

Fotooxidación de fenoles utilizando aire y un fotosensibilizador derivado de clorofila.

Bleidy Julieth Muñoz Carreño

Trabajo de Grado para optar al título de Químico

Director

Julio Roberto Pinzón Joya

Químico, Ph.D

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2022

### **Dedicatoria**

A todas aquellas personas que apoyaron el desarrollo y ejecución de este trabajo de grado.

En especial a mis padres y hermana Maritza Muñoz quien estuvo presente en cada paso de mi carrera y en este trabajo de grado.

### **Agradecimientos**

A mi familia por el apoyo durante el desarrollo de mi carrera. También agradezco a los amigos que conocí durante estos años y compañeros de laboratorio por su apoyo en cada momento y las vivencias de estos inolvidables años de universidad.

**Tabla de Contenido**

<b>Introducción</b>	<b>18</b>
<b>1. Objetivos</b>	<b>20</b>
<b>2. Fotooxidación de fenoles utilizando aire y un fotosensibilizador derivado de clorofila</b>	<b>21</b>
2.1. Marco Referencial	21
2.1.1. <i>Fotosensibilización</i>	21
2.1.1.1. Reacciones tipo I	22
2.1.1.2. Reacciones tipo II	23
2.1.2. <i>Oxígeno molecular y sus estados excitados</i>	23
2.1.3. <i>Fotosensibilizadores generadores de oxígeno singlete</i>	25
2.1.3.1. Porfirinas	25
2.1.3.2. Clorofilas	26
2.1.4. <i>Tipos de clorofila</i>	27
2.1.4.1. Derivados de clorofilas	30
<b>3. Antecedentes</b>	<b>33</b>
<b>4. Diseño Metodológico</b>	<b>36</b>
4.1. Extracción de pigmentos de clorofila	36

4.2. Síntesis de Clorina e6 trimetil éster a partir de feofitina <i>a</i>	37
4.3. Síntesis complejos metálicos	37
4.4. Estudio de derivados de clorina e6 trimetil éster en reacciones de fotooxidación	39
4.5. Caracterización de moléculas de clorofila y sus derivados por UV-Vis.	40
4.6. Caracterización de moléculas de clorofila, complejos de feofitina <i>a</i> , productos de fotooxidación por infrarrojo FT-IR	40
4.7. Caracterización de derivados de clorofila por resonancia magnética nuclear (RMN)	40
4.8. Caracterización de moléculas de clorofila y sus derivados por espectrometría de masas	40
<b>5. Resultados y análisis</b>	<b>41</b>
5.1. Resultados de extracción	41
5.1.1. Espectros de masas de las fracciones de clorofila <i>a</i> y Feofitina <i>a</i>	43
5.1.2. Espectros de FT-IR de moléculas de clorofila	44
5.1.3. Espectros UV-Vis moléculas de clorofila y feofitina	47
5.2. Síntesis y caracterización derivados de clorofila.	50
5.3. Reacciones de fotooxidación	68
5.3.0.1. Fotooxidación a 660 nm	71
5.3.0.2. Fotooxidación a 410 nm	72
5.3.0.3. Productos de degradación	77
<b>6. Conclusiones</b>	<b>81</b>

<b>7. Recomendaciones</b>	<b>83</b>
---------------------------	-----------

<b>Referencias Bibliográficas</b>	<b>83</b>
-----------------------------------	-----------

<b>Apéndices</b>	<b>93</b>
------------------	-----------

<b>Apéndices</b>	<b>96</b>
------------------	-----------

**Lista de Figuras**

Figura 1.	Generación de oxígeno singlete por un proceso de fotosensibilización.	22
Figura 2.	Configuración electrónica del oxígeno molecular.	24
Figura 3.	Estructura de la porfirina y sus análogos.	26
Figura 4.	Estructura de la clorofila <i>a</i> .	28
Figura 5.	Estructuras de los diferentes tipos de clorofilas.	29
Figura 6.	Centros reactivos de los derivados de clorofila.	31
Figura 7.	Derivados de clorofila.	32
Figura 8.	Representación esquemática del grupo prostético de la enzima cisteinato-hemo citocromo P-450.	34
Figura 9.	Clorina e6 trimetil éster	38
Figura 10.	Zn-Clorina e6 trimetil éster	38
Figura 11.	Cu-Clorina e6 trimetil éster	39
Figura 12.	Biomasa inicial y final de las hojas de espinaca.	41
Figura 13.	Fracciones de pigmentos separados por cromatografía flash	43
Figura 14.	Espectros de masas moléculas de clorofila	45
Figura 15.	Espectro de FT-IR moléculas de clorofila ( <i>a-b</i> ).	46
Figura 16.	Espectro de UV-Vis de moléculas de clorofila ( <i>a-b</i> ) y feofitina ( <i>a-b</i> )	48

Figura 17.	(a) Representación de los orbitales Gouterman en las porfirinas. (b) Esquema de niveles de energía de los orbitales de Gouterman	49
Figura 18.	Síntesis de Clorina e6 trimetil éster	50
Figura 19.	Mecanismo de sustitución nucleofílica sobre el grupo acilo.	51
Figura 20.	Espectro de masas MALDI de Clorina e6 trimetil éster	52
Figura 21.	Espectro de FT-IR de Clorina e6 trimetil éster	53
Figura 22.	Espectro de RMN <sup>1</sup> H de Clorina e6 trimetil éster.	55
Figura 23.	Espectro de RMN COSY de Clorina e6 trimetil éster	56
Figura 24.	Espectro de RMN COSY $\delta$ : 9,0-5,0 ppm de Clorina e6 trimetil éster	57
Figura 25.	Espectro de RMN COSY $\delta$ : 6 a -2,5 ppm de Clorina e6 trimetil éster	58
Figura 26.	Espectro de RMN DEPT 90 de Clorina e6 trimetil éster	59
Figura 27.	Espectro de RMN DEPT 135 de Clorina e6 trimetil éster	59
Figura 28.	Espectro de RMN HSQC de Clorina e6 trimetil éster	60
Figura 29.	Espectro de RMN HSQC de Clorina e6 trimetil éster	61
Figura 30.	Espectro de RMN HMBC de Clorina e6 trimetil éster.	62
Figura 31.	Espectro de RMN <sup>13</sup> C de Clorina e6 trimetil éster	62
Figura 32.	Síntesis de complejos metálicos de Clorina e6 trimetil éster	63
Figura 33.	Espectros UV-Vis Clorina e6 trimetil éster , Zn-Clorina e6 trimetil éster, Cu-Clorina e6 trimetil éster	63
Figura 34.	Posiciones beta y meso en las porfirinas.	64
Figura 35.	Espectros de masas moléculas de clorofila	66

Figura 36.	Espectros de FT-IR complejos metálicos de clorina e6 trimetil ester	67
Figura 37.	Espectro de RMN <sup>1</sup> H de Zn-clorina e6 trimetil éster.	68
Figura 38.	Seguimiento de la reacción de fotooxidación de fenol con el derivado de Cu y LEDs de 660 nm por HPLC	71
Figura 39.	Seguimiento de la reacción de fotooxidación de fenol con los derivado de Cu, Zn y LEDs de 660 nm por HPLC	73
Figura 40.	Esquema del posible cambio en la estructura del derivado de clorofila	74
Figura 41.	Espectro UV-Vis de los derivados a las seis horas de reacción	74
Figura 42.	Seguimiento de reacción de fotooxidación por medio de HPLC empleando LEDs de 410 nm	75
Figura 43.	Seguimiento de reacción de fotooxidación por medio de HPLC empleando LEDs de 410 nm	76
Figura 44.	Seguimiento de reacción de fotooxidación por medio de HPLC empleando LEDs de 410 nm	76
Figura 45.	Imagen de las soluciones de reacción de fotooxidación al iniciar y al transcurrir seis horas de irradiación	77
Figura 46.	Principales productos de oxidación del fenol	78
Figura 47.	Perfil cromatográfico de los posibles productos de reacción	79
Figura 48.	Mecanismo de reacción con oxígeno singlete para formar benzoquinona	80
Figura 49.	Perfil cromatográfico de Zn-clorina e6 trimetil éster	93

Figura 50.	Perfil cromatográfico de Cu-clorina e6 trimetil éster	94
Figura 51.	Perfil cromatográfico de Clorina e6 trimetil éster	94
Figura 52.	Espectro FT-IR de Feofitina <i>a</i>	95
Figura 53.	Espectro FT-IR de Feofitina <i>b</i>	95
Figura 54.	Blanco 1 mezcla de reacción con clorina e6 trimetil éster, luz, fenol y reemplazando el aire por argón.	96
Figura 55.	Blanco 1 mezcla de reacción con Zn-clorina e6 trimetil éster, luz, fenol y reemplazando el aire por argón.	97
Figura 56.	Blanco 2 mezcla de reacción con luz, fenol y aire.	97
Figura 57.	Blanco 3 mezcla de reacción con clorina e6 trimetil éster, aire y fenol.	98
Figura 58.	Blanco 3 mezcla de reacción con Zn-clorina e6 trimetil éster, aire y fenol.	98
Figura 59.	Cromatogramas del patrón externo de fenol	99
Figura 60.	Curva de calibración	99

**Lista de Tablas**

Tabla 1.	Condiciones de extracción y fracciones de pigmentos separados	42
Tabla 2.	Bandas de absorción en espectros de infrarrojo de las moléculas de clorofila <i>a</i> , clorofila <i>b</i> , feofitina <i>a</i> , feofitina <i>b</i> .	47
Tabla 3.	Máximos de absorción UV-Vis moléculas de clorofila	49
Tabla 4.	Bandas de absorción en FT-IR de infrarrojo de Clorina e6 trimetil éster <i>a</i>	53
Tabla 5.	Máximos de absorción UV-Vis moléculas de derivados de Clorina e6 dimetil éster	64

**Lista de Apéndices**

	<b>pág.</b>
Apéndice A. Perfil cromatográfico derivados de clorofila y espectro de FT-IR	93
Apéndice B. Blancos de reacciones y curva de calibración del patrón externo de fenol	96

### Glosario

**HPLC** Cromatografía líquida de alta eficiencia.

**RMN** Resonancia magnética nuclear.

**UV-Vis** Ultravioleta visible.

**HMBC** Experimentos de RMN 2D de correlación heteronuclear a varios enlaces.

**HSQC** Experimentos de RMN 2D de correlación heteronuclear de un único cuanto.

**HOMO** Orbital molecular ocupado de mayor energía.

**LUMO** Orbital molecular no ocupado de menor energía.

**MALDI** Ionización/Desorción láser asistida por matriz.

**Chl e6** Clorina e6 trimetil éster

**Zn-Chl e6** Zn-clorina e6 trimetil éster

**Cu-Chl e6** Cu-clorina e6 trimetil éster

## Resumen

**Título:** Fotooxidación de fenoles utilizando derivados de clorofila y aire. \*

**Autor:** Bleidy Julieth Muñoz Carreño \*\*

**Palabras Clave:** Fotooxidación, Clorofilas, Fotosensibilizadores, Feofitina-*a*, Clorina *e6* trimetil éster.

**Descripción:** La química recurre a varios procesos de transformación y en ellos emplea diversas materias primas hasta la obtención de sus productos finales. Algunos de estos procesos requieren el uso de reactivos que son altamente tóxicos y pueden atentar contra la salud humana y el medio ambiente. Es así como, en la búsqueda de diferentes alternativas, se han desarrollado diversos catalizadores empleados en procesos fotocatalíticos, demostrando un gran potencial como tecnología de tratamiento sostenible. En consecuencia, esta investigación busca sintetizar fotosensibilizadores derivados de clorofila a partir de *Spinacia oleracea L.* y estudiar su posible aplicación en reacciones de oxidación de fenoles. Para ello se recurrió a un proceso de extracción sólido-líquido de clorofilas y su separación se realizó por medio de cromatografía flash. El proceso de síntesis de derivados de clorofila se realizó a partir de feofitina *a* en solución de metanol con sodio metálico para obtener clorina *e6* trimetil éster y se finaliza con la coordinación de metales de cobre y zinc. La fotooxidación se realizó irradiando las mezclas de reacción con LEDs de 410, 660 nm y aire. Los resultados permitieron evaluar la eficiencia de degradación de fenol utilizando este tipo de derivados de clorofila a temperatura ambiente. Una vez optimizadas las condiciones de reacción, se encontró que los fotosensibilizadores utilizados son capaces producir oxígeno singlete obteniendo 1,4-benzoquinona como producto de degradación en tiempos cortos de reacción concordando con estudios previos reportados en la literatura.

---

\* Trabajo de grado

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Julio Roberto Pinzón Joya, PhD en Química.

### Abstract

**Title:** Photooxidation of phenol with photosensitizers derivatives of chlorophyll and air.

**Author:** Bleidy Juliteth Muñoz Carreño \*\*

**Keywords:** Photooxidation, Chlorophylls, photosensitizers, Pheophytin-*a*, Chlorin e6 trimethyl ester.

**Description:** There are several transformation processes to convert contaminants into their degradation products. Some of those processes require the use of toxic reagents that poses a threat for the environment and human health. In the search for alternatives scientists have developed different catalyst and photocatalytic processes that show great potential as sustainable water treatment technologies. Consequently, the main purpose of these work is the synthesis of chlorophyll-derived photosensitizers from *Spinacia oleracea L.* to study their application in phenol oxidation reactions. Chlorophylls were obtained by Soxhlet extraction of dry spinach leaves, and their separation was achieved using flash chromatography. Chlorophyll *a* was converted into pheophytin a treatment with acetic acid and then further converted into chlorin e6 trimethyl ester by stirring the pheophytin in dry methanol with a small chunk of sodium. Finally, the zinc and copper complexes were obtained by reacting the chlorine with the metal acetate in a dichloromethane/methanol in a 7:2 ratio. The photooxidation reaction was made by bubbling air into the phenol/photosensitizer solution and irradiating with 410 and 660 nm LEDs. The photodegradation of phenol and the photosensitizer was observed. Presumably, singlet oxygen was the main reactive oxygen specie involved since 1,4-benzoquinone was the only observed photodegradation product, which agrees with previous literature reports.

---

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Julio Roberto Pinzón Joya, PhD en Química.

## Introducción

Los procesos de oxidación avanzada como la fotocatalisis han sido estudiados ampliamente en investigaciones de energía renovable, degradación de contaminantes orgánicos y contaminantes emergentes. (Park, 2017) Las reacciones de oxidación de compuestos aromáticos y alcoholes a compuestos como ácidos carboxílicos, aldehídos, cetonas son las reacciones más importantes y ampliamente usadas en la síntesis química. Estas reacciones en sus métodos clásicos disponen de numerosos reactivos que se emplean frecuentemente a gran escala. (Tojo and Fernandez, 2006)

Como una alternativa se han buscado nuevos métodos que sean prácticos y no afecten el medio ambiente. Logrando avances significativos en el desarrollo de métodos catalíticos en oxidaciones aeróbicas, la fotocatalisis es un método alternativo que incluye todo tipo de reacciones que se realizan por medio de la interacción con la luz independientemente de si es un proceso termodinámico o cinético. (Scandola, 1988) En ambos procesos, la absorción del fotón conduce a la entrega selectiva de una gran cantidad de energía en una molécula absorbente donde la reactividad de sus estados excitados electrónicamente proporcionan un mínimo de subproductos en condiciones controladas. (Albini and Fagnoni, 2013)

Las clorofilas son moléculas fotoquímicamente activas al estar compuestas por un anillo tetrapirrólico el cual les otorga un sistema conjugado de electrones  $\pi$  generando así transiciones electrónicas tipo  $\pi-\pi^*$  responsables de su absorción en la región visible. Estas moléculas actúan

como fotosensibilizadores y en presencia de oxígeno pueden generar especies reactivas de oxígeno, por ello son empleadas en diversas aplicaciones, tales como terapia fotodinámica, materiales para celdas solares y síntesis de catalizadores verdes.(Tanaka and Tanaka, 2006) Debido a esto la ciencia ha desarrollado diversos métodos para cambiar los procesos convencionales de oxidación y de síntesis, entre ellos la fotooxidación sensibilizada por medio de catalizadores derivados de matrices vegetales. En este trabajo, se sintetizaron fotocatalizadores derivados de clorofila, para su posterior aplicación en reacciones de oxidación de fenoles.

## 1. Objetivos

### Objetivo general

Sintetizar fotocatalizadores derivados de clorofila a partir de *Spinacia oleracea L.* y estudiar su posible aplicación en reacciones de oxidación de fenoles.

### Objetivos específicos

Caracterizar los derivados de clorofila por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

Estudiar la reacción de fotooxidación de fenoles, utilizando aire como agente oxidante.

## 2. Fotooxidación de fenoles utilizando aire y un fotosensibilizador derivado de clorofila

### 2.1. Marco Referencial

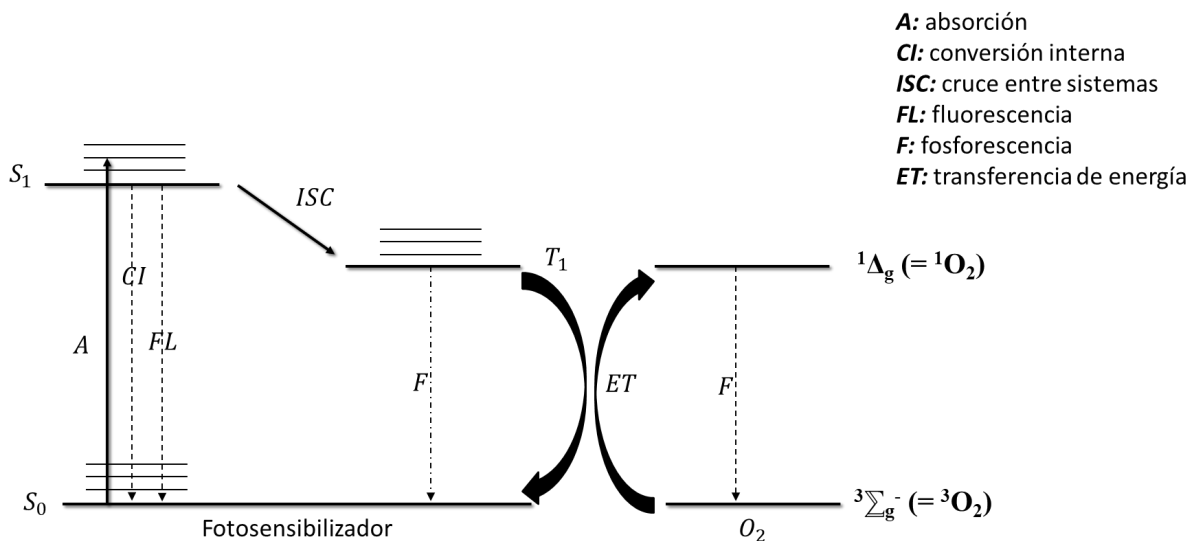
#### 2.1.1. *Fotosensibilización.*

El proceso conocido como fotosensibilización describe las reacciones efectuadas por medio de luz con una longitud de onda adecuada para activar una sustancia denominada fotosensibilizador. Esta sustancia modifica las propiedades químicas y físicas de otras moléculas sin que sea implicada en la transformación química. (Ameta and Ameta, 2005)

La reacción de fotosensibilización inicia con la absorción de un fotón a través del sensibilizador en su estado fundamental singlete, la energía del fotón es absorbida por un electrón ( $e^-$ ) del orbital molecular ocupado de más energía (HOMO), y es promovido al orbital molecular no ocupado de más baja energía (LUMO) sin un cambio en su espín. (Zhang et al., 2018) El primer estado excitado (singlete) del sensibilizador puede decaer competitivamente a su estado fundamental por medio de conversión interna, fluorescencia y cruce entre sistemas al sufrir una inversión rápida de espín generando un estado excitado triplete. (Jeong and Choi, 2016)

Al encontrarse en su estado excitado triplete el fotosensibilizador puede disipar su energía en exceso por medio fosforescencia o reaccionar en su estado excitado triplete con el sustrato. (Lier, 1991) El cual puede experimentar dos tipos de reacciones, reaccionar con moléculas vecinas por medio de transferencia de electrones o átomos de H (reacciones tipo I), reaccionar con el oxígeno por transferencia de energía desde su estado triplete excitado al estado fundamental triplete del oxígeno (reacciones tipo II). (Kanofsky, 2016)

Figura 1. Generación de oxígeno singlete por un proceso de fotosensibilización.



Nota. La figura representa un diagrama de Jablonski que describe el proceso de generación de oxígeno singlete por medio de un fotosensibilizador. Jeong, H., y Choi, M. (2016). Design and Properties of Porphyrin-based Singlet Oxygen Generator. *Israel Journal of Chemistry*, 56(2), 110-118.

**2.1.1.1. Reacciones tipo I.** En este tipo de reacción el fotosensibilizador (FS) en su estado de excitación reacciona directamente con el sustrato (S), a través de una reacción de transferencia de electrones o hidrógeno. Como resultado se obtiene un radical o ion radical en el sensibilizador como en el sustrato.

De igual forma el fotosensibilizador en su estado excitado puede transferir un electrón al

oxígeno generando un anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) y el fotosensibilizador cargado positivamente. En algunas ocasiones el fotosensibilizador cargado positivamente puede reaccionar con un agente reductor el cual puede regenerar el fotosensibilizador. (Lier, 1991)

**2.1.1.2. Reacciones tipo II.** En esta reacción el fotosensibilizador (FS) pasa de su estado excitado singlete por medio de un cruce entre sistemas a su estado excitado triplete. En el estado triplete transfiere su exceso de energía al oxígeno molecular en estado fundamental ( $^3O_2$ ) generando el estado excitado del oxígeno molecular singlete ( $^1O_2$ ) y el sensibilizador regresa a su estado fundamental. El oxígeno en su estado excitado reacciona con el sustrato generando productos oxidados. (Ameta and Ameta, 2005)

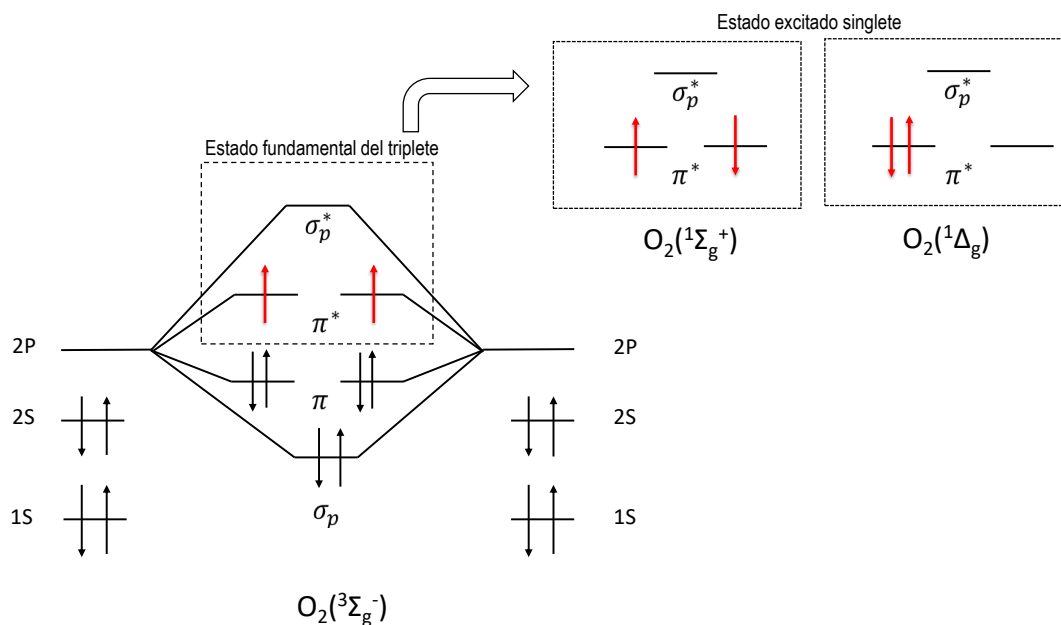
### **2.1.2. Oxígeno molecular y sus estados excitados.**

El oxígeno molecular es un oxidante ideal, su estructura electrónica está compuesta por dos estados singletes excitados de baja energía,  $\Sigma_g^+$  y  $^1\Delta_g$ , que contienen dos electrones apareados o de espines contrarios y un exceso de energía respecto a su estado fundamental triplete  $^3\Sigma_g^-$ . A diferencia de otras moléculas el oxígeno molecular en estado fundamental tiene dos electrones desapareados o espines paralelos que ocupan orbitales  $\pi^*$  separados. (Jeong and Choi, 2016)

Esta estructura electrónica poco común hace que las transiciones electrónicas entre el estado fundamental y uno de los estados excitados sean prohibidas como procesos dipolares eléctricos, debido a las reglas de selección de espín y las reglas de paridad. (Krupenie (1972) Este tipo de transiciones hacen del estado  $^1\Delta_g$  el más estable de los estados singletes excitados, a causa de su tiempo de vida de radiación relativamente largo y al tener sus dos electrones de valencia en un solo

orbital  $\pi^*$  dejando el segundo orbital  $\pi^*$  vacío. (DeRosa and Crutchley, 2002)

Figura 2. Configuración electrónica del oxígeno molecular.



Nota. La figura representa la configuración electrónica del oxígeno molecular, en la que se puede observar los estados singlete excitados y la posición de sus electrones de valencia. Adaptada de Jeong, H., y Choi, M. (2016). Design and Properties of Porphyrin-based Singlet Oxygen Generator. Israel Journal of Chemistry, 56(2), 110-118.

De acuerdo con las restricciones de espín el oxígeno molecular en un proceso redox puede reaccionar con otras moléculas que posean electrones de valencia desapareados y con radicales libres por medio de la transferencia de un electrón. (Imlay, 2003) Debido a esto y a su alta electro-negatividad el oxígeno en su estado fundamental  $^3O_2$  es un excelente aceptor de electrones y un

donador pobre de electrones. Al aceptar un electrón conduce a la formación de diferentes especies reactivas de oxígeno (ROS) entre las cuales se encuentran  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $HO_2^{\cdot}$  o  $H_2O_2$ . El oxígeno en su estado excitado puede ser desactivado en presencia de grupos donantes de electrones como aminas o hidrocarburos aromáticos por medio de una transferencia de carga en proceso no radiativo. (Anquez et al., 2016)

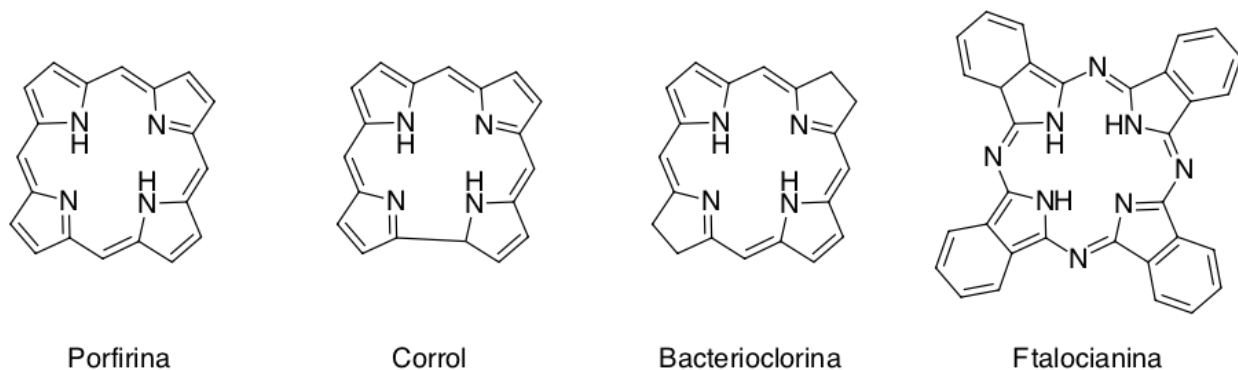
### ***2.1.3. Fotosensibilizadores generadores de oxígeno singlete.***

Existen diferentes especies químicas que puede producir oxígeno singlete tras ser irradiadas con luz de la longitud de onda adecuada, entre las cuales se puede encontrar los siguientes cromóforos: hidrocarburos aromáticos polinucleares, cetonas aromáticas, tionas, quinonas; heterociclos tales como cumarinas, fluoresceína y sus derivados polihalogenados, acridinas, fenazinas y fenotiazinas, porfirinas, ftalocianinas y varios de sus complejos metálicos. (Fresnadillo and Lacombe, 2016)

***2.1.3.1. Porphirinas.*** Las porfirinas se conocen estructuralmente como un macrociclo tetrapirrólico conformado por cuatro subunidades de pirrol interconectados. Poseen un sistema de 18 electrones  $\pi$  deslocalizados responsables de la absorción y emisión en la región visible. (Jeong and Choi, 2016) Estos compuestos se encuentran en diversas estructuras biológicas que difieren en las cadenas laterales, los cuales son obtenidos por el reemplazo de los ocho átomos de hidrógeno numerados de los pirroles. (Bonnett and Berenbaum, 1989) La vitamina B12, el grupo hemo de la hemoglobina, la clorofila, el citocromo y pigmentos biliares hacen parte de dichos compuestos. La porfirina y sus análogos como el corrol, la bacterioclorina, y la ftalocianina han sido

estudiados como materiales claves para la aplicación en sistemas catalíticos, terapia fotodinámica, transistores de efecto campo, sensores químicos entre otros.(Jeong and Choi, 2016)

Figura 3. Estructura de la porfirina y sus análogos.



Nota. La figura muestra la estructura química de algunos tipos de porfirinas que se han utilizado en sistemas catalíticos. Tomado de Jeong, H., y Choi, M. (2016). Design and Properties of Porphyrin-based Singlet Oxygen Generator. *Israel Journal of Chemistry*, 56(2), 110-118.

**2.1.3.2. Clorofilas.** Las clorofilas son pigmentos que se encuentran en las plantas y algunos microorganismos como las cianobacterias, estas moléculas actúan como antenas receptoras para recolectar luz y realizar la conversión de energía solar a química (ATP), la cual es responsable de la biosíntesis de carbohidratos y otros compuestos en los organismos fotosintéticos. (Von Wettstein et al., 1995) Las clorofilas son derivados de tetrapirrol poseen un sistema de dobles enlaces conjugados coplanares formando una estructura aromática con deslocalización de la densidad de electrones en los orbitales  $\pi$ . Este tipo de estructura produce transiciones electrónicas desde los orbitales moleculares más altos a los orbitales moleculares desocupados más bajos asegurando la

absorción de la luz en la región azul (bandas Soret) y rojo (bandas Q) a infrarrojo cercano.(Scheer, 2006)

En las plantas, la clorofila *a* y clorofila *b* son los principales pigmentos fotosintéticos. Estos dos tipos de clorofila se diferencian por su estructura y su rango específico de absorción.(Scheer, 2006) La clorofila *a* es la más abundante y está relacionada directamente con el proceso de fotosíntesis y se encuentra en todos los organismos fotosintéticos oxigénicos, la clorofila *b* trabaja en conjunto para permitir la máxima absorción del espectro pero no está presente en todos los organismos.(Aronoff, 2014)

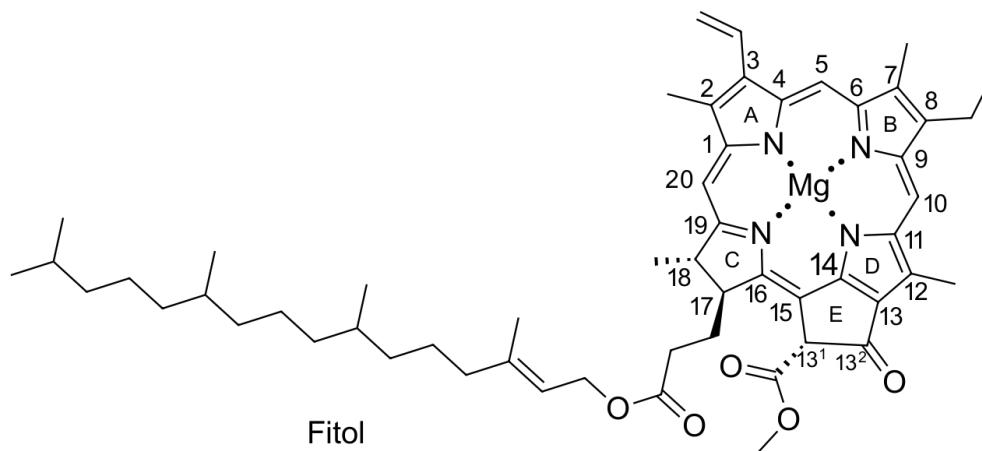
#### ***2.1.4. Tipos de clorofila.***

Las clorofilas (Chl) están compuestas por cuatro anillos de pirrol unidos en un anillo de tetrapirrol con un átomo de magnesio en el centro como ion metálico y fusionada con un anillo de ciclopentenona.(Hendry, 1996) La presencia de los cuatro nitrógenos coplanares en el interior del tetrapirrol genera un ambiente cuadrado planar permitiendo la coordinación de iones metálicos. (Ferruzzi and Blakeslee, 2007)

Estructuralmente los anillos de pirrol están demarcados con las letras A a D y el quinto anillo de ciclopentanona con la letra E. Los grupos laterales toman su número en secuencia del grupo alquilo de origen y los dos carbonos del anillo E son  $13^1$  y  $13^2$ .(Hendry, 1996) Hay tres tipos de clorofilas divididas por sus grados de insaturación. Las fitoporfirinas se caracterizan por un macrociclo completamente insaturado están presentes principalmente en la clorofila *c* de las algas. Las bacterioclorinas poseen doble insaturación en los enlaces C7-C8 y C17-C18 presentes

en bacterioclorofilas *a*, *b* y *g*. Por último, las clorinas son las clorofilas más comunes, presentan un enlace saturado entre C17 y C18, entre este tipo se encuentran la clorofila *a*, *b*, *d* y bacterioclorofilas *c*, *d* y *e*. Roca et al. (2016)

Figura 4. Estructura de la clorofila *a*



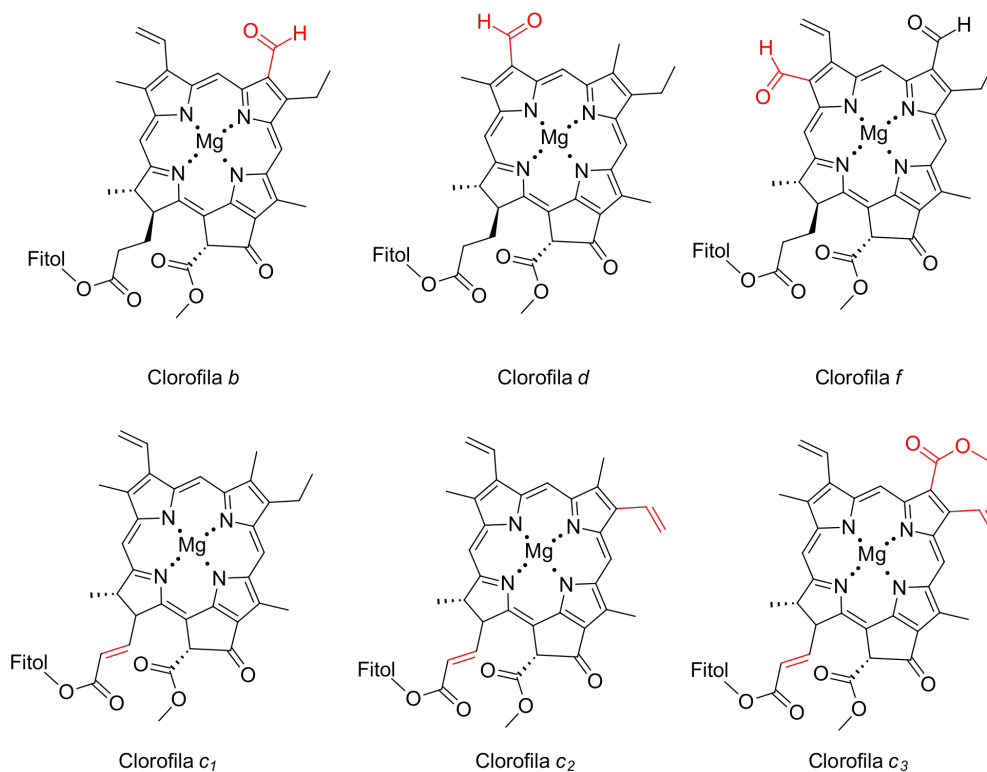
Nota. La figura representa la estructura de la clorofila *a* con su enumeración según las normas IUPAC. Tomado de Senge, M. O., Ryan, A. A., Letchford, K. A., MacGowan, S. A., y Mielke, T. (2014). Chlorophylls, Symmetry, Chirality, and Photosynthesis. *Symmetry*, 6(3), 781-843.

Los diferentes tipos de clorofilas son derivados por medio de la variación estructural de los sustituyentes periféricos de su sistema conjugado y la cadena de alcohol esterificado. La clorofila *a* posee un grupo metilo en la posición 7-C y la Chl *b* es derivada por la oxidación de este metilo con la formación de un grupo formilo. Con respecto a la clorofila *a*, la clorofila *d* y *f* difieren en la posición 3-C y 2-C por la presencia de un grupo formilo respectivamente. Las clorofilas denominadas clorinas Chl C<sup>1</sup>, Chl C<sup>2</sup> y Chl C<sup>3</sup>, la cadena de fitilo éster es reemplazada por un

grupo acrilato en 17-C; la Chl C<sup>2</sup> difiere de la Chl C<sup>1</sup> porque el grupo etilo del 8-C es reemplazado por un grupo vinilo, la Chl C<sup>3</sup> tiene un sustituyente metoxicarbonilo en 7-C y un grupo vinilo en el 8-C; estas clorofilas se encuentran en algunas algas como las diatomeas y las dinoflageladas.

Tanaka and Tanaka (2011)

Figura 5. Estructuras de los diferentes tipos de clorofilas

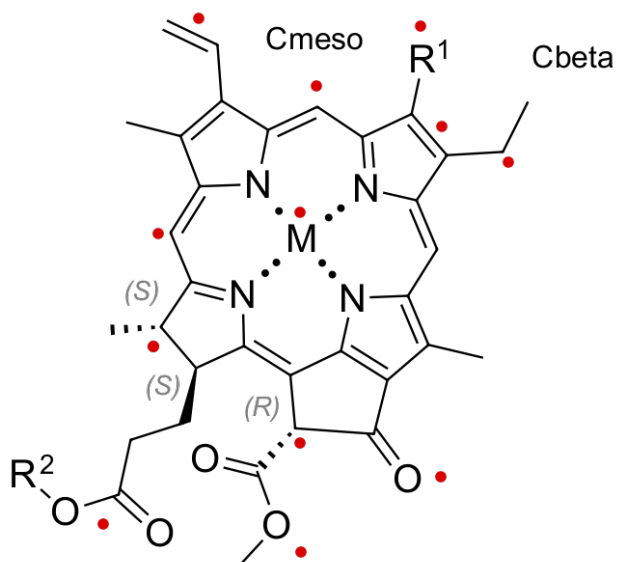


Nota. La figura representa las diferentes clorofilas, indicando el grupo funcional y posiciones que las diferencia. Adaptado de Tanaka, R., y Tanaka, A. (2011). Chlorophyll cycle regulates the construction and destruction of the light-harvesting complexes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*; Regulation of Electron Transport in Chloroplasts, 1807(8), 968-976.

**2.1.4.1. Derivados de clorofilas.** La clorofila es un tetrapirrol cíclico con un anillo de ciclopentanona fusionado capaz de desarrollar funciones biológicas únicas al poseer un sistema  $\pi$  y una capacidad de coordinar iones metálicos con los átomos de nitrógeno presentes en el núcleo, la flexibilidad del macrociclo y las cadenas laterales. Su estructura posee varios centros activos de los cuales se pueden obtener nuevas estructuras, algunos de estos derivados son obtenidos a partir de oxidaciones. (Nyman and Hynninen, 2004)

Las transformaciones más comunes se dan en condiciones ácidas, dando lugar a la pérdida del fitol, la pérdida del ion metálico  $Mg^{2+}$  para obtener clorofilida *a* y feofitina *a* respectivamente y obtener feoforbida por medio de una transesterificación, estos nuevos sistemas aromáticos pueden sufrir reacciones electrofílicas debido a las posiciones meso, en especial la posición *meso* 20-C al estar más cercana al anillo de pirrol reducido. Así mismo, el doble enlace en C7-C8 puede sufrir modificaciones mediante reacciones de adición y oxidación al no formar parte de la vía de deslocalización aromática. Las cadenas laterales pueden sufrir reacciones de adición y oxidación en grupos vinilo, los grupos éster presentes en las posiciones C17(3) y C13(2) pueden ser saponificados o transesterificados. El anillo de pentanona isocíclica implica una enolización, degradación oxidativa, hidroxilación, apertura de anillo o descarboxilaciones. (Senge et al., 2014)

Figura 6. Centros reactivos de los derivados de clorofila



Nota. Ilustración de los centros reactivos para la formación de los diferentes derivados de clorofila. Adaptado de Senge, M. O., Ryan, A. A., Letchford, K. A., MacGowan, S. A., y Mielke, T. (2014). Chlorophylls, Symmetry, Chirality, and Photosynthesis. *Symmetry*, 6(3), 781-843.

Los principales derivados de la clorofila se observan en la Figura 7, indicando las diferentes condiciones para poder ser obtenidos. Entre ellos se encuentra la clorofilida *a*, producto de una hidrólisis que produce la pérdida de la cadena de fitol, seguido de la feofitina obtenido por la pérdida del  $Mg^{2+}$  y al someterse a una hidrólisis produce la feofofida *a* y por medio de transesterificaciones se obtienen productos como la metilfeofofida. (Senge et al., 2014)



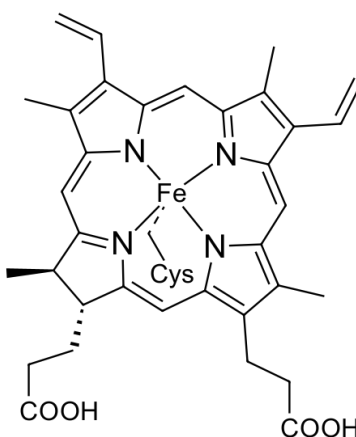
### 3. Antecedentes

La fotocatalisis ha sido un tema de investigación muy amplio durante las últimas décadas, surgió en 1970 con referencia a dos temas de investigación; el primero como consecuencia de la crisis del petróleo, promoviendo la investigación a nuevas alternativas de energía para la generación de combustible, en especial hidrógeno por medio de la división del agua. (Turner, 2004) Segundo, como una solución para la contaminación producida por productos químicos, con el objetivo de limpiar el agua y el aire. (Fujishima and Honda, 1972)

En el mismo año, se realizaron trabajos para aislar y caracterizar las enzimas que pertenecen al citocromo P-450 debido a su capacidad para oxidar moléculas exógenas y endógenas, su sitio activo contiene una protoporfirina IX de hierro (III) unida covalentemente a la proteína. Este tipo de enzimas funcionan como catalizadores en la monooxigenación, deshidrogenación y desformilación oxidativa. (Nakagaki et al., 2013)

Por consiguiente, las metaloporfirinas han sido sintetizadas como modelos del citocromo P-450 con el objetivo de estudiar sus propiedades oxidativas y la síntesis de metabolitos potenciales de fármacos y xenobióticos. Las primeras metaloporfirinas utilizadas fueron las tetrafenilporfirinas de hierro y manganeso de estructura inestable, su macrociclo de porfirina se destruye rápidamente limitando el número de ciclos catalíticos. (Bernadou and Meunier, 2004)

Figura 8. Representación esquemática del grupo prostético de la enzima cisteinato-hemo citocromo P-450.



Nota: Grupo prostético de la enzima cisteinato-hemo citocromo P-450, utilizada como modelo para la síntesis de metaloporfirinas. Adaptado de Nakagaki, S., Ferreira, G. K., Ucoski, G. M., y Dias de Freitas Castro, K. A. (2013). Chemical reactions catalyzed by metalloporphyrin-based metal-organic frameworks. *Molecules* (Basel, Switzerland), 18(6), 7279-7308.

Groves et al. (1970), sintetizaron una porfirina de hierro como catalizador en procesos de epoxidación de alquenos e hidroxilación de alcanos. Esta investigación dio a lugar al creciente uso de metaloporfirinas (MP) coordinadas a diferentes metales, con la intención de modificar los métodos tradicionales de oxidación y síntesis de sustratos orgánicos. (Groves et al., 1979) En 1997, Dolphin y Traylor realizaron una clasificación de las diversas MP empleadas en las últimas décadas, designando la primera MP sintetizada por Groves como una porfirina de primera generación. (Dolphin et al., 1997)

A partir del año 2000, la producción científica fue aumentando en el estudio de metalopor-

frinas como catalizadores para procesos de fotosensibilización. Se realizaron estudios de fotooxidación de benceno a fenol utilizando complejos de bis y tris (bipiridina) Ru injertados en FSM-16 mesoporoso y  $H_2O_2$  como oxidante. Los complejos metálicos activan las especies reactivas del  $H_2O_2$  para dar un radical OH que ataca el benceno, obteniendo fenol con una selectividad de un 98 %.(Fujishima et al., 2001)

En el año 2004 se realizaron diferentes investigaciones en fotosensibilización utilizando complejos metálicos de porfirinas para procesos de fotodegradación de 4-clorofenol por hierro meso-tetrakis (2,6-dicloro-3-sulfofenil) porfirina (FeTDCPPS) en una solución aireada, la cual conduce a la formación de p-benzoquinona (BQ) y p-hidroquinona (HQ) como principales fotoproductos.(Silva et al., 2004) Así mismo, se realizó la oxidación de N- (4-clorofenil)-N-hidroxiguanidina a N- (4-clorofenil) urea y óxido nítrico por porfirinas de hierro fotoexcitadas.(Maldotti et al., 2004) A partir del año 2005 el uso de porfirinas en investigaciones de fotosensibilización aumentó en diferentes áreas de estudio en especial la fotooxidación por medio de la generación de oxígeno singlete.

Como un avance en el estudio de la fotocatalisis se han empleado catalizadores de fotosíntesis naturales como las clorofilas y diversos derivados, por su gran capacidad de captación de luz, transferencia de energía fotoinducida y sus funciones de separación de carga en reacciones de fotosíntesis. En el 2005 se estudio el papel de la clorofila y porfirinas naturales en la oxidación de productos lácteos inducida por la luz. Se expusieron a la luz muestras de queso Norvegia tipo Gouda a través de películas de plástico de diferentes colores. El análisis de fluorescencia indicó que los

compuestos presentes naturalmente en el queso son protoporfirina, hematoporfirina, clorofila *a* y clorofila *b*. Observando que la descomposición fotoinducida de estos compuestos proporciona una contribución significativa a la fotooxidación en el queso y otros productos lácteos. (Wold et al., 2005)

En el año 2015 se realizaron estudios de la capacidad de las clorofilas en la oxidación de aceites, el aceite de soja y el aceite de oliva virgen utilizando luz ultravioleta como activantes de los estados excitados de la clorofila. Se usó una fracción de clorofila purificada de hojas de espinaca como fotosensibilizador para oxidar el ácido tíglico, como un compuesto insaturado modelo que es útil para ajustar las condiciones de reacción. Se utilizaron ésteres metílicos de ácido oleico y linoleico para probar la oxigenación fotosensibilizada. El análisis de aceite de oliva virgen fotooxidado confirmó la presencia de octano el cual fue el único producto detectado en cualquier cantidad. El autor propuso denominar el octano obtenido en el proceso de fotooxidación del aceite de oliva como un marcador de una etapa de irradiación del aceite. (Bianchi et al., 2015; Giuliani et al., 2015)

#### **4. Diseño Metodológico**

##### **4.1. Extracción de pigmentos de clorofila**

Los pigmentos de clorofila fueron extraídos de hojas de espinaca *Spinacia oleracia L.*, compradas en un mercado local. Las hojas frescas se lavaron con agua para eliminar restos de tierra, se deshidrataron y trituraron para su posterior almacenamiento a  $>4^{\circ}\text{C}$ . A partir de 30,03 g de biomasa de espinaca se realizó una extracción sólido-líquido en envases sellados y protegidos

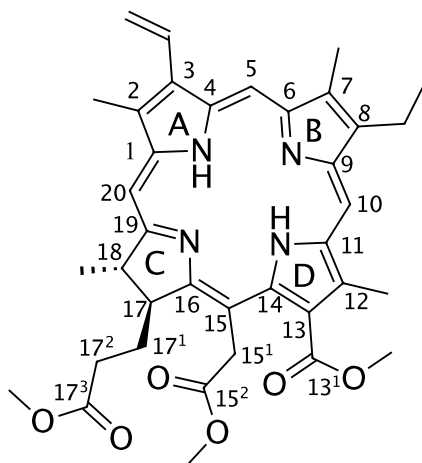
de la luz en 200 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  durante 24 h. El extracto final se concentró en un rotoevaporador y se obtuvo 1,34 g de extracto y 27,32 g de biomasa final. La purificación y separación de pigmentos se realizó mediante cromatografía flash utilizando columnas de sílica gel esférica con tamaño de partícula (45-60)  $\mu\text{m}$  y poros de 100 Å. La clorofila *a* y feofitina *a*, se protegieron de la luz y fueron almacenadas a bajas temperaturas hasta su análisis por cromatografía líquida, espectrometría de masas y para posterior uso en la síntesis de sus derivados.

#### 4.2. Síntesis de Clorina e6 trimetil éster a partir de feofitina *a*

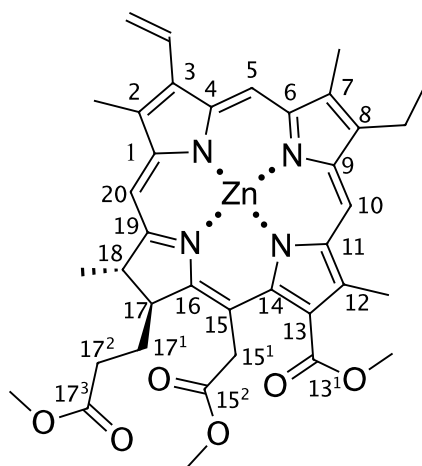
En un balón Schlenk de 200 mL se disolvieron 128,7 mg de feofitina *a* (0,147 mmol) en 100 mL de metanol, seguidamente se añadió una porción de sodio metálico para formar el respectivo alcóxido. El reactor se selló con un septum aplicando flujo de argón; el crudo de reacción se mantuvo en agitación constante en un baño de hielo hasta disolver por completo el sodio, posteriormente se detuvo el flujo de argón y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se neutralizó con salmuera y se extrajo con 50 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La fase orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró con papel franja negra y se concentró por rotoevaporación. Se obtuvo 50,62 mg ( 0.0792 mmol; rendimiento 53,6 % ), como un sólido verde oscuro.

#### 4.3. Síntesis complejos metálicos

**Metodología general.** La síntesis de complejos metálicos de Cu y Zn se realizó a partir de clorina e6 trimetil éster obtenida anteriormente. En un balón de 100 mL se adicionó la clorina e6 trimetil éster disuelto en diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) y una solución saturada de la sal de acetato (Cu, Zn) en 15 mL de metanol. El balón se selló con un septum y fue purgado con argón, la

*Figura 9.* Clorina e6 trimetil éster

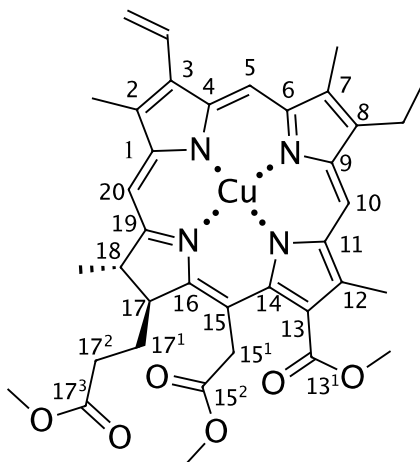
reacción se dejó en agitación constante durante 3h. Pasado el tiempo de reacción, se adicionó una solución acuosa de bicarbonato sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) y se dejó bajo agitación constante durante 10 min. El producto se extrajo con tres porciones de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , la capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro ( $\text{MgSO}_4$ ), se concentró y purificó por cromatografía flash.

*Figura 10.* Zn-Clorina e6 trimetil éster

Zn-clorina e6 trimetil éster preparado con la metodología general descrita a partir de 197,56

mg de clorina e6 trimetil éster (0,309 mmol), 70 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y 120,5 mg  $\text{ZnC}_4\text{H}_6\text{O}_4$  (0,657 mmol) en 15 mL  $\text{CH}_3\text{OH}$  y se obtuvo 120,28 mg (0.171 mmol, rendimiento 55,23 %).

Figura 11. Cu-Clorina e6 trimetil éster



Cu-clorina e6 trimetil éster preparado con la metodología general descrita a partir de 14,2 mg de clorina e6 trimetil éster (0.022 mmol), 70 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y 120,5 mg  $\text{CuC}_4\text{H}_6\text{O}_4$  (0,663 mmol) en 15 mL  $\text{CH}_3\text{OH}$  y se obtuvo 19.4 mg (0,027 mmol, rendimiento 80,1 %).

#### 4.4. Estudio de derivados de clorina e6 trimetil éster en reacciones de fotooxidación

Se realizaron reacciones de fotooxidación utilizando fenol como sustrato en 20 mL de acetonitrilo, agregando 20 mg de fenol y 2 mg del derivado de clorofila bajo flujo constante de aire y luz (660 nm y 430 nm); en agitación constante durante 5h-8h con el fin de observar si el sustrato presentaba alguna reacción. El avance de la reacción se estudió y caracterizó por medio de HPLC.

#### **4.5. Caracterización de moléculas de clorofila y sus derivados por UV-Vis.**

Se utilizó un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis de doble haz, lámpara flash de Xenón, detector de fotodiodos duales de silicio, celda de cuarzo con paso óptico de 1 cm. Los compuestos fueron solubilizados en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

#### **4.6. Caracterización de moléculas de clorofila, complejos de feofitina a, productos de fotooxidación por infrarrojo FT-IR**

Se utilizó un espectrofotómetro Bruker tensor 27 con celda Bruker platinum ATR, las observaciones se registraron en la escala de número de onda  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **4.7. Caracterización de derivados de clorofila por resonancia magnética nuclear (RMN)**

Se utilizó un equipo Bruker Avance 400MHz  $^1\text{H}$  RMN y 100 MHz  $^{13}\text{C}$  RMN con patrón interno el tetrametilsilano TMS y como disolvente se empleó cloroformo deuterado  $\text{CDCl}_3$  de Merck. Se reporta la multiplicidad de las señales: Singlete (s), doblete (d), triplete (t), cuartete (q), doblete de dobletes (dd), doblete de dobletes (ddd), doblete de doblete de dobletes (dddd), triplete de dobletes (td), triplete de triplete (tt) y multiplete (m); la constante de acoplamiento (J) y los desplazamientos químicos ( $\delta$ ), se expresaron en Hz y ppm respectivamente.

#### **4.8. Caracterización de moléculas de clorofila y sus derivados por espectrometría de masas**

Espectrómetro de masas Bruker Daltonis (Amazon X) con nebulización por electrospray (ESI) y analizador de trampa iónica (IT). Los espectros de masas se obtuvieron por inyección

directa, Full Scan, modo positivo a 300 °C de temperatura, 5000 V en el capilar, nitrógeno como gas nebulizador con flujo 5  $\mu\text{L}/\text{min}$  y presión 12 psi. Los compuestos fueron solubilizados en acetonitrilo.

## 5. Resultados y análisis

### 5.1. Resultados de extracción

En el presente trabajo se realizó la síntesis y caracterización de derivados de clorofila para su posterior aplicación en reacciones de fotooxidación. Se utilizó como materia prima la clorofila extraída de las hojas de espinaca. La obtención de los pigmentos se realizó a partir de biomasa de espinaca (Figura 12a) y se sometió a un proceso de extracción (sólido-líquido) bajo las condiciones descritas en la Tabla 1. Al finalizar el proceso de extracción la biomasa cambio de color debido a la pérdida de diversos pigmentos que componen las hojas de espinaca (Figura 12b).

*Figura 12.* Biomasa inicial y final de las hojas de espinaca.

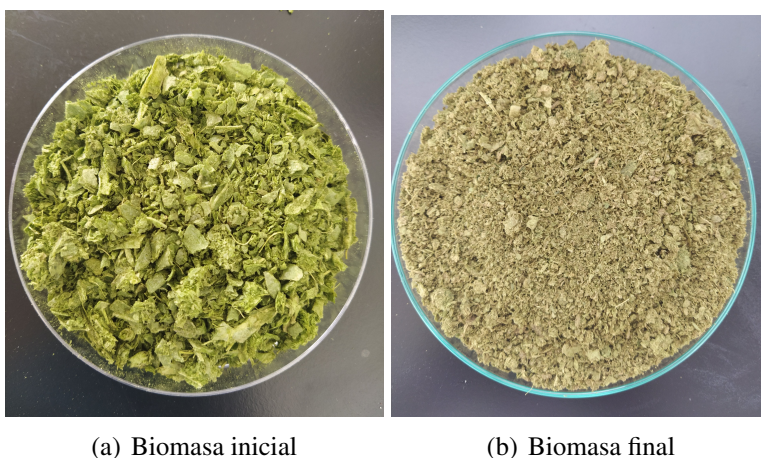


Tabla 1

*Condiciones de extracción y fracciones de pigmentos separados*

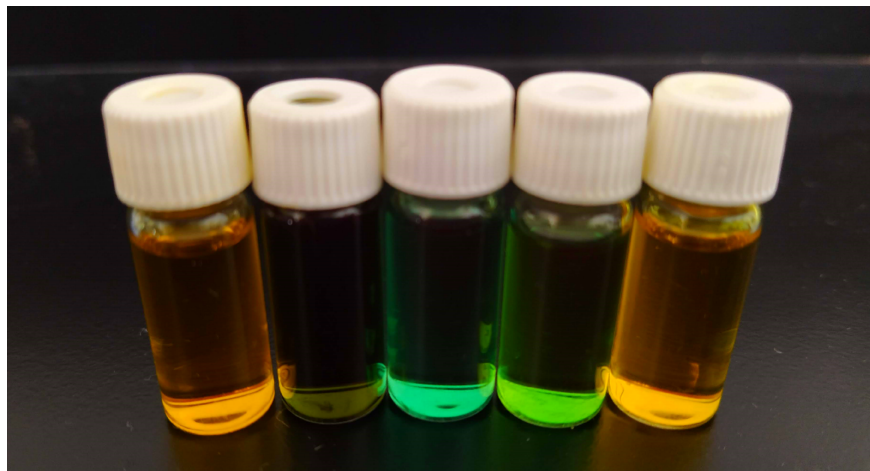
Componentes	Peso (g) y condiciones
Biomasa inicial	30,0296 g
Tiempo	24 h
Volumen CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	200 mL
Extracto	1,9683 g
Clorofila <i>b</i>	0,1601 g
Clorofila <i>a</i>	0,1392 g
Feofitina <i>a</i>	0,2039 g

*Nota:* En la tabla se observa las condiciones de extracción utilizadas, la cantidad de extracto obtenido y la cantidad que se obtuvo de clorofila y feofitina al ser separadas por cromatografía flash.

La purificación del extracto se realizó por cromatografía flash, utilizando como fase móvil heptano : acetona (2:1), los primeros compuestos en eluir son de color naranja y corresponden a los carotenoides, seguidos de una franja verde oliva y otra color marrón claro, colores característicos de los derivados de clorofilas, feofitina *a* y *b* respectivamente. Los compuestos en eluir posteriormente son las clorofilas *a* y *b*, y por último las xantófilas (figura 13). Las fracciones que se aislaron para su posterior purificación fueron la feofitina *a* y clorofila *a*.

Las feofitinas son derivados que se obtienen a partir de la pérdida del metal central Mg (II) de las clorofilas, este tipo de enlace coordinado puede romperse al encontrarse en medios ácidos. Esto se debe a dos de los átomos de nitrógeno presentes en el macrociclo de la clorofila, los cuales presentan pares de electrones que son donados y aceptados por el metal, este enlace al encontrarse en medio ácido los pares de electrones del ligando se protonan y rompen el enlace covalente coordinado. Se realizó la caracterización de feofitina (*a*) y clorofila (*a,b*) por espectrometría de masas,

Figura 13. Fracciones de pigmentos separados por cromatografía flash



*Nota:* En la imagen se observan las fracciones de Carotenoides, feofitina *a*, Clorofila *a*, Clorofila *b* y Xantófilas.

utilizando ultravioleta visible (Uv-Vis) y espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier FT-IR se logró caracterizar las clorofilas *a,b* y feofitinas *a,b*.

### 5.1.1. Espectros de masas de las fracciones de clorofila *a* y Feofitina *a*.

Los pigmentos extraídos se identificaron por medio de espectrometría de masas MALDI-TOF y por electrospray (ESI). En MALDI-TOF MS se utilizó como matriz DCTB logrando observar señales  $m/z$  870,59 (figura 14a),  $m/z$  906,59 correspondientes a cationes radicales de feofitina *a* ( $C_{55}H_{74}N_4O_5$ , masa monoisotópica: 870,57) y clorofila *b* ( $C_{55}H_{70}MgN_4O_6$  masa monoisotópica: 906,51).(Suzuki et al., 2009)

La figura 14b se identificó un pico monoisotópico protonado de la clorofila *a*  $m/z$  893,67 y su isotopólogo, confirmando la identificación de la clorofila *a* [ $C_{55}H_{72}MgN_4O_5 + H$ ]<sup>+</sup>, se puede observar la formación de un aducto de sodio  $m/z$  915,63 [ $C_{55}H_{72}MgN_4O_5 + Na$ ]<sup>+</sup> debido a la pre-

sencia de trazas de sales alcalinas y a su vez la presencia de un derivado de clorofila *a* protonado; feofitina *a*  $[C_{55}H_{74}N_4O_5 + H]^+$ . (Mckenna et al., 2014) Estos picos moleculares se lograron identificar y confirmar por medio de su patrón isotópico logrando verificar cada una de las fracciones separadas y poder realizar la síntesis del derivado de clorofila *a*.

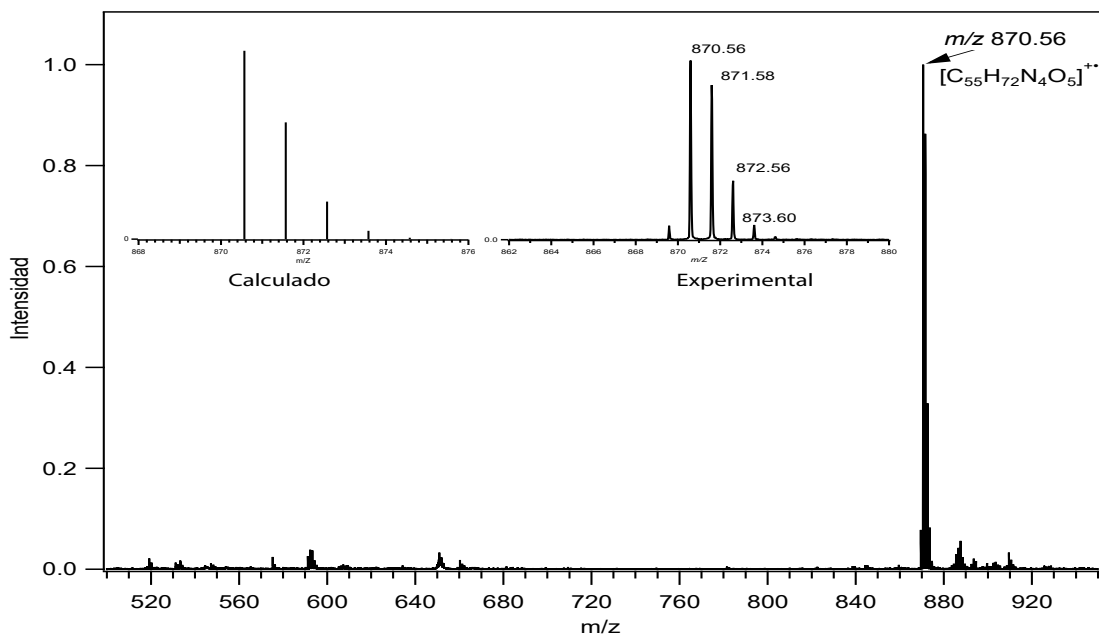
### 5.1.2. Espectros de FT-IR de moléculas de clorofila.

Las moléculas de clorofila y feofitina extraídas de la hojas de espinacas se analizaron por espectroscopía infrarroja FT-IR, logrando identificar las señales características de los grupos funcionales presentes en las moléculas las cuales fueron asignadas de acuerdo con estudios previos. (K. V. Berezin, V. V. Nechaev and Ziganshina, 2004; Rogl et al., 2003) La Figura 15, muestra los espectros de absorbancias FT-IR de las moléculas de clorofila *a*, clorofila *b*. Las posiciones de las bandas de absorbancia de clorofila *a*, clorofila *b*, feofitina *a*, feofitina *b*, se enumeran en la Tabla 2.

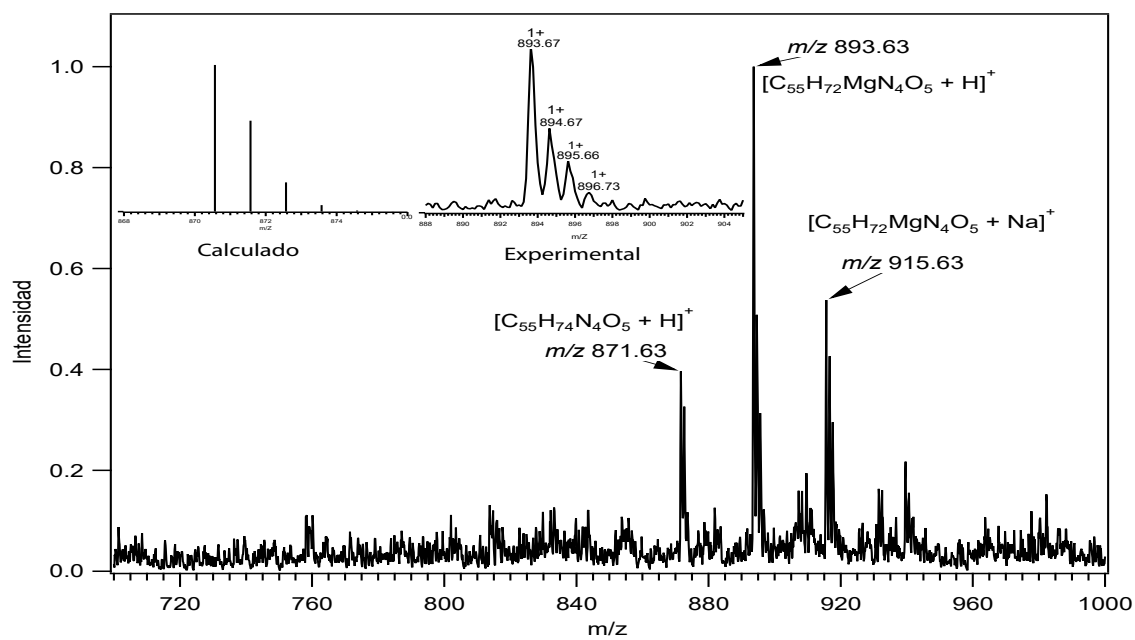
En el rango de  $3500-3200\text{ cm}^{-1}$  se observó una banda de intensidad media en los espectros de las feofitinas la cual corresponde a las aminas secundarias presentes en el macrociclo al perder su metal coordinado. La señal mas intensa en la región de  $3015\text{ a }2850\text{ cm}^{-1}$  fue asignada a estiramientos C-H simétricos y asimétricos de metilos y metinos presentes en el fitol y sistema aromático.

La región de  $1750\text{ a }1600\text{ cm}^{-1}$  corresponde a las bandas de absorción de los carbonilos presentes. Las vibraciones de frecuencia de los carbonos  $17^1$  y  $13^3$  se atribuyeron a las vibraciones de estiramiento de los carbonilos C=O que conforman el grupo éster y su banda de absorción se encuentra en la región de  $1750-1700\text{ cm}^{-1}$ . La banda asignada al carbonilo que conforma el grupo

Figura 14. Espectros de masas moléculas de clorofila



(a) Feofitina *a*

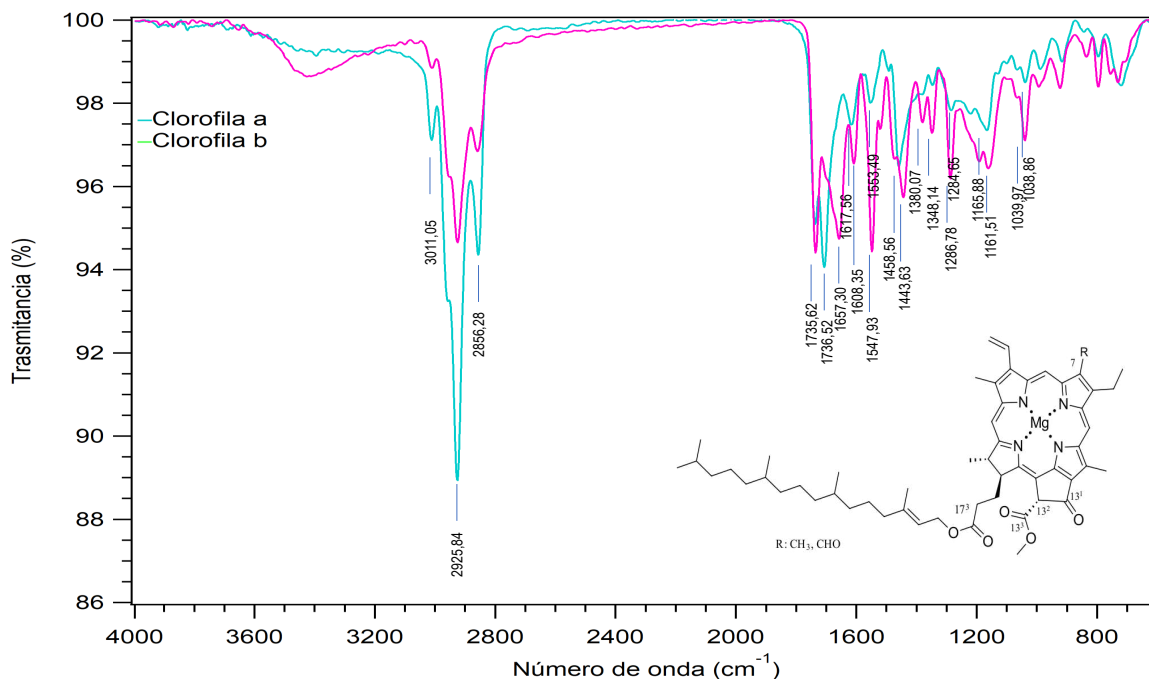


(b) Clorofila *a*

cetona se encuentra en la región de  $1620\text{-}1540\text{ cm}^{-1}$ , esta banda se produce debido a una vibración de estiramiento del enlace  $\text{C}=\text{O}$ .

La clorofila *b* posee un grupo formilo en el C7, este grupo interactúa con el  $\text{Mg}^{2+}$ , el cual se le atribuye vibraciones de estiramiento del enlace  $\text{C}=\text{O}$  en la banda de absorción  $1657,30\text{ cm}^{-1}$ . En la región de  $1560\text{-}1520\text{ cm}^{-1}$  se presenta una banda de absorción intensa la cual corresponde a cuatro vibraciones de torsión que están compuestas por los enlaces  $\text{C}=\text{C}$  y  $\text{C}=\text{N}$  de los anillos de pirrol.

Figura 15. Espectro de FT-IR moléculas de clorofila (*a-b*).



Nota: Comparación de espectros de espectroscopía infrarrojo de las moléculas de clorofila *a* y *b*.

Tabla 2

*Bandas de absorción en espectros de infrarrojo de las moléculas de clorofila a, clorofila b, feofitina a, feofitina b.*

Enlace	Posición	Vibración	Número de onda $\text{cm}^{-1}$			
			Clorofila a	Clorofila b	Feofitina a	Feofitina b
C-H		Estiramiento simétrico (vsi).	3011,05	3009,85	2925,73	3009,53
		Estiramiento asimétrico (vasi).	2925,84	2925,12	2858,17	2922,50
			2856,28	2858,72		2853,65
N-H		Estiramiento v.			3398,48	3390,25
C=O	17 <sup>3</sup> , 13 <sup>3</sup>	Estiramiento v.	1736,52	1735,32	1738,15	1734,91
C=O,CHO	7	Estiramiento v.		1657,30		1663,93
C=O	13 <sup>1</sup>	Estiramiento v.	1617,56	1547,93	1604,98	1615,68
C=C, C=N		Torsión de tijera $\delta$	1553,49	1520,58	1550,35	1552,36
C-O	17 <sup>3</sup> , 13 <sup>3</sup>	Estiramiento simétrico (vsi).	1458,55	1443,63	1504,33	1497,87
		Estiramiento asimétrico (vasi).				
CH3		Estiramiento asimétrico (vasi).		1380,07	1459,84	
CH3		Estiramiento simétrico (vsi).	1346,74	1348,14	1376,47	
C=C, C=N			1284,65	1286,78	1259,73	1284,65
C-O	17 <sup>3</sup> , 13 <sup>3</sup>	Estiramiento simétrico (vsi).	1165,88	1161,51	1163,44	1161,03
		Estiramiento asimétrico (vasi).				
N-H		Estiramiento v.			728,68	724,57

*Nota:* Señales representativas de los diferentes grupos funcionales presentes en las moléculas de clorofila.

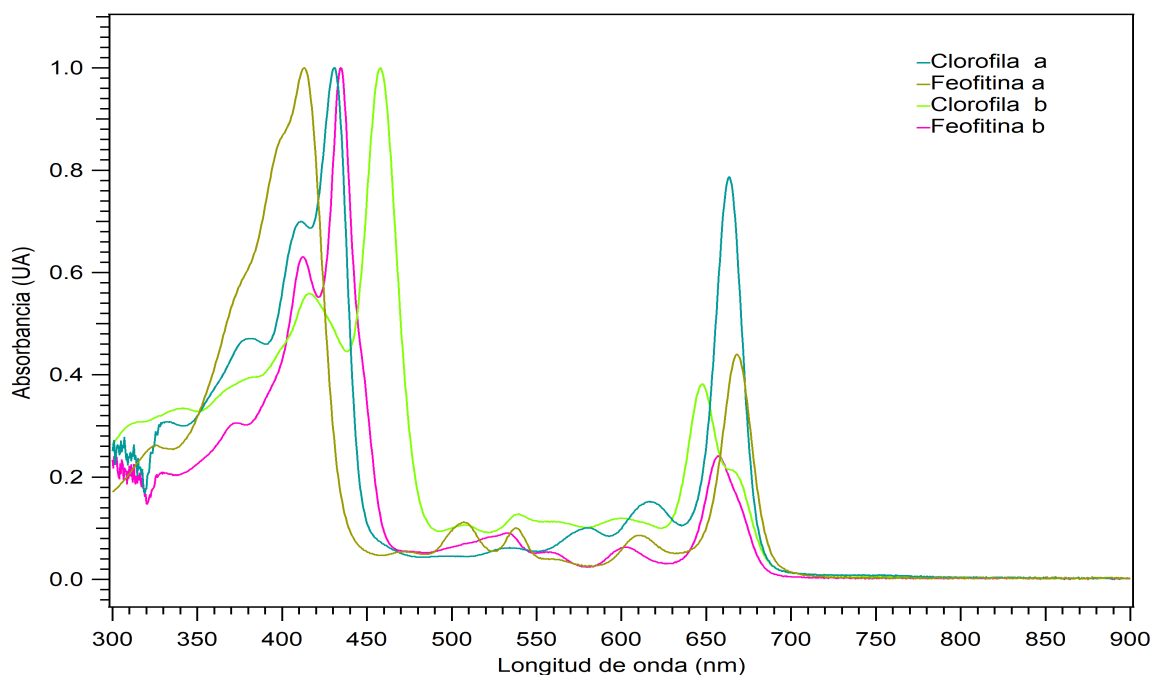
### 5.1.3. Espectros UV-Vis moléculas de clorofila y feofitina.

Las clorofilas son compuestos derivados de la porfina al poseer un tetrapirrol cerrado y completamente conjugado en su estructura. Una de las características que las define es su anillo de ciclopentanona junto al anillo D. (Gross, 1991)

Al tener este sistema conjugado se observan transiciones  $\pi-\pi^*$  que son responsables de su absorción y emisión en la región visible. En su espectro de absorción (Figura 16) se observan bandas intensas en la región de 380-500 nm que corresponde a las bandas Soret y en la región

500-700 nm se observan bandas con menor intensidad las cuales corresponden a las bandas Q.

Figura 16. Espectro de UV-Vis de moléculas de clorofila (a-b) y feofitina (a-b)

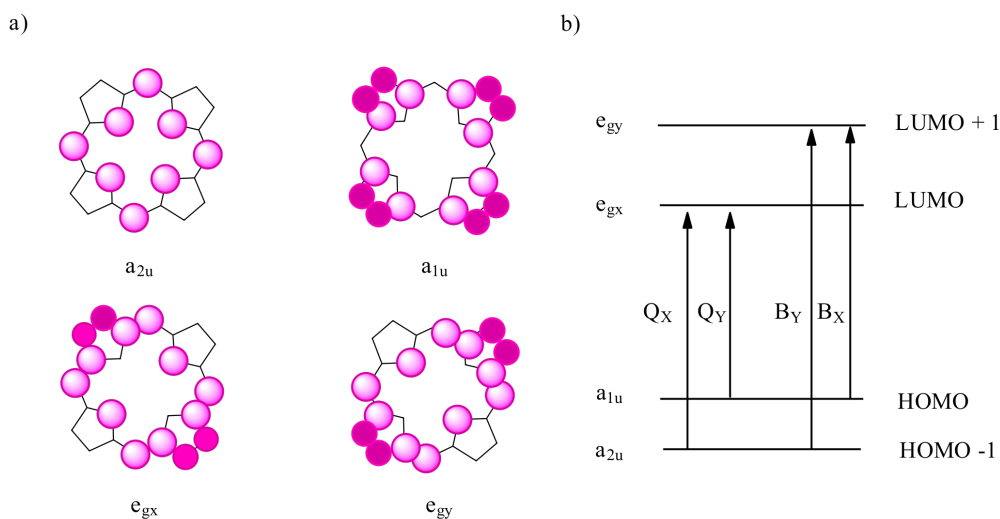


Estas bandas de absorción se producen a partir de transiciones entre dos HOMO  $\pi$  ( $a_{1u}$ ,  $a_{2u}$ ) y dos LUMO  $\pi^*$  ( $eg_x$ ,  $eg_y$ ). La banda de absorción Soret se genera a partir de una transición del estado fundamental al segundo estado excitado y las bandas Q por transiciones del estado fundamental al primer estado excitado (Figura 16). (Lin and Shi, 2021; Giovannetti, 2014)

La diferencia de energía de estas transiciones es pequeña lo que les permite absorber en la región visible y ultravioleta cercano del espectro. Su energía de transición se ve alterada por cambios en su centro metálico y por los diferentes sustituyentes en el anillo dando lugar a espectros característicos.

En la Tabla 3 se encuentran enumeradas los máximos de absorción de las bandas Soret

Figura 17. (a) Representación de los orbitales Gouterman en las porfirinas. (b) Esquema de niveles de energía de los orbitales de Gouterman



Nota: Representación orbitales de la porfirina. Adaptado de Giovannetti, R. (2014). The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins. (June 2012).

y Q de las moléculas de clorofila observando en ellas los corrimientos generados al producirse la pérdida del metal de  $Mg^{2+}$  y su vez el corrimiento generado por el grupo formil que posee clorofila b en el C7 en una posición  $\beta$ .

Tabla 3  
Máximos de absorción UV-Vis moléculas de clorofila

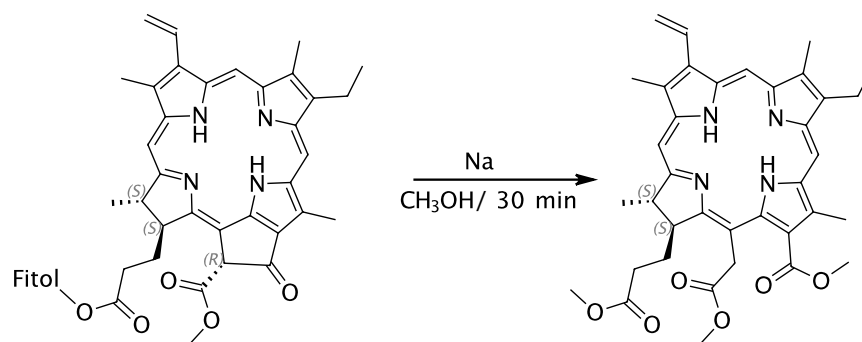
Compuesto	$\lambda$ max (nm)				
	Bandas Soret		Bandas Q		
Clorofila a	431	534	580	616,5	663
Clorofila b	458	508	538	600	648
Feofitina a	413	507	538	610,5	668
Feofitina b	434	533	558	602,5	657

Nota: Bandas de absorción en UV-Vis de las moléculas de clorofila.

## 5.2. Síntesis y caracterización derivados de clorofila.

La síntesis de la clorina e6 trimetil éster se realizó a partir de feofitina *a* la cual fue extraída directamente de las hojas de espinaca y sometida a una reacción con Na y CH<sub>3</sub>OH (figura 18), siguiendo la metodología reportada por (Hargus et al., 2007).

Figura 18. Síntesis de Clorina e6 trimetil éster

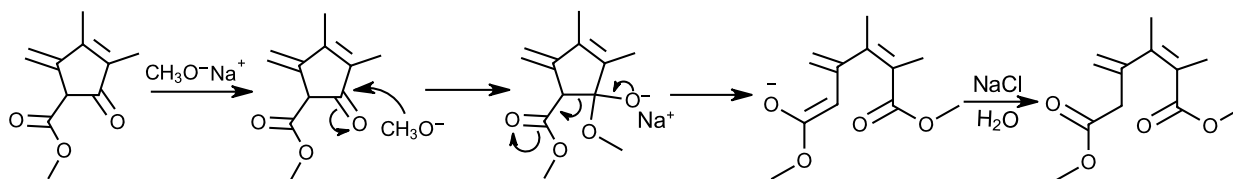


*Nota:* Esquema de síntesis de la clorina e6 trimetil éster.

La estructura de feofitina *a* esta compuesta por un macrociclo de tetrapirrol, dos grupos ésteres ubicados en la posiciones 13<sup>3</sup> y 17<sup>3</sup>, los cuales pueden sufrir reacciones de transesterificación, en este proceso se realiza un intercambio del grupo alcoxi del alcohol empleado con el grupo alcoxi del éster y puede llevarse a cabo tanto en medio ácido o básico. También se puede encontrar en su estructura un anillo de ciclopentanona fusionado al macrociclo el cual contiene un carbono quiral en la posición 13<sup>2</sup>, esta estructura es enolizable y puede transformarse fácilmente en su epímero dificultando su separación. Debido a esto se realiza una sustitución nucleofílica de grupo acilo utilizando metóxido de sodio que actúa como nucleófilo sobre el carbono carbonílico de la posición 13<sup>1</sup>, formando un intermediario tetraédrico y seguidamente se produce la ruptura

del enlace carbono-carbono del anillo de ciclopentanona para formar un nuevo metil éster, en la figura 19 se presenta un posible mecanismo de la reacción descrita.

Figura 19. Mecanismo de sustitución nucleofílica sobre el grupo acilo.



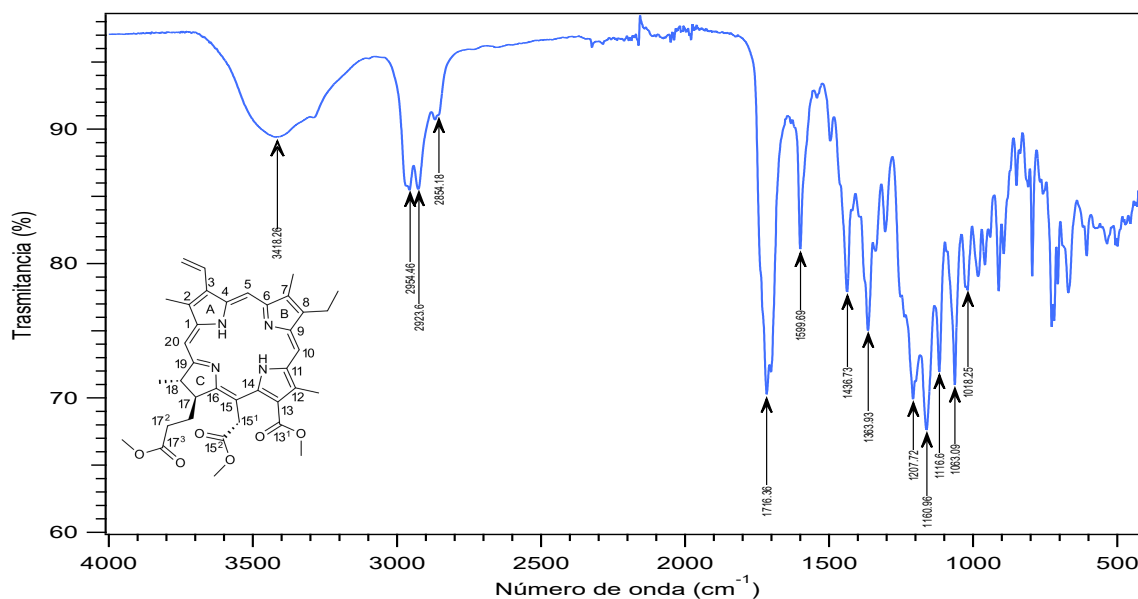
Seguidamente el producto obtenido se analizó por medio de espectrometría de masas láser asistido por desorción/ ionización (MALDI)/MS mostrado en la figura 20, para comprobar su masa y que se encontrara completamente pura. El análisis se realizó utilizando como matriz DCTB y como disolvente acetonitrilo, encontrando un pico con un  $m/Z$  638,34 ( $C_{37}H_{42}N_4O_6$ ), el cual corresponde a la pérdida del grupo fitilo y la formación del éster metílico provocando la apertura del anillo de ciclopentanona.

También se realizó el análisis por medio de espectroscopía infrarroja FT-IR de las bandas de absorción características de los diferentes grupos funcionales del derivado de clorofila que pueden observarse en la Figura 21. Las posiciones de las bandas de absorción de los derivados son descritas en la Tabla 4.

Al igual que en los espectros obtenidos de las moléculas de clorofila en la región de 3010,05-2852,81  $cm^{-1}$  se observaron estiramientos C-H simétricos y asimétricos de los metilos y metinos presentes en el fitol y en el sistema aromático. En la región de 3500-3300  $cm^{-1}$  se encontró la señal correspondiente a una vibración de estiramiento del enlace  $C_2-NH$ ; la señal en la región de



Figura 21. Espectro de FT-IR de Clorina e6 trimetil éster



*Nota:* Espectro de FT-IR de la molécula clorina e6 trimetil éster.

Tabla 4

*Bandas de absorción en FT-IR de infrarrojo de Clorina e6 trimetil éster a*

Enlace	Vibración	Número de onda $\text{cm}^{-1}$
N-H	Estiramiento	3418,26
C-H	Estiramiento simétrico Estiramiento asimétrico	3010,05
		2922,66
		2852,81
C=O	Estiramiento	1716,36
C=C, C=N	Torsión de tijera	1599,69
CH <sub>3</sub>	Estiramiento asimétrico	1363,93
C=C, C=N	Estiramiento simétrico	1207,72
C-O	Estiramiento	1160,96
N-H	Estiramiento	762,56

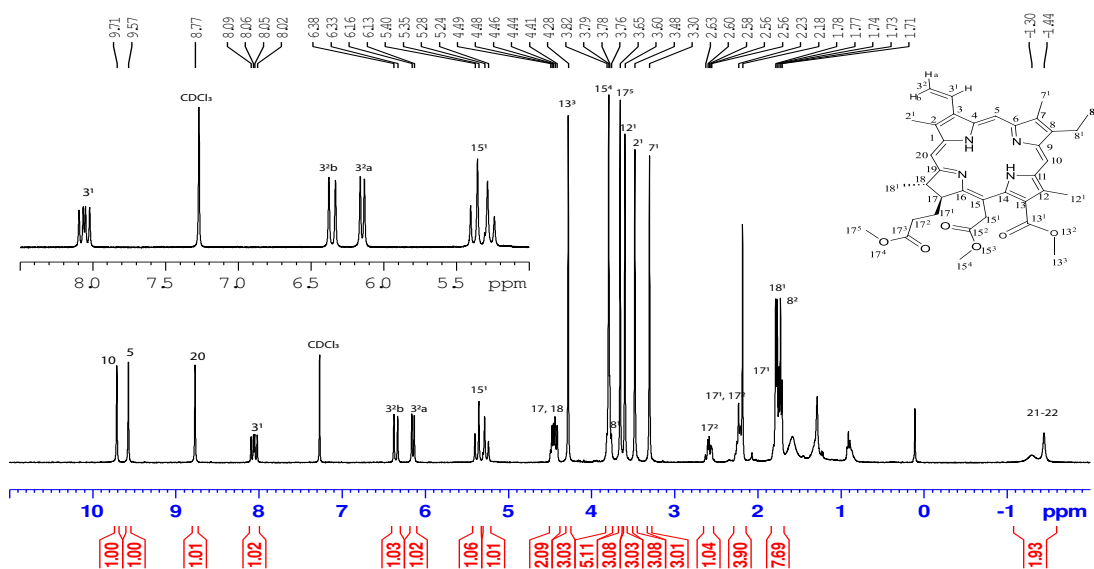
*Nota:* Señales representativas de los diferentes grupos funcionales presentes en clorina e6 trimetil éster.

La estructura de la molécula se pudo confirmar por resonancia magnética nuclear la molécula. A continuación se presentan las señales observadas en  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ .  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 9.70 (1H, s), 9.57 (1H, s), 8.77 (1H, s), 8.05 (1H, dd,  $J = 11.5, 17.8$ ), 6.35 (1H, d,  $J = 17.8$  Hz), 6.14 (1H, d,  $J = 11.4$  Hz), 5.37 y 5.26 (2H, d,  $J = 18.8$  Hz,  $15^1(\text{a})$ ,  $15^1(\text{b})$ ), 4.52 (1H, m), 4.39 (1H, m), 4.28 (3H, s), 3.79 (3H, s), 3.77 (2H, q,  $J = 7.50$  Hz), 3.65 (3H, s), 3.60 (3H, s), 3.48 (3H, s), 3.30 (3H, s), 2.59 (1H, m), 2.22 (2H, m), 1.77 (1H, m), 1.78 (3H, d,  $J = 7.50$  Hz), 1.74 (3H, t,  $J = 7.50$  Hz),  $-1.29$  (s, 1H, NH);  $-1.44$  (s, 1H, NH).;  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz instrument): 173.5, 173.01, 169.62, 169.43, 166.98, 154.58, 148.70, 144.93, 139.5, 136.49, 135.84, 135.48, 135.35, 134.8, 130.54, 129.37, 129.33, 123.39, 121.76, 102.25, 102.1, 98.62, 93.64, 53.0, 52.97, 52.07, 51.61, 49.37, 38.57, 31.06, 29.51, 22.9, 19.63, 17.64, 12.36, 12.09 y 11.27.

En la figura 22 se muestra el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para la clorina e6 trimetil éster. En el espectro se puede observar los protones de las posiciones meso del anillo aromático C5(9.57 ppm), C10(9.71 ppm), C20(8.77 ppm) en campo bajo ya que sufren desplazamiento químico al quedar desprotegidos a causa de la anisotropía del sistema aromático de la clorina. Los protones que hacen parte del enlace vinílico presentan tres señales características debido a sus posiciones, la señal en 8.05 ppm con dd doblete de doblete pertenece al proton  $3^1$  la cual se produce al acoplar con los protones Ha y Hb. De igual forma se observan dobletes en 6.35 y 6.14 ppm que corresponden a los protones Hb y Ha respectivamente, estas señales se asignaron según su valor de constante de acoplamiento teniendo en cuenta sus posiciones *cis*, *trans* respecto al proton en  $3^1$ . En 5.37 y 5.26 ppm se observan dos señales dobletes que pertenecen a los protones de los carbonos  $15^1$  que se observan como señales diferentes por ser diasterotópicos. Los protones que pertenecen a los

carbonos 18 y 17 tienen sus señales características en 4.52-4.39 ppm como un multiplete. En la región de 4.28-3.30 ppm se pueden ver señales singletes de los diferentes metilos que se encuentran en la molécula que han sufrido un corrimiento químico debido a la presencia de oxígeno de los grupos ésteres y dobles enlaces; estos se observan en 4.28, 3.79, 3.65, 3.60, 3.48 y 3.30 ppm los cuales corresponden a los siguientes protones metílicos  $13^3$ ,  $15^4$ ,  $17^5$ ,  $12^1$ ,  $2^1$ ,  $7^1$  respectivamente. Los protones metílicos en la posición  $15^4$  se encuentran solapados con el metileno  $8^1$  en 3.77 ppm. Los protones en los carbonos  $17^1$  y  $17^2$  son diasterotópicos debido a que el carbono 17 es quiral y sus señales se encuentran en 2.22, 1.77, 2.59 y 1.77 ppm, respectivamente. Los protones metílicos en el carbono  $18^1$  se observan como un doblete a 1.78 ppm; esta señal está solapada con la del protón diasterotópico del carbono  $17^1$  y los protones metílicos del carbono  $8^2$  se observan como un triplete a 1.74 ppm.

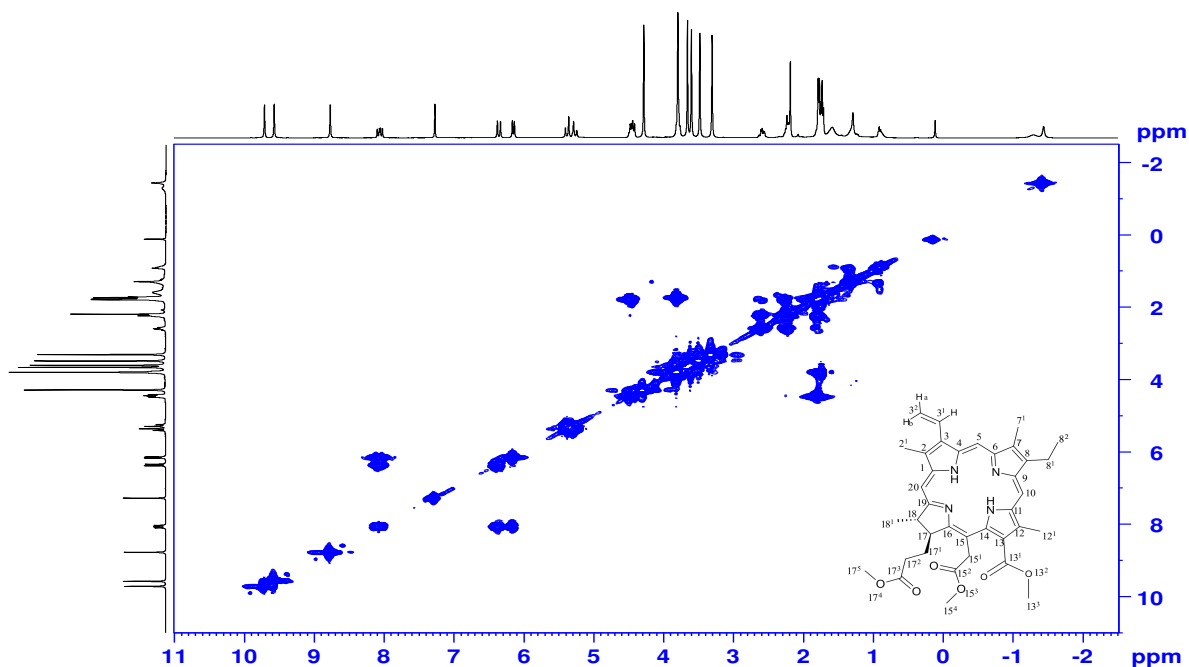
Figura 22. Espectro de RMN<sup>1</sup>H de Clorina e6 trimetil éster.



Por último los protones de los NH que se encuentran en el anillo aromático enlazados con nitrógeno se observan como dos singletes en la región de campo alto en  $-1.29$  y  $-1.44$  ppm estos protones son los más protegidos debido al efecto de anisotropía del anillo. La asignación de las señales se realizó por medio del análisis de los espectros bidimensionales de COSY, HSQC y HMBC de la clorina e6 trimetil éster.

En la figura 23 se presenta el espectro bidimensional de RMN COSY, con la ayuda de este espectro se logró la asignación de los protones metilénicos presentes en los carbonos,  $15^1$ ,  $17^1$ ,  $17^2$  e identificaron los protones que hacen parte de enlace vinílico  $3^1$ ,  $3^2a$  y  $3^2b$ .

Figura 23. Espectro de RMN COSY de Clorina e6 trimetil éster

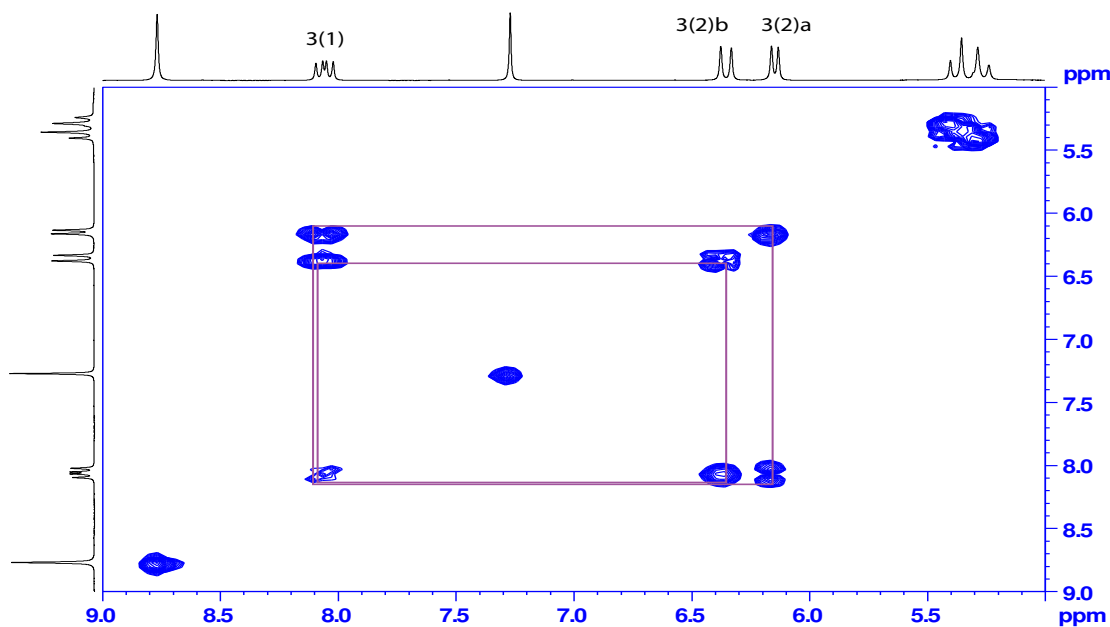


Nota: Espectro bidimensional RMN COSY de la molécula clorina e6 trimetil éster.

En la figura 24 se realizó una ampliación al espectro en la región 11-5 ppm, logrando

observar el sistema espín de los protones vinílicos, se puede ver el acoplamiento del  $3^1$  con los protones metilénicos  $3^2a$ -*cis* y  $3^2b$ -*trans*.

Figura 24. Espectro de RMN COSY  $\delta$ : 9,0-5,0 ppm de Clorina e6 trimetil éster

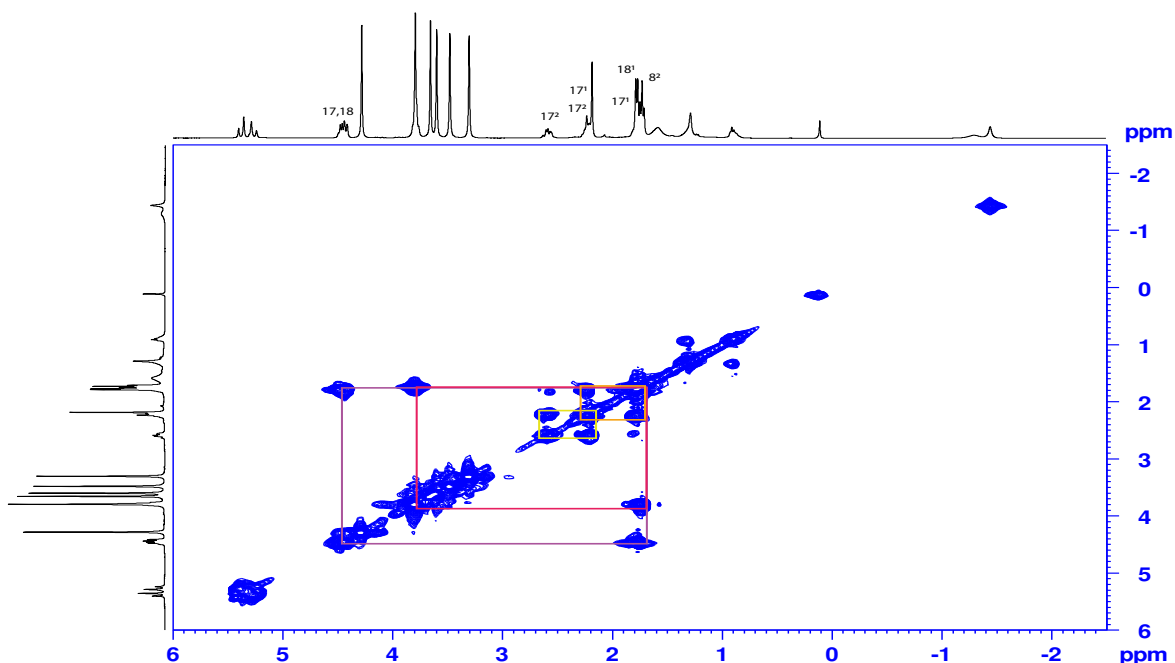


*Nota:* Espectro bidimensional RMN COSY ampliado en la región  $\delta$ : 9,0-5,0 ppm de la molécula clorina e6 trimetil éster.

Continuando con el análisis de COSY en la figura 25 se muestra el espectro en la región 6,0 a -2,5 ppm, donde se observó la correlación entre los protones de los carbonos 17, 18,  $17^1$  y  $18^1$ , la correlación de los protones diastereotópicos  $17^1$ ,  $17^2$ ,  $18^1$  y  $18^2$  y la correlación del grupo etilo correspondiente a los carbonos  $8^1$  y  $8^2$  en las regiones 3.77 y 1.77 ppm.

Para poder realizar una elucidación completa de la molécula es de gran importancia la información otorgada por el conjunto de experimentos DEPT 90 y DEPT 135 para poder identificar los carbonos metínicos (C-H), metilénicos ( $\text{CH}_2$ ), metílicos ( $\text{CH}_3$ ) y cuaternarios. En el DEPT 90

Figura 25. Espectro de RMN COSY  $\delta$ : 6 a  $-2,5$  ppm de Clorina e6 trimetil éster



Nota: Espectro bidimensional RMN COSY  $\delta$ : 6 a  $-2,5$  de la molécula clorina e6 trimetil éster.

(figura 26) se observan las señales de los carbonos metínicos en fase positiva identificando los carbonos: 129.33 ( $3^1$ ), 102 (10), 98.6 (5); 93.6 (20), 52.9 (17), y 49.2 (18), ppm.

En el DEPT 135 (figura 27) se observan las señales de los carbonos metilénicos ( $\text{CH}_2$ ) en fase negativa, y los carbonos metílicos y metínicos en fase positiva, identificando los carbonos como ( $\text{CH}_2$ ): 121.7 ( $3^2$ ), 38.57 ( $15^1$ ), 31 ( $17^2$ ), 29.5 ( $17^1$ ), y 19.6 ( $8^1$ ), ppm. Al tener las señales asignadas de los CH en el DEPT 90 se procede a asignar las señales de los carbonos metílicos  $\text{CH}_3$ : 52 ( $15^4$ ), 51.62 ( $17^5$ ), 53 ( $13^3$ ), 22.71 ( $18^1$ ), 17.46  $8^2$ , 12.37 ( $12^1$ ), 12.10 ( $2^1$ ) y 11.27 ( $7^1$ ), ppm.

Figura 26. Espectro de RMN DEPT 90 de Clorina e6 trimetil éster

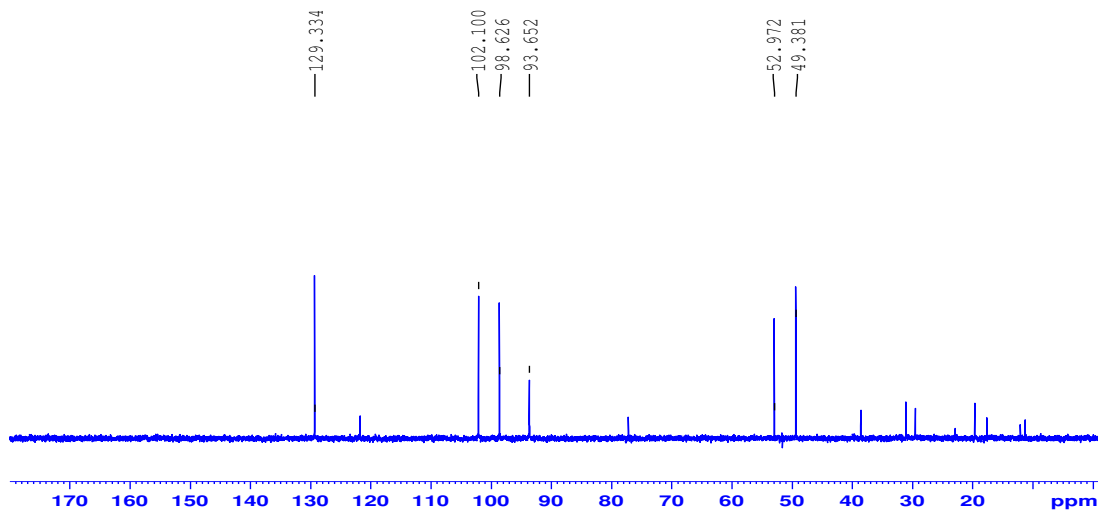
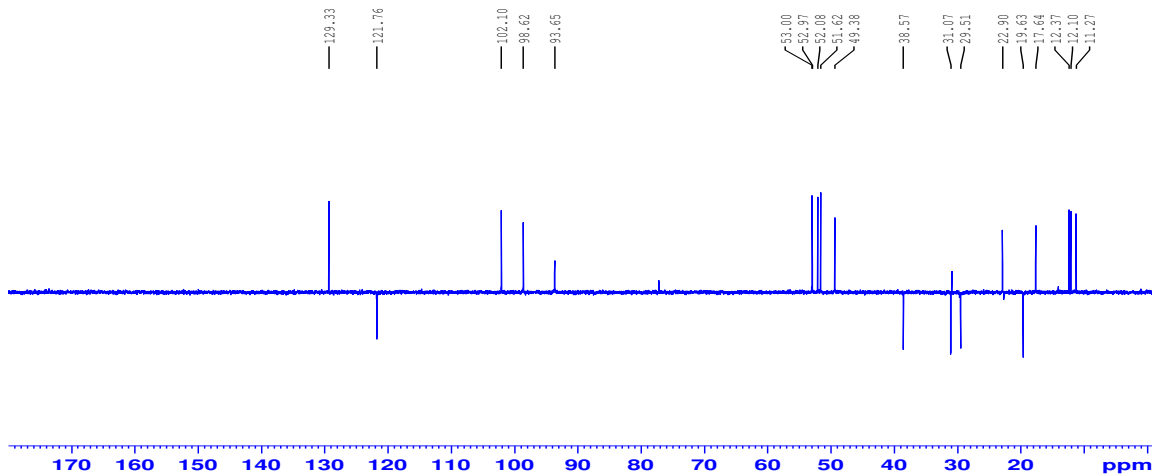


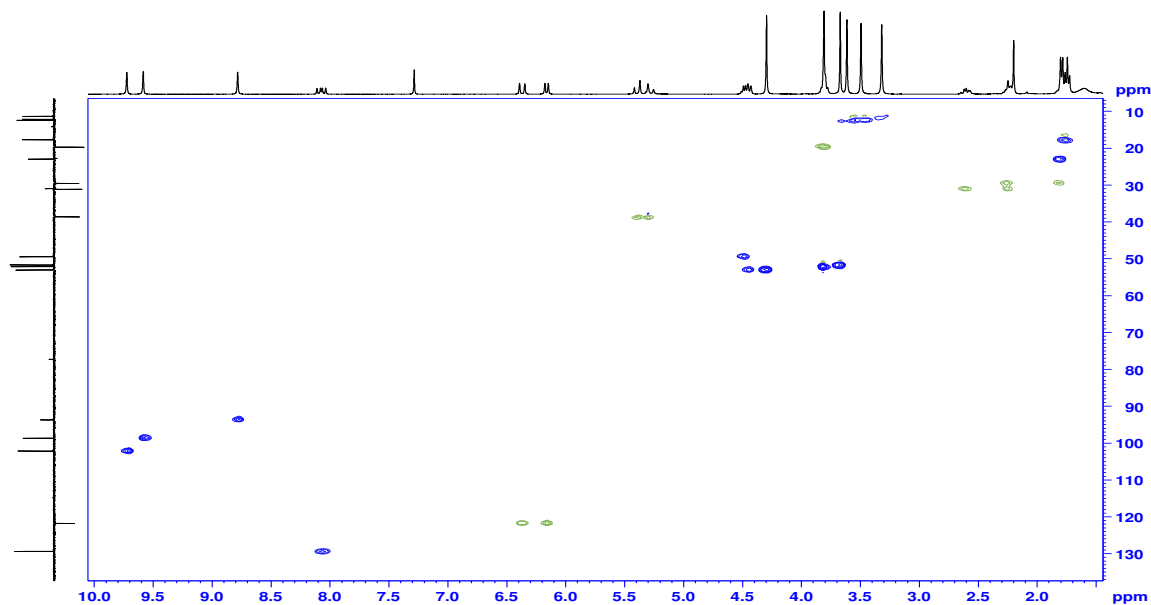
Figura 27. Espectro de RMN DEPT 135 de Clorina e6 trimetil éster



Al conocer el tipo de carbono asociado a cada señal se estudia el acoplamiento carbón-protón a un enlace utilizando el espectro HSQC. En la figura 28 se exhibe el espectro HSQC de la molécula clorina e6 trimetil éster, en el cual se logró aclarar el multiplete presente en 2.8-1.6 ppm observando tres contornos dos azules y uno verde. Los contornos color verde evidenciaron el

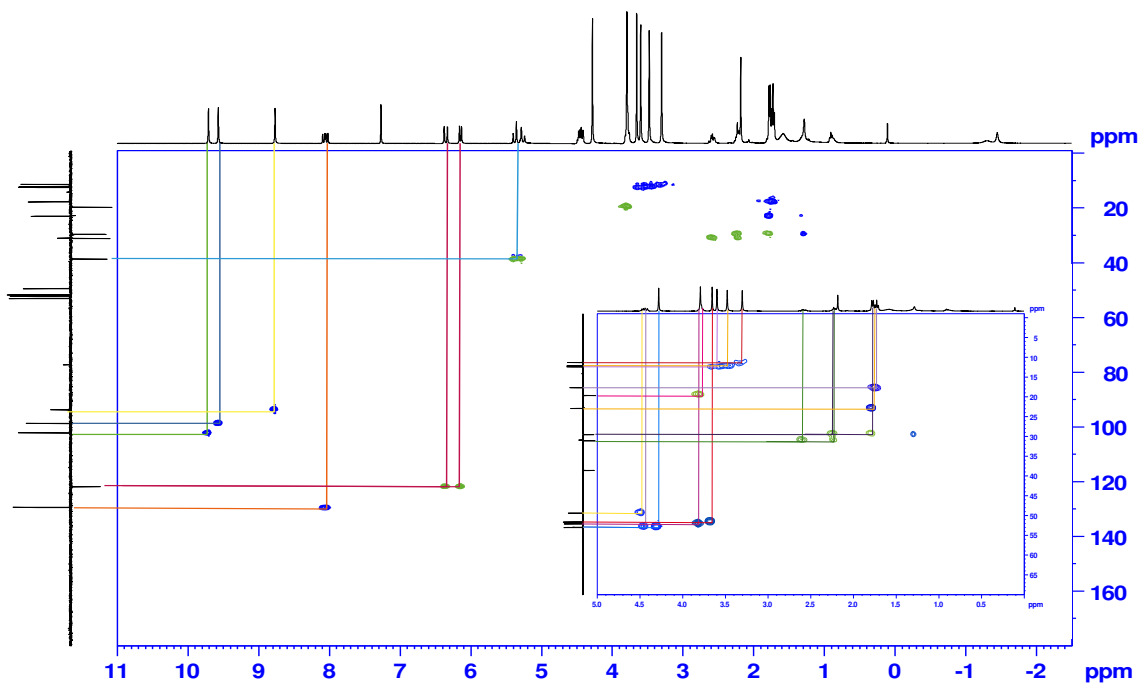
acoplamiento de los protones diasterotópicos enlazados a los carbonos  $17^1$  y  $17^2$ , por otra parte los contornos de color azul muestran las correlación de los protones y carbonos de las posiciones  $18^1$  y  $8^2$ . La región entre 5.6-3.2 ppm se observa la correlación entre los protones diasterotópicos y carbono de la posición  $15^1$ , el metileno de la posición 81 y los metilos en posiciones  $2^1$ ,  $7^1$ ,  $12^1$ ,  $13^3$ ,  $15^4$ ,  $17^5$  y las correlaciones de metinos en los carbonos 17 y 18. En la figura 27 en la que se señalan cada uno de los acoplamientos protón-carbono a un enlace asociados a la molécula.

Figura 28. Espectro de RMN HSQC de Clorina e6 trimetil éster



Los acoplamientos a dos y tres enlaces protón-carbono observados en el espectro HMBC figura 30 permite establecer las posiciones de los carbonos cuaternarios. El protón del  $C12^1$  (3.59 ppm) acopla con los carbonos 13 (123.4 ppm), 12 (136.5 ppm), 11 (129.38 ppm). El protón del  $C2^1$  acopla con los carbonos 1 (139.6 ppm), 2(130.6), 3(134.9 ppm). El protón del  $C5$  acopla

Figura 29. Espectro de RMN HSQC de Clorina e6 timetil éster



con los carbonos C3(134.9 ppm), C4(135.35ppm), C6(154.56ppm), C7(135.85ppm); el protón de C10 acopla con los carbonos en las posiciones C8(145ppm), C9(148.7ppm), C11(129.38ppm), C12(136.5 ppm)); el protón del C20 mostró acoplamiento con C18(49.2 ppm), C19(169.62ppm), C1(139.6 ppm), C2(130.6ppm). Los protones de la posición 15<sup>1</sup> y 17 acoplaron a dos y tres enlaces con el carbono cuaternario de la posición 16, así mismo, se pudo observar las correlaciones del carbono cuaternario 14 con los protones en las posiciones 15<sup>1</sup>.

En la figura 31 se observa el espectro <sup>13</sup>C con los carbonos asignados de acuerdo con cada uno de los análisis realizados en los anteriores espectros. Se resalta a campo bajo los carbonos carbonílicos 13(1), 15(2), 17(3), por último a campo alto se encuentran las señales correspondientes a los carbonos metílicos.

Figura 30. Espectro de RMN HMBC de Clorina e6 trimetil éster.

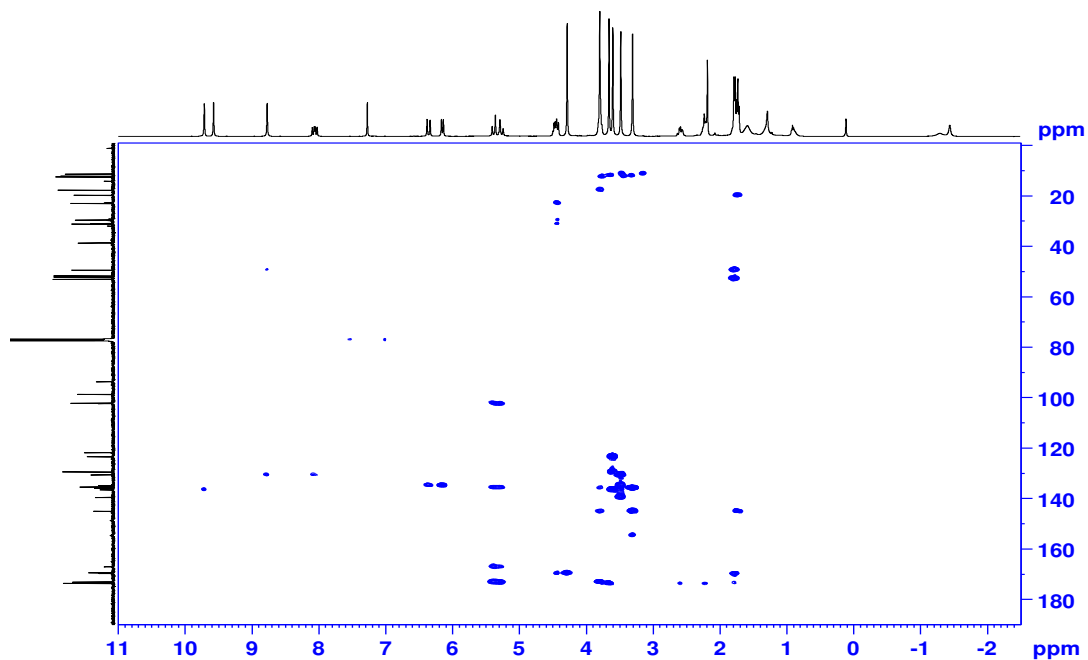
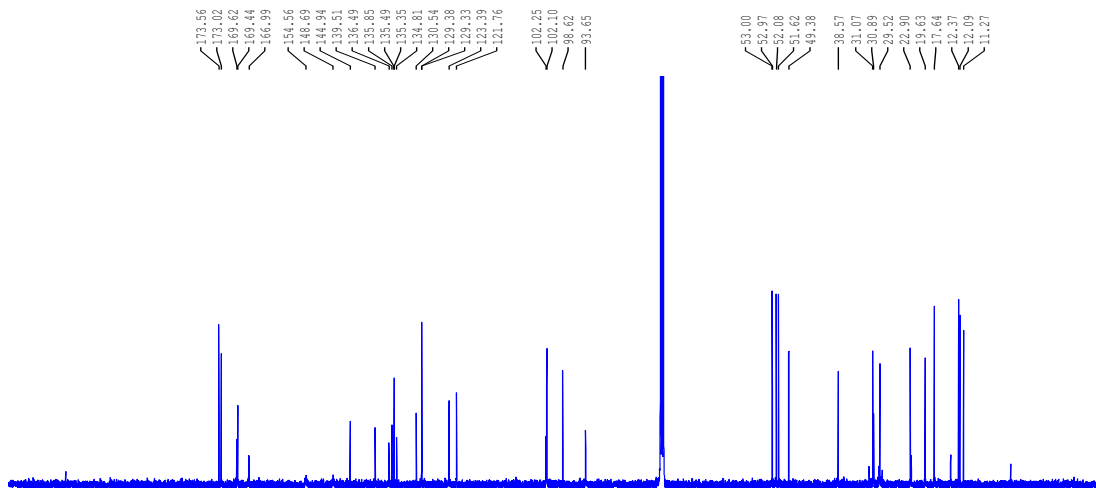


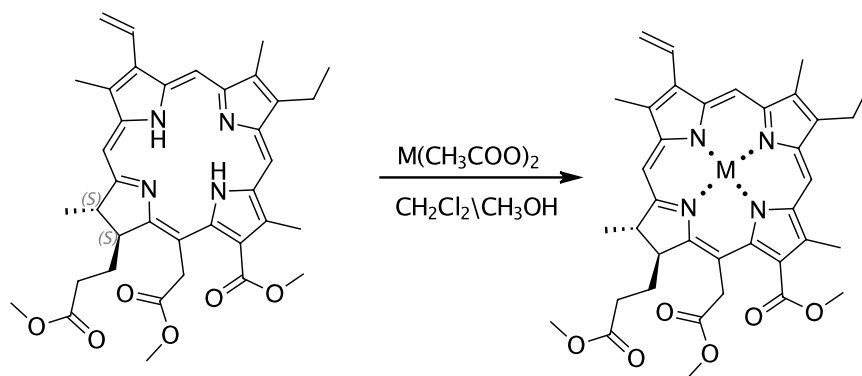
Figura 31. Espectro de RMN<sup>13</sup>C de Clorina e6 trimetil éster



En la Figura 33 se observa los espectros de absorción de UV-Vis y sus máximos de absorción característicos de la clorina e6 trimetil éster y los complejos metálicos de Zn, Cu sintetizados

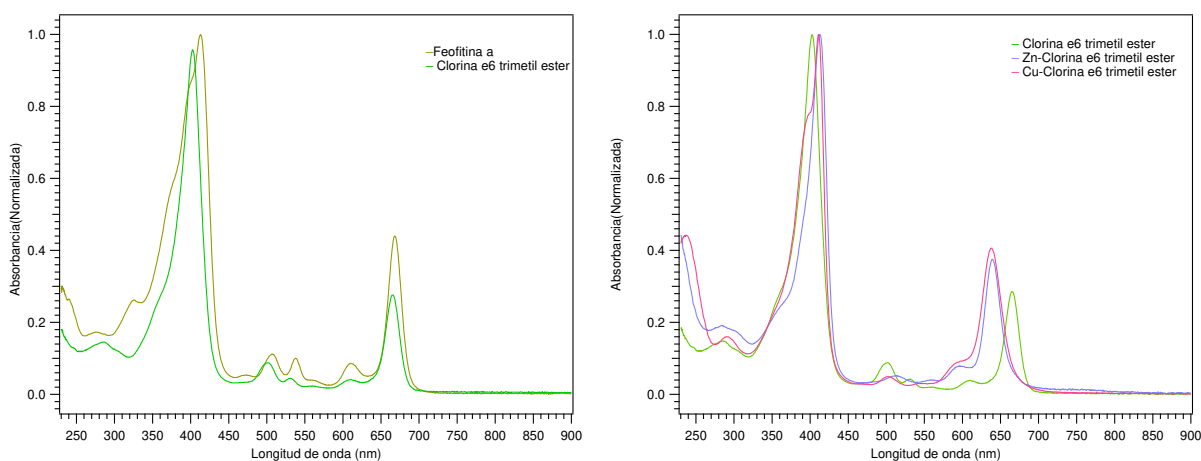
de acuerdo con el esquema presentado en la figura 32.

Figura 32. Síntesis de complejos metálicos de Clorina e6 trimetil éster



Estos compuestos presentan corrimientos en los máximos de absorción causados por los cambios en las energías de transición debido a la apertura del anillo de ciclopentanona en la molécula de feofitina *a* y a la coordinación de los diferentes metales. Cada cambio en los espectros es causado por el tipo de metal coordinado en el centro del macrociclo y los sustituyentes, produciendo espectros característicos de cada molécula.

Figura 33. Espectros UV-Vis Clorina e6 trimetil éster , Zn-Clorina e6 trimetil éster, Cu-Clorina e6 trimetil éster



La Figura 33(a) presenta los espectros característicos de la feofitina *a* y la clorina e6 trimetil éster (Chl e6) observando un cambio en la intensidad de la banda de la Q debido a la ruptura del anillo de ciclopentanona formando en el C15 un éster metílico el cual es un sustituyente con electrones  $\pi$  unido directamente a una posición *meso* (Figura 34) provocando una disminución en la intensidad de la banda. Al comparar los espectros de la clorina e6 trimetil éster y sus complejos metálicos (figura 23b) se observa un gran cambio en la intensidad en la banda Q, la banda Soret sufre un corrimiento hipsocrómico y la banda Q sufre un corrimiento batocrómico, debidas a los cambios en los centros metálicos.

Figura 34. Posiciones beta y meso en las porfirinas.

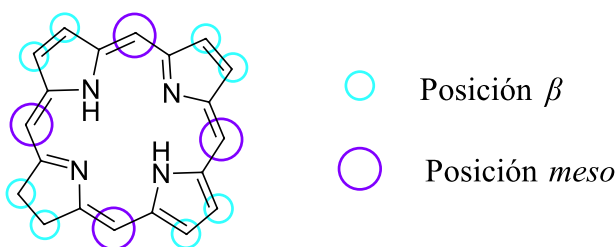


Tabla 5

Máximos de absorción UV-Vis moléculas de derivados de Clorina e6 dimetil éster

Compuesto	$\lambda$ max (nm)				
	Bandas Soret	Bandas Q			
Clorina e6 trimetil éster	402,5	501	530	610	665
Zn-clorina e6 trimetil éster	412,5	511	–	596.5	639
Cu-clorina e6 trimetil éster	411	500,5	–	–	637,5

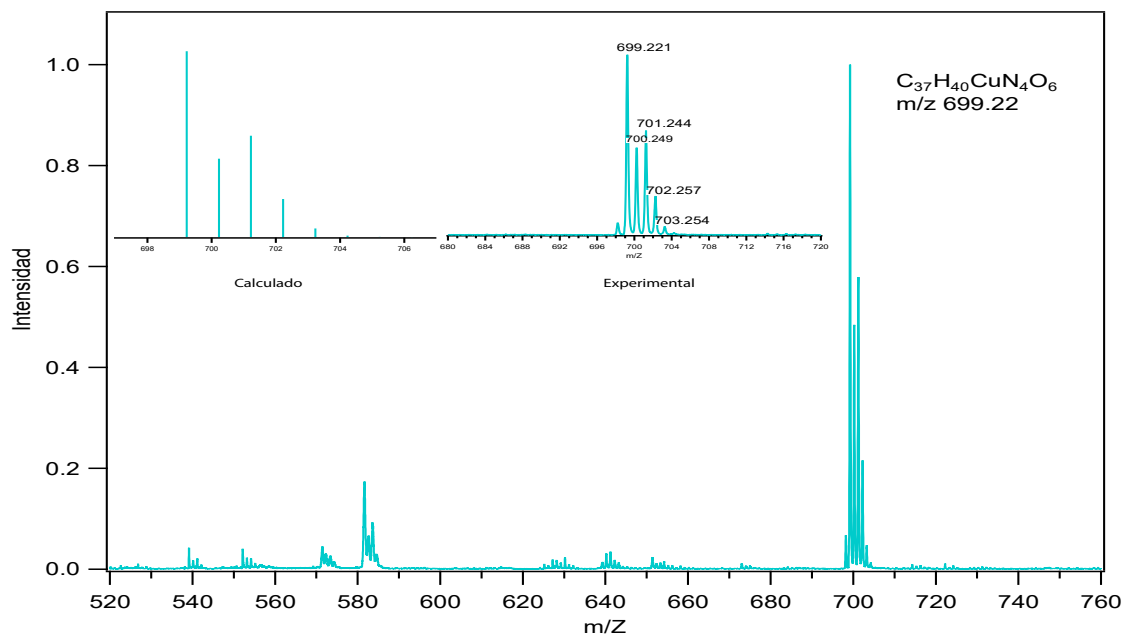
La identificación complementaria de los complejos metálicos de clorina e6 trimetil éster se realizó por medio de espectrometría de masas MALDI (figura 35), espectroscopía infrarroja FT-IR (figura 36) y resonancia magnética nuclear  $^1\text{H}$  del complejo de Zn para confirmar la formación de

los complejos metálicos.

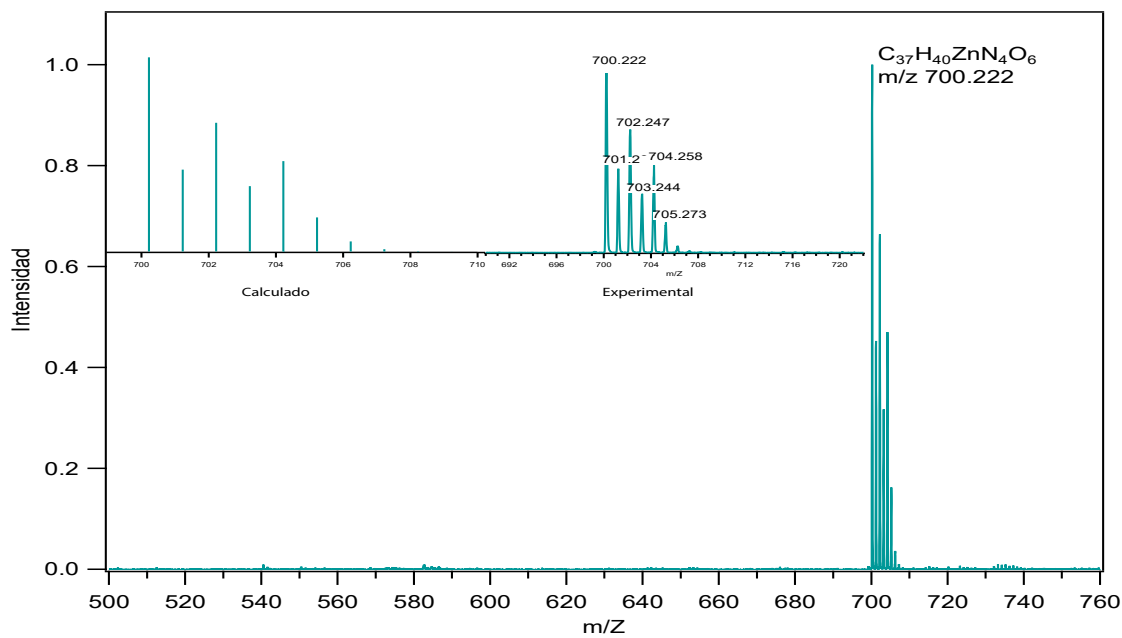
En el análisis realizado por MALDI-TOF MS se utilizó como matriz DCTB y se observaron señales a  $m/z$  699,22 y  $m/z$  700,22 (figura 35) correspondientes a cationes radicales de Cu-clorina e6 trimetil éster ( $C_{37}H_{40}CuN_4O_6$ , masa monoisotópica: 699,22 ) y Zn-clorina e6 trimetil éster ( $C_{37}H_{40}ZnN_4O_6$  masa monoisotópica:700,22) en concordancia con su patrón isotópico.

En los espectros de FT-IR de los complejos metálicos se presentaron las mismas señales características observadas en el espectro de la clorina e6 trimetil ester, en la tabla región de 3500-3300  $cm^{-1}$  se observó la ausencia de la banda que corresponde al enlace N-H el cual se pierde debido a las nuevas coordinaciones con los iones metálicos  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ . En 3000-2800  $cm^{-1}$  se presentaron señales correspondientes a los enlaces C-H de la cadena carbonada fitilo y el anillo aromático, en 1730  $cm^{-1}$  las bandas de absorción de los tres carbonilos presentes en los ésteres metálicos localizados en los carbonos 13<sup>1</sup>,15<sup>2</sup> y 17<sup>3</sup>, en la región de 1600-1550  $cm^{-1}$  y 1300-1230  $cm^{-1}$  las bandas asociadas a las vibraciones de los enlaces C=C, C=N presentes en el anillo aromático y en la región de 1160-1130  $cm^{-1}$  una señal que corresponde a una vibración de flexión del enlace C-O de los grupos ester.

Figura 35. Espectros de masas moléculas de clorofila

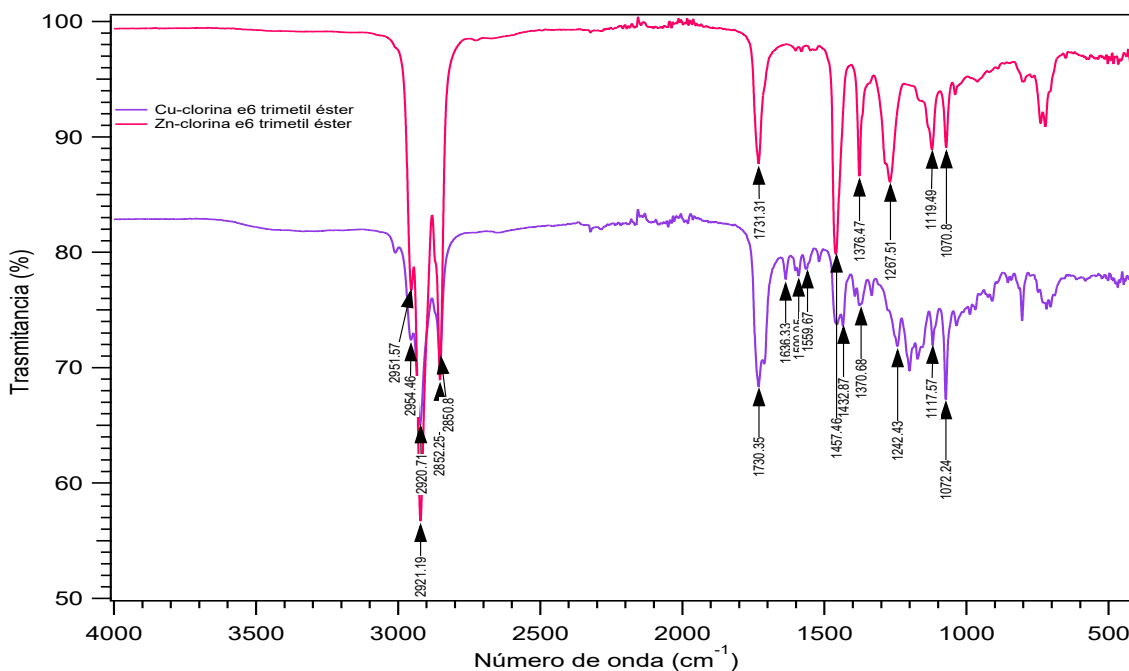


(a) Cu-Clorina e6 trimetil éster



(b) Zn-Clorina e6 trimetil éster

Figura 36. Espectros de FT-IR complejos metálicos de clorina e6 trimetil éster



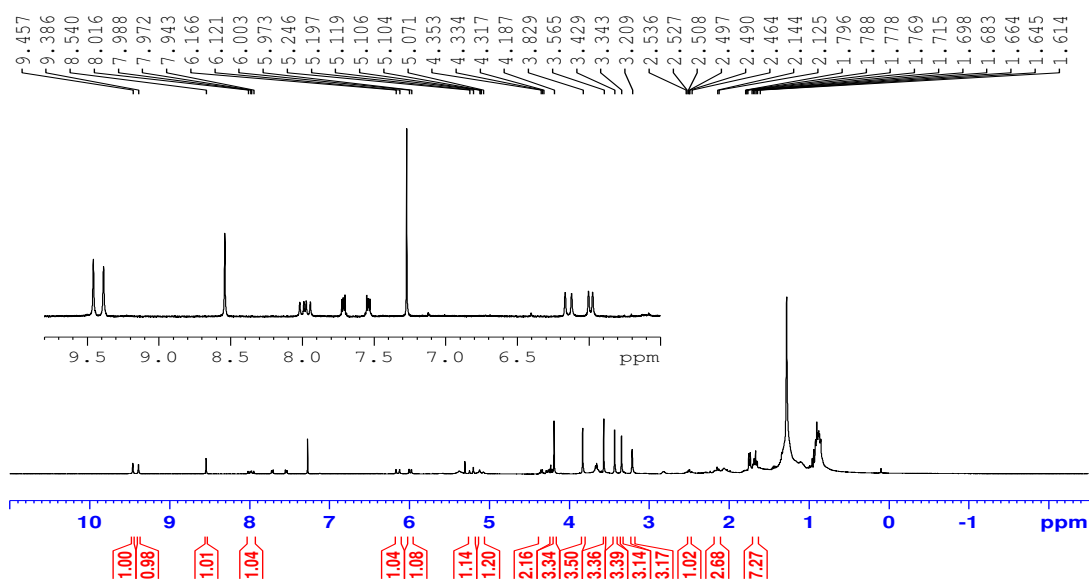
Nota: Espectros FT-IR de complejos metálicos de clorina e6 trimetil éster.

Enlace	Posición	Vibración	Número de onda cm-1	
			Zn-clorina e6	Cu-clorina e6
C-H		Estiramiento simétrico	2951,57	2954,46
		Estiramiento asimétrico	2921,19	2920,71
			2852,25	2850,8
C=O		Estiramiento	1731,31	1730,35
C=C, C=N		Torsión de tijera	1457,46	1452,16
CH <sub>3</sub>		Estiramiento asimétrico	1376,47	1370,68
C=C, C=N		Estiramiento simétrico	1267,51	1242,43
C-O		Estiramiento simétrico	1119,49	1117,57

Nota: Señales representativas de los diferentes grupos funcionales presentes en los complejos metálicos clorina e6 trimetil éster.

Por medio de resonancia magnética nuclear se pudo confirmar la formación del complejo de  $Zn^{2+}$ . En la figura 37 se muestra espectro del complejo metálico de Zn de la molécula clorina e6 trimetil éster (Chl e6). En campo alto se puede notar la ausencia de las señales de correspondientes a los hidrógenos que se encuentran en el anillo aromático enlazados al nitrógeno debido al rompimiento de enlace al coordinar con el ion de  $Zn^{2+}$ . Las señales de los otros protones presentes en la molécula coinciden con el espectro de clorina e6 trimetil éster analizada anteriormente.

Figura 37. Espectro de RMN  $^1H$  de Zn-clorina e6 trimetil éster.



### 5.3. Reacciones de fotooxidación

El fenol y sus derivados son compuestos aromáticos de gran importancia a nivel industrial y farmacológico. La síntesis de estos compuestos aumenta a gran escala conforme pasan los años ya que son utilizados para la fabricación de diferentes insumos de uso diario para el ser humano. Así mismo este tipo de aromáticos al estar expuestos en el medio ambiente son un riesgo para los

ecosistemas y la humanidad ya que son tóxicos incluso a concentraciones bajas y son resistentes a la biodegradación natural.(Yi Bi et al., 2007; Michałowicz and Duda, 2007)

Es muy común encontrarlos en el aire y aguas residuales debido a las grandes cantidades de desechos producidos por las diferentes industrias que los sintetizan y utilizan en sus procesos de producción. Con el objetivo de remediar un daño ecológico al utilizar estos compuestos la comunidad científica ha desarrollado diferentes métodos de síntesis de fenoles y remediación de desechos. Existen diferentes procesos de síntesis y degradación a escala industrial como de laboratorio, que requieren el uso de grandes cantidades de energía, catalizadores que conllevan varios pasos de síntesis, condiciones altas de presión, temperatura y el uso de cantidades representativas de solventes tóxicos.(Busca et al., 2008)

Algunos de estos métodos implican oxidación química, oxidación catalítica utilizando semiconductores de  $\text{TiO}_2$ , absorción, técnicas de membrana, fotosensibilización utilizando colorantes y complejos metálicos como el rutenio, cada uno de estos métodos han aportado gran conocimiento para la transformación química de estos compuestos, sin embargo algunas técnicas implican un alto costo y largos procesos de degradación.Chatterjee and Dasgupta (2005); Pera-Titus et al. (2004); Mohamad Said et al. (2021); Kidak and Ince (2006) No obstante la investigación científica ha aumentado con el fin de encontrar mejores métodos empleando fotocatalisis mediada por luz visible la cual ha contribuido significativamente en los avances de la fotoquímica al permitir la reacción de especies fotoexcitadas con moléculas orgánicas a través de procesos de transferencia de electrones, átomos o energía.

El oxígeno molecular en su estado fundamental puede reaccionar con un fotosensibilizador

por medio de transferencia de energía para producir oxígeno singlete  $^1\text{O}_2$  y por transferencia de electrones o protones formando anión radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y radicales hidroxilo ( $\text{OH}^{\cdot}$ ). Estos productos de oxígeno pueden reaccionar con otros compuestos presentes en el medio obteniendo sus productos de oxidación o degradarlo. (Katerina and Gonzalo, 2016) En este trabajo se realizaron reacciones de fotooxidación utilizando derivados de clorofila como fotosensibilizadores debido a su capacidad de absorber energía en el espectro visible con el objetivo de poder obtener productos a partir de la oxidación del fenol.

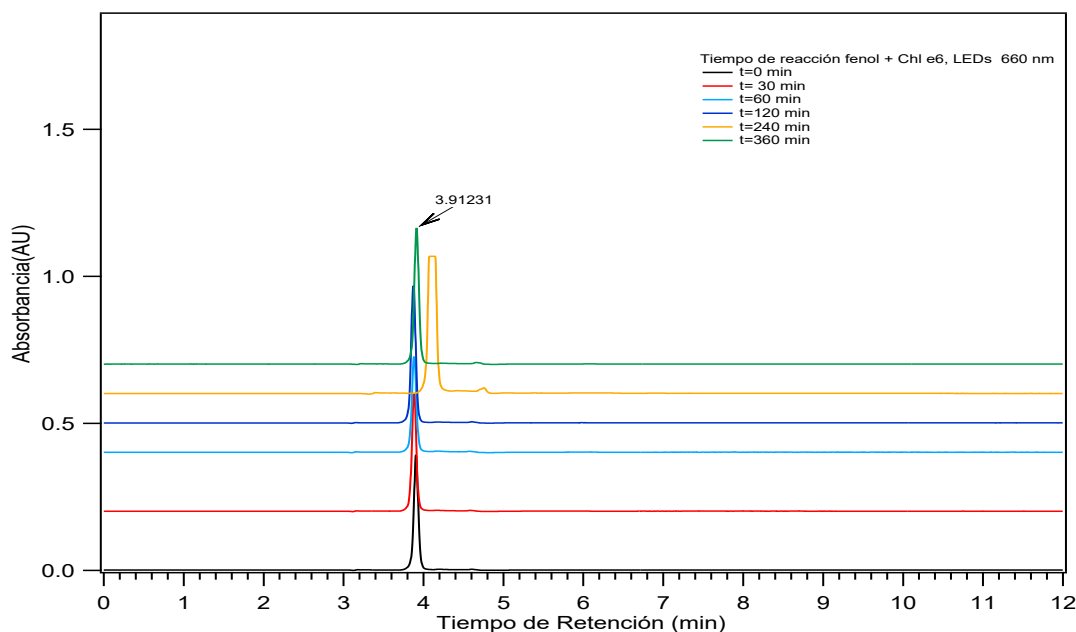
Las reacciones de fotooxidación se realizaron utilizando derivados de clorofila como fotosensibilizador, fenol como sustrato, flujo de aire para proporcionar oxígeno a la reacción y luces LEDs de color azul y rojo. El seguimiento y análisis de las reacciones se realizó por medio de HPLC, el sistema de HPLC empleado fue un modelo RAININ DINAMAX SD-200 equipado con desgasificador y horno de columna. Los derivados de clorofila, sustratos y productos de oxidación se separaron y analizaron utilizando una columna Jones Apex ciano 250 x 4,6 mm, 5,0  $\mu\text{m}$  con n-hexano para solvente A e isopropanol para el solvente B. Las moléculas se eluyeron utilizando una fase móvil isocrática con una composición (80:20, v/v) programado a un caudal de 1 mL/min a 25 °C y detección con ultravioleta visible (UV-Vis) a 280 nm, 320 nm, 410 nm y 660 nm.

Se realizaron mediciones del sustrato, catalizador y la mezcla de catalizador con el sustrato para conocer el perfil cromatográfico de cada uno. Estas moléculas se observaron en los siguientes tiempos de retención: Zn-clorina e6 trimetil éster (Zn-Chl e6 (5,89 min)), Cu-clorina e6 trimetil éster (Cu-Chl e6 (6,20 min), clorina e6 trimetil éster (Chl e6 (9,2 min), fenol(3,97 min). (Apéndice A) Seguidamente se realizó la toma de blancos y se determinó que el sustrato necesita la acción

del fotosensibilizador, aire y luz para ser oxidado.(Apendice B)

**5.3.0.1. Fotooxidación a 660 nm.** La mezcla de reacción se irradió con LEDS de 660 nm durante seis horas y no se observó un producto de degradación del sustrato con ninguno de los tres derivados de clorofila. Sin embargo, se percibió la degradación oxidativa de los fotosensibilizadores la cual fue evidente por el cambio de coloración de la solución.

Figura 38. Seguimiento de la reacción de fotooxidación de fenol con el derivado de Cu y LEDS de 660 nm por HPLC



Este cambio de color se atribuye a un posible cambio en la estructura del fotosensibilizador por consiguiente sus transiciones electrónicas cambian. Al someter estos derivados a irradiación con luz en presencia de oxígeno se puede provocar una escisión oxidativa del tetrapirrol en las porfirinas y clorinas en las posiciones *meso* obteniendo un tetrapirrol lineal como se observa en la figura 40. Tamiaki et al. (2012); Okamoto and Tamiaki (2011) Debido a esto su espectro de UV-Vis

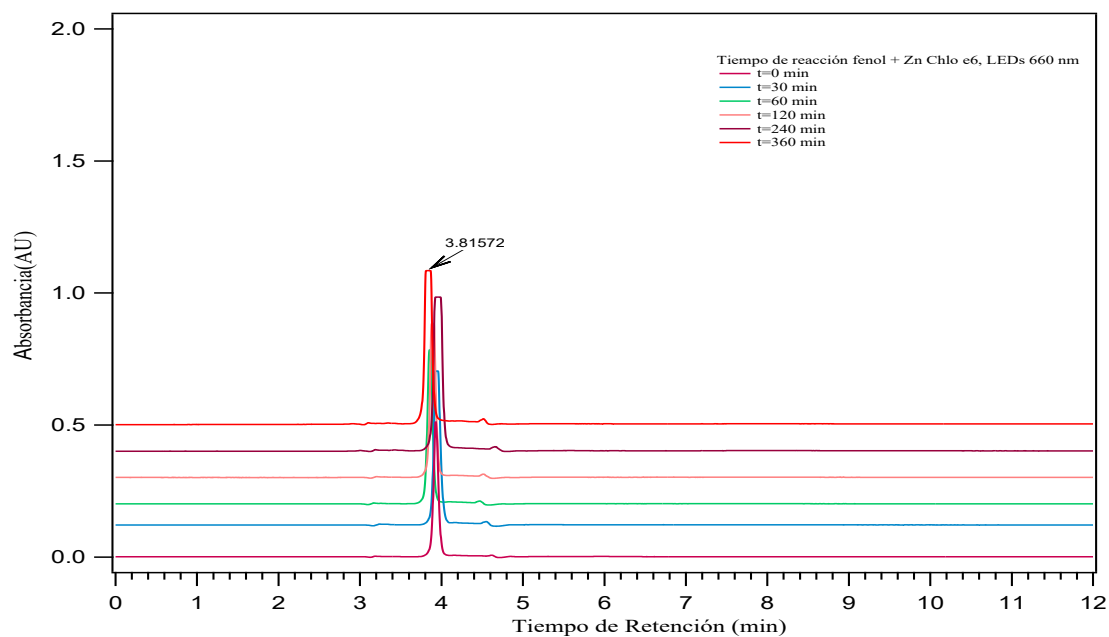
cambia, en algunos casos se produce la pérdida de intensidad de absorción en las bandas Q como se muestra en la Figura 41, por consiguiente la absorción de luz en la región de 600-700 nm es mínima y no produce la excitación del fotosensibilizador.

No obstante el complejo metálico de cobre no sufre cambios significativos en sus bandas de absorción durante la reacción pero no se percibe la formación de productos de oxidación. Es posible que el derivado al estar en su estado triplete excitado no tenga la suficiente energía para poblar el oxígeno singlete ya que para poder generar el  $^1\text{O}_2$  es necesario superar 94,3 kJ/mol que corresponde al valor de la diferencia de energía de su estado singlete excitado  $^1\text{O}_2$  al estado fundamental  $^3\text{O}_2$ . Boix-Garrigaa et al. (2016); DeRosa and Crutchley (2002)

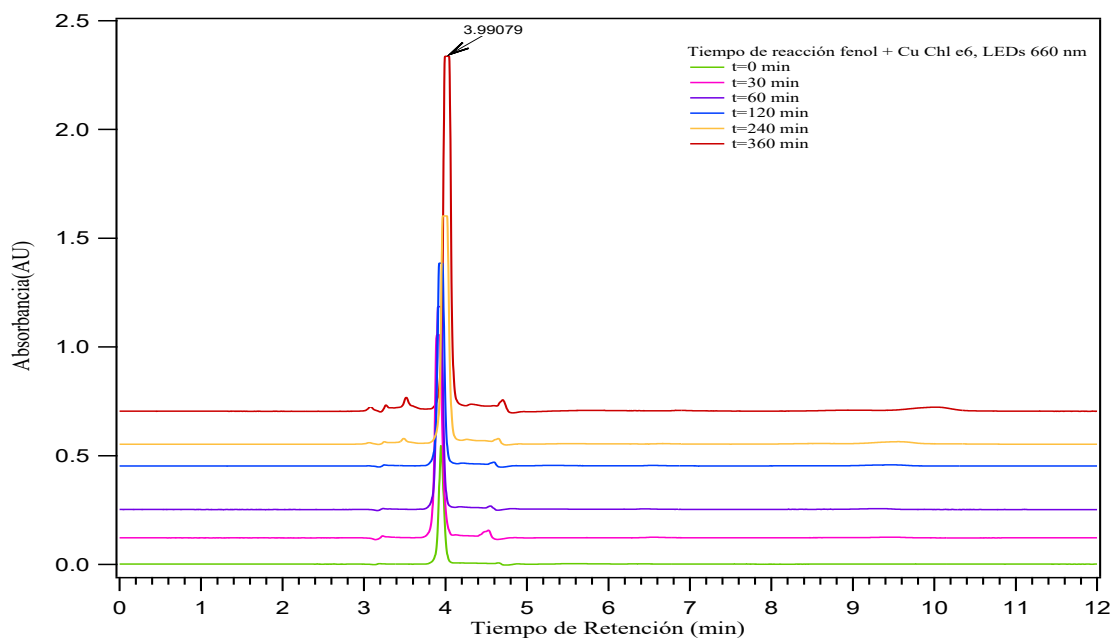
Por otra parte el oxígeno puede estar actuando como apagador del estado de excitación triplete del derivado de clorofila haciendo difícil el proceso de transferencia de carga, debido a esto se hace más lento el proceso de formación de especies reactivas como lo es el anión superóxido. En este tipo de reacciones si el fotosensibilizador se encuentra en un estado singlete excitado y no en un triplete el proceso de transferencia de carga se dificulta debido a la regla de paridad de espín por tanto la transferencia solo permite únicamente un protón o electrón. Boix-Garrigaa et al. (2016)

**5.3.0.2. Fotooxidación a 410 nm.** En los experimentos realizados con radiación de LEDs de 410 nm se observa la formación de un nuevo pico en el cromatograma al transcurrir 30 min de reacción con un tiempo de retención de 4,2 min con cada uno de los sensibilizadores empleados. El área del nuevo pico cromatográfico aumenta con el tiempo de irradiación como se observa en las figuras 42-44, las cuales representan el avance de la reacción conforme aumenta el tiempo de irradiación. Así mismo, se observó disminución del área del pico cromatográfico

Figura 39. Seguimiento de la reacción de fotooxidación de fenol con los derivado de Cu, Zn y LEDs de 660 nm por HPLC

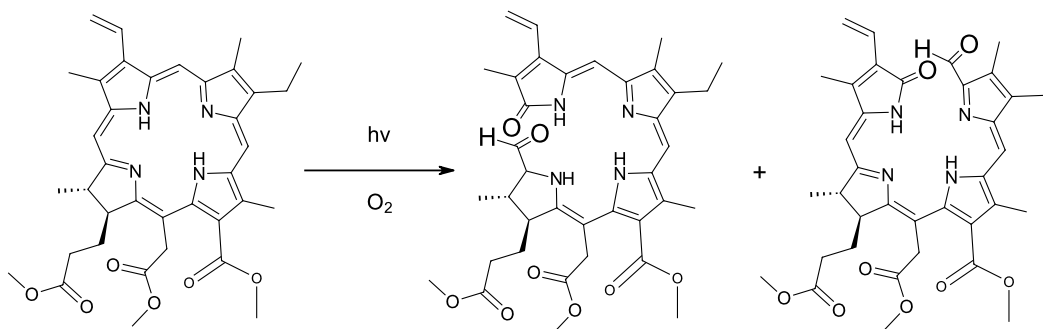


(a) Reacción de fotooxidación con Zn-clorina e6 trimetil éster.



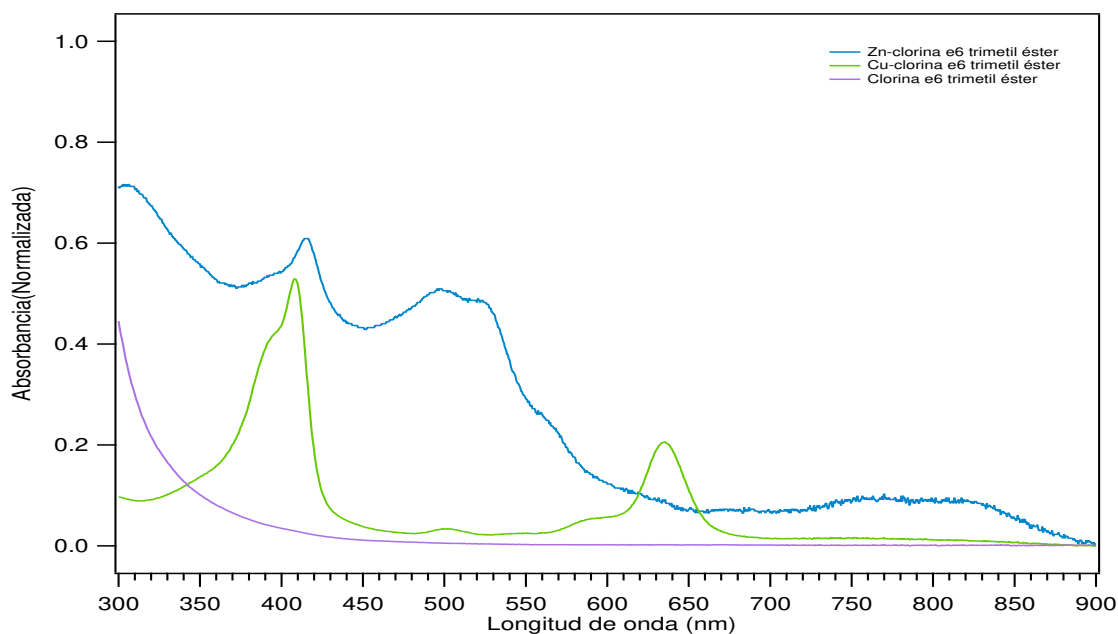
(b) Reacción de fotooxidación con Cu-clorina e6 trimetil éster.

Figura 40. Esquema del posible cambio en la estructura del derivado de clorofila



*Nota:* Esquema del posible cambio estructural del derivado. Adaptado de Tamiaki, H., Okamoto, Y., Mikata, Y., and Shoji, S. (2012). Photooxidative cleavage of zinc 20-substituted chlorophyll derivatives: Conformationally P-helix-favored formation of regioselectively 19-20 opened linear tetrapyrroles.

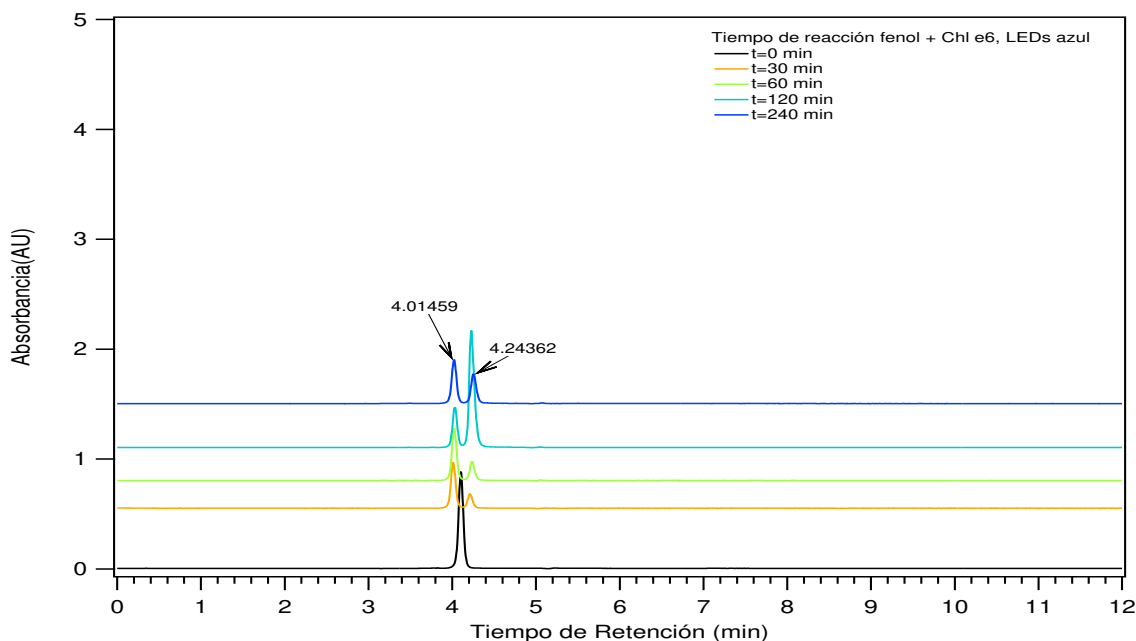
Figura 41. Espectro UV-Vis de los derivados a las seis horas de reacción



que corresponde al fenol el cual presenta un porcentaje de degradación a los 30 min de reacción de 2,99% utilizando Cu-Chl e6, 10,2% con Zn-Chl e6 y 41,13% con Chl e6 y sus porcentajes

máximos de degradación fueron de 18,95 %, 11,91 % y 42,9 % respectivamente. Esto indicó que al emplear Chl e6 la velocidad de reacción es mayor y actúa mejor como sensibilizador.

Figura 42. Seguimiento de reacción de fotooxidación por medio de HPLC empleando LEDs de 410 nm



Como se pudo observar en los cromatogramas anteriores el nuevo pico cromatográfico alcanza su mayor área a los 120 min de reacción, pero a los 240 min se aprecia un aumento en el área del pico cromatográfico del fenol lo cual es inconsistente y se le puede atribuir a un producto de descomposición que tiene un mismo tiempo de retención del sustrato. De igual forma los sensibilizadores sufren degradación oxidativa la cual se detectó por el cambio del color de la solución (figura 45) y se logró confirmar en el espectro de UV-Vis como lo muestra la figura 41.

Figura 43. Seguimiento de reacción de fotooxidación por medio de HPLC empleando LEDs de 410 nm

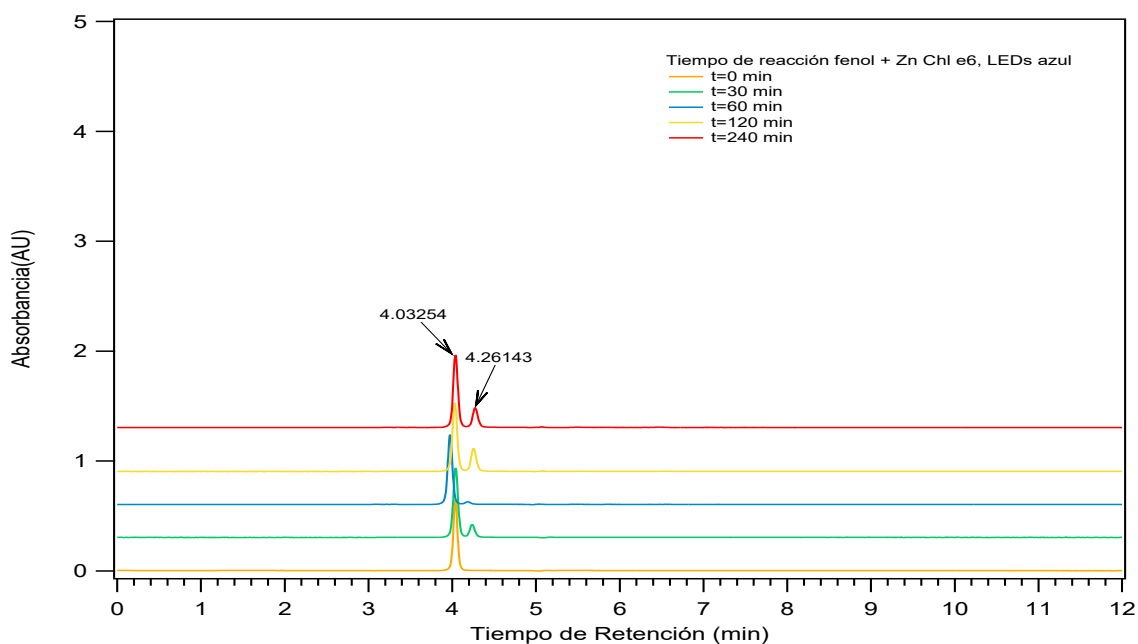


Figura 44. Seguimiento de reacción de fotooxidación por medio de HPLC empleando LEDs de 410 nm

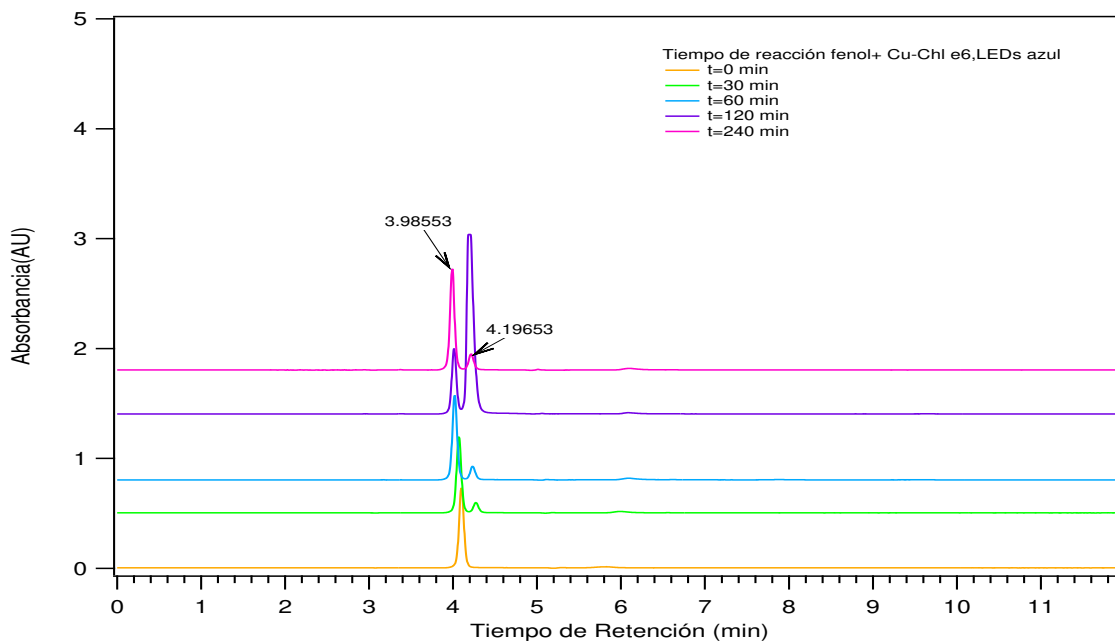
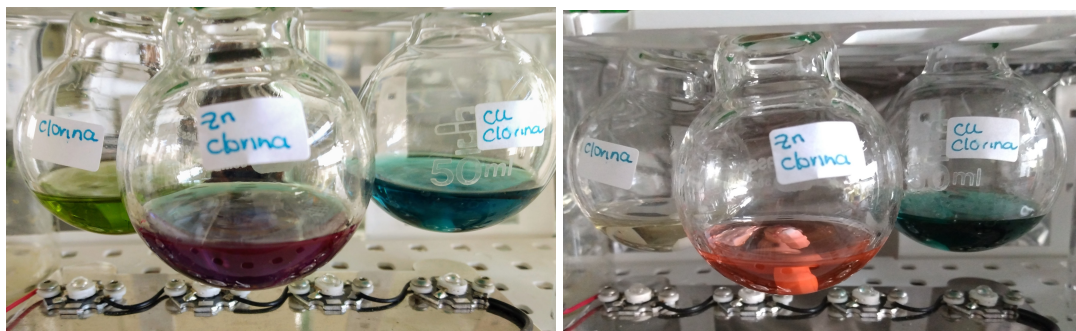


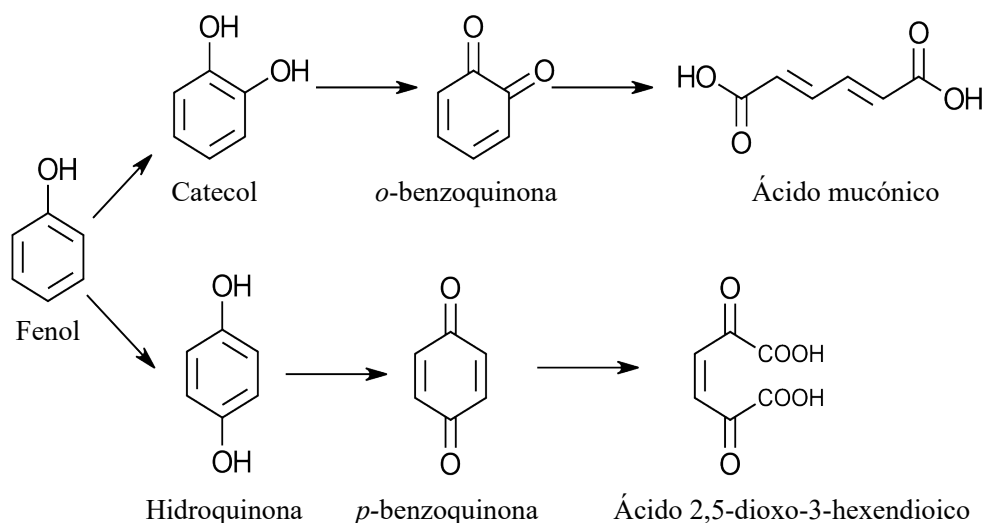
Figura 45. Imagen de las soluciones de reacción de fotooxidación al iniciar y al transcurrir seis horas de irradiación



**5.3.0.3. Productos de degradación.** En diferentes estudios realizados en la degradación del fenol han logrado reportar diferentes productos de oxidación por medio de especies reactivas de oxígeno como de oxígeno singlete, entre ellos el catecol, resorcinol, hidroquinona, *p*-benzoquinona entre otros.

En estas reacciones de fotooxidación los mecanismos de síntesis involucran oxígeno singlete o especies reactivas como anión superóxido, radicales hidroxilo y peróxido de hidrógeno, hidroperoxilo. Este tipo de reacciones se realizan por medio de sensibilización con luz y en presencia de oxígeno en el medio. Estos procesos de fotooxidación inician con la absorción de un fotón por medio del sensibilizador el cual promueve un electrón de su estado fundamental  $S_0$  al estado excitado singlete  $S_1$  el cual por medio de un cruce entre sistemas genera su estado excitado triplete  $T_1$ . En este estado puede transferir su exceso energía al oxígeno molecular en su estado fundamental triplete  $^3O_2$  logrando poblar su estado excitado singlete  $^1O_2$ , los otros tipos de especies reactivas de oxígeno se pueden formar por medio de transferencia de electrones o protones de sensibilizador en estado excitado triplete  $T_1$  al oxígeno en su estado fundamental.

Figura 46. Principales productos de oxidación del fenol

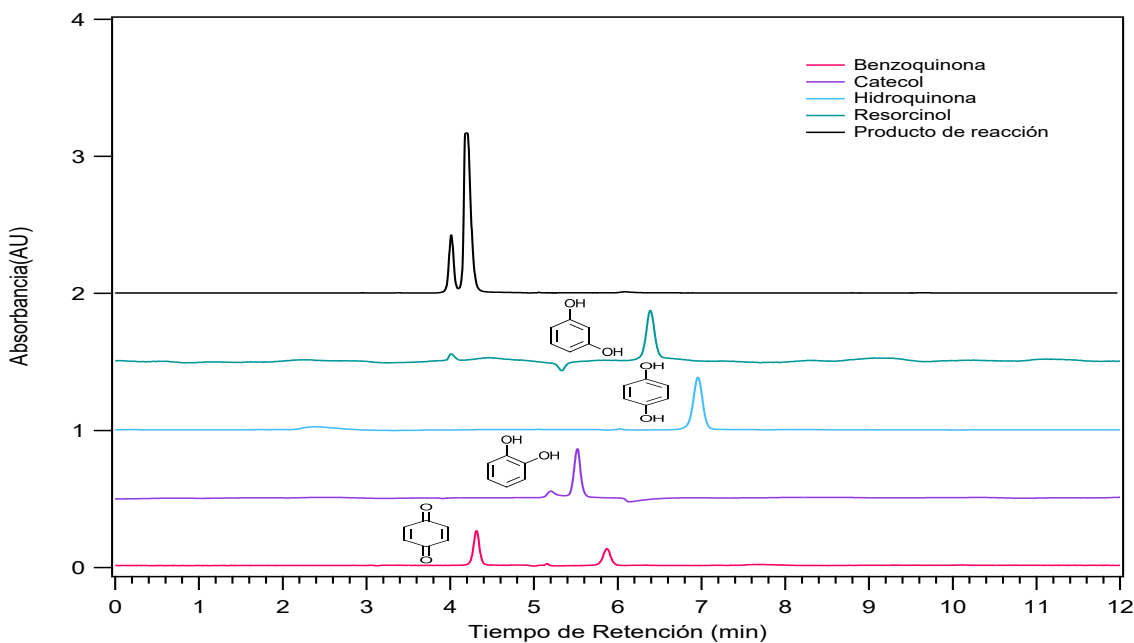


Las especies que pueden intervenir en el proceso de oxidación de acuerdo al tipo de reacción que puede generarse son; el oxígeno singlete con un potencial de reducción de  $0,64 E^{\circ\prime} (^1O_2/O_2\cdot^-)$ , anión superóxido  $0,91 E^{\circ\prime} (O_2\cdot^-, 2H^+/H_2O_2)$ , hidroxiperoxilo  $1,05 E^{\circ\prime} (HO_2\cdot, H^+/H_2O_2)$ , y por último el radical hidroxilo  $2,31 E^{\circ\prime} (HO\cdot, H^+/H_2O)$ , el cual presenta el mayor potencial de reducción de estas especies por tanto es la mejor especie oxidante. Li and Hoffman (1999) De acuerdo con los valores de potencial de reducción de estas especies el oxígeno singlete y el radical hidroxilo podrían ser las especies que intervienen en el proceso de oxidación del fenol. Teniendo en cuenta el potencial de reducción del fenol reportado en la literatura de  $0,86 E^{\circ\prime} (PhOH/PO\cdot, H^+)$  y los potenciales de las especies de oxígeno, las reacciones por medio de transferencia de protones

o electrones ocurren de manera espontánea mientras con el oxígeno singlete la reacción no es espontánea. Koppenol et al. (2010) Sin embargo, la generación de oxígeno singlete es el mecanismo dominante en un proceso de fotosensibilización debido a la estructura electrónica del oxígeno al tener dos estados excitados singletes de baja energía, cualquier estado triplete de baja energía de un fotosensibilizador es suficiente para poder poblar el estado singlete en una transición de espín permitida.

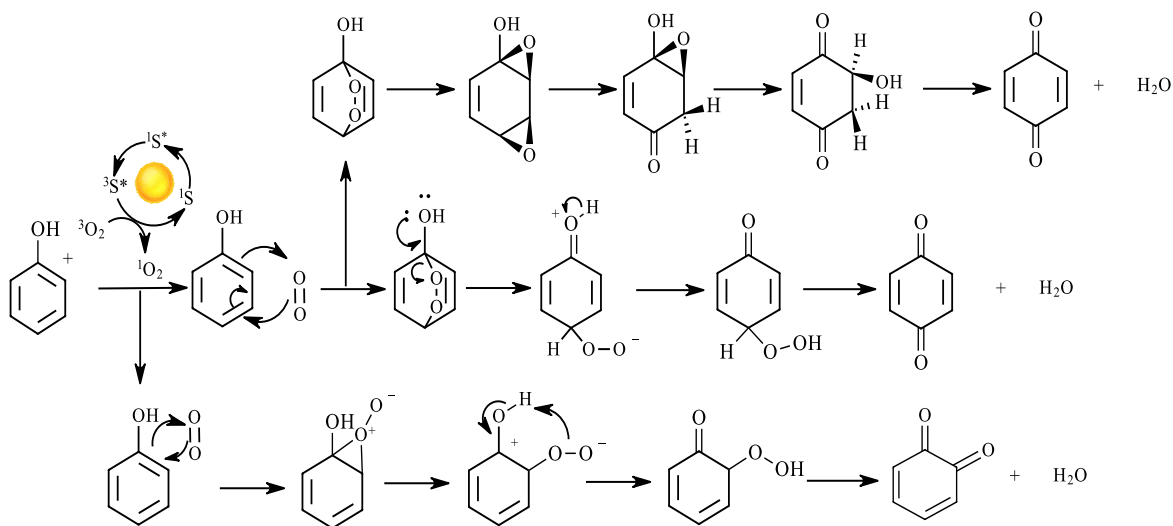
Para determinar cuál es el posible producto obtenido en las reacciones realizadas y poder estudiar el mecanismo de síntesis con estas especies de oxígeno, se analizaron muestras por HPLC de los probables productos para poder comparar con los tiempos de retención, utilizando catecol, resorcinol, *p*-benzoquinona e hidroquinona. En los cromatogramas obtenidos se puede observar que coincide el tiempo de retención de la *p*-benzoquinona con el producto obtenido (figura 47).

Figura 47. Perfil cromatográfico de los posibles productos de reacción



El mecanismo de síntesis propuesto en estudios previos de este compuesto por medio de oxígeno singlete se obtiene a partir de una 1,4-cicloadiición para producir un endoperóxido o por medio del mecanismo Schenck *ene* realizando oxifuncionalización de alquenos para producir hidroperóxidos seguidamente de obtiene como producto benzoquinona y agua, figura 48. (Murtinho et al., 2000; Chem and Phys, 2018)

Figura 48. Mecanismo de reacción con oxígeno singlete para formar benzoquinona



## 6. Conclusiones

Se realizaron reacciones de fotooxidación del fenol por medio de sensibilizadores derivados de clorofila. Los derivados fueron sintetizados e identificados por espectrometría de masas al confirmar sus fórmulas moleculares y respectivos patrones isotópicos. Adicionalmente, se determinó su estructura por resonancia magnética nuclear (RMN).

En las reacciones de fotooxidación realizadas, se generaron especies reactivas de oxígeno que provocaron la degradación del fenol, observándose la formación de un nuevo producto como vía principal para la liberación de su exceso de energía, que se identificó por cromatografía líquida. El sensibilizador correspondiente a la clorina *e6* trimetil éster presentó la mayor efectividad en el proceso de producción de especies reactivas de oxígeno, con una tasa de eliminación de 56,06 % en comparación con sus complejos metálicos. Sin embargo, estos derivados sufren degradación oxidativa que dificulta el proceso de fotosensibilización.

En el estudio de cinética de degradación del fenol, se observó que no sigue un modelo de primer orden, debido a cambios abruptos en las áreas de los picos cromatográficos, que pudieron generarse por una posible concentración en la solución de la reacción o por la formación de un nuevo producto de degradación a partir del producto ya formado el cual presenta el mismo tiempo de retención que el fenol, lo cual dificulta el análisis del modelo cinético.

El producto de degradación del fenol observado durante los procesos de fotooxidación propuesto en este trabajo de investigación es la *p*-benzoquinona, su identificación se realizó mediante reportes en la literatura de productos de oxidación del fenol al reaccionar principalmente con oxí-

geno singlete y la comparación con el tiempo de retención del patrón mediante cromatografía líquida.

## 7. Recomendaciones

Realizar análisis del rendimiento cuántico de los estados de excitación de los sensibilizadores. Así mismo, hacer mediciones de producción de oxígeno singlete y de especies como el anión superóxido y radicales hidroxilo.

Estudiar el pH y temperatura en las reacciones de fotooxidación para determinar sus efectos en el porcentaje de degradación del fenol. De igual forma diseñar un nuevo reactor y sistema para realizar las reacciones de fotooxidación y sea posible controlar la temperatura.

Utilizar estándares de referencia de los posibles productos de reacción para hacer una determinación más exacta de los compuestos obtenidos en la reacción y realizar la caracterización complementaria por espectrometría de masas mediante la comparación entre ellos de su respectiva distribución isotópica y espectros de masas.

### Referencias Bibliográficas

- Albini, A. and Fagnoni, M. (2013). *Photochemically-Generated Intermediates in Synthesis*. Wiley.
- Ameta, R. and Ameta, S. C. (2005). *Photocatalysis principles and applications*. Boca Raton London New York, crc press edition.
- Anquez, F., Sivéry, A., El Yazidi-Belkoura, I., Zemmouri, J., Suret, P., Randoux, S., and Courtade, E. (2016). Chapter 4 Production of Singlet Oxygen by Direct Photoactivation of Molecular Oxygen. In *Singlet Oxygen: Applications in Biosciences and Nanosciences*, Volume 1, volume 1, pages 75–91. The Royal Society of Chemistry.
- Aronoff, S. (2014). The Chlorophylls-An Introductory Survey S. In Leo P. Vernon, G. R. S., editor, *The Chlorophylls*, page 665. Elsevier Science, academic p edition.
- Bernadou, J. and Meunier, B. (2004). Biomimetic Chemical Catalysts in the Oxidative Activation of Drugs. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 346(2):171–184.
- Bianchi, L. M., Duncan, S. E., Webster, J. B., Neilson, A. P., and O’Keefe, S. F. (2015). Contribution of Chlorophyll to Photooxidation of Soybean Oil at Specific Visible Wavelengths of Light. *Journal of Food Science*, 80(2):C252–C261.
- Boix-Garrigaa, E., Rodríguez-Amigoa, B., Planasa, O., and Nonell, S. (2016). Properties of Singlet Oxygen. In Nonell, S. and Flors, C., editors, *Singlet oxygen applications in biosciences and nanosciences*, Volume 1, chapter 2, pages 25–44. Real socie edition.

- Bonnett, R. and Berenbaum, M. (1989). Porphyrins as photosensitizers. In GregoIy Bock, S. H., editor, *Ciba Foundation symposium*, volume 146, pages 40–59. Ciba found edition.
- Busca, G., Berardinelli, S., Resini, C., and Arrighi, L. (2008). Technologies for the removal of phenol from fluid streams: A short review of recent developments. *Journal of Hazardous Materials*, 160(2-3):265–288.
- Chatterjee, D. and Dasgupta, S. (2005). Visible light induced photocatalytic degradation of organic pollutants. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 6(2-3):186–205.
- Chem, P. and Phys, C. (2018). Reaction of phenol with singlet oxygen. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 21:171–183.
- DeRosa, M. C. and Crutchley, R. J. (2002). Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 233-234:351–371.
- Dolphin, D., Traylor, T. G., and Xie, L. Y. (1997). Polyhaloporphyrins: Unusual Ligands for Metals and Metal-Catalyzed Oxidations. *Accounts of Chemical Research*, 30(6):251–259.
- Ferruzzi, M. G. and Blakeslee, J. (2007). Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*, 27(1):1–12.
- Fresnadillo, D. G. and Lacombe, S. (2016). Chapter 6 Reference Photosensitizers for the Production of Singlet Oxygen. In *Singlet Oxygen: Applications in Biosciences and Nanosciences*, Volume 1, volume 1, pages 105–143. The Royal Society of Chemistry.

- Fujishima, A. and Honda, K. (1972). Electrochemical Photolysis of Water at a Semiconductor Electrode. *Nature*, 238(5358):37–38.
- Fujishima, K., Fukuoka, A., Yamagishi, A., Inagaki, S., Fukushima, Y., and Ichikawa, M. (2001). Photooxidation of benzene to phenol by ruthenium bipyridine complexes grafted on mesoporous silica FSM-16. *JOURNAL OF MOLECULAR CATALYSIS A-CHEMICAL*, 166(2):211–218.
- Giovannetti, R. (2014). The Use of Spectrophotometry UV-Vis for the Study of Porphyrins. In Uddin, D. J., editor, *Macro To Nano Spectroscopy*, number June 2012, chapter 6, pages 87–108. InTech.
- Giuliani, A. A., Cichelli, A., Tonucci, L., and D'Alessandro, N. (2015). Chlorophyll photosensitized oxidation of virgin olive oil: a comparison between selected unsaturated model esters and real oil samples. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 92(1):25–37.
- Gross, J. (1991). Chlorophylls. In Gross, J., editor, *Pigments in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids*, pages 3–74. Springer US, Boston, MA.
- Groves, J. T., Nemo, T. E., and Myers, R. S. (1979). Hydroxylation and epoxidation catalyzed by iron-porphine complexes. Oxygen transfer from iodosylbenzene. *Journal of the American Chemical Society*, 101(4):1032–1033.
- Hargus, J. A., Fronczek, F. R., Vicente, M. G. H., and Smith, K. M. (2007). Mono-(L)-aspartylchlorin-e6. *Photochemistry and Photobiology*, 83(5):1006–1015.

- Hendry, G. A. F. (1996). Chlorophylls and chlorophyll derivatives. In Hendry, G. A. F. and Houghton, J. D., editors, *Natural Food Colorants*, pages 131–156. Springer US, Boston, MA.
- Jeong, H.-G. and Choi, M.-S. (2016). Design and Properties of Porphyrin-based Singlet Oxygen Generator. *Israel Journal of Chemistry*, 56(2):110–118.
- K. V. Berezin, V. V. Nechaev and Ziganshina, O. D. (2004). Density Functional Study of the Structure and Infrared Spectrum of Ethyl Chlorophyllide (a). *Journal of Structural Chemistry*, 45(2):217–224.
- Kanofsky, J. R. (2016). *Photosensitization*, volume 1 of *Comprehensive Series in Photochemical & Photobiological Sciences*. The Royal Society of Chemistry.
- Katerina, K. and Gonzalo, C. (2016). Overview of Reactive Oxygen Species. In Nonell, S. and Flors, C., editors, *Singlet oxygen applications in biosciences and nanosciences, Volume 1*, chapter 1, pages 5–18. Real socie edition.
- Kidak, R. and Ince, N. H. (2006). Ultrasonic destruction of phenol and substituted phenols: A review of current research. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13(3):195–199.
- Koppenol, W. H., Stanbury, D. M., and Bounds, P. L. (2010). Electrode potentials of partially reduced oxygen species, from dioxygen to water. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(3):317–322.
- Krupenie, P. H. (1972). The Spectrum of Molecular Oxygen. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 1(2):423–534.

- Li, C. and Hoffman, M. Z. (1999). One-Electron Redox Potentials of Phenols in Aqueous Solution. *Journal of Physical Chemistry B*, 103(32):6653–6656.
- Lier, J. E. V. (1991). Photosensitization. In Valenzeno, D. P., Pottier, R. H., Mathis, P., and Douglas, R. H., editors, *Photobiological Techniques NATO ASI Series*, pages 85–98. Springer, Boston, MA, New York, 1 edition.
- Lin, J. and Shi, D. (2021). Photothermal and photovoltaic properties of transparent thin films of porphyrin compounds for energy applications. (March).
- Maldotti, A., Molinari, A., Vitali, I., Ganzaroli, E., Battioni, P., Mathieu, D., and Mansuy, D. (2004). Oxidation of n-(4-chlorophenyl)-n-hydroxyguanidine to n-(4-chlorophenyl)urea and nitric oxide by photoexcited iron porphyrins. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2004:3127 – 3135.
- Mckenna, A. M., Williams, T., Putman, J. C., Aeppli, C., Reddy, C. M., Valentine, D. L., Lemkau, K. L., Kellermann, M. Y., Savory, J. J., Kaiser, N. K., Marshall, A. G., and Rodgers, R. P. (2014). Unprecedented Ultrahigh Resolution FT-ICR Mass Spectrometry and Parts-Per-Billion Mass Accuracy Enable Direct Characterization of Nickel and Vanadyl Porphyrins in Petroleum from Natural Seeps.
- Michałowicz, J. and Duda, W. (2007). Phenols - Sources and toxicity. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16(3):347–362.
- Mohamad Said, K. A., Ismail, A. F., Abdul Karim, Z., Abdullah, M. S., and Hafeez, A. (2021). A

review of technologies for the phenolic compounds recovery and phenol removal from wastewater. *Process Safety and Environmental Protection*, 151:257–289.

Murtinho, D., Pineiro, M., Pereira, M. M., António, M., Gonsalves, A. R., Arnaut, L. G., Miguel, G., and Burrows, H. D. (2000). Novel porphyrins and a chlorin as efficient singlet oxygen photosensitizers for photooxidation of naphthols or phenols to quinones.

Nakagaki, S., Ferreira, G. K., Ucoski, G. M., and Dias de Freitas Castro, K. A. (2013). Chemical reactions catalyzed by metalloporphyrin-based metal-organic frameworks. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 18(6):7279–7308.

Nyman, E. S. and Hynninen, P. H. (2004). Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 73(1-2):1–28.

Okamoto, Y. and Tamiaki, H. (2011). C3- and C13-substituent effects on electronic absorption spectra of linear tetrapyrroles produced by photooxidation of zinc chlorophyll derivatives. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 219(2-3):250–254.

Park, J. (2017). Visible and near infrared light active photocatalysis based on conjugated polymers. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 51:27–43.

Pera-Titus, M., García-Molina, V., Baños, M. A., Giménez, J., and Esplugas, S. (2004). Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: A general review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 47(4):219–256.

Roca, M., Chen, K., and Pérez-Gálvez, A. (2016). 6 - Chlorophylls. In Carle, R. and Schweiggert, R. M., editors, *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages*, pages 125–158.

Woodhead Publishing.

Rogl, H., Kühlbrandt, W., and Barth, A. (2003). Light-induced changes in the chemical bond structure of light-harvesting complex II probed by FTIR spectroscopy. *Biochemistry*, 42(34):10223–10228.

Scandola, F. (1988). Kinetic Aspects of Bimolecular and Supramolecular Excited-State Electron Transfer Processes. In Schiavello, M., editor, *Photocatalysis and Environment: Trends and Applications*, pages 3–27. Springer Netherlands, Dordrecht.

Scheer, H. (2006). An Overview of Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications. In Grimm, B., Porra, R. J., Rüdiger, W., and Scheer, H., editors, *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications*, pages 1–26. Springer Netherlands, Dordrecht.

Senge, M. O., Ryan, A. A., Letchford, K. A., MacGowan, S. A., and Mielke, T. (2014). Chlorophylls, Symmetry, Chirality, and Photosynthesis. *Symmetry*, 6(3):781–843.

Silva, E., Pereira, M. M., Burrows, H. D., Azenha, M. E., Sarakha, M., and Bolte, M. (2004). Photooxidation of 4-chlorophenol sensitised by iron meso-tetrakis(2,6-dichloro-3-sulfophenyl)porphyrin in aqueous solution. *Photochemical & photobiological sciences : Official*

- journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 3(2):200–204.
- Suzuki, T., Midonoya, H., and Shioi, Y. (2009). Analysis of chlorophylls and their derivatives by matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 390(1):57–62.
- Tamiaki, H., Okamoto, Y., Mikata, Y., and Shoji, S. (2012). Photooxidative cleavage of zinc 20-substituted chlorophyll derivatives: Conformationally P-helix-favored formation of regioselectively 19-20 opened linear tetrapyrroles. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 11(6):898–907.
- Tanaka, A. and Tanaka, R. (2006). Chlorophyll metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3):248–255.
- Tanaka, R. and Tanaka, A. (2011). Chlorophyll cycle regulates the construction and destruction of the light-harvesting complexes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics; Regulation of Electron Transport in Chloroplasts*, 1807(8):968–976.
- Tojo, G. and Fernandez, M. I. (2006). *Oxidation of Alcohols to Aldehydes and Ketones: A Guide to Current Common Practice*. Basic Reactions in Organic Synthesis. Springer US, ilustrado edition.
- Turner, J. A. (2004). Sustainable hydrogen production. *Science (New York, N.Y.)*, 305(5686):972–974.

- Von Wettstein, D., Gough, S., and Kannangara, C. G. (1995). Chlorophyll Biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7):1039–1057.
- Wold, J. P., Veberg, A., Nilsen, A., Iani, V., Juzenas, P., and Moan, J. (2005). The role of naturally occurring chlorophyll and porphyrins in light-induced oxidation of dairy products. A study based on fluorescence spectroscopy and sensory analysis. *International Dairy Journal*, 15(4):343–353.
- Yi Bi, X., Wang, P., Jiang, H., Yan XU, H., Jie Shi, S., and li Huang, J. (2007). Treatment of phenol wastewater by microwave-induced ClO<sub>2</sub>-CuOx/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalytic oxidation process. *Journal of Environmental Sciences*, 19(12):1510–1515.
- Zhang, J., Tian, B., Wang, L., Xing, M., and Lei, J. (2018). Mechanism of Photocatalysis. In Zhang, J., Tian, B., Wang, L., Xing, M., and Lei, J., editors, *Photocatalysis: Fundamentals, Materials and Applications*, chapter 1, pages 1–15. Springer Singapore, Singapore.

## Apéndices

## Apéndice A. Perfil cromatográfico derivados de clorofila y espectro de FT-IR

Figura 49. Perfil cromatográfico de Zn-clorina e6 trimetil éster

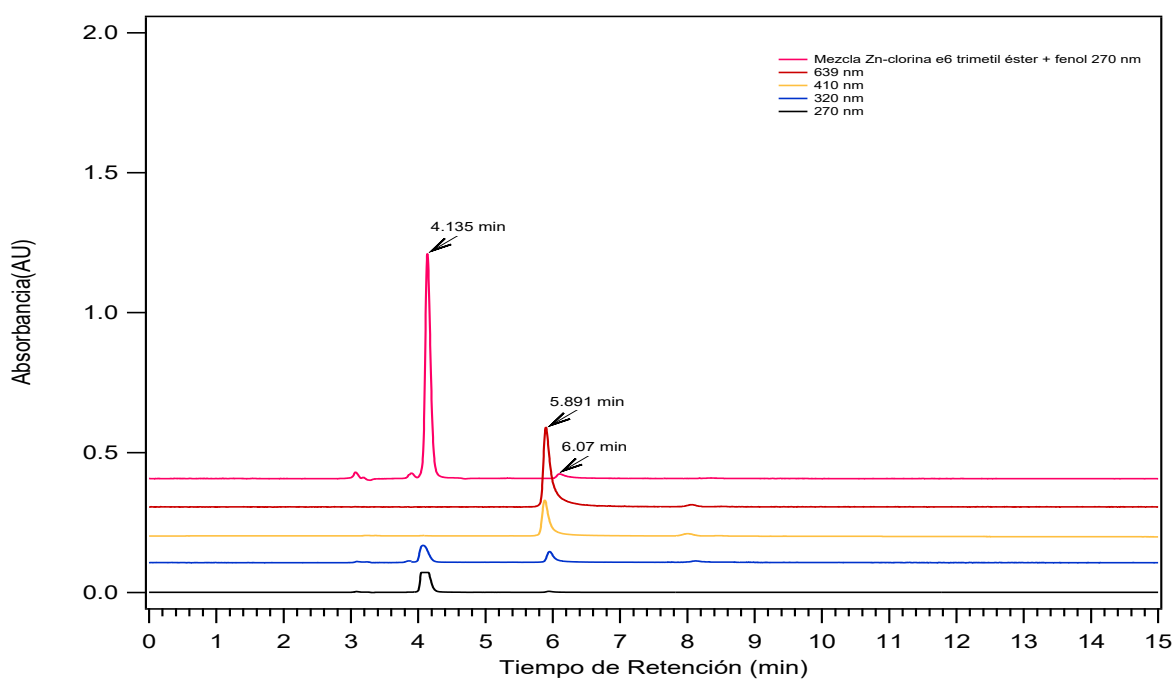


Figura 50. Perfil cromatográfico de Cu-clorina e6 trimetil éster

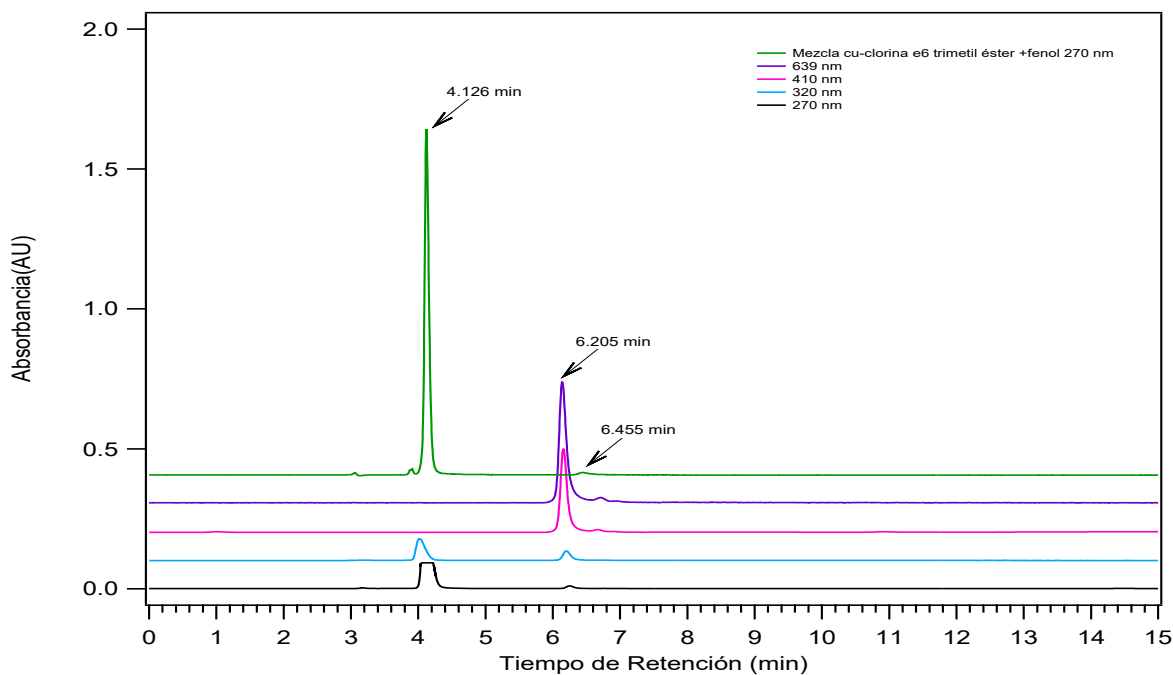
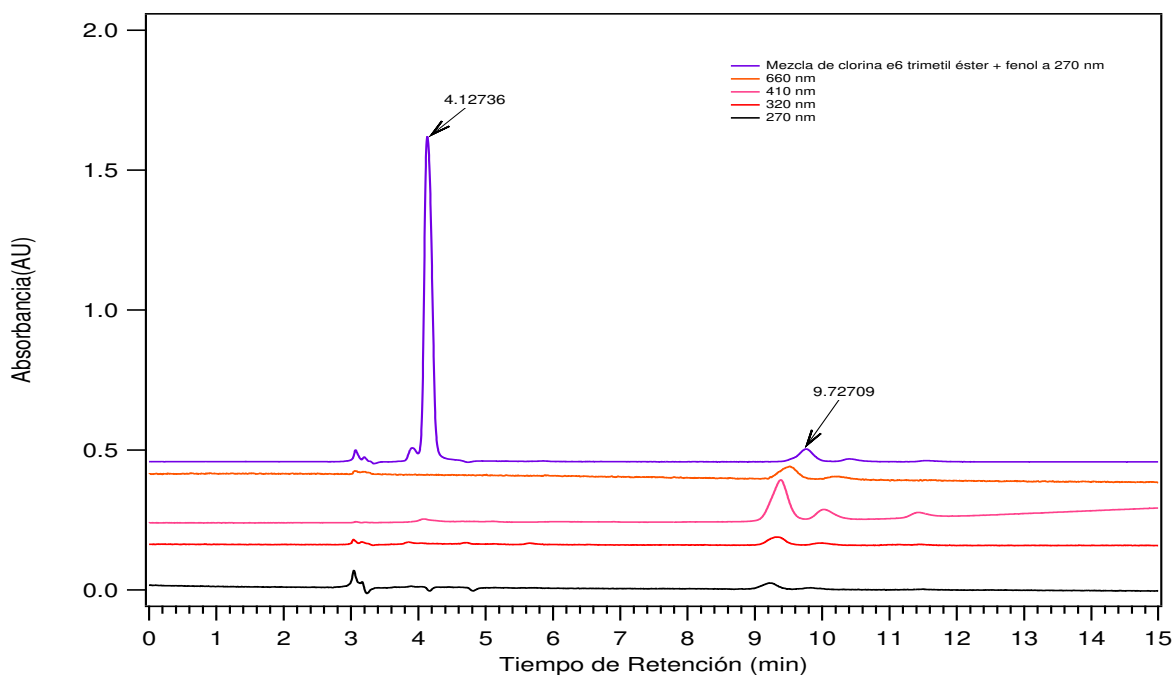
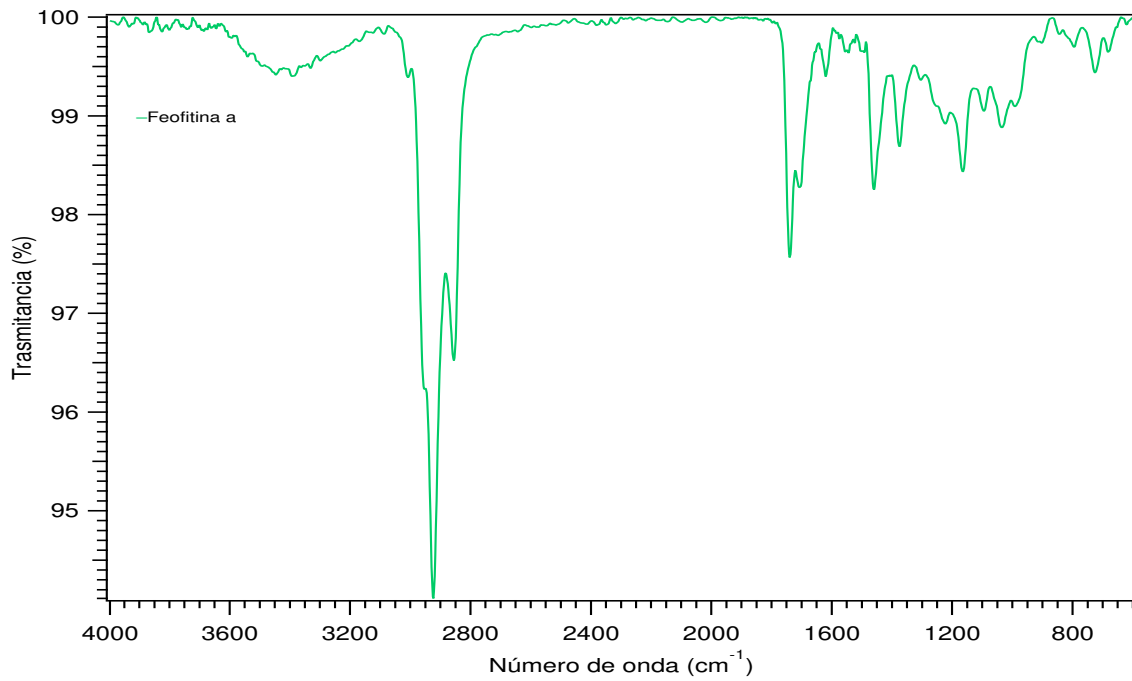
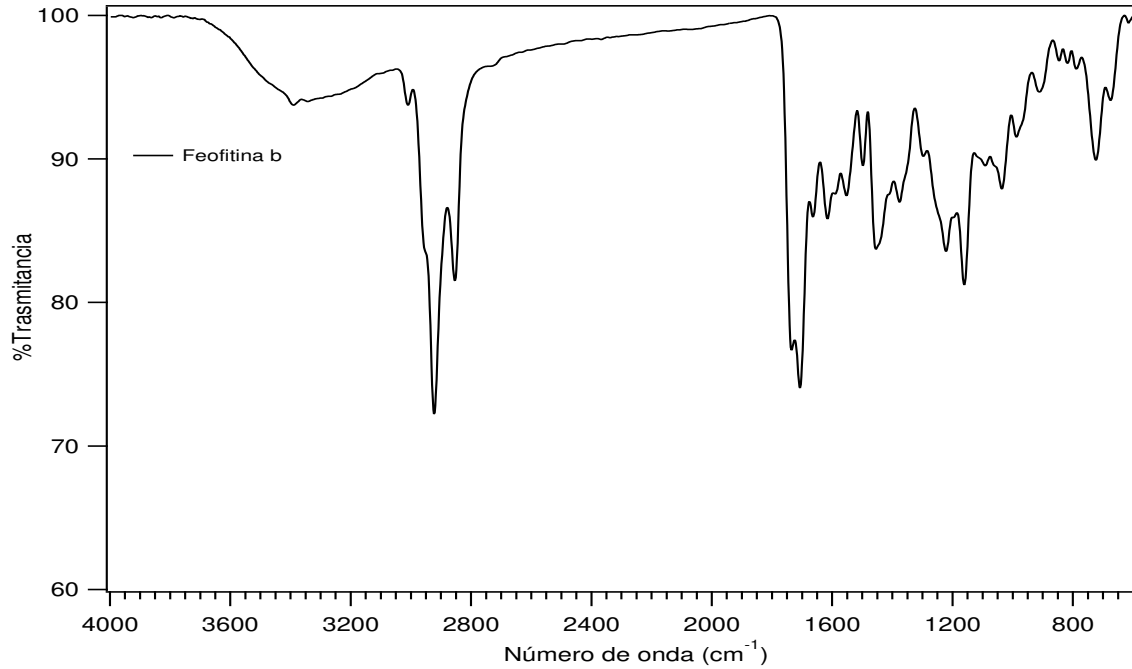


Figura 51. Perfil cromatográfico de Clorina e6 trimetil éster



*Figura 52. Espectro FT-IR de Feofitina a**Figura 53. Espectro FT-IR de Feofitina b*

## Apéndices

### Apéndice B. Blancos de reacciones y curva de calibración del patrón externo de fenol

Figura 54. Blanco 1 mezcla de reacción con clorina e6 trimetil éster, luz, fenol y reemplazando el aire por argón.

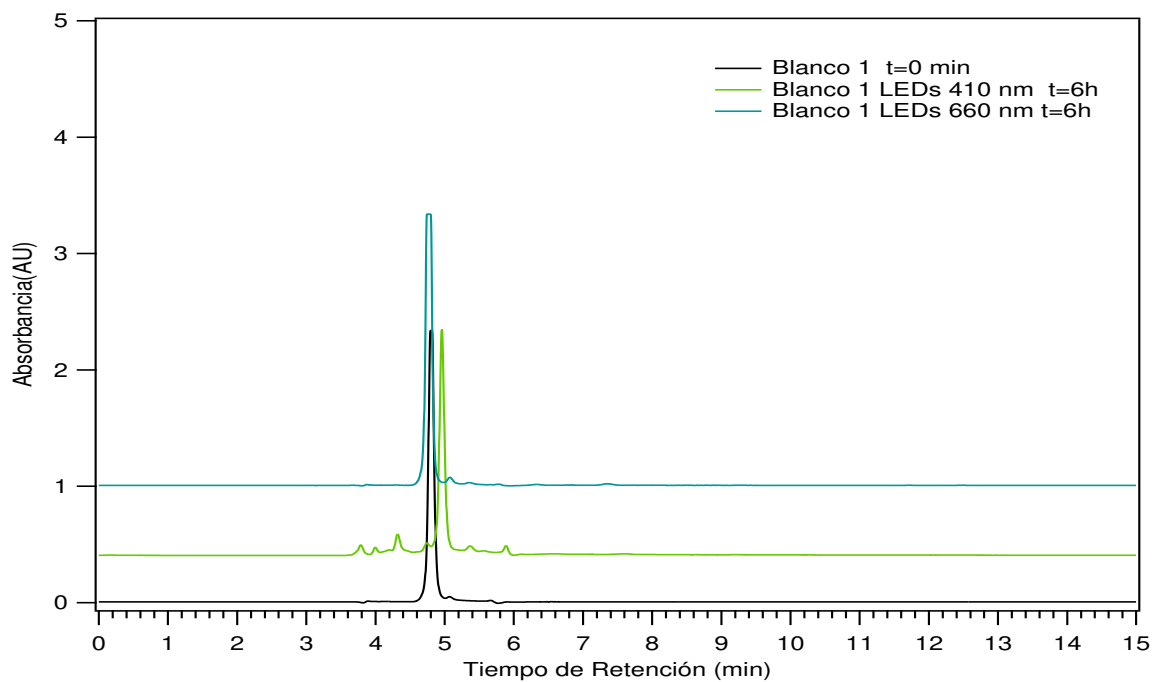


Figura 55. Blanco 1 mezcla de reacción con Zn-clorina e6 trimetil éster, luz, fenol y reemplazando el aire por argón.

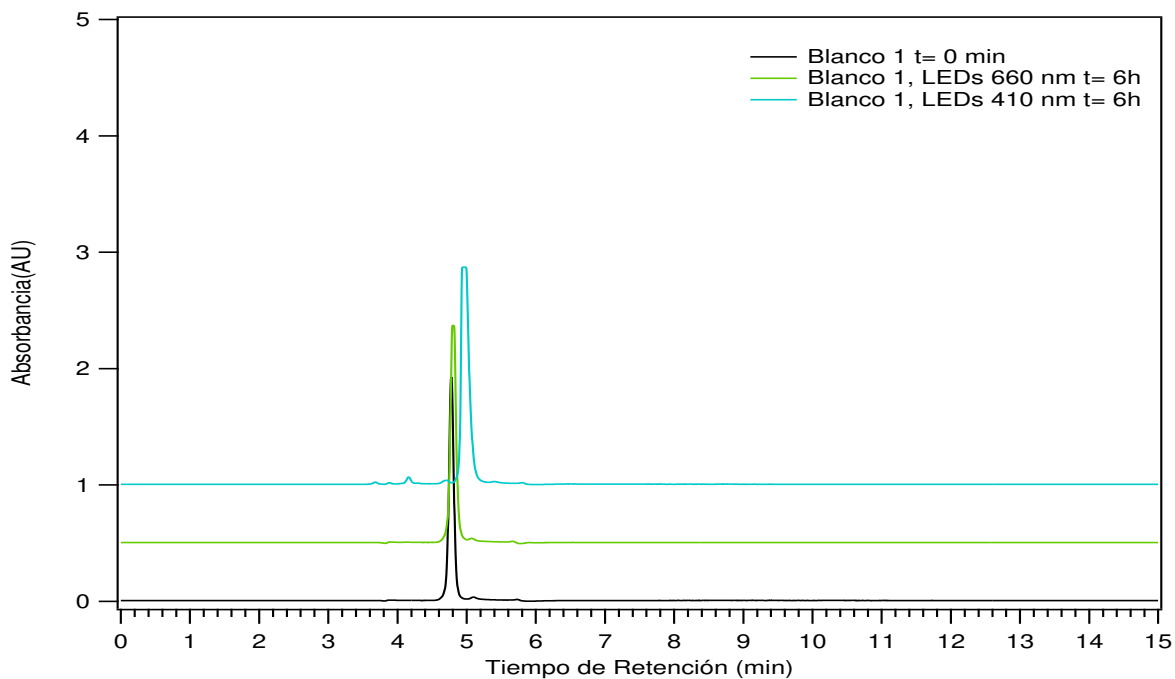


Figura 56. Blanco 2 mezcla de reacción con luz, fenol y aire.

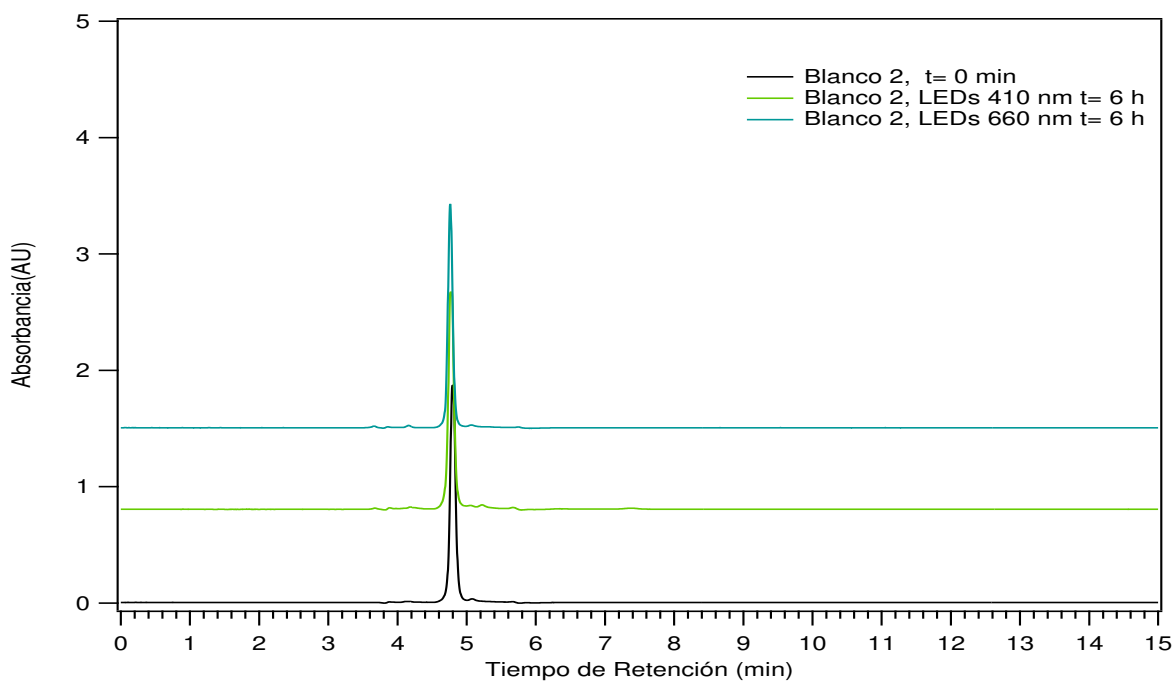


Figura 57. Blanco 3 mezcla de reacción con clorina e6 trimetil éster, aire y fenol.

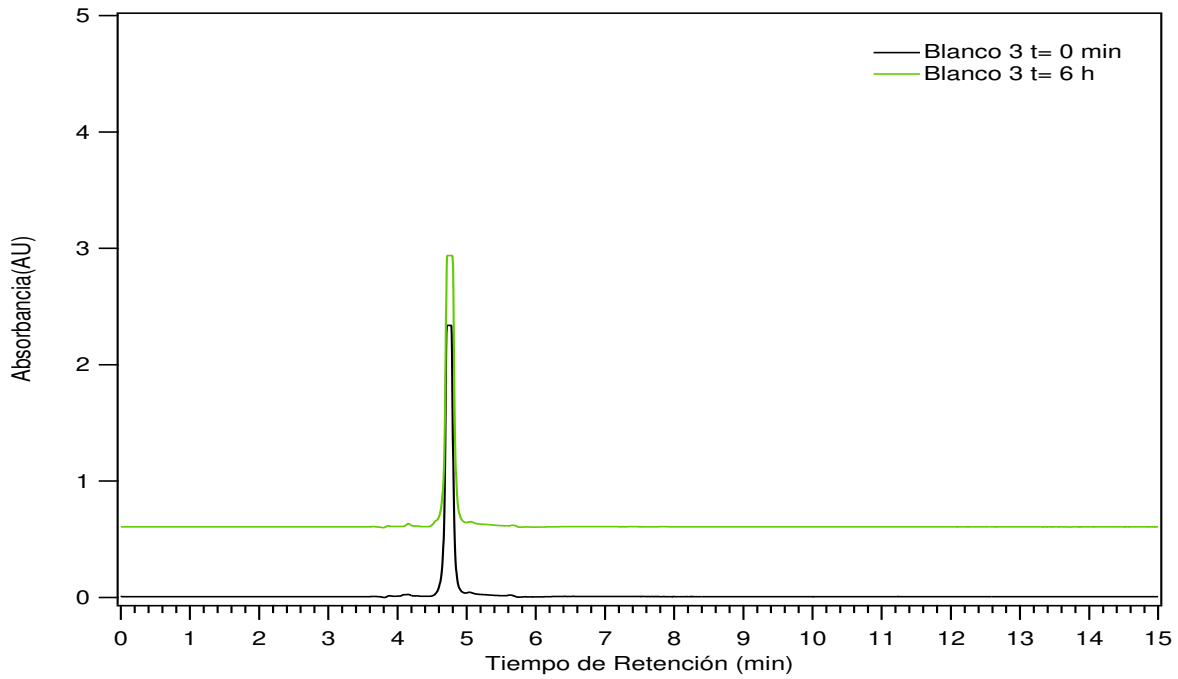


Figura 58. Blanco 3 mezcla de reacción con Zn-clorina e6 trimetil éster, aire y fenol.

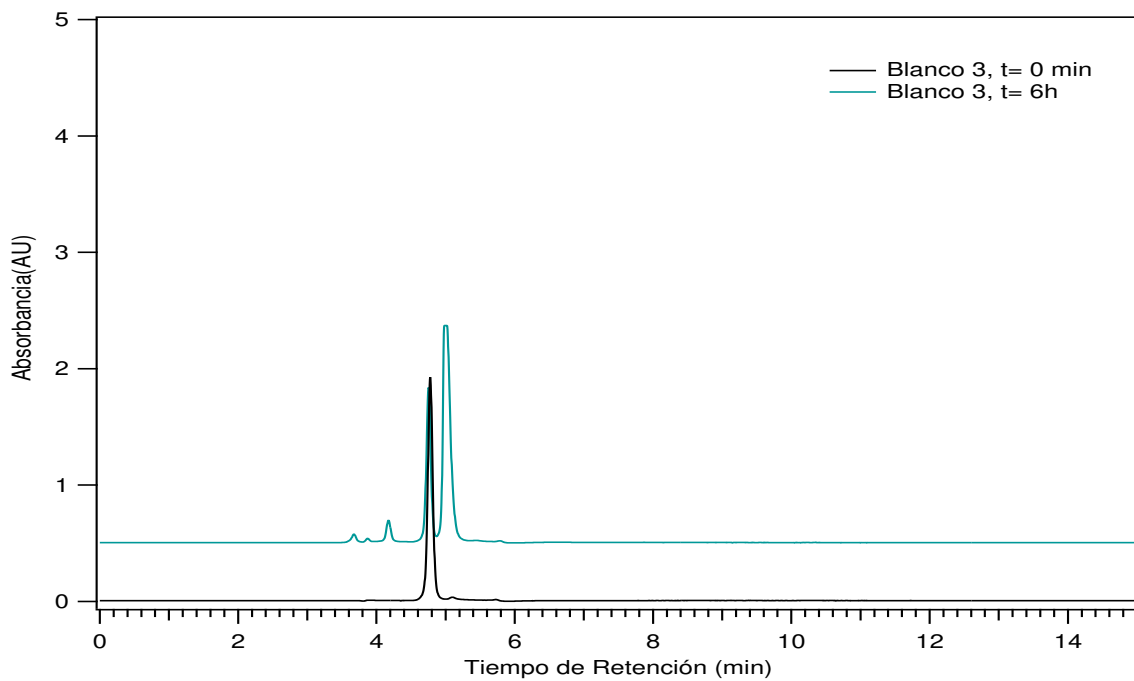


Figura 59. Cromatogramas del patrón externo de fenol

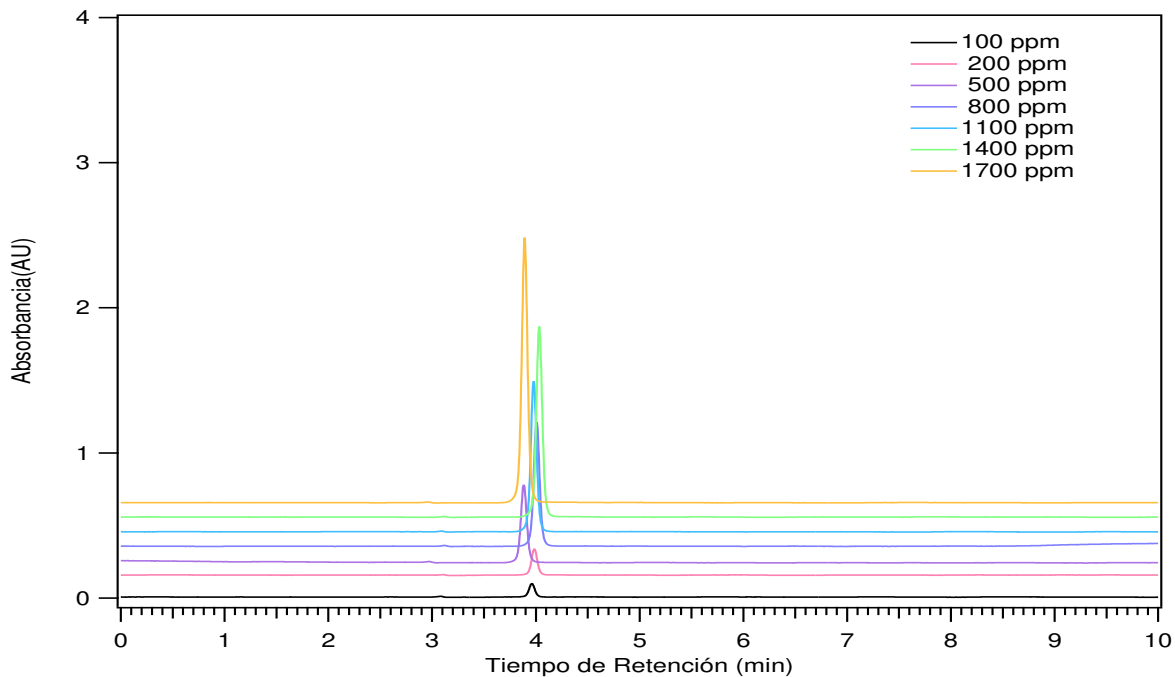


Figura 60. Curva de calibración

