problema común en los tres medios de reacción (acuoso, orgánico y micelar) son las reacciones de epoxidación con el intermediario oxotriperoxomolibdato ($\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$), especialmente cuando se oxidan sustratos hidrofílicos. Este problema no se presenta en la oxidación de sustratos lipofílicos, cuando se utiliza como medio de reacción la micela invertida debido

⁴³ CARON L., NARDELLO V., ALSTERS P. 2006. Convenient singlet oxygenation in multiphase microemulsion system. *En: Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. ARTICLE IN PRESS.

a que la naturaleza de estas especies orgánicas no permiten que estas penetren la burbuja acuosa, lo cual si ocurría con sustratos hidrofílicos. [20] (Ver figura 12)

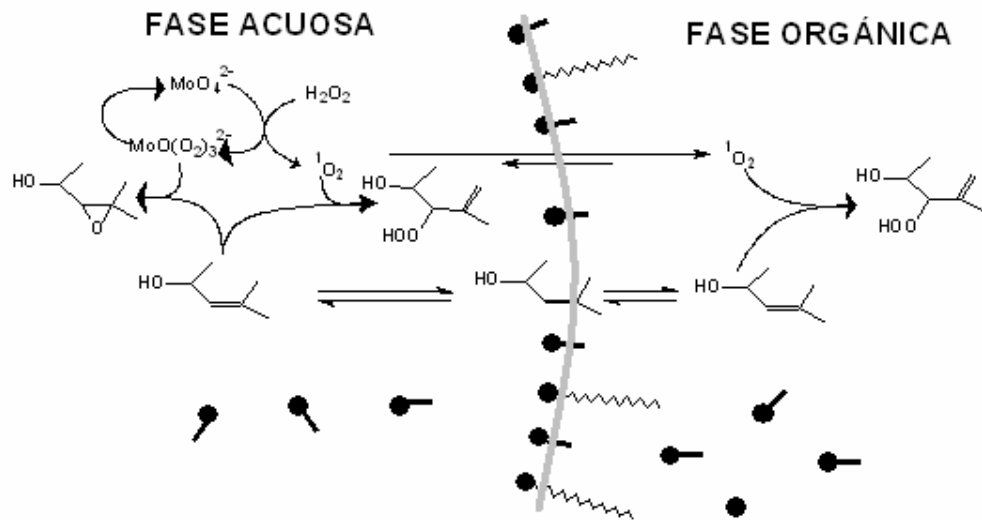


Figura 12. Competencia entre la oxidación de sustrato hidrofílico con oxígeno singlete y su epoxidación con el intermediario $\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$ generador de la especie activa.

3. METODOLOGÍA

Se generó $^1\text{O}_2$ químicamente mediante el sistema $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$. Empleando como medio de reacción una microemulsión agua en aceite (W/O) llamada micela invertida, la cual está constituida por una fase orgánica que contiene el LM y una fase acuosa que contiene el sistema generador del $^1\text{O}_2$.

La detección del $^1\text{O}_2$ se llevó a cabo por un atrapamiento químico con antraceno para formar el producto específico endoperóxido-9,10-antraceno y mediante su inactivación con la azida de sodio (NaN_3).

Los productos de oxidación del LM con el $^1\text{O}_2$ (9-hidroperóxi-10,12-octadecadienoato de metilo, 10-hidroperóxi-8,12-octadecadienoato de metilo, 12-hidroperóxi-9,13-octadecadienoato de metilo y 13-hidroperóxi-9,11-octadecadienoato de metilo) se determinaron por espectroscopía ultravioleta-visible, por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC-MS).

3.1. REACTIVOS Y EQUIPOS

En el presente trabajo se emplearon los siguientes reactivos: molibdato de sodio dihidratado ($\geq 99,5\%$) (Sigma), azida de sodio ($\geq 99\%$) (Merck), Sulfato de sodio anhidro (Merck), hidróxido de potasio (Merck), dodecil sulfato de sodio (SDS) ($\geq 99\%$) (Sigma), peróxido de hidrógeno (30 %) (Carlo Erba), 1-butanol anhidro (99,8 %) (Aldrich), diclorometano anhidro ($\geq 99,5\%$) (Aldrich), Linoleato de metilo ($\geq 99\%$) (Sigma), antraceno ($\geq 99,5\%$) (Merck), etanol absoluto (Aldrich), metanol grado HPLC (Merck), agua grado HPLC (Merck), y resina de intercambio aniónico Amberjet 4200 con grupos funcionales $^-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ (Merck). Y los siguientes equipos: el espectrómetro UV-Vis HEWLETT-PARKARD 8453 con arreglo de diodos., el cromatógrafo de gases HP 6890 series de columna INNOWax 19091N-13 polar (30m x 0,32mm – 0,25 μm), el HPLC AGILENT

1100 SERIES de columna fase reversa y detectores de arreglo de diodos y fluorescencia.

3.2. PREPARACIÓN DE LA MICROEMULSIÓN (W/O)

Preparación de solución de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

En un vaso de precipitados de 50 mL se preparó una solución de 0,2 M de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, disolviendo 0,2904 g (1,2 mmol) de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (catalizador) en 6 mL de agua destilada.

Preparación mezcla orgánica

En un vaso de precipitados de 100 mL se mezclaron 4,7 g de surfactante SDS, y 9,4 g (11,6 mL) de 1-butanol; es decir en una relación 1:2, la cual permite la oxidación de sustancias lipofílicas con buenos rendimientos. [5] Luego, se adicionaron 60 mL de diclorometano que constituye la fase continua en la microemulsión.

Formación de la microemulsión (W/O)

A la mezcla orgánica se le adicionó la solución de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ gota a gota, con agitación constante, obteniéndose así una suspensión turbia, la cual después de aproximadamente 5 min se vuelve un líquido transparente y fluido. (Ver figura 13)

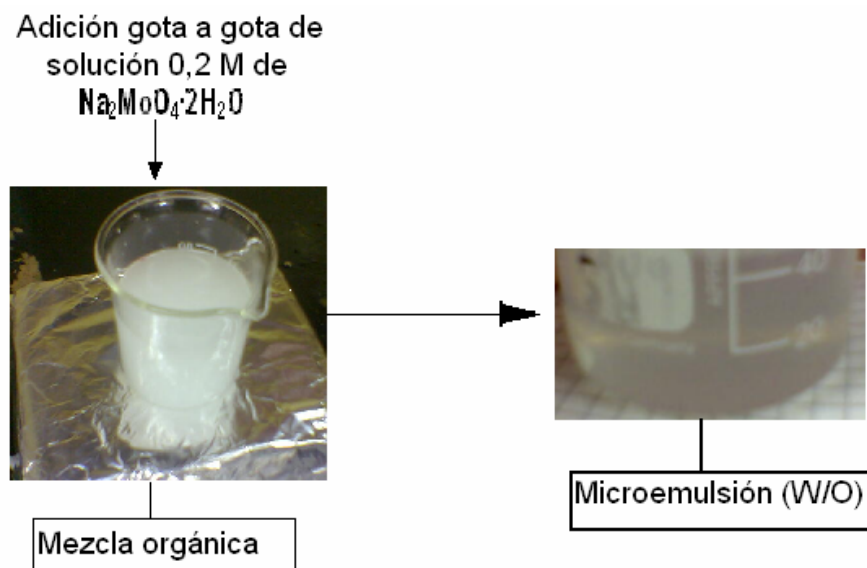


Figura 13. Preparación de la microemulsión (W/O).

La microemulsión formada se traspasó a un recipiente ámbar, se tapó y se rotuló. Debido a que no se utilizó toda la microemulsión en una sola reacción la cantidad restante fue guardada a temperatura ambiente hasta nuevo uso (tiempo que no fue mayor a una semana). El diclorometano se seleccionó como medio orgánico debido a que el tiempo de vida del $^1\text{O}_2$ en este solvente es de 97 μs , mientras que en la fase acuosa es de 4,4 μs , y un tiempo de vida total de 42,4 μs en la microemulsión. [8,9]

3.3. GENERACIÓN QUÍMICA DEL $^1\text{O}_2$ Y OXIDACIÓN DE SUSTRATOS ORGÁNICOS.

La oxidación tanto del antraceno como del LM con $^1\text{O}_2$ se llevó a cabo a temperatura ambiente, y con agitación constante en un balón de fondo redondo de 50 mL, recubierto con papel aluminio para evitar la autooxidación del sustrato por la incidencia de la luz sobre los productos de oxidación, los cuales pueden formar especies radicalarias.

El sustrato se preparó disolviendo 0,2 mmol de antraceno o linoleato de metilo en 15 mL de la microemulsión (W/O), la mezcla se agitó magnéticamente

durante 10 minutos, luego se adicionaron poco a poco 6 fracciones de 100 μL de H_2O_2 (30 %), con intervalos de 15 minutos entre cada una. Esto se hizo con el objeto de favorecer la formación del oxotriperoxomolibdato $\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$ de color rojo anaranjado el cual es precursor del $^1\text{O}_2$ y evitar la formación del complejo tetraperoxomolibdato $\text{Mo}(\text{O}_2)_4^{2-}$ que no genera $^1\text{O}_2$. [5,7,8]

Todas las reacciones de oxidación del antraceno y el LM con el $^1\text{O}_2$ se realizaron por triplicado.

3.4. DETECCIÓN INDIRECTA DEL $^1\text{O}_2$

La detección indirecta del $^1\text{O}_2$ se llevó a cabo de dos formas: (1) por una reacción de atrapamiento químico con antraceno; y (2) por inhibición de esta reacción con la azida de sodio (NaN_3). [30,33] La desactivación del $^1\text{O}_2$ con la NaN_3 se lleva a cabo a través de un proceso de transferencia de carga en el que se regenera el oxígeno molecular triplete. [17]

3.4.1. Atrapamiento químico con antraceno

Se oxidaron 0,2 mmol de antraceno, la reacción se siguió por espectrometría UV-Vis observándose la disminución de la banda en 375 nm, característica del espectro UV-Vis del antraceno (anexo I). Se tomaron muestras de 100 μL a los 0, 3, 6, 9, 12, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 min de reacción, y se llevaron a 10 mL con etanol absoluto para posterior análisis espectroscópico UV-Vis. Una vez finalizada la reacción se procedió a preparar la muestra para determinar el producto de esta reacción por GC-MS según la metodología descrita en la sección 3.8.

La curva de calibración para el antraceno se obtuvo preparando soluciones patrón de $3,0 \cdot 10^{-5}$, $6,0 \cdot 10^{-5}$, $9,0 \cdot 10^{-5}$, $1,2 \cdot 10^{-4}$ y $1,5 \cdot 10^{-4}$ mol/L, disueltas en etanol absoluto, y determinado la absorbancia en la banda a 375 nm por espectroscopía UV-Vis.

3.4.2. Desactivación del $^1\text{O}_2$ con NaN_3

Se disolvieron 0,036 g (0,55 mmol) de NaN_3 y 0,2 mmol de antraceno en 15 mL de microemulsión (W/O), se agito magnéticamente durante 10 min, luego se adicionaron las alícuotas de H_2O_2 para generar $^1\text{O}_2$, según lo indicado en la sección 3.3. La reacción se siguió por espectroscopía UV-Vis registrándose el cambio de absorbancia a 375 nm, a los 0, 10, 20, 30, 40 y 50 min de reacción. Para cada tiempo se tomaron muestras de 100 μL y se llevaron a 10 mL con etanol absoluto para posterior análisis por espectroscopía UV-Vis.

La inhibición de la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ se realizó por triplicado, al igual que las demás reacciones.

3.5. DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN CINÉTICA DE LA REACCIÓN DE OXIDACIÓN DEL ANTRACENO CON EL $^1\text{O}_2$

La cinética de la reacción de oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ se determinó por medio de cuatro experimentos, en los que se adicionó una alícuota de 100 μL de H_2O_2 y se monitoreo la reacción cada 3 min por espectroscopía UV-Vis durante 15 min (tiempo que tarda 100 μL de H_2O_2 en descomponerse y generar $^1\text{O}_2$). En los tres primeros experimentos se varió la concentración del antraceno utilizando 0,2, 0,4 y 0,8 mmol de antraceno, adicionando 100 μL de H_2O_2 (30%) en cada uno de los experimentos. Mientras que en el cuarto se adicionó 50 de μL H_2O_2 y 0,2 mmol de antraceno.

En cada experimento se tomaron muestras de 100 μL de la reacción de oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$, y se llevaron a 10 mL con etanol absoluto para posterior análisis por espectroscopía UV-Vis. Además, cada experimento se realizó por triplicado.

3.6. DETECCIÓN DEL RADICAL HIDROXILO ($\cdot\text{OH}$) CON EL TEREFTALATO DISÓDICO

La presencia del radical $\cdot\text{OH}$ se evidencia por la formación del 2-hidroxitereftalato disódico, al reaccionar el $\cdot\text{OH}$ con el tereftalato disódico. [44]

Para determinar si en la reacción de producción de $^1\text{O}_2$ se forma radical hidroxilo se disolvieron 0,084 g (0,2 mmol) de tereftalato disódico en agua junto con el catalizador, debido a que éste no se solubiliza al adicionarse directamente a la microemulsión, el procedimiento restante para la generación de la microemulsión se realizó como se describe en la sección 3.2.

Una vez generada la microemulsión, se tomaron 15 mL de ésta y se le adicionaron las alícuotas de H_2O_2 como se describe en la sección 3.3. La reacción se siguió por espectroscopía UV-Vis observándose el cambio de absorbancia de la banda en 312 nm, a los 0, 10, 30, 50, 70 y 90 min de reacción. Para cada tiempo se tomaron muestras de 100 μL y se llevaron a 10 mL con agua destilada para posterior análisis por espectroscopía UV-Vis.

3.7. IDENTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL LINOLEATO DE METILO CON $^1\text{O}_2$

Se oxidaron 0,2 mmol de LM con $^1\text{O}_2$ como se indicó en la sección 3.3. Los productos de esta oxidación se monitorearon por espectroscopía UV-Vis, y se determinaron por HPLC y GC-MS.

Inicialmente se tomó una alícuota de 100 μL del medio de reacción antes de adicionar el H_2O_2 , y se aforó hasta 10 mL con etanol absoluto, luego se le tomó el espectro UV-Vis. Seguidamente, se tomaron muestras de 100 μL a los 3, 6, 9, 12, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 min, después de adicionada la primera alícuota de

⁴⁴ FIELD L., ENGELHARDT P. 1970. Organic disulfides and related substances. XXX. Preparations and reactions of mercaptoterephthalic acids and derivatives. *En: J. Org. Chem.* Vol. 35, Pág. 3647.

H₂O₂ al medio de reacción. Las muestras tomadas se aforaron hasta 10 mL con etanol absoluto y posteriormente se analizaron los hidroperóxidos alílicos dieno conjugados producidos en la oxidación del LM con ¹O₂, los cuales fueron identificados por la absorción UV-Vis en la banda entre 224 y 240 nm. [10,11,45]

Una vez finalizada la reacción se procedió a la preparación de la muestra para determinar los productos de reacción por HPLC y CG-MS según la metodología descrita en la sección 3.8.

3.8. DETERMINACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL ANTRACENO Y EL LINOLEATO DEL METILO CON ¹O₂

Para poder realizar la determinación de los productos de oxidación del antraceno y el LM con el ¹O₂ por HPLC (implementado solo para productos del LM en los cuales la detección se llevó a cabo en las longitudes de onda de 233 nm y 200 nm, y con los solventes metanol y agua, ambos grado HPLC [12]) y GC-MS (implementado para los productos de ambos sustratos), fue necesario realizar una previa extracción de los productos, que consistió en dos etapas:

Eliminación de agua y catalizador

- Rompimiento de la microemulsión por adición de agua, y extracción de la fase orgánica que posee los productos de oxidación. (ver figura 14).

⁴⁵ SMITH M., BROWN R., SMULLIN S. 1997. Photosensitized Peroxidation of Lipids. En: *J. Chen. Ed.* Vol. 74, Pág: 1471.

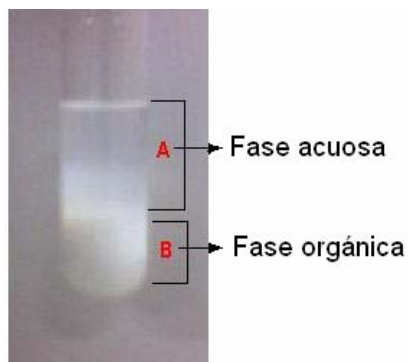


Figura 14. Extracción de la fase orgánica del medio de reacción.

- Secado de la fase orgánica extraída con sulfato de sodio anhidro eliminando las trazas de agua.

Eliminación del surfactante

- Eliminación del surfactante presente en el extracto orgánico a través de una columna de intercambio aniónico Amberjet 4200 (preparación de la columna anexo II),
- Secado del extracto con sulfato de sodio para eliminar las trazas de agua presentes.
- Finalmente se realizó una prueba de tensoactivos aniónicos con el objeto de verificar la eliminación del SDS (ver anexo III). La muestra se rotuló, se cubrió con papel aluminio y se guardó por un tiempo de aproximadamente tres horas a temperatura ambiente, para posterior análisis por GC-MS y HPLC.

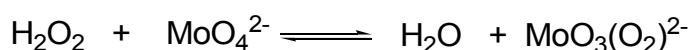
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. GENERACIÓN DE $^1\text{O}_2$

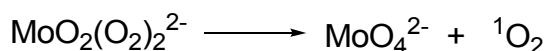
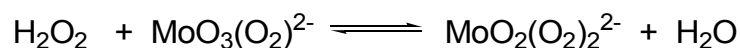
El $^1\text{O}_2$ se generó químicamente con el sistema $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$, para evitar de esta manera la posible participación de otras especies activas del oxígeno en la oxidación del LM, y de esta forma determinar sus productos de oxidación por $^1\text{O}_2$.

Las reacciones propuestas durante la generación del $^1\text{O}_2$ son:

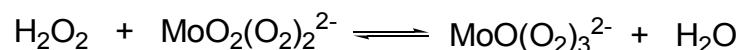
(1) *Formación del complejo trioxoperoxomolibdato*



(2) *Generación de $^1\text{O}_2$ a partir del complejo dioxodiperoxomolibdato*



(3) *Generación de $^1\text{O}_2$ a partir del complejo oxotriperoxomolibdato*



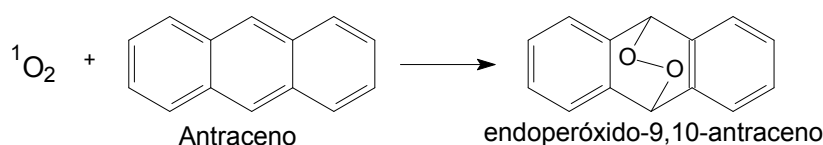
Entre las cuales se ha considerado al complejo oxotriperoxomolibdato como el intermediario generador del $^1\text{O}_2$, por su alto rendimiento en su descomposición,

en comparación con el complejo dioxodiperoxomolibdato, según estudios de RMN ^{95}Mo y cinéticos. [7]

La generación del $^1\text{O}_2$ se verificó, de forma indirecta, mediante su reacción con el antraceno, que es un atrapador químico del $^1\text{O}_2$ y usando la NaN_3 , como desactivador específico del $^1\text{O}_2$.

4.1.1. Atrapamiento químico del $^1\text{O}_2$ con antraceno

La oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ forma un producto específico, endoperóxido-9,10-antraceno. La ciclo adición $[4\pi + 2\pi]$ del $^1\text{O}_2$ con el antraceno es conocida como atrapamiento químico, debido a que el antraceno por su gran densidad electrónica captura el $^1\text{O}_2$ que actúa como electrófilo.



El seguimiento de la reacción se realizó por espectroscopía UV-Vis y GC-MS.

4.1.1.1. Estudio de la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ por espectroscopía UV-Vis

La figura 15 presenta el cambio de la intensidad del espectro UV-visible del antraceno a medida que transcurre la reacción de oxidación con el $^1\text{O}_2$, se visualiza la aparición de una pequeña banda en 270 nm (**A**), la cual según Klein Andreas [13,14] corresponde al primer estado singlete excitado ($S_0 \rightarrow S_1$), de simetría B_2 del endoperóxido-9,10-antraceno y otra banda a 212 nm (**B**) que corresponde a una transición $1'A_1 \rightarrow 2'B_2$ de este mismo producto, esta banda se presenta como una banda gruesa y de alta intensidad.

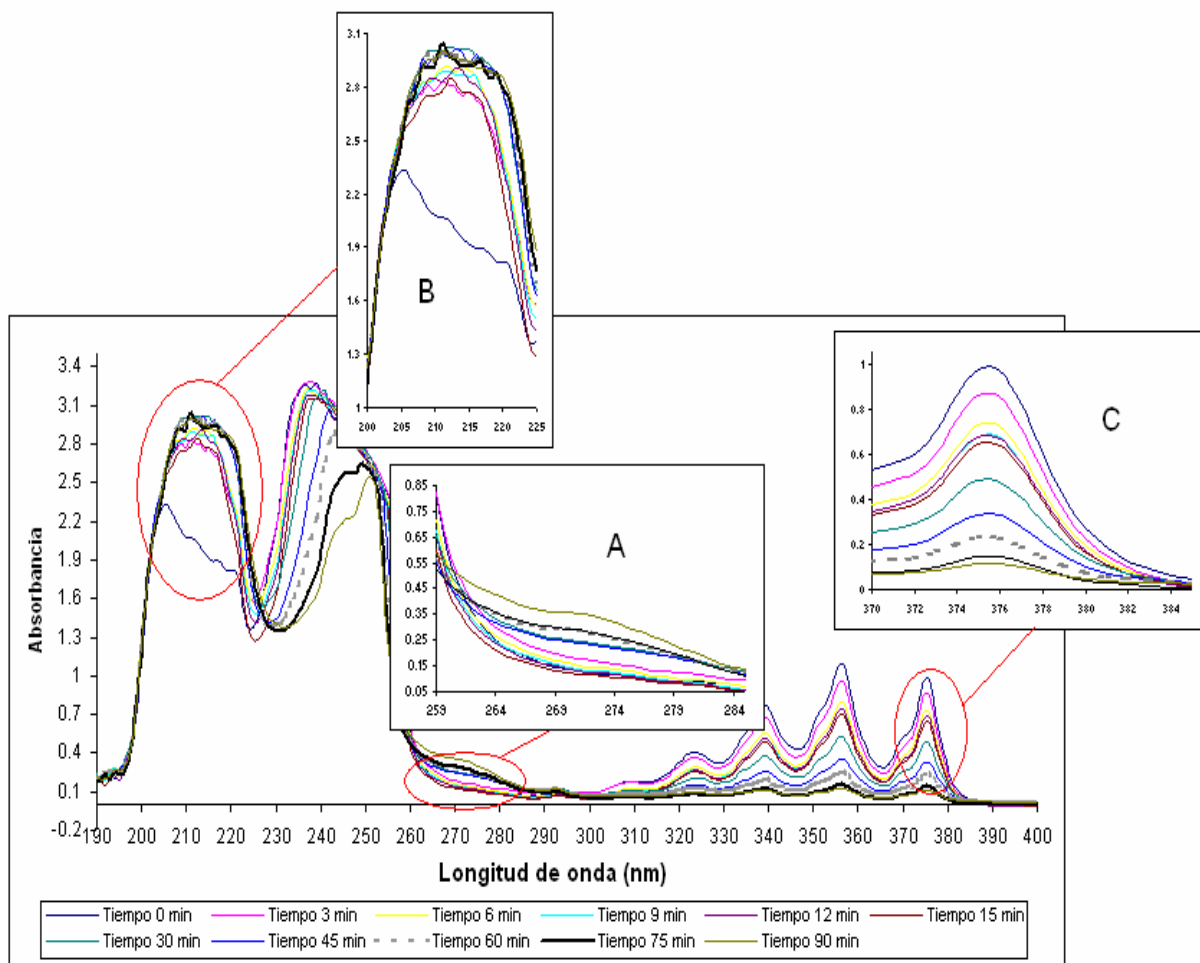


Figura 15. Oxidación del antraceno con $^1\text{O}_2$ generado por el sistema $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$ en función del tiempo.

- A.** Banda en 270 nm correspondiente al primer estado singlete excitado ($S_0 \rightarrow S_1$) del endoperóxido-9,10-antraceno.
- B.** Banda en 212 nm correspondiente a una transición $1'A_1 \rightarrow 2'B_2$ del endoperóxido-9,10-antraceno.
- C.** Banda en 375 nm correspondiente al antraceno

La oxidación del antraceno con $^1\text{O}_2$ se determinó con espectroscopía UV-Vis a 375 nm (ver **C** en la figura 15). La concentración del antraceno y el % de conversión a medida que transcurre la reacción se indica en la tabla 1.

La concentración de antraceno se calculó con la curva de calibración $A = 6,31 \cdot [\text{antraceno}] \cdot 10^3 + 3,41 \cdot 10^{-2}$ (ver Anexo IV), con un factor de dilución de 100.

El porcentaje de conversión del antraceno se calculó con la siguiente expresión:

$$\% \text{ Conversión} = ([\text{Antraceno}]_i - [\text{Antraceno}]_f) * 100 / [\text{Antraceno}]_i$$

En donde $[\text{Antraceno}]_i$ es la concentración inicial del antraceno y $[\text{Antraceno}]_f$ es la concentración del antraceno en un tiempo determinado.

Tabla 1. Porcentaje de conversión del antraceno en su oxidación con $^1\text{O}_2$ en función del tiempo.

Tiempo (min)	Absorbancia	$[\text{Antraceno}] * 10^{-2}$ (mol/L)	% Conversión
0	0,974	1,492	0
3	0,859	1,309	12,27
6	0,725	1,097	26,47
9	0,677	1,020	31,64
12	0,676	1,019	31,70
15	0,665	1,01	32,89
30	0,482	0,711	52,35
45	0,330	0,47	68,50
60	0,230	0,311	79,16
75	0,143	0,173	88,40
90	0,115	0,128	91,42

El % de conversión del antraceno después 90 min de su oxidación con el $^1\text{O}_2$ fue del 91,42 %. Esto confirma la eficiencia en la oxidación de compuestos orgánicos lipofílicos con $^1\text{O}_2$ generado por el sistema químico $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$, utilizando la microemulsión (W/O) como medio de reacción.

En la figura 16 se observa el % de conversión del antraceno en función del tiempo. Esta figura presenta una especie de hombro entre el intervalo de 9 a 15 min, indicado que después de adicionar cada alícuota, la reacción de oxidación del antraceno con $^1\text{O}_2$ alcanza el equilibrio. Además los primeros 15 min de reacción se monitorearon cada 3 min observándose la tendencia hacia el equilibrio de la reacción de oxidación, correspondiente a la descomposición de la primera alícuota de H_2O_2 , y después de esta primer alícuota, las muestras se

tomaron cada 15 min hasta los 90 min de la reacción de oxidación del antraceno con $^1\text{O}_2$.

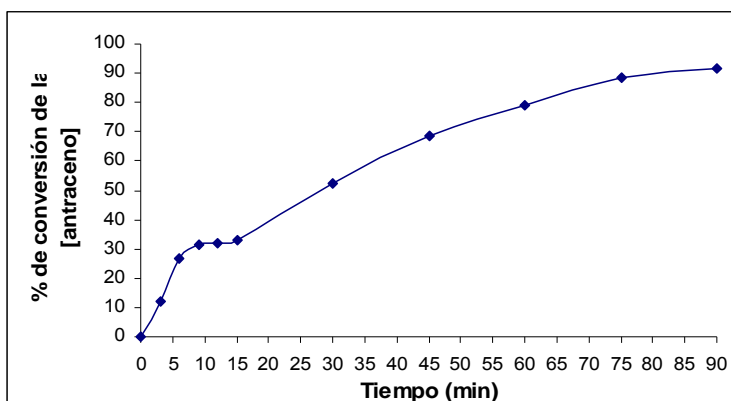


Figura 16. Porcentaje de conversión del antraceno en su reacción de oxidación con $^1\text{O}_2$ en función del tiempo.

4.1.1.2. Determinación de la expresión cinética de la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$

La expresión cinética de la reacción de oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ se determinó para los primeros 15 min de reacción, tiempo en el que una alícuota de 100 μL de H_2O_2 (30%) se descompone generando $^1\text{O}_2$.

Se realizaron cuatro experimentos (ver sección 3.5.), en tres de ellos se utilizaron las cantidades de antraceno de 0,2, 0,4 y 0,8 mmol, manteniendo constante la cantidad de H_2O_2 , y en el cuarto se adicionó la mitad del H_2O_2 y una cantidad de antraceno de 0,2 mmol. Los resultados se presentan en la figura 17. Utilizando el cálculo de la pendiente inicial para cada una de las curvas de esta figura se obtiene la siguiente expresión de velocidad para la reacción global.

$$v = k[\text{antraceno}]^{0,901}[\text{H}_2\text{O}_2]^{-0,129}$$

Donde la constante de velocidad $k = 0,019 \text{ L}/(\text{min} \cdot \text{mol}^{-0,228})$

Según esta expresión de velocidad, el H_2O_2 puede actuar como inhibidor de la reacción de oxidación del antraceno con $^1\text{O}_2$ debido a que presenta un orden

de reacción negativo (-0,129), lo cual estaría de acuerdo con lo propuesto por Aubry y Nardello. [5,7,8] (Un exceso en la concentración del H₂O₂, lleva a que este reaccione con el intermediario oxotriperomolibdato produciendo el intermediario tetraperoxomolibdato el cual no genera el ¹O₂).

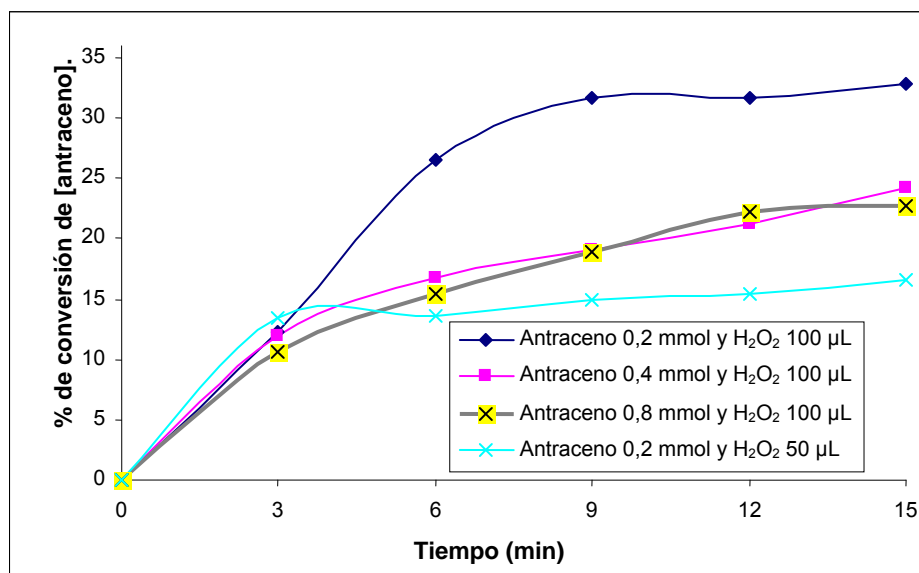


Figura 17. Efecto de la concentración del antraceno y del H₂O₂ sobre el % de conversión del antraceno en la oxidación con ¹O₂.

El % de conversión a los 3 min de iniciada la reacción en los cuatro experimentos es similar, lo que indica que en estos primeros instantes se genera la mayor cantidad del ¹O₂ considerándose estequiométricamente en exceso con respecto al antraceno. Al finalizar la reacción se observa que el % de conversión varía significativamente para los experimentos en los que se utilizó 0,2 mmol de antraceno y las cantidades de H₂O₂ de 50 y 100 µL (% de conversión 16,7 y 32,9 respectivamente), mientras que en los experimentos en los cuales la cantidad de H₂O₂ (100 µL) se conservó, pero la cantidad de antraceno varió (0,4 mmol y 0,8 mmol) se observó un % de conversión semejante (24,2 y 22,7 % respectivamente), pero que al mismo tiempo también difiere de los dos experimentos anteriores.

Esta variación del % de conversión se podría explicar teniendo en cuenta la desactivación física del ¹O₂ por contacto con moléculas del solvente o del

mismo sustrato, después de los primeros minutos de iniciada la reacción, de tal manera que aumento de la concentración del antraceno puede llevar a aumentar la cantidad de $^1\text{O}_2$ que se desactiva físicamente, en comparación a la que se desactiva químicamente con el sustrato o reacciona con el sustrato. (Ver esquema 6 y figura 1)

La alícuota de 100 μL de H_2O_2 (30 %) genera 0,496 mmol de $^1\text{O}_2$, pero como se indicó anteriormente no reacciona completamente con el antraceno debido a la desactivación física y a la emisión de fosforescencia que lo retorna a su estado triplete.

En la tabla 2 se muestra el % de $^1\text{O}_2$ que reaccionó en cada uno de los cuatro experimentos, presentándose mayores % a concentraciones más altas de antraceno, debido al aumento de la probabilidad en las colisiones entre el sustrato y el $^1\text{O}_2$, antes de que este último se desactive físicamente.

Tabla 2. Efecto de la concentración de antraceno y de H_2O_2 sobre el % de $^1\text{O}_2$ que reacciona con el antraceno en 15 minutos de reacción.

Experimento	% $^1\text{O}_2$
0,2 mmol antraceno + 100 μL H_2O_2	16,01
0,4 mmol antraceno + 100 μL H_2O_2	22,27
0,8 mmol antraceno + 100 μL H_2O_2	38,10
50 μL H_2O_2 + 0,2mmol antraceno	15,10

4.1.1.3. Análisis de la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ por GC-MS

El análisis de la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ por GC-MS muestra cuatro productos: 9,10-antraquinona (48,1 %), antrona (22,6 %), endoperóxido-9,10-antraceno (19,7 %) y 9-hidroxiantrona (9,6 %), (Ver espectros de masas en el anexo V).

En la figura 18 se muestra la posible ruta de fragmentación del espectro de masas para la antraquinona, en la que se observa que el ión molecular (M^+) cuya relación masa-carga (m/z) igual a 208 (a) unidades es el ión pico de base.

Además se presenta eliminación sucesiva de dos moléculas de dióxido de carbono que forman los cationes radicales m/z 180 (b) y 152 (c), y la posterior eliminación de una molécula de etileno de (c) para formar el catión radical m/z 126 (d). La segunda ionización de la antraquinona forma el catión radical m/z 104.

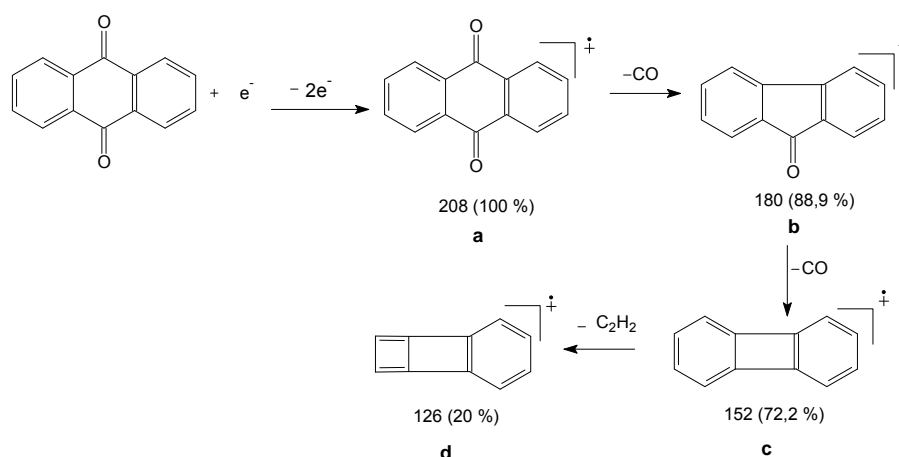


Figura 18. Ruta de fragmentación del espectro MS de la 9,10-antraquinona.

La ruta de fragmentación para la antrona se muestra en la figura 19, observándose como ión pico de base el mismo ión molecular (M^+) m/z 194 (e), además de una ruptura homolítica del carbono C-9 y de la abstracción de un hidrógeno de uno de los anillos de la estructura de la antrona para eliminar el radical formilo y formar el catión m/z 165 (f). Posteriormente se elimina una molécula de etileno de f para formar el catión m/z 139 (g). También se observa el catión radical m/z 97 obtenido de la segunda ionización de la antrona.

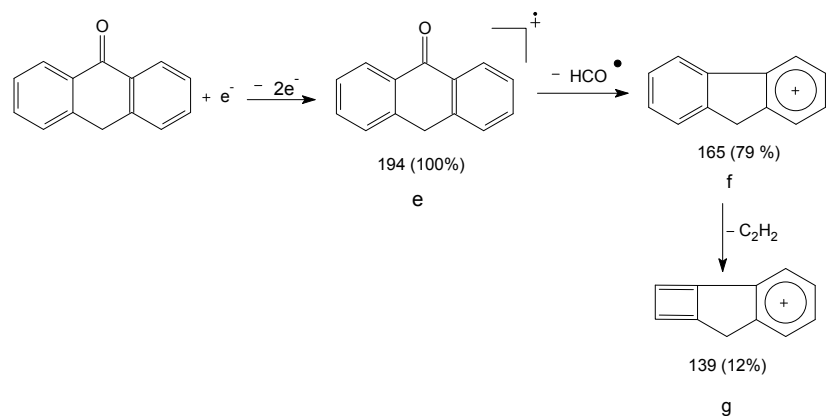


Figura 19. Ruta de fraccionamiento del espectro MS de la antrona.

En la figura 20 se muestra una posible ruta de fraccionamiento para los picos característicos de la 9-hidroxi-antrona de ión molecular (M^+) m/z 210 (h), en donde se observa la eliminación del radical hidroxilo y del radical formilo para formar los cationes m/z 193 (i) y 181 (j), este último corresponde al ión pico de base.

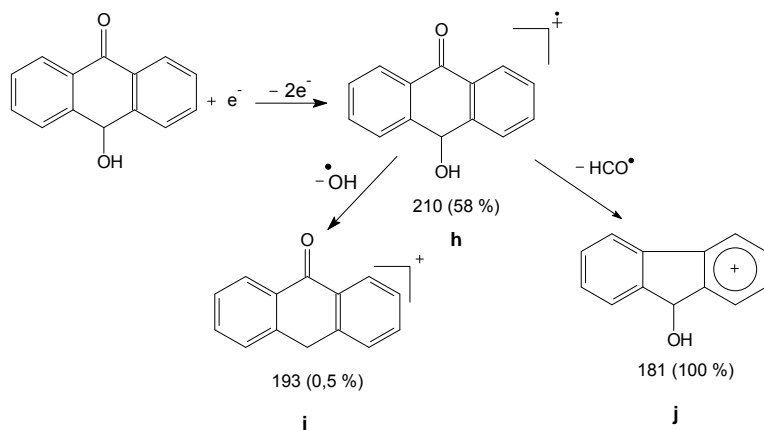


Figura 20. Ruta de fraccionamiento del espectro MS de la 9-hidroxi-antrona.

Una posible ruta de fraccionamiento del endoperóxido-9,10-antraceno, se muestra en la figura 21. La ruta se inicia con una eliminación de O_2 del ión molecular (M^+) m/z 210 (k) (este ión presenta poca intensidad la cual puede ser debida a la inestabilidad del endoperóxido-9,10-antraceno) para formar el catión radical pico de base m/z 178 (l), el cual pertenece al antraceno.

Posteriormente se elimina una molécula de etileno de (l) para formar el catión radical m/z 152 (m) y una molécula de ciclo 1,2-butadieno para formar el catión radical m/z 126 (n).

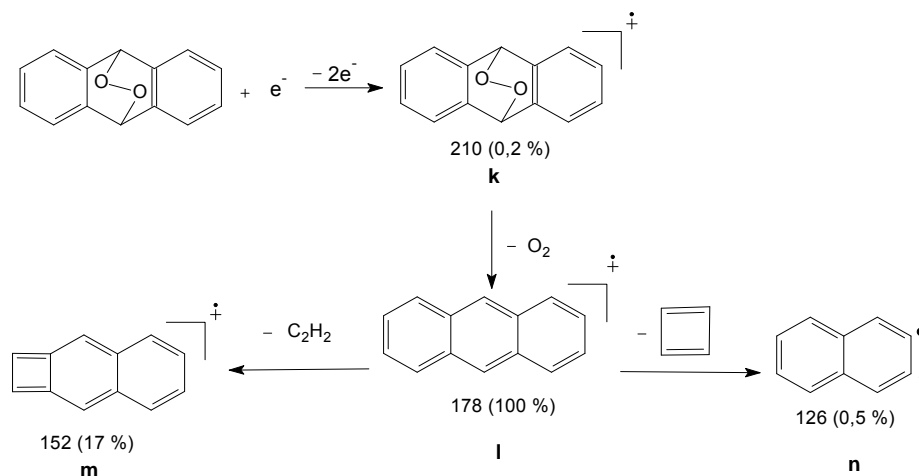


Figura 21. Ruta de fragmentación del endoperóxido-9,10-antraceno.

Según Aubry [46], Dadestani [47] y Madhavan [48] la 9,10-antraquinona y la 9-hidroxiantrona corresponden a los productos de la descomposición térmica del endoperóxido-9,10-antraceno (ver figura 22), la cual pudo presentarse en el puerto de inyección del cromatógrafo al realizar la determinación del producto endoperóxido-9,10-antraceno por GC-MS, indicando de esta forma que efectivamente hay generación de 1O_2 . Sin embargo, la antrona no hace parte de estos productos de descomposición, luego se puede pensar que fue generada por otra especie activa del oxígeno diferente al 1O_2 , como el radical $\cdot OH$, el cual podría formarse a partir de 1O_2 y H_2O_2 en medio básico, según lo propuesto por Lau. [15]

⁴⁶ AUBRY J., PIERLOT C., RIGAUDY J, AND SCHMID R. 2003. Reversible Binding of Oxygen to Aromatic Compounds. *En: Acc. Chem. Res.* Vol. 36, Pág. 668.

⁴⁷ DABESTANI R., ELLIS K., SIGMAN M. 1995. Photodecomposition of anthracene on dry surfaces: products and mechanism. *En: Journal of Photochemistry and Photobiology A.* Vol. 86, Pág. 231.

⁴⁸ MADHAVAN D., PITCHUMANI K. 2002. Photoreactions in clay media: singlet oxygen oxidation of electron-rich substrates mediated by clay-bound dyes. *En: Journal of Photochemistry and Photobiology A.* Vol. 153, Pág. 205

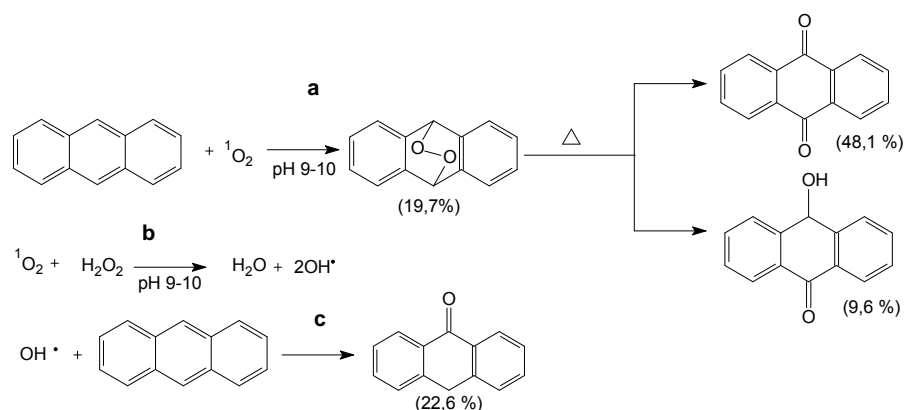
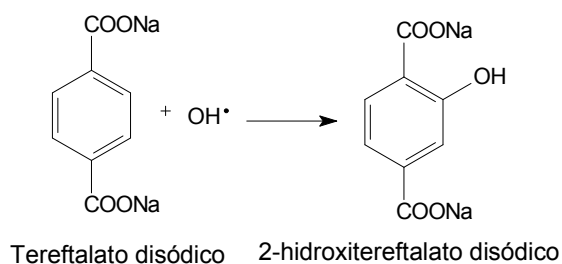


Figura 22. Reacciones del antraceno con el $^1\text{O}_2$ que ocurren en el medio de reacción y en el puerto de inyección del cromatógrafo. **a.** Producción del endoperóxido-9-10-antraceno en la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ y posterior descomposición térmica de este producto. **b.** Generación del radical hidroxilo propuesta por Lau. **c.** Formación de la antrona por oxidación del antraceno con el radical hidroxilo.

4.1.1.4. Detección del radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) con el tereftalato disódico

Para tratar de probar la posible formación del radical $\cdot\text{OH}$ durante la generación química del $^1\text{O}_2$ se utilizó el tereftalato disódico. Esta molécula reacciona específicamente con el radical hidroxilo generando el 2-hidroxitereftalato disódico que absorbe a 312 nm.



Esta reacción se llevó a cabo bajo las mismas condiciones implementadas para la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$, encontrándose un pequeño aumento de la absorbancia a 312 nm a los 90 min de reacción. [44] (Ver figura 23).

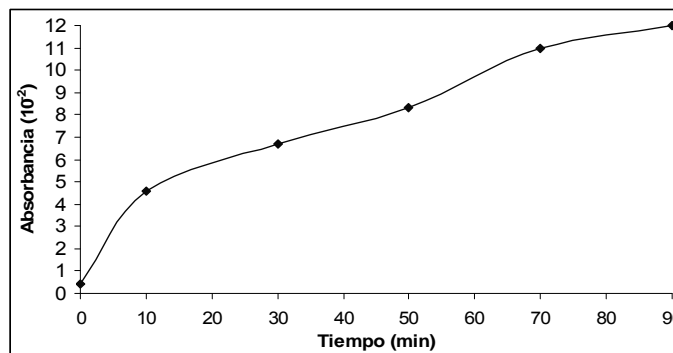


Figura 23. Formación del 2-hidroxitereftalato disódico en el medio de reacción en función del tiempo.

4.1.2. Inhibición del ¹O₂ con azida de sodio

La NaN₃ es un inhibidor específico de las reacciones del ¹O₂, debido a que esta sal desactiva o apaga la especie activa del oxígeno por medio un proceso de transferencia de carga. Esta cualidad de la azida de sodio la hacen útil para detectar indirectamente al ¹O₂. [17]

Cuando en el medio de reacción para la oxidación del antraceno con ¹O₂ se adicionó NaN₃ en una concentración 3,67 mol/L, se inhibió la reacción. Los resultados se presentan en la figura 10 A donde se aprecia que no hubo cambios en la banda de absorbancia a 375 nm en comparación con las reacciones en ausencia de este desactivador del ¹O₂ (ver figura 24 B). Por consiguiente, no se observan cambios significativos en la concentración de antraceno inicial que en promedio fue de 1,49*10⁻² mol/L (Ver tabla 3).

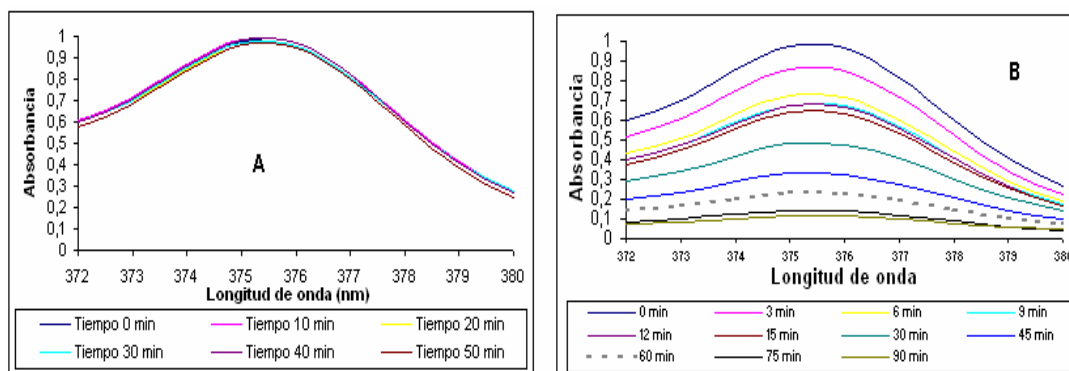


Figura 24. Atrapamiento del ¹O₂ por NaN₃ durante la oxidación del antraceno con el ¹O₂. **A** con NaN₃ **B** sin NaN₃

Tabla 3. Efecto de la NaN_3 sobre la concentración de antraceno en la reacción de oxidación del antraceno con $^1\text{O}_2$.

Tiempo (min)	[Antraceno]* 10^{-2} (mol/L)
0	1,50
10	1,50
20	1,47
30	1,48
40	1,50
50	1,47

Teniendo en cuenta que la concentración de antraceno no cambió con el tiempo, indica que no reaccionó con el $^1\text{O}_2$ y tampoco con el radical $\cdot\text{OH}$. Puesto que para la formación de radical $\cdot\text{OH}$, de acuerdo con la hipótesis de Lau se requiere $^1\text{O}_2$, en presencia de azida de sodio tampoco se formaría este radical (Ver figura 25). Esto nos permite plantear que en el sistema químico generador del $^1\text{O}_2$, se puede estar formando también el radical $\cdot\text{OH}$, según la reacción propuesta por Lau. [15]

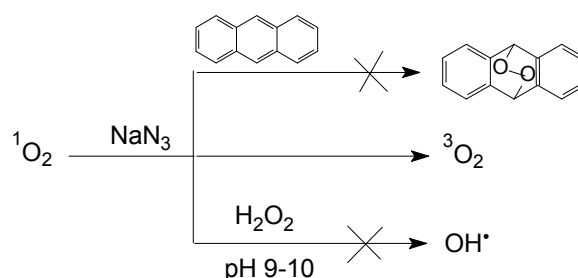


Figura 25. Desactivación del $^1\text{O}_2$ por la NaN_3 para regenerar el oxígeno triplete.

4.2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL LM CON EL $^1\text{O}_2$.

A continuación se presentan los resultados obtenidos en la identificación de los productos 9-hidroperóxi-10,12-octadecadienoato de metilo, 10-hidroperóxi-8,12- octadecadienoato de metilo, 12-hidroperóxi-9,13- octadecadienoato de metilo y 13-hidroperóxi-9,11- octadecadienoato de metilo, de la reacción “ene” del $^1\text{O}_2$ con LM, utilizando las técnicas instrumentales: espectroscopía de UV-Vis, HPLC y GC-MS.

4.2.1. Identificación de los productos de oxidación del linoleato de metilo con el $^1\text{O}_2$ por espectroscopía UV-Vis

La identificación por espectroscopía UV-Vis de los productos de oxidación del LM con $^1\text{O}_2$ se basa principalmente en la absorbancia que presentan los dieno conjugados en la banda comprendida entre 224 y 240 nm. [10,11,45]

Los resultados de la oxidación del linoleato de metilo con $^1\text{O}_2$ se presentan en la figura 26. En la medida que transcurre la reacción se observa un gran aumento de la absorbancia en la banda entre 224 y 240 nm evidenciando de esta manera la presencia de los hidroperóxidos alílicos de dienos conjugados 9-hidroperóxi-10,12-octadecadienoato de metilo y el 13-hidroperóxi-9,11-octadecadienoato de metilo.

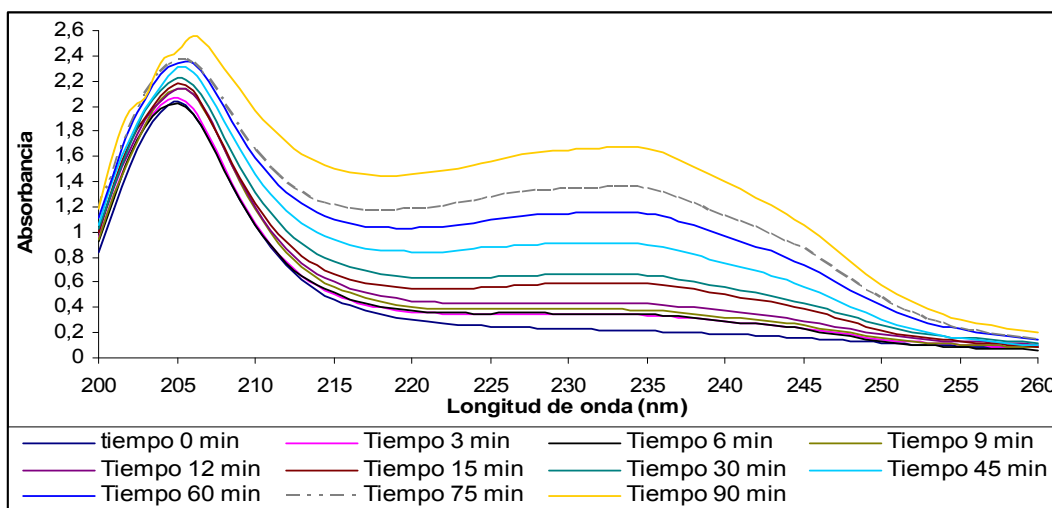


Figura 26. Oxidación de linoleato de metilo con $^1\text{O}_2$ en función del tiempo.

Estos productos de oxidación del LM con $^1\text{O}_2$ se forman mediante la reacción entre el $^1\text{O}_2$ con las insaturaciones del LM, llevando al desplazamiento del doble enlace que participa en la reacción para formar dienos conjugados, los cuales pueden proporcionar mayor estabilidad a los hidroperóxidos alílicos formados. (Ver figura 27).

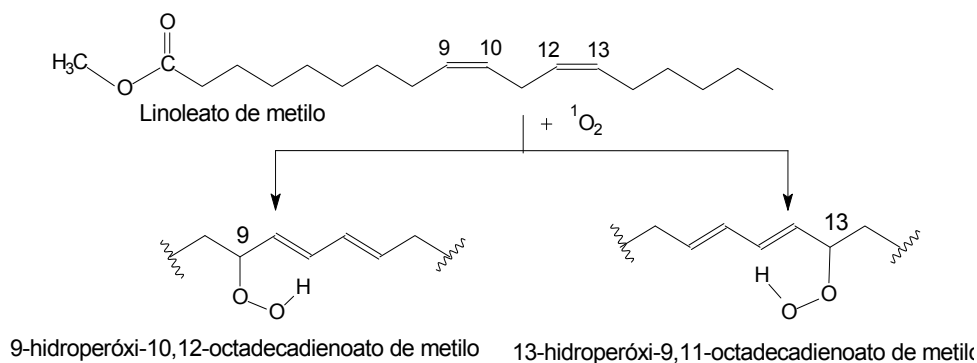


Figura 27. Formación de los hidroperóxidos alílicos de dienos conjugados en la oxidación de linoleato de metilo con $^1\text{O}_2$.

4.2.2. Identificación de los productos de oxidación del linoleato de metilo con el $^1\text{O}_2$ por GC-MS

De acuerdo con lo propuesto por Tejero [28] en la oxidación con $^1\text{O}_2$ de dienos conjugados se formarían dioxetanos e hidroperóxidos como productos de reacción.

El análisis por GC-MS no identifica directamente los productos de oxidación del LM con $^1\text{O}_2$, debido a la ruptura en el puerto de inyección del enlace O-O en los hidroperóxidos por efecto de la temperatura. Esta ruptura conduce a la formación de cetonas y alcoholes según la reacción de Russell. [49] Además, no se observan los aldehídos correspondientes a la fragmentación de los dioxetanos por efecto de la temperatura, de tal manera, que el tipo de reacción del $^1\text{O}_2$ que se lleva a cabo en la oxidación del LM es solamente la reacción “ene”, contrario a la hipótesis de Tejero [28] según la cual podría presentarse una ciclo adición [$2\pi + 2\pi$] del $^1\text{O}_2$ a los dobles enlaces.

Las cetonas provenientes de los hidroperóxidos producidos en la oxidación del LM co-eluyen en el $t_R = 38,4$ min, debido a la isomería presentada entre ellas. Estas cetonas poseen un ión molecular (M^+) de intensidad relativa (%) 0,2 y relación m/z 308 unidades. El espectro de masa (anexo VI, A) correspondiente

⁴⁹ MASCIO P., CATALANI L, and BECHARA E. 1992. Are Dioxetanes Chemiluminescent Intermediates in Lipoperoxidation?. En: *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 12, pág. 471.

a la co-elución de las cetonas muestra como pico de base el catión con relación m/z de 55 unidades. En la figura 28 se propone una ruta de fraccionamiento común para las cuatro cetonas isómeras obtenidas a partir de los hidroperóxidos producidos en la oxidación del LM con el 1O_2 . Esta ruta se basa en el fraccionamiento del grupo éster y la ruptura en el carbono β a este grupo. Los iones comunes en este fraccionamiento de las cetonas alílicas isómeras, y sus intensidades relativas (%) se encuentran en la tabla 4.

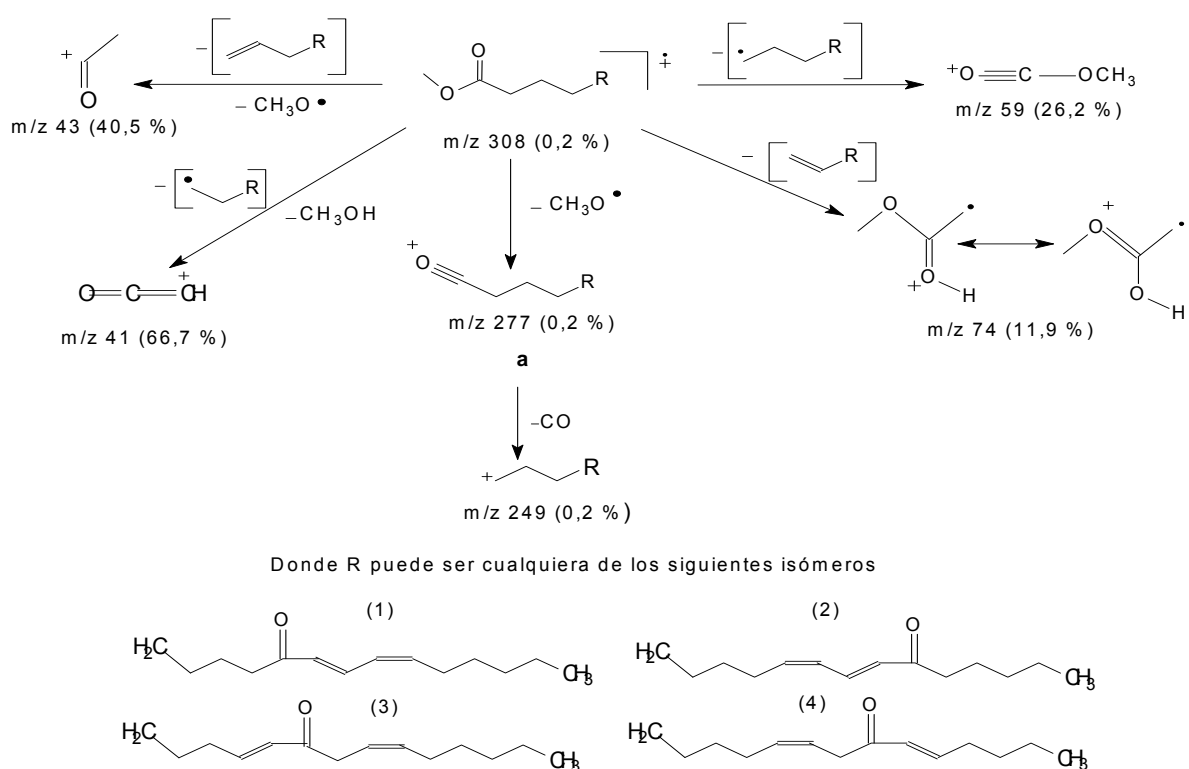


Figura 28. Patrón de fraccionamiento del ión molecular de las cetonas provenientes de los hidroperóxidos de la oxidación del linoleato de metilo con 1O_2 .

Tabla 4. Iones comunes para las cuatro cetonas alílicas isómeras e intensidades relativas (%).

IONES COMUNES	INTENSIDADES RELATIVAS (%)
308 [M ⁺]	0,2
277 (a) [M ⁺ -31]	0,2
249 [a-28]	0,2
74 [M ⁺ -234]	11,9
59 [M ⁺ -249]	26,2
43 [M ⁺ -265]	40,5
41 [M ⁺ -267]	66,7

La cetona (1) proviene del 9-hidroperóxi-10,12-octadecadienoato de metilo, la (2) del 12-hidroperóxi-9,13- octadecadienoato de metilo, la (3) del 10-hidroperóxi-8,12- octadecadienoato de metilo y la (4) del 13-hidroperóxi-9,11- octadecadienoato de metilo.

Además de la ruta de fraccionamiento común para todas las cetonas alílicas se proponen rutas de fraccionamiento independiente para cada una de las cetonas. Los iones característicos de estas rutas independientes y la secuencia de fraccionamiento para cada cetona alílica se encuentran en la tabla 5.

Tabla 5. Iones característicos y sus intensidades relativas (%) en el espectro de masas para cada una de las cetonas alílicas.

Cetona	M ⁺	a ₁	a ₂	a ₃	a ₄	a ₅	a ₆
(1)	308 (0,2)	185 (4,8) [M ⁺ -123]	55 (100) [a ₁ -130]	151 (1,2) [M ⁺ -127]	81 (36,9) [a ₃ -70]	123 (1,3) [a ₃ -28]	97 (11,9) [M ⁺ -211]
(2)	308 (0,2)	165 (4,8) [M ⁺ -143]	95 (29,8) [a ₁ -70]	99 (14,3) [M ⁺ -209]	55 (100) [a ₃ -44]	71 (8,3) [a ₃ -28]	125 (9,5) [M ⁺ -183]
(3)	308 (0,2)	111 (26,2) [M ⁺ -197]	67 (47,6) [a ₁ -44]	197 (4,8) [M ⁺ -111]	55 (100) [a ₃ -142]	169 (6) [a ₃ -28]	179 (1,2) [M ⁺ -129]
(4)	308 (0,2)	197 (4,8) [M ⁺ -111]	67 (47,6) [a ₁ -130]	111(26,2) [M ⁺ -197]	55 (100) [a ₃ -56]	83 (23,8) [a ₃ -28]	167 [M ⁺ -141]

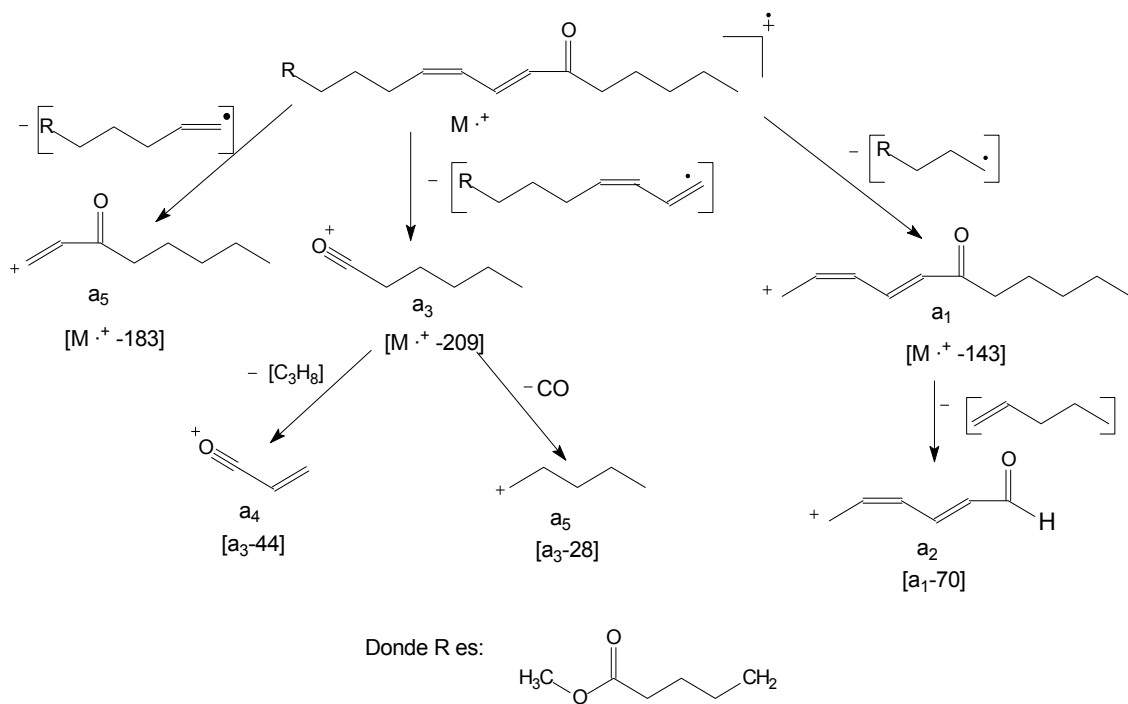


Figura 30. Patrón de fragmentación del ión molecular de la 13-ceto-9,11-octadecadienoato de metilo (2).

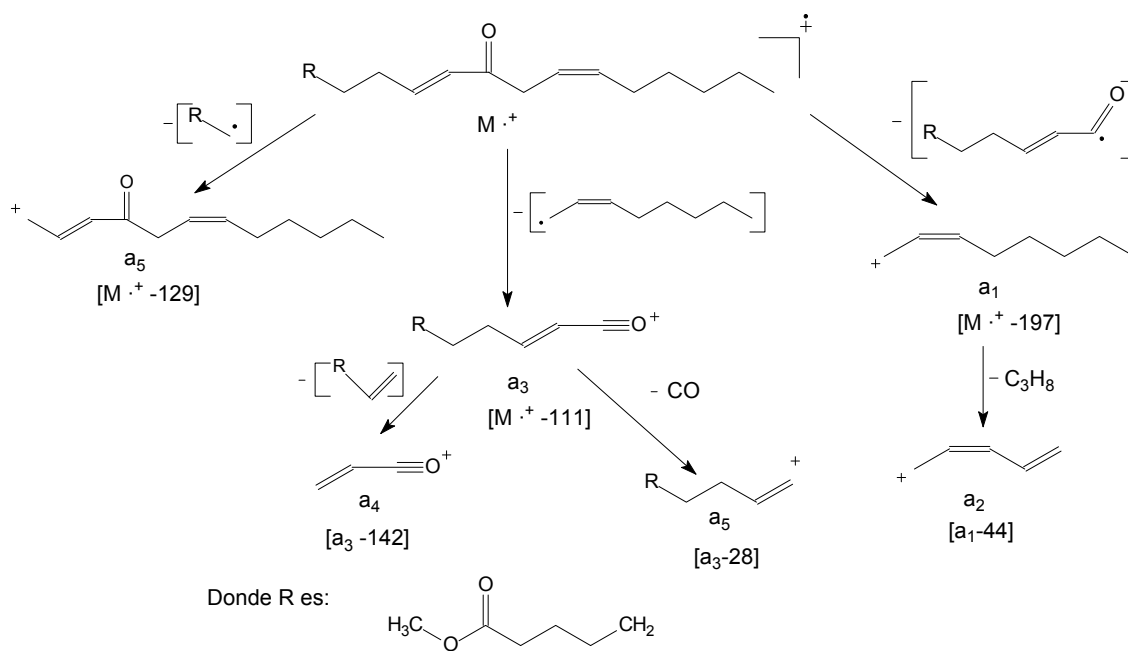


Figura 31. Patrón de fragmentación del ión molecular de la 10-ceto-8,12-octadecadienoato de metilo (3).

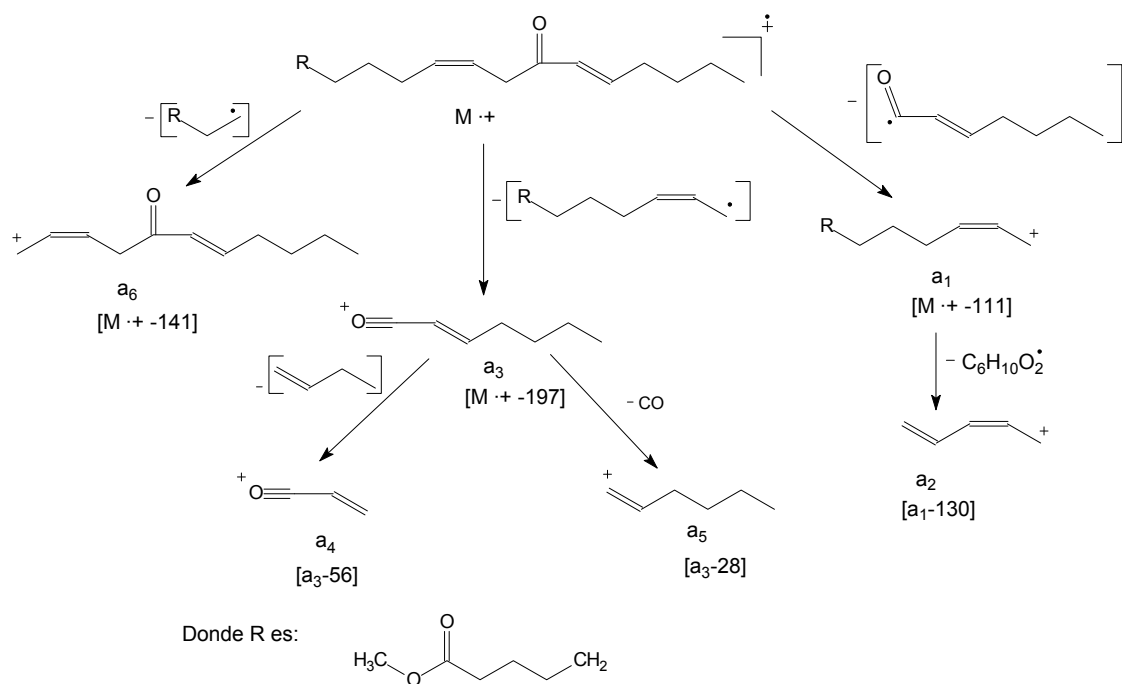


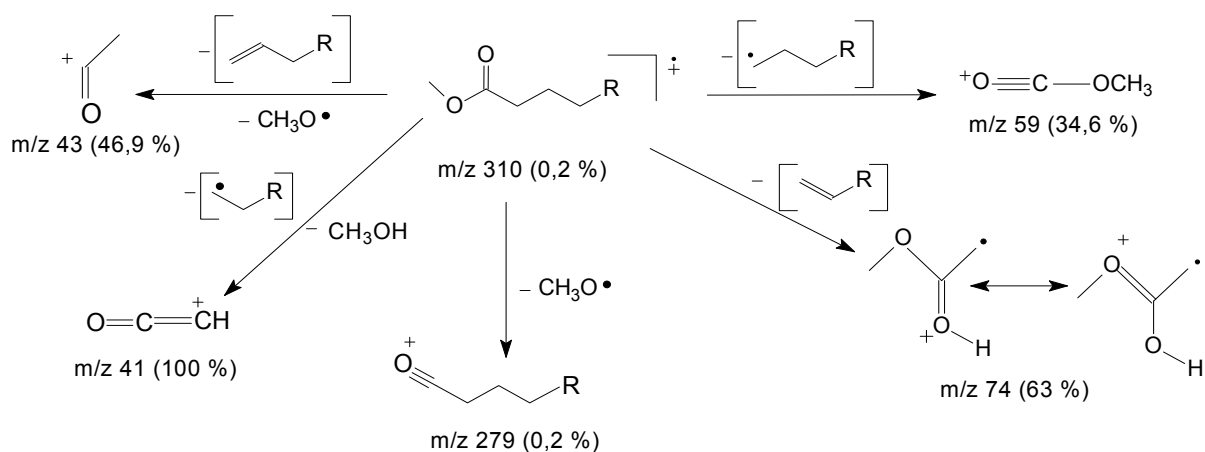
Figura 32. Patrón de fragmentación del ión molecular de la 12-ceto-9,13-octadecadienoato de metilo (4).

Los alcoholes alílicos obtenidos a partir de la reacción de Russell [49] en los hidroperóxidos producidos por la oxidación de LM con el $^1\text{O}_2$, co-eluyen en el $t_R = 37,6$ min, de la misma manera como co-eluyeron las cetonas alílicas mencionadas anteriormente.

Estos alcoholes isómeros tienen ión molecular (M^+) con relación m/z de 310 unidades, el cual no se puede apreciar en el espectro de masas (ver anexo VI, B), debido a que entre más larga es la cadena de un alcohol más inestable es su ión molecular. Sin embargo, si se aprecia un ión común a estos isómeros alcohólicos en 292 unidades (m/z) y con intensidad relativa de 0,2 %, el cuál corresponde a la eliminación de una molécula de agua del ión molecular, en la fragmentación de estos isómeros. Otros iones que poseen en común estos alcoholes son reportados en la tabla 6, los cuales se obtienen por la ruta de fraccionamiento mostrada en la figura 33, esta ruta es similar a la ruta fraccionamiento planteada para las cetonas, con la diferencia que los alcoholes alílicos tienen como ión pico de base el catión m/z 41.

Tabla 6. Iones comunes para los cuatro alcoholes alílicos isómeros e intensidades relativas (%).

IONES COMUNES	%
43 [M ⁺ -267]	46,9
41 [M ⁺ -269]	100
74 [M ⁺ -236]	63,0
59 [M ⁺ -251]	34,6
279 [M ⁺ -31]	0,20



Donde R puede ser cualquiera de los siguientes isómeros

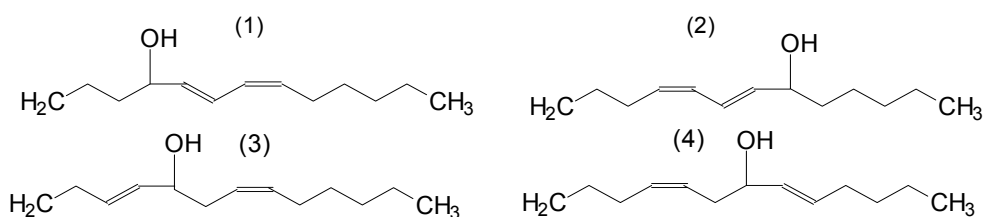


Figura 33. Patrón de fraccionamiento del ion molecular de los alcoholes provenientes de los hidroperóxidos de la oxidación del LM con $^1\text{O}_2$.

El alcohol (1) proviene del 9-hidroperóxi-10,12-octadecadienoato de metilo, el alcohol (2) del 12-hidroperóxi-9,13- octadecadienoato de metilo, el alcohol (3) del 10-hidroperóxi-8,12- octadecadienoato de metilo y el alcohol (4) del 13-hidroperóxi-9,11- octadecadienoato de metilo.

En la tabla 7 se muestran los iones característicos de las rutas de fraccionamiento independientes para cada alcohol alílico, además su respectiva secuencia de fraccionamiento.

Tabla 7. Iones característicos y sus intensidades relativas (%) en el espectro de masas para cada una de los alcoholes alílicos.

Alcohol	M ⁺	a ₁	a ₂	a ₃	a ₄	a ₅	a ₆	a ₇	a ₈
(1)	310 (0,2)	123 (3,6) [M ⁺ -187]	153 (1,2) [M ⁺ -157]	109 (5,4) [a ₃ -42]	292 (0,6) [M ⁺ -18]	163 (0,4) [a ₄ -129]	235 (0,4) [a ₄ -57]	-0- -0-	-0- -0-
(2)	310 (0,2)	101 (1,8) [M ⁺ -209]	71 (8,4) [M ⁺ -239]	-0- -0-	292 (0,6) [M ⁺ -18]	149 (3,6) [a ₄ -143]	-0- -0-	167 (12,8) [M ⁺ -143]	95 (27,7) [a ₇ -72]
(3)	310 (0,2)	169 (0,6) [M ⁺ -141]	199 (6,0) [M ⁺ -111]	57 (63,9) [a ₃ -142]	292 (0,6) [M ⁺ -18]	163 (0,4) [a ₄ -129]	235 (0,4) [a ₄ -57]	181 (12,8) [M ⁺ -129]	139 (6,0) [a ₇ -42]
(4)	310 (0,2)	83 (24,1) [M ⁺ -227]	113 (14,5) [M ⁺ -197]	57 (63,9) [a ₃ -56]	292 (0,6) [M ⁺ -18]	149 (3,6) [a ₄ -129]	-0- -0-	167 (12,0) [M ⁺ -143]	111 (5,4) [a ₇ -56]

Las posibles rutas de fraccionamiento para cada uno de los alcoholes alílicos se presentan en las figuras 34, 35, 36 y 37, en los cuales las roturas se realizan en los enlaces α y β a las insaturaciones y en los enlaces α al grupo alcohólico.

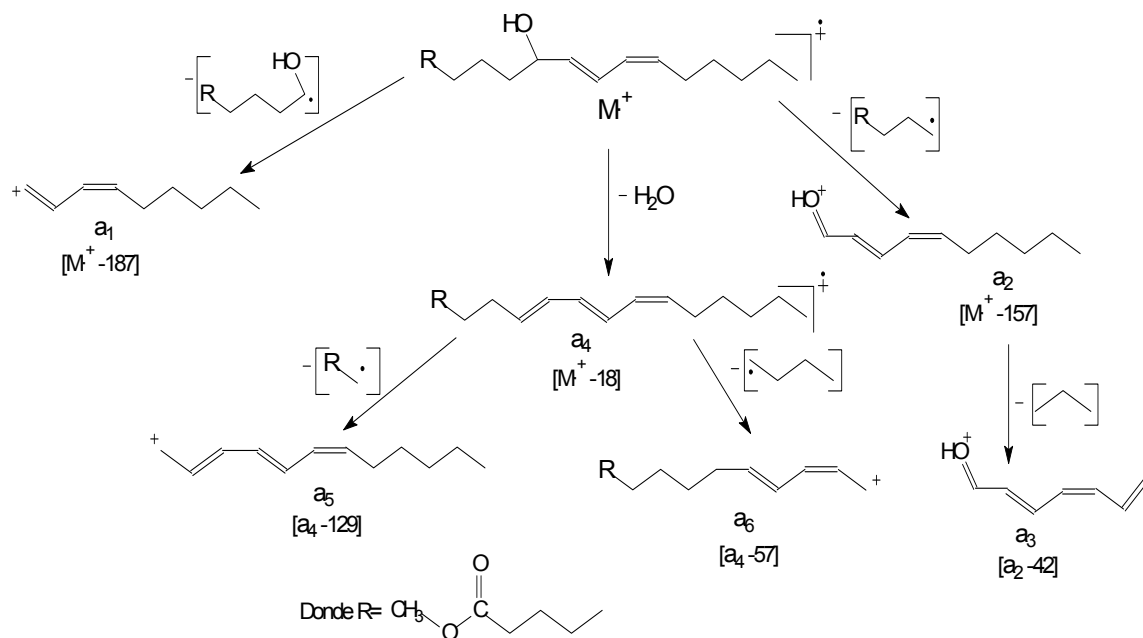


Figura 34. Patrón de fragmentación del ión molecular del 9-hidroxi-10,12-octadecadienoato de metilo (1).

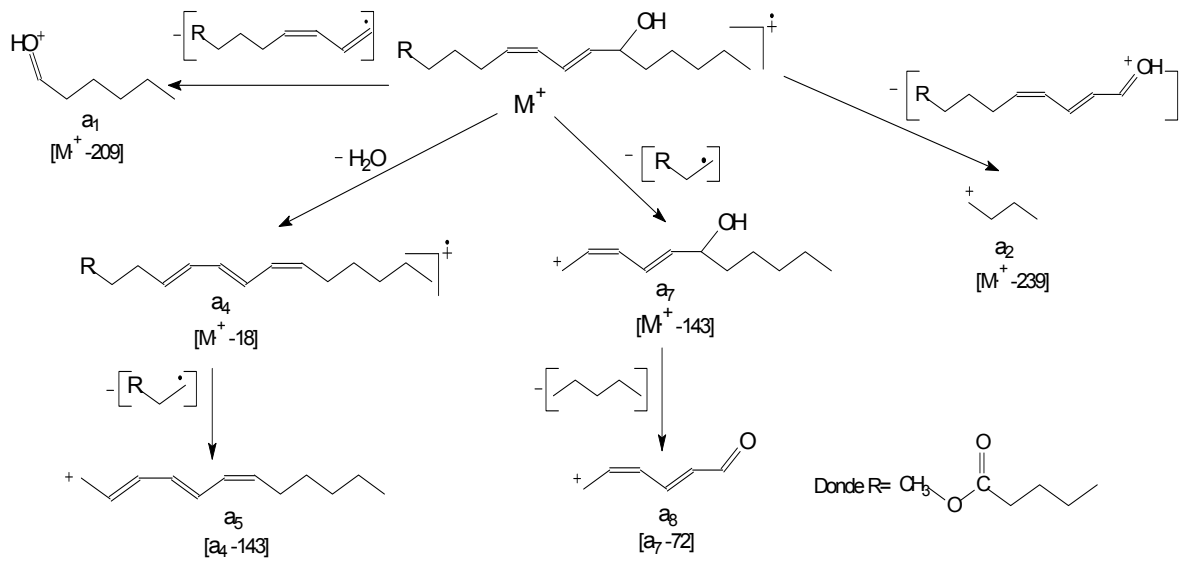


Figura 35. Patrón de fragmentación del ión molecular del 13-hidroxi-9,11-octadecadienoato de metilo (2).

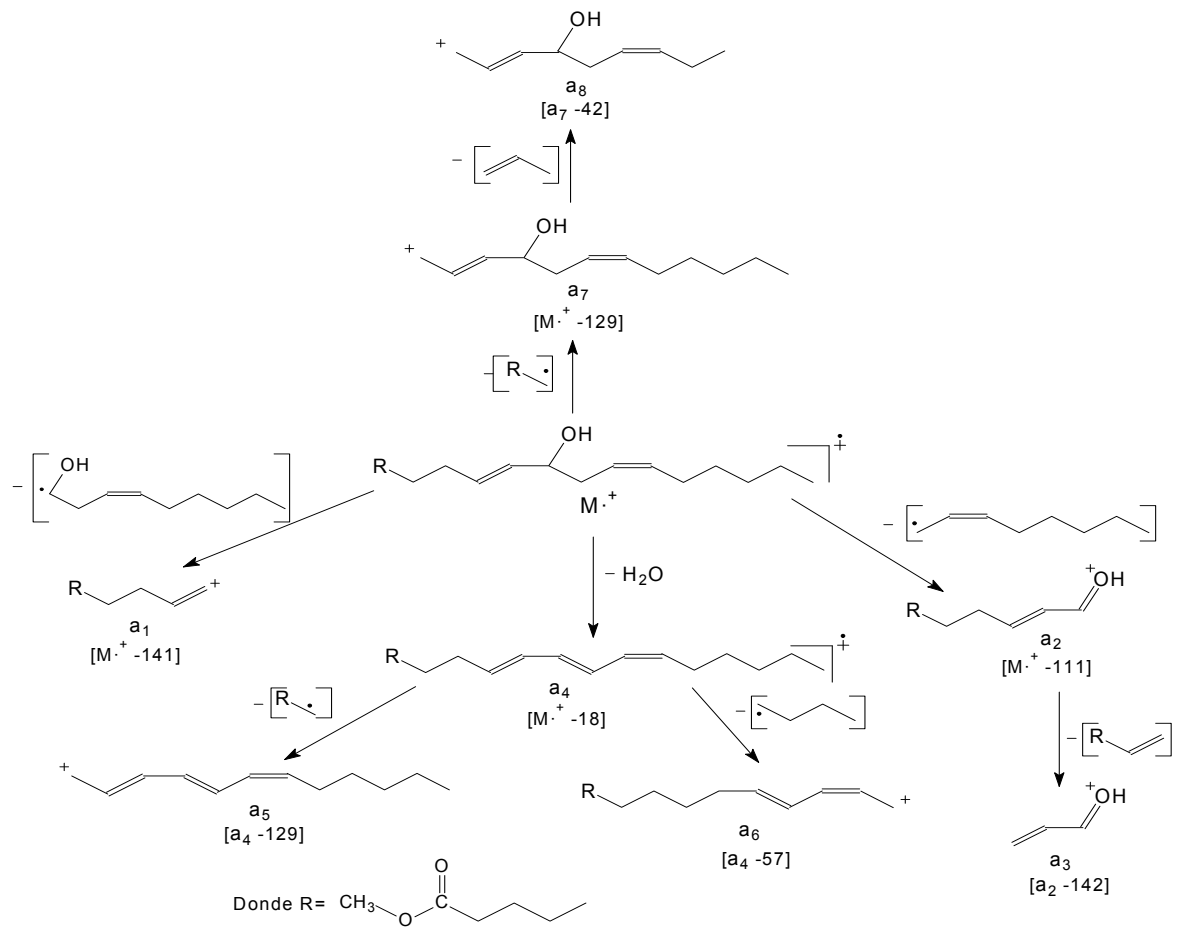


Figura 36. Patrón de fragmentación del ión molecular del 10-hidroxi-8,12-octadecadienoato de metilo (3).

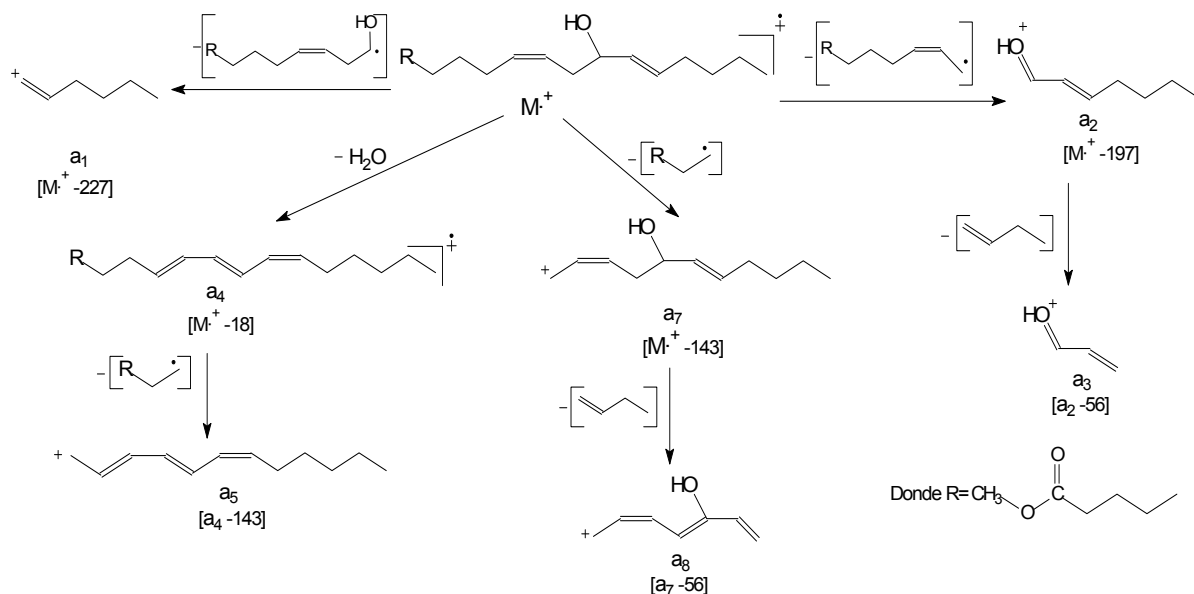


Figura 37. Patrón de fragmentación del ion molecular del 12-hidroxi-9,13-octadecadienoato de metilo (4).

4.2.3. IDENTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL LINOLEATO DE METILO CON EL $^1\text{O}_2$ POR HPLC

Con la finalidad de poder identificar los hidroperóxidos producidos al oxidar el LM con el $^1\text{O}_2$, generado por el sistema químico $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$, y evitar la formación de cetonas y alcoholes alílicos los cuales se producen en el puerto de inyección del equipo GC-MS, es necesario utilizar la técnica HPLC.

La identificación de los hidroperóxidos se llevó a cabo por detección en las longitudes de onda de 233 nm y 200 nm, obteniéndose cromatogramas diferentes para cada longitud de onda. Los solventes utilizados fueron metanol y agua, ambos grado HPLC. Los cromatogramas obtenidos para los productos de la oxidación del linoleato de metilo con $^1\text{O}_2$ se presentan en la figura 38.

Basándose en el estudio realizado por Samadi [12] se detectaron a una longitud de onda de 200 nm los dos hidroperóxidos conjugados cis, trans (9-hidroperóxi-trans-10-cis-12-octadecadienoato de metilo y el 13-hidroperóxi-cis-9-trans-11-octadecadienoato de metilo) los cuales eluyeron en los tiempos 2,1

y 2,2 min, (ver figura 38 a) y los hidroperóxidos no conjugados cis, trans (10-hidroperóxi-trans-8-cis-12-octadecadienoato de metilo, y 12-hidroperóxi-cis-9-trans-13-octadecadienoato de metilo) los cuales eluyeron a los 1,9 y 2,4 min, estos cuatro hidroperóxidos son los productos característicos de la oxidación del LM con el $^1\text{O}_2$.

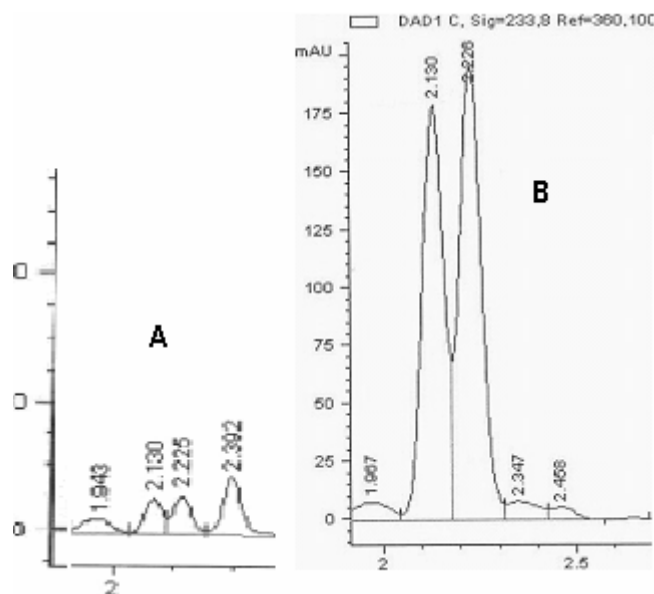


Figura 38. Cromatogramas de HPLC de los hidroperóxidos alílicos producidos en la oxidación del linoleato de metilo con el $^1\text{O}_2$. **A.** Longitud de onda de 200 nm. **B.** Longitud de onda de 233 nm.

Sin embargo la detección a 233 nm (ver figura 38 b) muestra los hidroperóxidos conjugados cis, trans en los tiempo 2,1 y 2,2 min, con altas intensidades, pero también presenta dos picos de muy baja intensidad a los 2,3 y 2,4 min, los cuales corresponden a los hidroperóxidos conjugados trans, trans (10-hidroperóxi-trans-8-trans-12-octadecadienoato de metilo, y 12-hidroperóxi-trans-9-trans-13-octadecadienoato de metilo) característicos de la oxidación del LM vía radicales libres. Estos últimos, obtenidos debido a la pequeña cantidad de radical hidroxilo que parece se genera por la reacción entre el $^1\text{O}_2$ y el H_2O_2 en medio básico.

CONCLUSIONES

Se generó el $^1\text{O}_2$ por el sistema químico $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$, y se detectó de manera indirecta por medio de un atrapamiento químico con el antraceno produciendo el endoperóxido-9,10-antraceno y por la desactivación con azida de sodio.

Se identificó el endoperóxido-9,10-antraceno por espectroscopía de UV-Vis debido a la absorbancia en las bandas en 270 y 212 nm, y la determinación por GC-MS de la 9,10-antraquinona y la 9-hidroxiantrona productos provenientes de la descomposición térmica del endoperóxido-9,10-antraceno.

Se determinó la expresión de velocidad para la oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$ observándose un orden de reacción negativo (-0,129) para el H_2O_2 , lo cual indica que este reactivo puede actuar como inhibidor en la reacción de oxidación del antraceno con el $^1\text{O}_2$.

Se identificaron los posibles productos dienos conjugados 9-hidroperóxi-trans-10-cis-12-octadecadienoato de metilo y el 13-hidroperóxi-cis-9-trans-11-octadecadienoato de metilo y los dienos no conjugados 10-hidroperóxi-trans-8-cis-12-octadecadienoato de metilo, y 12-hidroperóxi-cis-9-trans-13-octadecadienoato de metilo, obtenidos en la oxidación del LM con el oxígeno singlete, mediante el análisis de masa de los alcoholes y cetonas provenientes de la descomposición de los hidroperóxidos.

Los hidroperóxidos dienos conjugados se detectaron de manera directa por espectroscopía UV-Vis debido a la absorbancia que presentan estos en la banda comprendida entre 224 y 240 nm. La detección también se llevó a cabo por HPLC en la longitud de onda de 200 nm. Mientras los hidroperóxidos dienos no conjugados se detectaron por HPLC en la longitud de onda de 233 nm.

RECOMENDACIONES

Realizar las reacciones de oxidación de sustratos antraceno y LM con el oxígeno singulete, utilizando un atrapador del radical $\cdot\text{OH}$ como el manitol, evitando la participación de esta especie radicalaria en la oxidación de los sustratos orgánicos.

Implementar técnicas instrumentales en las que no se descompongan los productos de oxidación de los sustratos antraceno y LM con el oxígeno singulete por efecto de la temperatura. Una de estas técnicas podría ser HPLC preparativo acoplado a espectroscopía de masas.

Realizar el estudio de la oxidación de los sustratos antraceno y LM con el oxígeno singulete para tiempos de reacción no muy largos, debido a que la cantidad de agua generada al descomponerse el H_2O_2 , pueden inestabilizar la microemulsión llevando a la separación de las fases, además la extracción de varias alícuotas del medio de reacción también puede llevar a la separación de las fases.

Se detectó el radical $\cdot\text{OH}$, al realizarse la reacción con tereftalato disódico utilizando el sistema químico generador del oxígeno singulete. El radical $\cdot\text{OH}$ pudo generarse a partir del oxígeno singulete y el peróxido de hidrógeno, por la basicidad del medio según la reacción propuesta por Lau.

BIBLIOGRAFÍA

1. SCHWEITZER C. and SCHMIDT R. 2003. Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen. En: *Chem. Rev.* Vol.103, Pág. 1685.
2. SORG U. 2004. Oxidative stress: a Theoretical model a biological reality. En: C.R. Biologics. Vol. 327, pag. 649.
3. HARRISON D., GRIENGLING K., LANDMESSER U., HORNIG B., DREXLER H. 2003. Role of oxidative stress in atherosclerosis. En: Am. J. Cardiol. Vol. 91, Pág, 7
4. PAREDES S., GIRONA J., HURT-CAMEJO E., VALLE J. OLIVES S., HERAS M. 2002. Antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis: association with inflammatory markers. En: J. Rheumatol. Vol. 29, Pág. 2271
5. NARDELLO V., MARTI M., PIERLOT C. 1999. Photochemistry with a Chemical Source of Singlet Molecular Oxygen ($^1\text{O}_2$, $^1\Delta_g$). En: *J. Chem. Ed.* Vol. 76, Pág. 1285.
6. PAILLOUS N. 1994. Interest of photochemical methods for induction of lipids peroxidation. En: Biochimie. Vol. 76, Pág. 355
7. NARDELLO V., MARKO J., VERMEERSCH G. and AUBRY. 1995. ^{95}Mo NMR and Kinetic Studies of Peroxomolybdc Intermediates involved in the Catalytic Disproportionation of Hydrogen Peroxide by Molibdate Ions. En: *Inorg. Chem.* Vol. 34, Pág. 4950.

8. AUBRY J. and BOUTTEMY S. 1997. Preparative oxidation of Organic Compounds in Microemulsions with Singlet Oxygen Generated Chemically by the Sodium Molybdate/hydrogen Peroxide System¹. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 119, Pág. 5286.
9. CARON L., NARDELLO V., MUGGE J., HOVING E, ALSTERS P., AUBRY J. 2005. Continuous process for singlet oxygenation of hydrophobic substrates in microemulsion using a pervaporation membrane. En: *Journal of Colloid and Interface Science.* Vol. 282, Pág. 478.
10. CHACÓN J., GAGGINI P., SINCLAIR R. 2000. Photo- and thermal-oxidation studies on methyl and phenyl linoleate: anti-oxidant behaviour and rates of reaction. En: *Chemistry and Physics of Lipids.* Vol. 107, Pág. 107.
11. KIWI J. and NADTOCHENKO V. 2004. New Evidence for TiO₂ Photocatalysis during Bilayer Lipid Peroxidation. En: *J. Phys. Chem. B.* Vol 108, Pág. 17675.
12. SAMADI A., A L., MARTÍNEZ, MIRANDA M. AND MORERA I. 2001. Mechanism of Lipid Peroxidation Photosensitized by Tiaprofenic Acid: Product Studies Using Linoleic Acid and 1,4-Cyclohexadienes as Model Substrates. En: *Photochemistry and Photobiology.* Vol. 7, Pág. 3359.
13. KLEIN A., KALB M. AND GUDIPATI. 1999. New Assignment of the Electronically Excited States of Anthracene-9,10-endoperoxide and Its Derivatives: A Critical Experimental and Theoretical Study. En: *J. Phys. Chem. A.* Vol. 103, Pág. 3843.
14. GUDIPATI M. AND KLEIN A. 2000. Reply to the Comment on “New Assignment of the Electronically Excited States of Anthracene-9,10-endoperoxide and Its Derivatives: A Critical Experimental and Theoretical Study”. En: *J. Phys. Chem. A.* Vol. 104, Pág. 166.

15. LAU C., LU J. and KAI M. 2003. Chemiluminescence determination of tetracycline based on radical production in a basic acetonitrile–hydrogen peroxide reaction. En: *Analytica Chimica Acta*. Vol. 503, Pág. 235.
16. KAZUSH É., SAGUN E., TIRZIT G., and DABUR G. 1994. Quenching of singlet oxygen by electron donating derivatives of 1,4 dihydropyridine. En: *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, Vol. 30, Pág., 562.
17. MIN D. and BOFF J. 2002. Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods. En: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol. 1, Pág. 58.
18. STEPHENSO L., GRDINA M. AND ORFANOPOULOS.1980. Mechanism of the Ene Reaction between Singlet Oxygen and Olefins. En: *Acc. Chem. Res.* Vol. 13, Pág. 419.
19. NARDELLO V., BOGEART S., ALSTERS P. 2002. Singlet oxygen generation from $\text{H}_2\text{O}_2/\text{MoO}_4^{2-}$: peroxidation of hydrophobic substrates in pure organic solvents. En: *Tetrahedron Letters*. Vol. 43, Pág. 8731.
20. NARDELLO V., CARON L., AUBRY J. 2004. Reactivity, Chemoselectivity, and Diastereoselectivity of the Oxyfunctionalization of Chiral Allylic Alcohols and Derivatives in Microemulsions: Comparison of the Chemical Oxidation by the Hydrogen Peroxide/Sodium Molybdate System with the Photooxygenation. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 126, Pág. 10692.
21. BÖHME K., BRAUER H. 1992. Generation of Singlet Oxygen from Hydrogen Peroxide Disproportionation Catalyzed by Molybdate Ions. En: *Inorg. Chem.* Vol. 31, Pág. 3468.

22. AUBRY J. 1987. Search for Singlet Oxygen in the Decomposition of Hydrogen Peroxide by Mineral Compounds in Aqueous Solutions. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol.107,Pág. 5844.
23. DEMOULINS-GIACCO N., TIRACHE I., MORLIÈRE P. 1995. Involvement of singlet oxygen in ultraviolet A-induced lipid peroxidation in cultured human skin fibroblasts. En: *Arch Dermatol Res.* Vol. 287, Pág. 338.
24. STRATTON S. and LIEBLER D. 1997. Determination of Singlet Oxygen-Specific versus Radical-Mediated Lipid Peroxidation in Photosensitized Oxidation of Lipid Bilayers: effect of β -Carotene and α -Tocopherol. En: *Biochemistry.* Vol. 108, Pág. 17675.
25. WATANABE N., MATSUMOTO Y. 2005. Base-induced decomposition of dioxetanes bearing a 3-hydroxyphenyl moiety substituted with a proton-donating group at the 4-position: effect of intramolecular hydrogen bonding on decomposition rate and chemiluminescence. En: *Tetrahedron Letters.* Vol. 46, Pág. 4871.
26. DICHTEL W., SERIN J., EDDER C. 2004. Singlet Oxygen Generation via Two-Photon Excited FRET. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 126, Pág. 5380.
27. ADAM W., BOSIO S. and TURRO N. 2002. Highly Diastereoselective Dioxetane Formation in the Photooxygenation of Enecarbamates with an Oxazolidinone Chiral Auxiliary: Steric Control in the [2 + 2] Cycloaddition of Singlet Oxygen through Conformational Alignment. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 124, Pág. 8814.
28. TEJERO I., GONZALES-LAFONT A. LLUCH J. 2004. Photooxidation of lipids by singlet oxygen: a theoretical study. En: *Chemical Physics letters.* Vol. 398, Pág. 336.

29. FRIMER A. 1979. The Reaction of Singlet Oxygen with Olefins: The Question of Mechanism. En: *Chemical Reviews*. Vol. 79, Pág. 359.
30. HARDING L. and GODDARD III W. 1980. The Mechanism of the Ene Reaction of Singlet Oxygen with Olefins. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 102, Pág. 439.
31. SEVIN F. and MCKEE M. 2001. Reactions of 1,3-Cyclohexadiene with Singlet Oxygen. A Theoretical Study En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol.123,Pág. 4591.
32. MARANZANA A., GHIGO G. and TONACHINI G. 2000. Diradical and Peroxirane Pathways in the $[\pi 2 + \pi 2]$ Cycloaddition Reactions of $^1\Delta_g$ Dioxygen with Ethene, Methyl Vinyl Ether, and Butadiene: A Density Functional and Multireference Perturbation Theory Study. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 122, Pág. 1414.
33. WENLI Y., YAPING Z. 2005. Chemiluminescence evaluation of oxidative damage to biomoléculas induced by singlet oxygen and the protective effects of antioxidants. En: *Biochimica et Biophysica. Acta* 1725 Pág. 30.
34. NIU Q., FOOTE C. 1992. Singlet Molecular Oxygen Generation from the Decomposition of Sodium Peroxotungstate and Sodium Peroxomolybdate. En: *Inorg. Chem.* Vol. 31, Pág. 3472.
35. OHTA B. and FOOTE C. 2002. Characterization of Endoperoxide and Hydroperoxide Intermediates in the Reaction of Pyridoxine with Singlet Oxygen. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 124, Pág. 12064.
36. MENGER F. AND ELRINGTON A. 1991. Organic Reactivity in Microemulsion Systems. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 113, Pág. 9621.

37. LEVINE I. FISICOQUIMICA. Vol. 1. New York. Mc-Graw Hill. 5^{ta} ed. 2002. Pág. 489.
38. CASTELLAN G. FISICOQUÍMICA. México. Pearson Education, 2^{da} ed. 1974. Pág. 462.
39. LISSANT K. EMULSIONS AND EMULSION TECHNOLOGY. New York. Marcel Dekker. 1984. Vol 6, Pág. 1.
40. ROSANO AND CLAUSE. MICROEMULSIONS SYSTEMS. New York. Marcel Dekker. 1987. Vol. 24, Pág. 15.
41. PORTER N, WUJEK D. 1984. Autoxidation of Polyunsaturated Fatty Acids, an Expanded Mechanistic Study. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 106, Pág. 2626.
42. PORTER N., TALLMAN K., PRAT. 2001. Kinetic Products of Linoleate Peroxidation: Rapid β -fragmentation of Nonconjugated peroxy radicals. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 123, Pág. 11827.
43. CARON L., NARDELLO V., ALSTERS P. 2006. Convenient singlet oxygenation in multiphase microemulsion system. En: *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. ARTICLE IN PRESS.
44. FIELD L., ENGELHARDT P. 1970. Organic disulfides and related substances. XXX. Preparations and reactions of mercaptoterephthalic acids and derivatives. En: *J. Org. Chem.* Vol. 35, Pág. 3647.
45. SMITH M., BROWN R., SMULLIN S. 1997. Photosensitized Peroxidation of Lipids. En: *J. Chem. Ed.* Vol. 74, Pág. 1471.
46. AUBRY J., PIERLOT C., RIGAUDY J, AND SCHMID R. 2003. Reversible Binding of Oxygen to Aromatic Compounds. En: *Acc. Chem. Res.* Vol. 36, Pág. 668.

47. DABESTANI R., ELLIS K., SIGMAN M. 1995. Photodecomposition of anthracene on dry surfaces: products and mechanism. En: Journal of Photochemistry and Photobiology A. Vol. 86, Pág. 231.

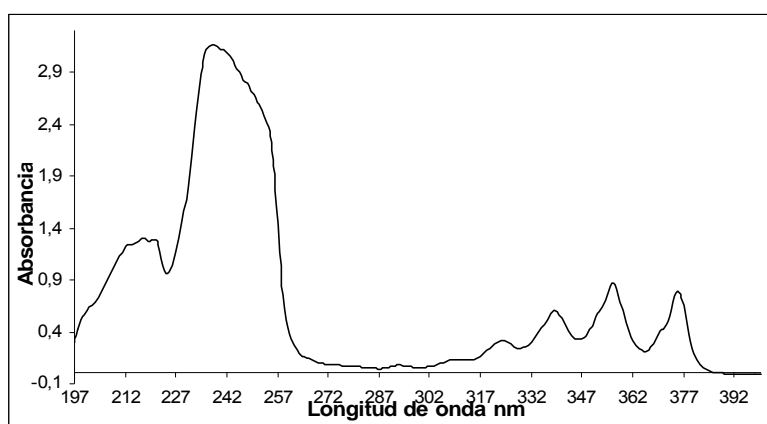
48. Madhavan D., Pitchumani K. 2002. Photoreactions in clay media: singlet oxygen oxidation of electron-rich substrates mediated by clay-bound dyes. En: Journal of Photochemistry and Photobiology A. Vol. 153, Pág. 205

49. MASCIIO P., CATALANI L, and BECHARA E. 1992. Are Dioxetanes Chemiluminescent Intermediates in Lipoperoxidation?. En: *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 12, pág. 471.

ANEXOS

ANEXO I.

ESPECTRO UV-VIS DEL ANTRACENO EN ETANOL ABSOLUTO



ANEXO II.

PREPARACIÓN DE LA COLUMNA DE INTERCAMBIO ANIÓNICO

La resina aniónico Amberjet 4200 se lavó con abundante agua, luego se filtro y se activó con varias alícuotas de una solución de KOH al 1 M, después se volvió a lavar con agua para proceder a empacarla en la columna tal como muestra en la figura 39.



Figura 39. Columna de intercambio aniónico Amberjet 4200 con grupos funcionales $-N^+(CH_3)_3$ usada para la separación de productos.

Una vez retenidas las sales presentes en la muestra después de la extracción de los productos de oxidación con agua, la resina se lavó con abundante agua y se activó nuevamente, luego se guardó para posterior uso en medio acuoso el cual permite conservarla.

ANEXO III.

DETERMINACIÓN DE SURFACTANTES ANIÓNICOS CON AZUL DE METILENO

La determinación del SDS se llevó a cabo según el Standard Methods por la norma (SM 5540 A,C) del año 1998. La presencia del surfactante se evidencia por la formación de una capa superior azul intensa y otra capa inferior clara. Cuando no hay presencia de SDS no se forman estas dos capas.

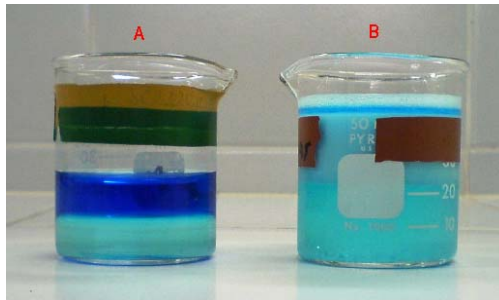


Figura 40. Determinación del SDS con azul de metileno en la post-oxidación.

- A.** Muestra de microemulsión sin someterse a extracción por columna de intercambio aniónico.
- B.** Muestra de microemulsión después de pasarse por la columna de intercambio aniónico.

ANEXO IV.

CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ANTRACENO PARA EL UV-VIS.

La curva de calibración del antraceno $A = 6,31 \cdot [\text{antraceno}] \cdot 10^3 + 3,41 \cdot 10^{-2}$, con un coeficiente de correlación de 0,988, se obtuvo determinando la absorbancia en la banda de 375 nm para las soluciones patrones $3,0 \cdot 10^{-5}$, $6,0 \cdot 10^{-5}$, $9,0 \cdot 10^{-5}$, $1,2 \cdot 10^{-4}$ y $1,5 \cdot 10^{-4}$ mol/L. (Ver figura 41).

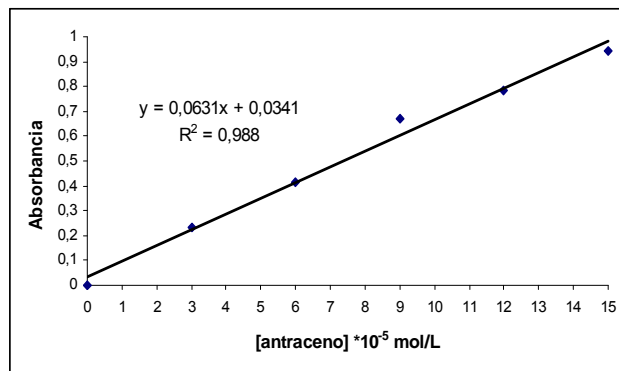


Figura 41. Curva de Calibración del antraceno en etanol absoluto para el UV-Vis.

La figura 48 muestra el efecto del solvente en la transición comprendida entre 230 y 260 nm, en el cual hay un desplazamiento hacia longitudes de onda más largas en el espectro UV-visible, al disminuirse la concentra de antraceno.

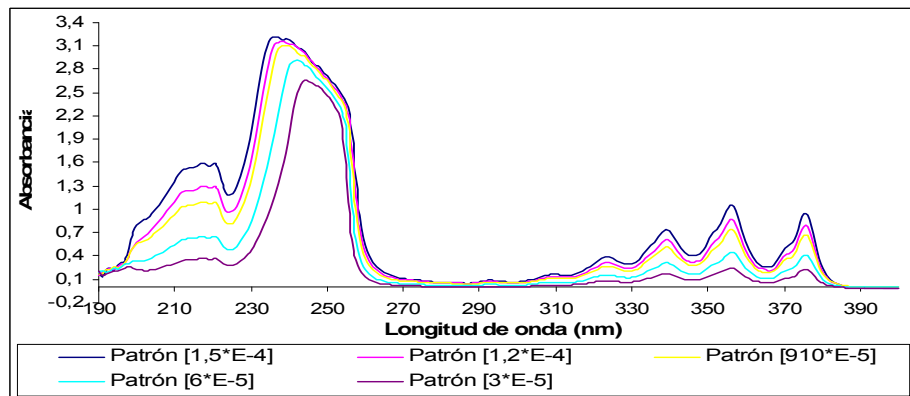
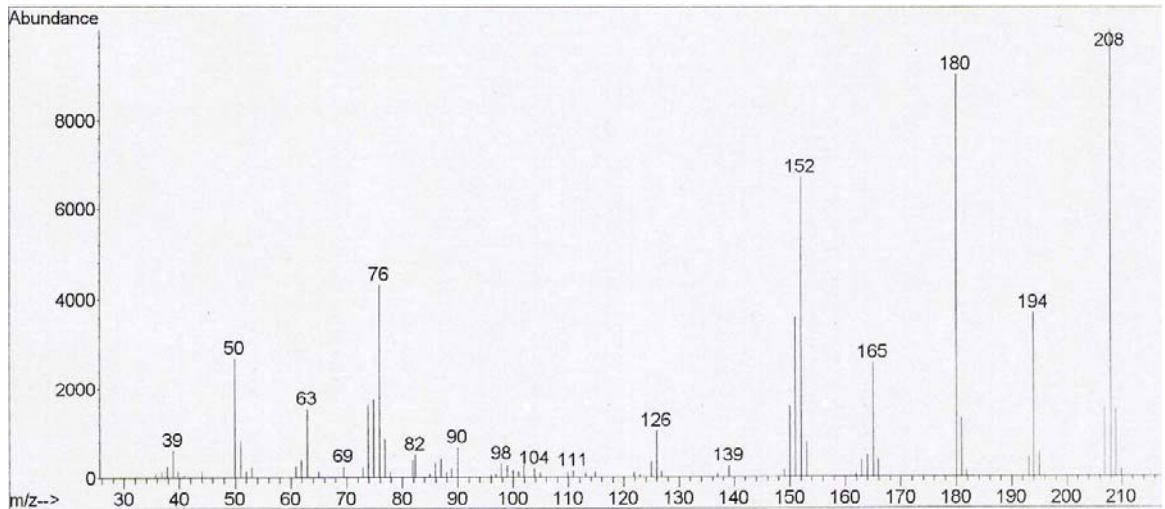


Figura 42. Espectro de UV-Vis de los patrones utilizados en la curva de calibración del antraceno.

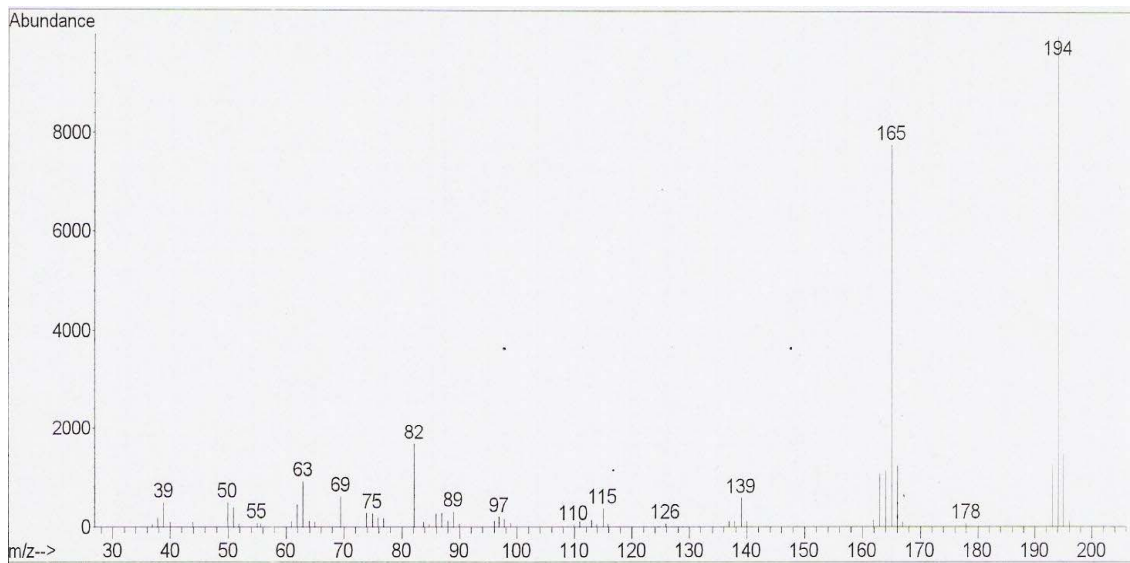
ANEXO V.

ESPECTRO DE MASAS DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL ANTRACENO SON EL $^1\text{O}_2$ GENERADO POR EL SISTEMA QUÍMICO $\text{MOO}_4^- / \text{H}_2\text{O}_2$

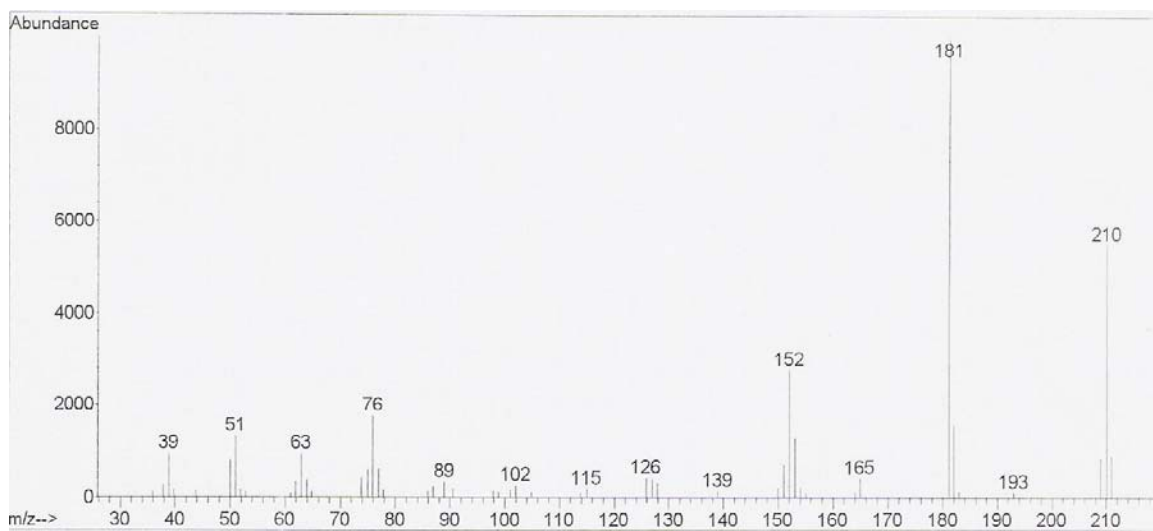
A. ESPECTRO DE MASAS DE LA ANTRAQUINONA.



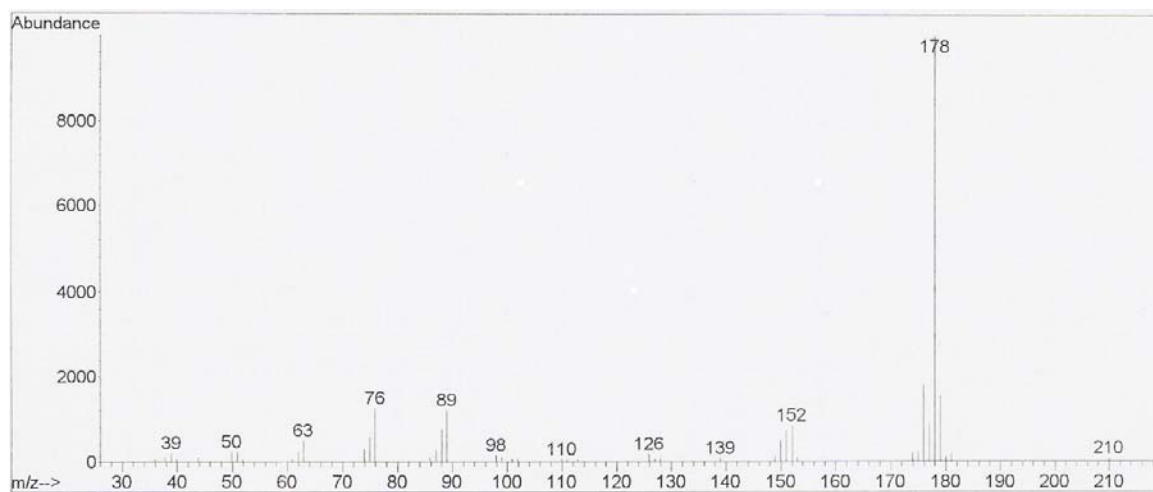
B. ESPECTRO DE MASAS DE LA ANTRONA



C. ESPECTRO DE MASAS DE LA 9- HIDROXIANTRANO



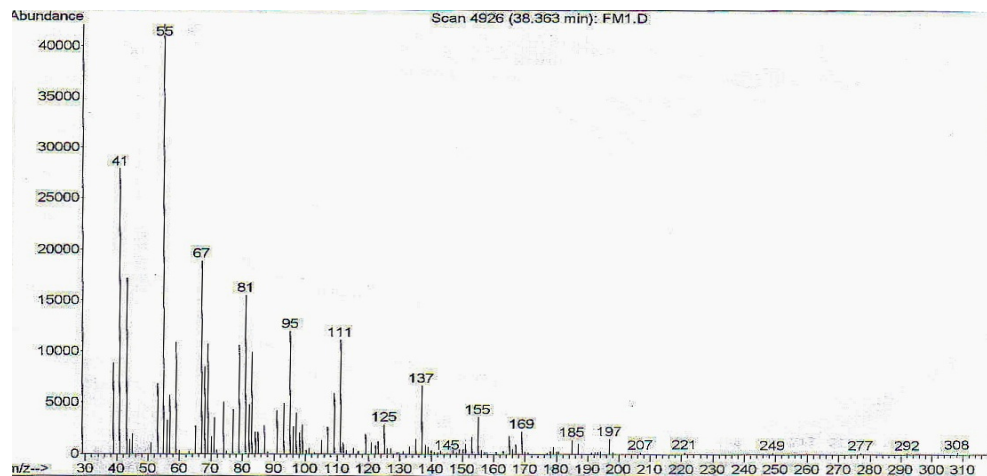
D. ENDOPERÓXIDO-9,10-ANTRACENO



ANEXO VI.

ESPECTRO DE MASAS DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACIÓN DEL LINOLEATO DE METILO CON EL $^1\text{O}_2$ GENERADO POR EL SISTEMA QUÍMICO $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$

A. ESPECTRO DE MASAS DE LA CO-ELUCIÓN DE LAS CETONAS ISÓMERAS PROVENIENTES DE LOS HIDROPERÓXIDOS PRODUCIDOS EN LA OXIDACIÓN DEL LM CON EL $^1\text{O}_2$.



B. ESPECTRO DE MASAS DE LA CO-ELUCIÓN DE LOS ALCOHOLES ISÓMEROS PROVENIENTES DE LOS HIDROPERÓXIDOS PRODUCIDOS EN LA OXIDACIÓN DEL LM CON EL $^1\text{O}_2$.

