

**ESTUDIO CINÉTICO DE LA OXIDACIÓN DEL 1,4-CICLOHEXADIENO CON  
OXÍGENO SINGULETE GENERADO FOTOQUÍMICAMENTE POR TcPPH<sub>2</sub>**

**NAZLY VIVIANA OLAVE ROSAS**

**Universidad Industrial de Santander  
Facultad de Ciencias  
Escuela de Química  
Bucaramanga  
2008**

**ESTUDIO CINÉTICO DE LA OXIDACIÓN DEL 1,4-CICLOHEXADIENO CON  
OXÍGENO SINGULETE GENERADO FOTOQUÍMICAMENTE**

**NAZLY VIVIANA OLAVE ROSAS**

Tesis de grado como requisito para optar el título de  
**Química**

**Directores:**

**Dra. Martha Cecilia Daza Espinosa**

**Dr. Fernando Martínez Ortega**

**Co-director:**

**Químico Carlos Enrique Díaz Uribe**

**Universidad Industrial de Santander**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela de Química**

**Bucaramanga**

**2008**

***“..... A Diosito, que jamás me abandono.  
A mis padres Nelly y Reynaldo,  
por su apoyo incondicional y cariño.  
A Guillermo por su amor y comprensión.....”***

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a todas aquellas personas que de alguna manera han contribuido a mi formación personal y ética profesional, en especial a:

A Dios, por brindarme la existencia y permitirme realizar mis metas.

A mis padres por el apoyo moral y económico, para formarme como profesional. A mi hermanito Andrés por tolerarme.

A los calificadores, los profesores Claude Ewert y Cristian Blanco por el tiempo dedicado a la evaluación de este proyecto y por sus recomendaciones.

A los profesores Martha Cecilia Daza y Fernando Martínez Ortega por dirigir este proyecto y permitirme participar en él.

A COLCIENCIAS, proyecto 1102-05-1692, y a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la Universidad Industrial de Santander, proyecto 5138, por el apoyo económico para el desarrollo de este proyecto.

A Guillermo Acuña Muñiz por acompañarme y apoyarme en la culminación de este trabajo.

A mis compañeros del grupo de Bioquímica Teórica (en especial al magister Ciro Eduardo Roza Correa por su colaboración) y del centro de investigación en catálisis.

A mis amigos y compañeros de carrera (Nogui, Pane, Arley, Carlangas, Manu, Tata, Garrido, Guaro) por los grandes esfuerzos y momentos de alegría.

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>1. MARCO TEÓRICO</b>	4
<b>1.1.</b> Oxígeno singulete	4
<b>1.2.</b> Propiedades del oxígeno singulete	6
<b>1.3.</b> Generación del oxígeno singulete	7
1.3.1. Métodos químicos	8
1.3.2. Métodos físicos	9
1.3.2.1. Fotosensibilización	9
<b>1.4.</b> Reacciones del oxígeno singulete	12
<b>1.5.</b> Detección del oxígeno singulete	14
1.5.1. Métodos directos	14
1.5.2. Métodos indirectos	15
<b>1.6.</b> Desactivación del oxígeno singulete	16
<b>1.7.</b> Peroxidación lípidica	17
<b>1.8.</b> El 1,4-ciclohexadieno	20
<b>2. ESTADO DEL ARTE</b>	22
<b>3. METODOLOGÍA</b>	27
<b>3.1.</b> Reactivos y equipos	27
<b>3.2.</b> Síntesis y caracterización del catalizador	28
<b>3.3.</b> Procedimiento de reacción	28
<b>3.4.</b> Determinación de la intensidad de luz incidente	30
<b>3.5.</b> Identificación y determinación cuantitativa del oxígeno singulete	32

3.6. Determinación de la expresión cinética de la reacción de oxidación del 1,4-ciclohexadieno con el $^1\text{O}_2$ .	33
3.7. Determinación del producto de oxidación del 1,4-ciclohexadieno con $^1\text{O}_2$ .	34
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>35</b>
4.1. Caracterización de la Tetracarboxifenilporfirina sin metal (TcPPH <sub>2</sub> )	35
4.2. Determinación del flujo fotónico incidente ( $I_0$ )	36
4.3. Identificación indirecta del oxígeno singulete	37
4.4. Determinación de la expresión cinética de la reacción de oxidación del 1,4-Ciclohexadieno con el $^1\text{O}_2$	40
4.5. Identificación del producto de oxidación del 1,4-ciclohexadieno con $^1\text{O}_2$ por CG-EM	45
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>49</b>
<b>6. RECOMENDACIONES</b>	<b>50</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>51</b>
<b>8. ANEXOS</b>	<b>57</b>

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla.1.</b> Propiedades fotofísicas de algunas porfirinas.	12
<b>Tabla.2.</b> Valores de rendimiento cuántico de la formación de SCN <sup>-</sup> sugeridos por Calvert y Pitts y Wegner y Adamson	32
<b>Tabla.3.</b> Velocidades iniciales con oxígeno singulete *10 <sup>-5</sup> (mol.min <sup>-1</sup> )	41
<b>Tabla.4.</b> Porcentaje de conversión del 1,4-ciclohexadieno en su oxidación con <sup>1</sup> O <sub>2</sub> en función del tiempo.	44
<b>Tabla.5.</b> Iones característicos de la ruta de fragmentación del benceno.	46

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Esquema: oxidación de la alil-tiourea en presencia de $^3\text{O}_2$ (Graffon).	4
<b>Figura 2.</b> Esquema: generación del $^1\text{O}_2$ , Foote y Wexler.	5
<b>Figura 3.</b> Esquema: interacción sensibilizador-endoperóxido de Kautsky, Gollnick y Shenck..	5
<b>Figura 4.</b> Curvas de energía de potencial para los tres estados electrónicos del $\text{O}_2$ .	6
<b>Figura 5.</b> Representación del $\text{O}_2$ en sus estados triplete y singulete	7
<b>Figura 6.</b> Algunas fuentes biológicas del oxígeno singulete.	8
<b>Figura 7.</b> Esquema: Descomposición del peróxido de hidrógeno con hipoclorito de sodio.	8
<b>Figura 8.</b> Esquema: Descomposición del peróxido de hidrógeno con iones molibdato.	9
<b>Figura 9.</b> Diagrama de Jablonski. Generación de especies reactivas de oxígeno: $\text{O}_2^{*-}$ y $^1\text{O}_2$ .	10
<b>Figura 10.</b> Estructura de tetracarboxifenilporfirina sin metal ( $\text{TcPPH}_2$ ).	12
<b>Figura 11.</b> Algunas reacciones del $^1\text{O}_2$ .	13

<b>Figura 12.</b> Esquema de fragmentación del dioxetano a compuestos carbonílicos.	14
<b>Figura 13.</b> Vías de desactivación del oxígeno singulete.	17
<b>Figura 14.</b> Modelo del daño oxidativo provocado por las especies reactivas del oxígeno (EROs), sobre las membranas.	18
<b>Figura 15.</b> Oxidación de lípidos. Esquema para la oxidación del ácido araquidónico.	19
<b>Figura 16.</b> Esquema: Peroxidación lipídica con $^1\text{O}_2$ , mecanismo tipo II.	20
<b>Figura 17.</b> Estructura del 1,4-ciclohexadieno.	21
<b>Figura 18.</b> Estructuras químicas y rutas de reacción propuestos para los productos formados de la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singulete.	24
<b>Figura 19.</b> fotooxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singulete, tetrafenilporfirina en diclorometano.	24
<b>Figura 20.</b> Productos de fotooxidación del linoleato de metilo vía radicales libres y oxígeno singulete.	25
<b>Figura 21.</b> Oxidación fotosensibilizada del linoleato de metilo vía radicales libres y $^1\text{O}_2$ .	26
<b>Figura 22.</b> Montaje de reacción para una fotorreacción por luz visible y	29

filtro químico.

<b>Figura 23.</b> Reacción del ión yoduro con oxígeno singulete.	33
<b>Figura 24.</b> Espectro UV-Vis de la tetracarboxifenilporfirina sin metal.	35
<b>Figura 25.</b> Bandas IR características de la tetracarboxifenilporfirina (TcPPH <sub>2</sub> ).	36
<b>Figura 26.</b> Concentración de SCN <sup>-</sup> generado a partir de la fotólisis de la Sal de Reinecke de potasio, K[Cr(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (CNS) <sub>4</sub> ], 0,01 [M] en función del tiempo.	37
<b>Figura 27.</b> Determinación indirecta del oxígeno singulete, por generación fotoquímica.	38
<b>Figura 28.</b> Determinación indirecta del oxígeno singulete, por generación química y fotoquímica.	38
<b>Figura 29.</b> Desactivación del oxígeno singulete con azida de sodio, en el sistema fotoquímico.	39
<b>Figura 30.</b> Determinación de la energía de activación (E <sub>a</sub> ).	43
<b>Figura 31.</b> Porcentaje de conversión del 1,4-ciclohexadieno en su reacción de oxidación con oxígeno singulete en función del tiempo.	44
<b>Figura 32.</b> Espectro de masas del benceno con trazas del solvente (t <sub>R</sub> =6.70).	45

<b>Figura 33.</b> Ruta de fragmentación del espectro MS del benceno.	46
<b>Figura 34.</b> Posible mecanismo de la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singulete.	47
<b>Figura 35.</b> Espectro de EPR-TcPPH <sub>2</sub> .	57
<b>Figura 36.</b> (B1) Espectro UV/Vis de SCN <sup>-</sup> a diferentes concentraciones; $\lambda_{\text{max}} = 458 \text{ nm}$ . (B2) Curva de calibración de SCN <sup>-</sup> .	58
<b>Figura 37.</b> Curva de calibración del 1,4-ciclohexadieno con n-heptano como patrón interno por cromatografía gaseosa.	59

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
<b>ANEXO I.</b> Espectro EPR-TcPPH <sub>2</sub>	57
<b>ANEXO II.</b> Curva de calibración utilizadas en la actinometría	58
<b>ANEXO III.</b> Curva de calibración del 1,4-ciclohexadieno para cromatografía de gases	59

## ABREVIATURAS

DNA	Ácido desoxirribonucleico
CG-EM	Cromatografía de gases-espectrometría de masas
1,4-CH	1,4-ciclohexadieno
$O_2(^1\Delta_g)$	Oxígeno singulete en su estado excitado delta
$O_2(^1\Sigma^+_g)$	Oxígeno singulete en su estado excitado sigma
$^1O_2$	Oxígeno singulete delta
PDT	Photodynamic therapy (terapia fotodinámica)
*sen	Sensibilizador en su estado excitado
sen	Sensibilizador en su estado basal
$^3sen$	Sensibilizador en su estado excitado triplete
$^1sen$	Sensibilizador en su estado excitado singulete
TcPPH <sub>2</sub>	Tetracarboxifenilporfirina sin metal.
EROs	Especies reactivas del oxígeno
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados

## ESTUDIO CINÉTICO DE LA OXIDACIÓN DEL 1,4-CICLOHEXADIENO CON OXÍGENO SINGULETE GENERADO FOTOQUÍMICAMENTE

NAZLY VIVIANA OLAVE ROSAS\*\*

**Palabras Clave:** Oxígeno singulete, 1,4-Ciclohexadieno, Oxidación lipídica, fotosensibilización, Tetracarboxifenilporfirina.

### RESUMEN

Se estudió la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con el oxígeno singulete ( $^1\text{O}_2$ ), generado fotoquímicamente por el sistema tetracarboxifenilporfirina (TcPPH<sub>2</sub>) en fase heterogénea. La identificación indirecta del  $^1\text{O}_2$  se llevó a cabo por la oxidación del yodo (I), generando el ión triyoduro, y detectado por la banda de 351 nm, la desactivación del  $^1\text{O}_2$  se verificó con azida de sodio. Por actinometría se determinó un flujo fotónico de  $3,21\mu\text{Einsteins/L*s}$  para la lámpara Phoenix usando un filtro de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ . El seguimiento de la reacción de oxidación del 1,4-ciclohexadieno por el oxígeno singulete se realizó utilizando la técnica de cromatografía de gases. Además para la identificación del producto, se utilizó cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) observándose como único producto el benceno, indicando que no hay presencia de radicales libres. De acuerdo con el estudio cinético se encontró una constante global de velocidad de  $7,55 \text{ L/mol*min}$ , con un orden de reacción de dos (2) a temperatura de 273K.

---

\* Proyecto de Grado

\*\* Facultad de ciencias. Escuela de química. Directores: Martha Cecilia Daza Espinosa y Fernando Martínez Ortega. Codirector :Carlos Enrique Díaz Uribe

## KINETIC STUDY OF THE 1,4-CYCLOHEXADIENE OXIDATION WITH SINGLET OXYGEN PHOTOCHEMICALLY PRODUCED\*

NAZLY VIVIANA OLAVE ROSAS\*\*

**Key words:** Singlet Oxygen, 1, 4-cyclohexadiene, lipidic oxidation, fotosensibilization, Tetrakis (4-carboxyphenyl) porphyrins.

### ABSTRACT

The oxidation of 1,4-cyclohexadiene with the singlet oxygen ( $^1\text{O}_2$ ), was studied in this work. The singlet oxygen was generated photochemically by the Tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrin (TcPPH<sub>2</sub>) in heterogeneous phase. The indirect identification of the  $^1\text{O}_2$  was achieved by the oxidation of the iodine (I), generating the triiodide ion and detected for the band in 351 nm, the  $^1\text{O}_2$  deactivation was verified with the sodium azide. The photonic flux was determined by actinometry, this flux was 3.21  $\mu\text{Einstein}/\text{L}\cdot\text{s}$  for the phoenix lamp using  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  filter. The oxidation reaction of the 1,4-cyclohexadiene by the singlet oxygen was followed using gas chromatography. In addition, for the product identification was used the technique gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), showing as the only product yield the benzene, and thus indicating the absence of free radicals. In agree with the kinetic studies, it was found a global rate constant of 7,55  $\text{L}/\text{mol}\cdot\text{min}$ , with a reaction order of 2 at 273K.

---

\* Proyecto de Grado

\*\* Facultad de ciencias. Escuela de química. Directores: Martha Cecilia Daza Espinosa y Fernando Martínez Ortega. Codirector :Carlos Enrique Díaz Uribe

## INTRODUCCIÓN

El oxígeno molecular en su estado basal triplete  $^3\text{O}_2$  es el aceptor final de electrones en la cadena respiratoria de las células aerobias y por lo tanto es indispensable para este tipo de células<sup>1</sup>. Sin embargo, puede transformarse a su estado singulete  $^1\text{O}_2$  por la transferencia de energía de un sensibilizador excitado o por reacciones químicas y así oxidar lípidos, ácidos nucleicos, proteínas, ocasionando la muerte celular<sup>2</sup>.

Recientemente en el centro de investigación en catálisis (CICAT) en colaboración con el grupo de investigación en bioquímica teórica (GBQT), de la universidad Industrial de Santander se estudiaron las reacciones de oxidación de antraceno y del ácido linoléico (1,4-dienos) con oxígeno singulete generado química y fotoquímicamente<sup>3,4</sup>.

Estos trabajos concluyen que el oxígeno singulete generado químicamente produce especies radicalarias como el hidroxilo, mientras que en la generación fotoquímica se obtiene el oxígeno singulete como única especie, utilizando como sensibilizadores porfirinas. Adicionalmente, observaron que la tetracarboxifenilporfirina (TcPPH) es el fotosensibilizador con mayor tiempo de vida media en su estado triplete excitado con respecto a las porfirinas metálicas TcPPCu, TcPPZn, y el que genera mayor cantidad de oxígeno singulete, y así degradando el antraceno hacia antraquinona y oxoantrona.

---

<sup>1</sup>JIMENEZ, L.; MERCHANT, H. Molecular Biology. Publicado en 2003. Ed. Pearson Educación. P. 295.

<sup>2</sup>CÁRDENAS, N.; PEDRAZA, J. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. Revista de Educación Química, en prensa. 2006.

<sup>3</sup>LEÓN VILLAMIZAR, Freddy. Oxidación de Linoleato de Metilo con Oxígeno Singulete Generado Químicamente por el Sistema  $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$ . Bucaramanga, 2007, 69 p. Trabajo de grado (Químico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química.

<sup>4</sup>PAEZ, E.; MARTINEZ, F.; DAZA, M.; GRANADOS G.; DIAZ, C. Fotooxidación del antraceno con tetracarboxifenilporfirinas adsorbidas sobre  $\text{TiO}_2$  y  $\text{SiO}_2$  en presencia de radiación visible. En impresión.

En la oxidación de lípidos (Linoleato de Metilo) se ha encontrado que formación de isómeros geométricos (hidroperóxidos), y especies radicalarias intervienen en la reacción, estas especies oxidantes suprimen la selectividad del oxígeno singulete.<sup>5</sup>

En este trabajo se utilizó el 1,4-ciclohexadieno, como molécula modelo para estudiar la reacción del oxígeno singulete con el ácido linoléico, ya que presenta el fragmento 1,4-dieno, hidrógenos bisalílicos y simetría. Esto facilitará la identificación de los productos de oxidación al evitarse la formación de isómeros. Esto permitió estudiarla cinética de esta oxidación, y determinar la constante de velocidad y orden de reacción global de la reacción a 273K.

En los trabajos<sup>6</sup> con sales de molibdeno ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ ) para la generación química de oxígeno singulete para la oxidación del antraceno, se encontró que además de oxígeno singulete, se produce el radical hidroxilo. El radical hidroxilo fue detectado indirectamente por la presencia de antrona y 9,10-dihidrodi-hidroxi-antraceno. Según Goulay y colaboradores<sup>7</sup>, el sistema  $\text{Na}_2\text{MoO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  en ausencia de luz y a una temperatura de 25 °C producen especies radicalarias y oxígeno singulete.

Para evitar la formación de radicales libres, se empleó un sistema fotoquímico que generara exclusivamente oxígeno singulete. El sistema seleccionado fue la tetracarboxifenilporfirina sin metal ( $\text{TcPPH}_2$ ). Existen varios tipos de porfirinas: la libre y con centros metálicos, las cuales estando en su estado triplete excitado transfieren la energía necesaria al oxígeno molecular triplete para generar el oxígeno singulete. El rendimiento cuántico ( $\Phi_\Delta$ ) da información indirecta del tiempo de vida media de la porfirina en su estado triplete, al ser mayor el

---

<sup>5</sup>GREER, A. Christopher Foote's Discovery of the Role of Singlet Oxygen [ $^1\text{O}_2$  ( $^1\Delta_g$ )] in Photosensitized Oxidation Reactions. En: J. Am. Chem. Soc., Acc. Chem. Res., Vol. 39, No 11(2006); p.797-804.

<sup>6</sup>DIAZ, C.; ORTEGA, F.; DAZA, M. Oxidación de antraceno con oxígeno singulete generado químicamente por el sistema molibdato de sodio/peróxido de hidrógeno. En: Revista Colombiana de Química. Vol.37, No.1(2008); p.45 - 53.

<sup>7</sup>GOULAY, F.; REBRION, C.; LE GARREC, J.; LE PICARD, S.; CASONA, A. The reaction of anthracene with OH radicals: An experimental study of the kinetics between 58 and 470 K. En: J. Phys. Chem. Vol.120, No.9 (2005); p. 3132.

rendimiento cuántico, será mayor la generación del oxígeno singulete, según la literatura se reporta un mayor rendimiento cuántico ( $\Phi_{\Delta}$ ) de 0.63 para las porfirinas libres<sup>8,4</sup>.

En la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singulete, se determinó un valor de 7,55[L/mol\*min], para la constante global de velocidad (k) de reacción, por el método de las velocidades iniciales, y un orden de reacción de dos (2), identificando además como único producto el benceno por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM).

Este trabajo de grado hace parte del proyecto “Papel del oxígeno singulete y del radical anión superóxido en la oxidación selectiva de moléculas de interés biológico y ambiental” código 5138, el cual es financiado por Vicerrectoría de Investigación y Extensión.

---

<sup>8</sup>DEROSA, C.; CRUTCHLEY, J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. En: *Coor. Chem. Rev.*, Vols. 233-234 (2002); p. 351-371

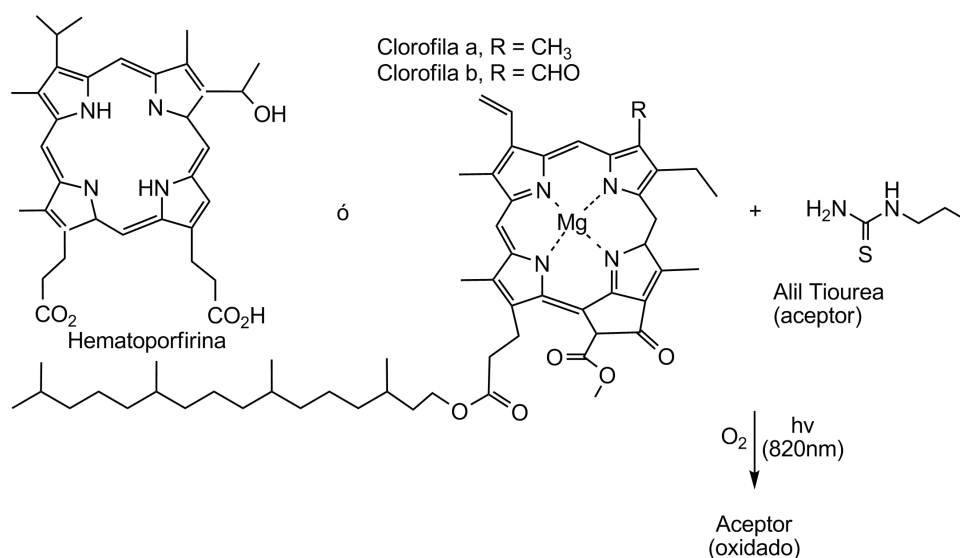
# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1. Oxígeno Singlete

La química del oxígeno singlete es importante en los procesos ambientales, biológicos y terapéuticos<sup>1</sup>, debido a que esta especie inicia la oxidación de varios sustratos orgánicos<sup>2</sup>.

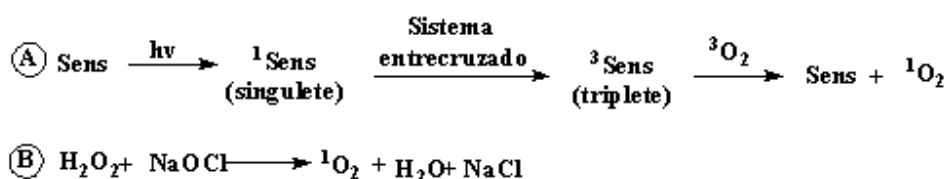
En 1924 G. N. Lewis propuso el estado basal del oxígeno molecular como una especie dirradicalaria triplete<sup>5</sup>. Así mismo en 1920 Mulliken aportó la descripción del orbital molecular del estado basal triplete del O<sub>2</sub>, el estado excitado singlete delta (<sup>1</sup>Δ<sub>g</sub>) y el estado excitado singlete sigma (<sup>1</sup>Σ<sub>g</sub><sup>+</sup>).<sup>5</sup>

En 1935, Graffon reportó la oxidación de un aceptor, una Tiosinamina (alil-tiourea) <sup>5</sup>, por radiación infrarroja (820 nm) de Bacterioclorofila o Hematoporfirina en presencia de <sup>3</sup>O<sub>2</sub>, (Figura 1), basado en la idea que el oxígeno singlete era el intermediario de la reacción.



**Figura 1.** Esquema: oxidación de la alil-tiourea en presencia de <sup>3</sup>O<sub>2</sub> (Graffon).

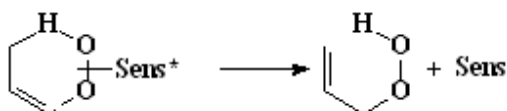
En 1960 se requirieron nuevas técnicas para el estudio de los mecanismos de las reacciones de fotooxidación; la idea de Kautsky de un sensibilizador coloreado para una ruta fotoquímica para la generación del  $^1\text{O}_2$  ( $^1\Delta_g$ ) no era totalmente sólida, hasta que los experimentos fueron conducidos por Foote y Wexler. Sus evidencias soportaron la generación de  $^1\text{O}_2$  por dos rutas independientes: (1) Reacción fotoquímica. *Figura 2A.* y (2) Reacción química. *Figura 2B*<sup>5</sup>.



**Figura 2.** Esquema: generación del  $^1\text{O}_2$ , Foote y Wexler.

En 1963-1964, Kasha y Khan detectaron luminiscencia roja (632nm) del  $^1\text{O}_2$  en soluciones de NaOCl-H<sub>2</sub>O y atribuyeron esto a la emisión del oxígeno singulete<sup>5</sup>. Ogryzlo y sus colaboradores encontraron evidencia para complejos de dos moles [ $2 \text{}^1\text{O}_2$  ( $^1\Delta_g$ )] en reacciones de descargas eléctricas de oxígeno molecular (fase gaseosa). La luminiscencia del oxígeno singulete fue establecida en fase gaseosa y condensada, donde el  $^1\text{O}_2$  decaía a  $^3\text{O}_2$  emitiendo luz a 1268 nm.<sup>5</sup>

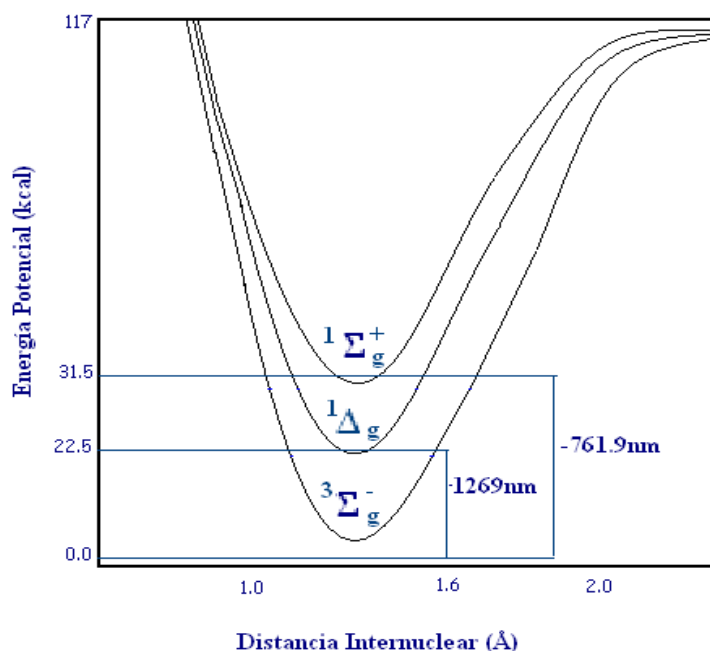
En 1964, después de 23 años Kautsky, Gollnick y Shenck propusieron una versión de mol-óxido (\*Sens-OO\*) del  $^1\text{O}_2$  en reacciones “eno” de alquenos para dar hidroperóxidos alílicos. *Figura 3.*



**Figura 3.** Esquema: interacción sensibilizador-endoperoxido de Kautsky, Gollnick y Shenck.

## 1.2. Propiedades del oxígeno Singlete.

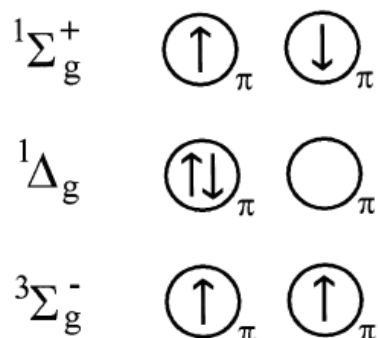
El oxígeno molecular tiene dos estados excitados singletes,  $^1\Delta_g$  y  $^1\Sigma_g^+$ ,  $95 \text{ KJ mol}^{-1}$  ( $22.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) y  $158 \text{ kJ mol}^{-1}$  ( $31.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) respectivamente, valores por encima de la energía del estado triplete como se muestra en la *figura 4*. La configuración electrónica de estos estados se analiza por la estructura de los orbitales  $\pi$ -antienlazantes<sup>9</sup>.



**Figura 4.** Curvas de Energía de Potencial para los tres estados electrónicos del  $O_2$ .

La configuración del orbital molecular en el primer estado excitado,  $^1\Delta_g$ , es:  $^1O_2: [(\sigma s)^2(\sigma^* s)^2(\sigma z)^2(\pi x, y)^4(\pi^* x)^2]$ . En el segundo estado excitado,  $^1\Sigma_g^+$ , la configuración electrónica es idéntica al estado basal, excepto porque los dos electrones tienen espín antiparalelo como se ve en la *figura 5*.

<sup>9</sup>FRIMER, A. The Reaction of Singlet Oxygen with Olefins: the Question of Mechanism. En: Chem. Rev. Vol.79 (1979); p. 359.



**Figura 5.** Representación del O<sub>2</sub> en sus estados triplete (basal) y singlete (excitado).

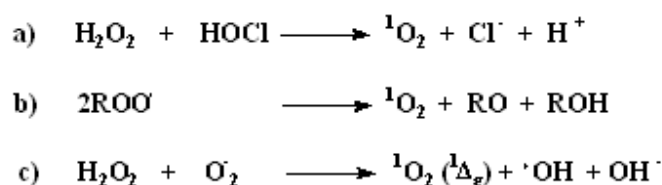
La transición del estado  ${}^1\Delta_g$  al estado  ${}^3\Sigma_g^-$  es espín prohibida y por lo tanto la especie  ${}^1\Delta_g\text{O}_2$  tiene un tiempo de vida mayor. El segundo estado  ${}^3\Sigma_g^-$  excitado del oxígeno tiene un tiempo de vida media menor, debido a que presenta un espín permitido en la transición al estado  ${}^1\Delta_g$ . Estas diferencias en estabilidad se confirman por los tiempos de vida de reactividad de O<sub>2</sub> ( ${}^1\Delta_g$ ) y O<sub>2</sub> ( ${}^1\Sigma_g^+$ ) en 45 minutos y 7-12 s en fase gaseosa y de  $10^{-6}$ - $10^{-3}$  s y  $10^{-11}$ - $10^{-9}$  s en solución respectivamente <sup>9</sup>.

Debido a la metaestabilidad del estado  ${}^1\Delta_g$ , la transición  ${}^1\Delta_g \longrightarrow {}^3\Sigma_g^-$  se observa a 1268,7 nm en espectros de absorción y emisión, a pesar de tener espín y simetría prohibida <sup>9</sup>.

### 1.3. Generación de ${}^1\text{O}_2$

El oxígeno singlete puede generarse de varias fuentes: 1- biológicas, se inicia con el metabolismo de la respiración que desencadena una reacción entre el NADPH y el  ${}^3\text{O}_2$  en presencia de NADPH oxidasa, de la cual se obtiene ácido hipoclorito, peróxidos y oxígeno singlete (*figura 6a*). 2- peroxidación lipídica en la membrana celular (*figura 6b*), a través de la desproporción de radicales peroxil orgánicos. 3- reacción de Haber-Weiss al generar el ión superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), el cual

suministra los electrones para la reducción de peróxidos (*figura 6c*). Como evidencia espectroscópica, la emisión de 1268 nm de la mezcla de  $O_2^-$  y  $H_2O_2$ , para la reacción, hace suponer que como producto primario se forma  $^1O_2$  *in vitro*<sup>10</sup>.



**Figura 6.** Algunas fuentes biológicas del Oxígeno Singlete.

### 1.3.1 Métodos químicos

El oxígeno singlete también se genera por métodos físicos y químicos. Químicamente se puede generar oxígeno singlete en la reacción de hipoclorito sódico con peróxidos (*figura 7*) la cual es una reacción quimiluminiscente exotérmica.

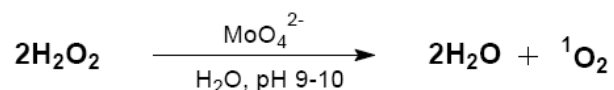


**Figura 7.** Esquema: Descomposición del peróxido de hidrógeno con hipoclorito de sodio

Del mismo modo, la descomposición del peróxido de hidrógeno con iones molibdato ( $MoO_4^{2-}$ ) (*figura 8*) y con iones tungstato ( $WO_4^{2-}$ ) pueden generar  $^1O_2$ . En estos medios de reacción, a pesar de no requerir una fuente lumínica, ni equipos fotoquímicos para la oxidación de sustratos orgánicos con el  $^1O_2$ , presenta

<sup>10</sup>RYTER, W.; TYRRELL, M. Singlet Molecular Oxygen ( $^1O_2$ ): A Possible Effector of Eukaryotic Gene Expression. En: Free Radical Biol. Med., Vol. 24, N° 9 (1997); p.1520-1534.

la desventaja de originar bajos rendimientos por la poca solubilidad de los sustratos y el corto tiempo de vida media del  $^1\text{O}_2$  en estos medios acuosos.<sup>11</sup>



**Figura 8.** Esquema: Descomposición del peróxido de hidrógeno con iones molibdato.<sup>10</sup>

También, los ozónidos como el trifenil fosfina-ozónido y el 1-fosfa-2,8,9-trioxa-adamantano ozónido, pueden por descomposición espontánea producir fosfato y oxígeno singlete en diclorometano como solvente.

### 1.3.2. Métodos físicos

#### 1.3.2.1. Fotosensibilización

La generación de oxígeno singlete por fotosensibilización implica la transferencia de energía desde el estado triplete excitado de un sensibilizador al estado basal triplete de la molécula de oxígeno. El estado triplete excitado del sensibilizador se produce por la absorción de energía radiante<sup>12</sup>.

La generación fotofísica de oxígeno singlete es un método simple y controlable para la producción de  $^1\text{O}_2$ , requiriendo solo oxígeno en su estado basal triplete, luz de una apropiada longitud de onda y un fotosensibilizador capaz de absorber y usar energía para excitar el oxígeno a su estado singlete<sup>9</sup>.

---

<sup>11</sup>NARDELLO, V.; MARKO, J.; VERMEERSCH, G. and AUBRY. <sup>95</sup>Mo NMR and Kinetic Studies of Peroxomolybdic Intermediates involved in the Catalytic Disproportionation of Hydrogen Peroxide by Molibdate Ions. En: Inorg. Chem. Vol. 34 (1995); p. 4950.

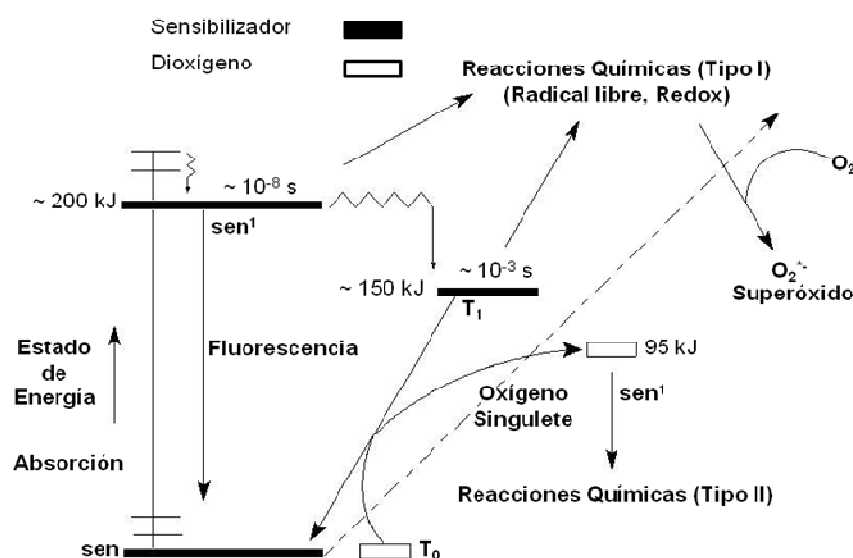
<sup>12</sup>FRESNADILLO, D. Posibilidades para la Provisión de Agua Segura Usando Nuevas Tecnologías, Fotosensibilización y el Sensibilizador: síntesis, propiedades y limitaciones. En: Solar Safe Water (2005); p. 3.

La excitación del sensibilizador es generalmente atribuida por la transición entre su estado basal  $S_0$  y su estado singulete excitado  $S_n$ . La relajación del estado  $S_n$  produce el entrecruzamiento del sistema para generar el estado triplete excitado del sensibilizador  $T_1$ , (estado metaestable). El tiempo de vida del estado  $T_1$  es mayor ( $\mu\text{s}$ ) que el del estado  $S_1$  (ns), reaccionando así por dos rutas, definidas como mecanismos tipo I y II <sup>12</sup>.

Mecanismo tipo I: consiste en la abstracción de un átomo de hidrógeno o la transferencia de un electrón del  $T_1$  del o al sustrato, produciendo radicales libres. Estos radicales pueden reaccionar con el oxígeno para formar especies activas como el radical anión superóxido <sup>12</sup>.

En el mecanismo tipo II, se genera el oxígeno singulete por transferencia de energía desde el estado  $T_1$  del sensibilizador al oxígeno triplete <sup>12</sup>.

Generalmente cada molécula de fotosensibilizador puede producir  $10^3$ - $10^5$  moléculas de  $^1\text{O}_2$  antes de ser degradada a través de un fotodecaimiento por el  $^1\text{O}_2$  u otros procesos. Estos procesos son ilustrados en el diagrama de Jablonski (figura 9) <sup>12</sup>.



**Figura 9.** Diagrama de Jablonski. Generación de especies reactivas de oxígeno:  $\text{O}_2^{\cdot-}$  y  $^1\text{O}_2$ .

- Tipos de sensibilizadores

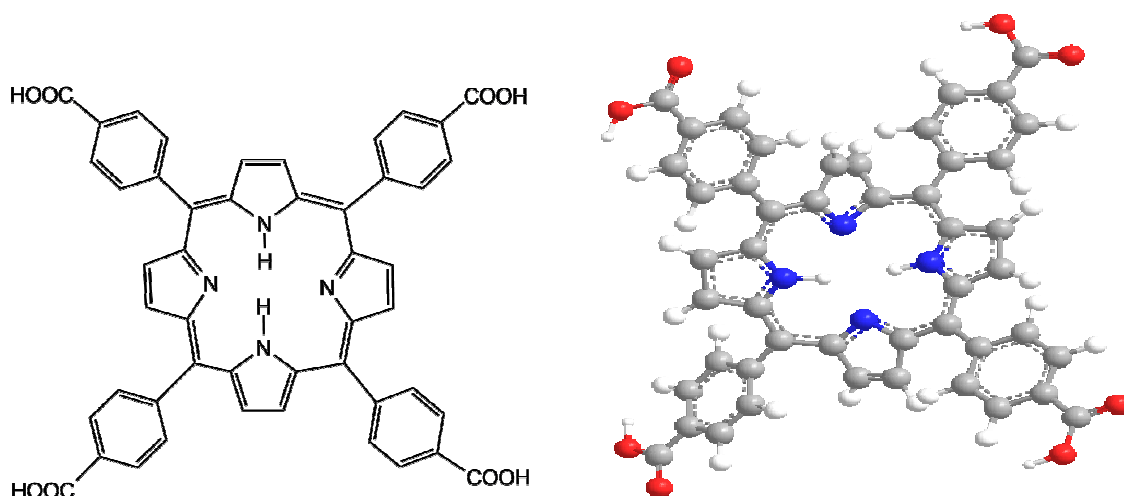
Hay varios tipos de moléculas que absorben en el rango de UV-vis, que pueden generar oxígeno singulete. Estas moléculas deben tener las siguientes características <sup>12</sup>.

- (1) Tener un coeficiente de absorción alto en la región del espectro de interés.
- (2) Generar un estado triplete con energía apropiada, para permitir una transferencia de energía eficiente al oxígeno triplete.
- (3) Producir un alto rendimiento cuántico del estado triplete y un tiempo de vida amplio para este estado ( $\tau_T > 1\mu s$ ). La eficiencia del fotosensibilizador depende de las propiedades fotofísicas de su estado excitado triplete.
- (4) Presentar una alta fotoestabilidad.

Ejemplos de sensibilizadores orgánicos e hidrocarburos aromáticos son la rosa de bengala, el azul de metilo, la fenalenona (fotosensibilizador universal). También, los compuestos de coordinación pueden generar oxígeno singulete, como las porfirinas y las ftalocianinas <sup>12</sup>.

Las porfirinas son sensibilizadores muy utilizados para generar el  $^1O_2$ , debido a que son moléculas que normalmente se encuentran en la células, tienen un amplio rango de absorción UV-vis, y el tiempo de vida de sus estados tripletes excitados es alto.<sup>12</sup>

Una de estas porfirinas es la tetracarboxifenilporfirina, TcPPH<sub>2</sub> (*figura 10*). Esta porfirina libre de metal TcPPH<sub>2</sub> presenta un rendimiento cuántico ( $\Phi_T$ ) del estado triplete de 0.82, y reporta un rendimiento cuántico ( $\Phi_\Delta$ ) de 0.63 para el oxígeno singulete (*tabla 1*). En este trabajo se tuvo en cuenta el tiempo de vida ( $\tau_T$ ) de la H<sub>2</sub>TPP para su selección.<sup>5</sup>



**Figura 10.** Estructura de Tetracarboxifenilporfirina sin metal (TcPPH<sub>2</sub>)

**Tabla .1.** Propiedades fotofísicas de algunas porfirinas.

Complejo	$\Phi_T$	$\tau_T$ ( $\mu$ s)	$\Phi_\Delta$
H <sub>2</sub> TPP	0.82	1380 (300K)	0.63 (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> )
MgTPP		1350 (300K)	0.62 (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> )
ZnTPP	0.88	1200 (300K)	0.83 (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> )
CdTPP		260 (300K)	
PdTPP	1	380 (300K)	0.88 (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> )
PdOEP	1	300 (300K)	

#### 1.4. Principales Reacciones

El <sup>1</sup>O<sub>2</sub> permite la generación de hidrocarburos oxigenados, tal como endoperóxidos por cicloadición [2+4], dioxetanos por cicloadición [2+2], sulfóxidos a partir de la oxidación de sulfuros, fosfinas oxidadas a partir de fosfinas e hidroperóxidos por oxidación de fenoles y reacciones “ene”<sup>10</sup> (Figura11).

En el caso de la adición 1,3 del oxígeno singlete a cis-dienos conjugados, cicloadición [4+2], presenta similitud a la reacción de Diels-Alder, donde el oxígeno singlete es el dienófilo.

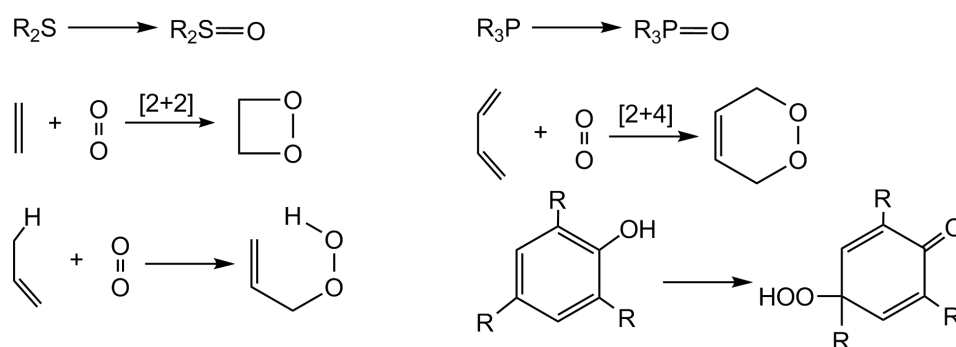
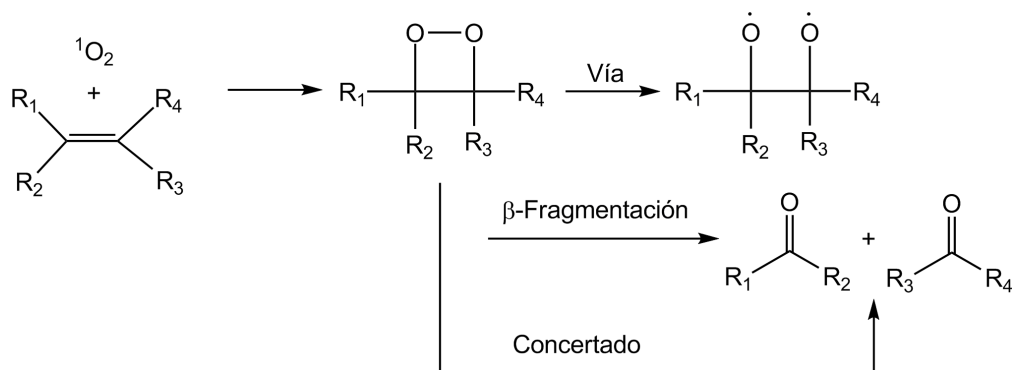


Figura 11. Algunas reacciones del  $^1\text{O}_2$ .

El oxígeno singlete también puede reaccionar con olefinas de dos o más sustituyentes alílicos, causando el cambio de un doble enlace y la formación de un hidroperóxido alílico <sup>5</sup>.

La formación de dioxetanos es posible por cicloadición [2+2] del oxígeno singlete, como resultado de sistemas ricos en electrones  $\pi$  (olefinas) e impedidos estéricamente. Generalmente los dioxetanos solo son estables a bajas temperaturas, sufren descomposición térmica para formar dos derivados carbonílicos <sup>12</sup>.

El mecanismo de descomposición del dioxetano no se ha logrado esclarecer de forma consistente, aunque Mc Crapa y Karns <sup>11</sup> postulan una fragmentación en el enlace O-O y C-C de una manera concertada. Turro <sup>11</sup> estudio este enfoque sugiriendo un cambio en la multiplicidad de espín, que ocurre coincidentalmente cuando se fracciona el enlace. Richardson <sup>11</sup> sugirió un mecanismo 1,4-diradical formando el enlace O-O, seguido de una  $\beta$ -fragmentación (figura 12).



**Figura 12.** Esquema de fragmentación del dioxetano a compuestos carbonílicos.

Por su alta electrofilicidad el  $^1\text{O}_2$  es capaz de oxidar fenoles, sulfuros y aminas; la reacción con fenoles resulta en la formación de hidroperóxidos que se deshidratan para formar *p*-benzoquinonas. Por otro lado, los sulfuros son generalmente oxidados a sulfóxidos, mientras que los bisulfuros reaccionan para formar tiosulfonatos. Las aminas con bajo potencial de ionización pueden oxidarse por el  $^1\text{O}_2$  posiblemente a través de una transferencia de carga <sup>12</sup>.

## 1.5. Detección del oxígeno singulete

Los siguientes métodos de detección evidencian la formación del oxígeno singulete sin ninguna ambigüedad.

### 1.5.1. Métodos directos

- Resonancia paramagnética electrónica

Este método de detección del  $^1\text{O}_2$  es específico para el estado  $^1\Delta_g\text{O}_2$ . Por EPR se puede detectar el  $^1\text{O}_2$  usando el atrapador de radicales: 2,2,6,6-tetrametil-4-

piperidinol. Es necesario que la concentración del oxígeno singlete sea el 10% del oxígeno total<sup>13,14</sup>.

- Método de emisión infrarroja

Este método se basa en determinar la especie activa del oxígeno singlete de acuerdo a las bandas de emisión de la fosforescencia infrarroja (químiluminiscencia), la cual es detectada perpendicularmente con un fotodiodo de germanio y la señal es recolectada en un osciloscopio. La banda de emisión para el oxígeno singlete se encuentra a 1270 nm, indicando el paso de  $^1\text{O}_2$  a  $^3\text{O}_2$ <sup>15,16</sup>.

### 1.5.2. Métodos indirectos

Los métodos indirectos se basan en la capacidad de ciertos reactivos para capturar  $^1\text{O}_2$  originando productos específicos los cuales son indicadores de su presencia. Estos productos se pueden identificar por técnicas instrumentales como espectrometría de masas (MS) y RMN. Entre los reactivos más utilizados como indicadores de la presencia del oxígeno singlete se encuentran el RTC (Rubreno-2,3,8,9-tetracarboxilato de tetrapotasio) y derivados del rubreno, y el 9,10-bis (2-etileno)antraceno disulfato de sodio los cuales originan endoperóxidos, mediante la reacción de cicloadición [ $\bar{4} + 2$ ]<sup>17,18</sup>.

---

<sup>13</sup>PORTER N., TALLMAN K., PRAT. Kinetic Products of Linoleate Peroxidation: Rapid  $\beta$ -fragmentation of Nonconjugated peroxyols. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 123 (2001); p. 11827-11828

<sup>14</sup>STRATTON S.; LIEBLER D. Determination of Singlet Oxygen-Specific versus Radical-Mediated Lipid Peroxidation in Photosensitized Oxidation of Lipid Bilayers: Effect of  $\beta$ -Carotene and  $\alpha$ -Tocopherol. En: Biochemistry. Vol. 36, N° 42 (1997); p. 12911 -12920.

<sup>15</sup>NARDELLO V.; CARON L.; AUBRY J. Reactivity, Chemoselectivity, and Diastereoselectivity of the Oxyfunctionalization of Chiral Allylic Alcohols and Derivatives in Microemulsions. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 126, N° 34 (2004); p. 10692-10700.

<sup>16</sup>CARON L., NARDELLO V., ALSTERS P. Convenient Singlet Oxygenation In Multiphase Microemulsion System. En: Journal of Molecular Catalysis A: Chemical. Vol. 251 (2006); p. 194–199.

<sup>17</sup>BÖHME K., BRAUER H. Generation of Singlet Oxygen from Hydrogen Peroxide Disproportionation Catalyzed by Molybdate Ions. En: Inorg. Chem. Vol. 31 (1992); p. 3468.

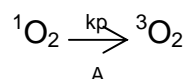
<sup>18</sup>NIU Q., FOOTE C. Singlet Molecular Oxygen Generation from the Decomposition of Sodium Peroxotungstate and Sodium Peroxomolybdate. En: Inorg. Chem. Vol. 31(1992); p. 3472.

También se utiliza el método yodo/yoduro. Este método consiste en adicionar el ión  $I^-$  al medio de reacción. La reacción del oxígeno singulete con el ión  $I^-$  forma el ión  $I_3^-$ , el cual se detecta por las bandas de absorción a 287 y 351nm<sup>19</sup>. La concentración del ión  $I_3^-$  es proporcional a la concentración del  $^1O_2$  presente. El método yodo /yoduro es rápido y presenta alta sensibilidad al oxígeno singulete.

### 1.6. Desactivación del oxígeno singulete

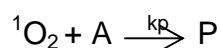
La desactivación del  $^1O_2$  puede darse por dos rutas principales:

#### 1) Desactivación física



En esta interacción A recibe una transferencia de energía.

#### 2) Desactivación química:



En este tipo de desactivación, el oxígeno singulete al decaer a su estado basal reacciona con un sustrato, generando productos.

Los estudios cinéticos realizados sobre la desactivación de esta especie activa del oxígeno via fosforescencia reportan una cinética de primer orden<sup>20</sup>(Figura 13).

---

<sup>19</sup>MOSINGER, J.; OLDRICH, J. Bactericidal Nanofabrics Based On Photoproduction Of Singlet Oxygen. En: J. Mater. Chem. Vol. 17(2007); p. 164-166.

<sup>20</sup>AUBRY J. and BOUTTEMY S. Preparative oxidation of organic Compounds in Microemulsions with Singlet Oxygen Generated Chemically by the Sodium Molibdate/hydrogen Peroxide System. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 119(1997); p.5286.

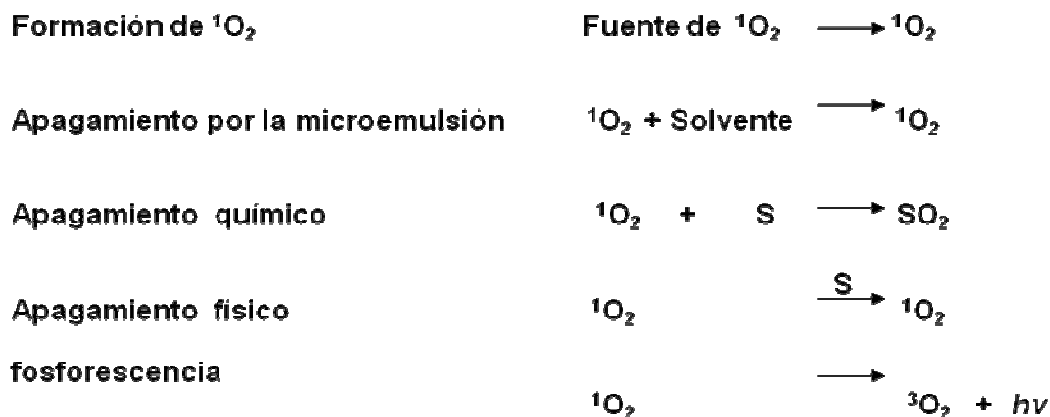


Figura 13. Vías de desactivación del oxígeno singlete.

Las moléculas inhibidores del  $^1\text{O}_2$  poseen una mayor capacidad de capturar esta especie excitada y desactivarla mediante vías física y química. Entre estas se encuentra el  $\beta$ -caroteno<sup>21</sup> y la vitamina B<sub>6</sub> (una piridoxina utilizada por hongos fototóxicos como la *Cercospora keidi*)<sup>22</sup>.

### 1.7. Peroxidación lipídica

La degradación de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) se denomina peroxidación lipídica.

Esta peroxidación es el efecto más importante de las especies reactivas del oxígeno sobre la célula, ya que la destrucción de los PUFA de la membrana junto con la formación de puentes disulfuro en las cadenas de las proteínas y la ruptura de estas, conduce a una pérdida de su permeabilidad y a la muerte celular. *Figura 14*<sup>23</sup>. La susceptibilidad de las membranas biológicas a la peroxidación depende, en gran medida del grado de insaturación y de la posición de los dobles enlaces,

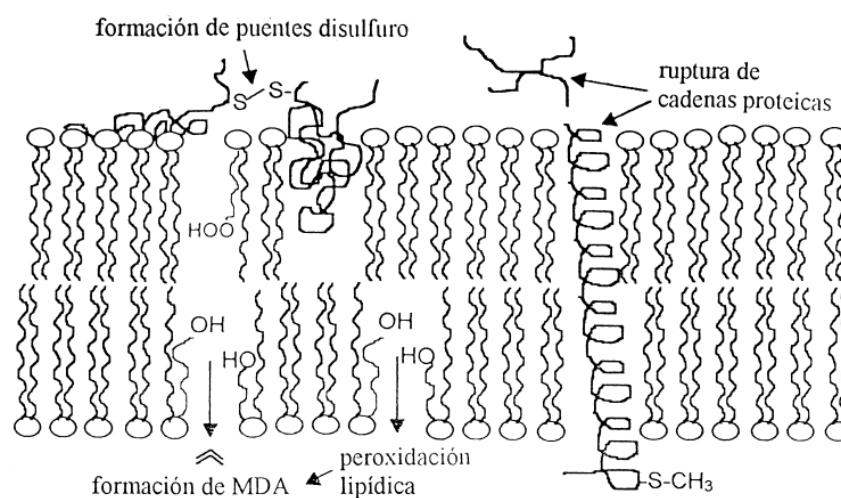
<sup>21</sup>STRATTON, S. and LIEBLER, D. Determination of Singlet Oxygen-Specific versus Radical-Mediated Lipid Peroxidation in Photosensitized Oxidation of Lipid Bilayers: effect of  $\beta$ -Carotene and  $\alpha$ -Tocopherol. *En: Biochemistry*. Vol. 108(1997); p. 17675.

<sup>22</sup>OTHA, B. and FOOTE, C. Characterization of Endoperoxide and Hydroperoxide Intermediates in the Reaction of Pyridoxine with Singlet Oxygen. *En: J. Am. Chem. Soc.* Vol. 124(2002); p.12064.

<sup>23</sup>OGUS, A.; ATALAY, A.; BATEMAN, O.; SLINGSBY, C. Vitamin C Induced Oxidation of Eye Lens Gamma Crystallins. *En: Biochimie* Vol. 80(1998); p. 283-288.

así como de la existencia de iones hierro <sup>24</sup>, ya que son estos los que catalizan en su mayoría las reacciones de oxidación, además de activar el oxígeno en la formación de las especies reactivas del oxígeno (EROs).

El proceso de peroxidación lipídica consta de una serie de reacciones en cadena, que demuestran la capacidad de las EROs para producir daños en la célula <sup>25, 26</sup>.



**Figura 14.** Modelo del daño oxidativo provocado por las especies reactivas del oxígeno (EROs), sobre las membranas.<sup>23</sup>

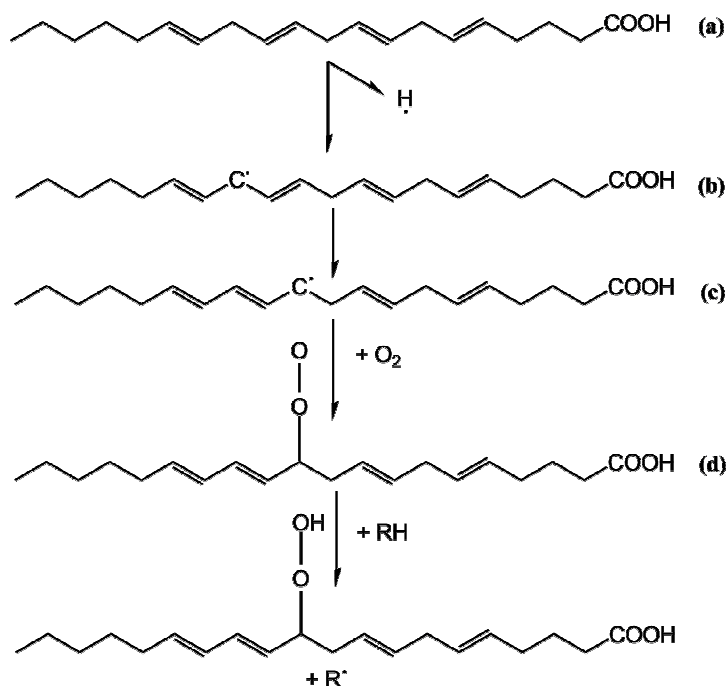
Los PUFA son más lábiles a la oxidación que los ácidos grasos saturados y los monoinsaturados porque los metilenos entre dos dobles enlaces pueden perder fácilmente un hidrógeno (hidrógeno bisalílico). Las especies de oxígeno reactivas que pueden abstraer estos hidrógenos son: el oxígeno singulete, el radical hidroxilo HO<sup>•</sup> y el radical perhidroxilo HO<sub>2</sub><sup>•</sup> <sup>22</sup>.

<sup>24</sup>URSINI, F.; VUGMAN, M.; FERNÁNDEZ, L. Metabolic changes of several adipose depots as caused by aging. *En: Physiology & Behavior*. Vol.50(1991); p. 317-321.

<sup>25</sup>VIARENGO, A.; CANESI, L.; PERTICA M.; LIVINGSTONE D. R. Seasonal variations in the antioxidant defence systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. *En: Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*. Vol.100(1991); p. 187-190.

<sup>26</sup>TORRES. Biología de las Especies de Oxígeno Reactivas. *En: Mensaje Bioquímico*, Vol. 26, (2002); p. 28, 29.

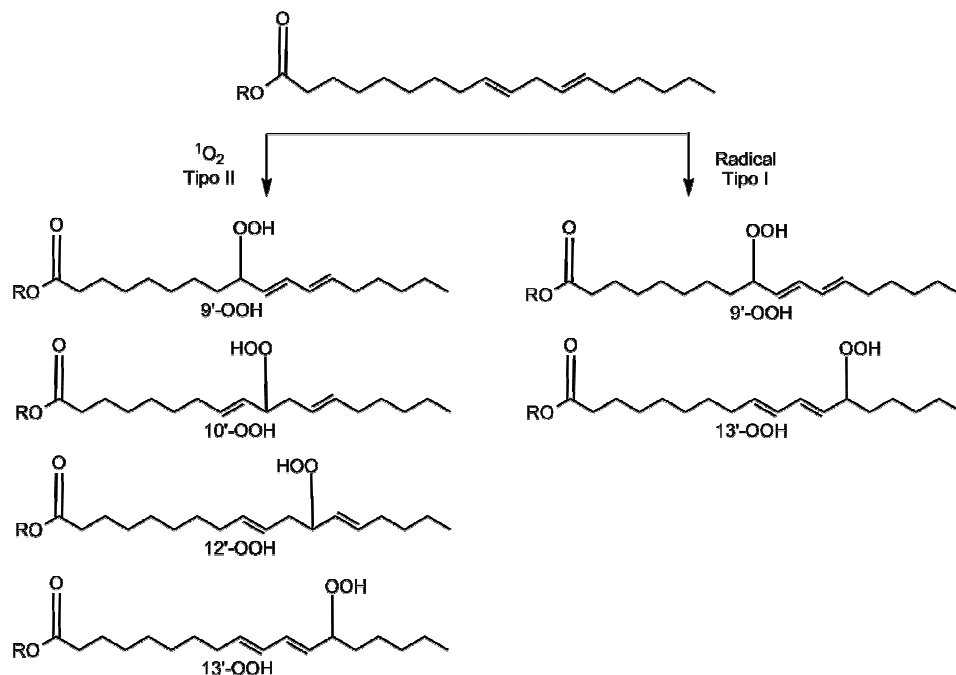
Una vez generado el radical en un ácido graso, éste reacciona con el  $O_2$  para formar un radical peroxilo. El radical peroxilo puede retirar un hidrógeno alílico a otro metileno y de nuevo se forma otro radical, desarrollando una reacción en cadena (figura 15.)<sup>22</sup>.



**Figura 15.** Oxidación de lípidos. Se ejemplifica una posible modificación del ácido araquidónico: a) la abstracción de un hidrógeno alílico, genera un radical en un carbono, b) éste radical puede migrar, con lo cual hay un reacomodo de los dobles enlaces y c) en presencia del dioxígeno se genera un radical peroxilo que d) propagación de la reacción, mediante el retiro de un hidrógeno de otro lípido.

Así en la iniciación se puede generar muchos lipoperóxidos. El  $^1O_2$  genera endoperóxidos con los ácidos grasos poliinsaturados, los cuales se descomponen en presencia de hierro formando radicales alcoxilo y contribuyen a la propagación de la lipoperoxidación. Los lipoperóxidos se pueden reducir mediante la glutatión peroxidasa de fosfolípidos ó son eliminados a través de las fosfolipasas como la fosfolipasa A2, que aumenta durante la estres oxidativa<sup>22</sup>.

Por otra parte el  $^1\text{O}_2$  ataca directamente, mediante una reacción “eno”, donde el doble enlace cambia su lugar. Por ejemplo, el  $^1\text{O}_2$  se adiciona como  $-\text{OOH}$  a grupos linoleicos en las posiciones 9', 10', 12', y 13' (*figura 16.*), por otro parte si atacara un radical solo los hidroperóxidos 9' y 13' se obtendrían, por lo tanto el factor de distribución puede usarse para distinguir entre la lipoperoxidación mediada por  $^1\text{O}_2$  o por un radical <sup>5</sup>.

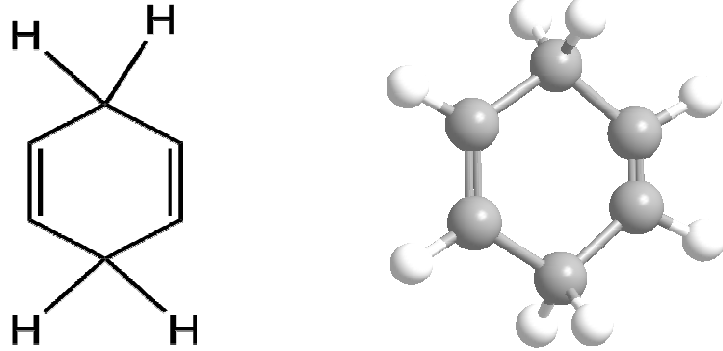


**Figura 16.** Esquema: Peroxidación lipídica con  $^1\text{O}_2$ , mecanismo tipo II.

### 1.8. El 1,4-ciclohexadieno

El 1,4-ciclohexadieno es una molécula simétrica con un sistema dieno no conjugado e hidrógenos bis-alílicos, (*figura 17.*). Cuando esta molécula es atacada por una especie electrofílica como el  $^1\text{O}_2$ , no presenta formación de isomería geométrica y facilita un seguimiento más detallado de la reacción. Al utilizar el 1,4-ciclohexadieno no sólo se facilita el análisis de la reacción, sino que puede

utilizarse como un análogo de los lípidos, debido a que presenta los hidrógenos bisalílicos. Esto puede facilitar la comprensión del proceso de oxidación de los lípidos por el oxígeno singulete.



**Figura 17.** Estructura del 1,4-Ciclohexadieno.

## 2. ESTADO DEL ARTE

La oxidación de 1,4 dienos por  $^1\text{O}_2$  como modelo de oxidación lipídica, ha sido estudiada teóricamente y se ha postulado la formación de moléculas intermediarias como los dioxetanos, que al parecer podrían estar presentes en ésta oxidación<sup>27</sup>. Por otra parte, la inestabilidad de los hidroperóxidos del linoleato de metilo, no permite obtener expresiones cinéticas de la iniciación de oxidación con  $^1\text{O}_2$ , debido a la formación de radicales libres. Si se estudia experimentalmente la oxidación con  $^1\text{O}_2$ , se determinaría si existe o no la formación de dioxetanos, así como la eficiencia del  $^1\text{O}_2$  para iniciar la oxidación de 1,4-dienos, en el caso específico del 1,4-ciclohexadieno.

Samadi<sup>28</sup> y colaboradores estudiaron el hidroperóxido del ácido linoléico (LOOH), a partir de la peroxidación del ácido linoléico, fotosintetizado por ácido tiaprofénico (TPA) y cetonas análogas, con el fin de diferenciar los mecanismos por fotoperoxidación tipo I y tipo II. Se seleccionó el 1,4-ciclohexadieno como molécula modelo, por sus hidrógenos bisalílicos y simetría.

El 1,4-ciclohexadieno coirradiado con benzofenona (BZP), generó como producto principal el benceno (Figura 18), indicando la oxidación del radical ciclohexadienil (6), y la posterior eliminación del grupo peróxido ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), en la mezcla de fotooxidación se observaron productos en cantidades apreciables de la dimerización y reducción del fotosensibilizador (BZP), como el piancol(7) y el bensidrol(8) respectivamente y el entrecruzamiento sensibilizador-dieno-dimero<sup>28</sup>. Los diferentes productos faltantes que se indican en la figura 18, se dieron en cantidades menores. La mezcla de dimeros no es tan representativa con el ácido decarboxitiaprofénico (DTPA) como sensibilizador y también se indica como mayor

---

<sup>27</sup> TEJERO, I.; GONZÁLES, L.; LLUCH, J. Photo-Oxidation of Lipids by Singlet Oxygen, a Theoretical Study. *En: Chem. Phys. Lett.* Vol. 398 (2004); p. 336.

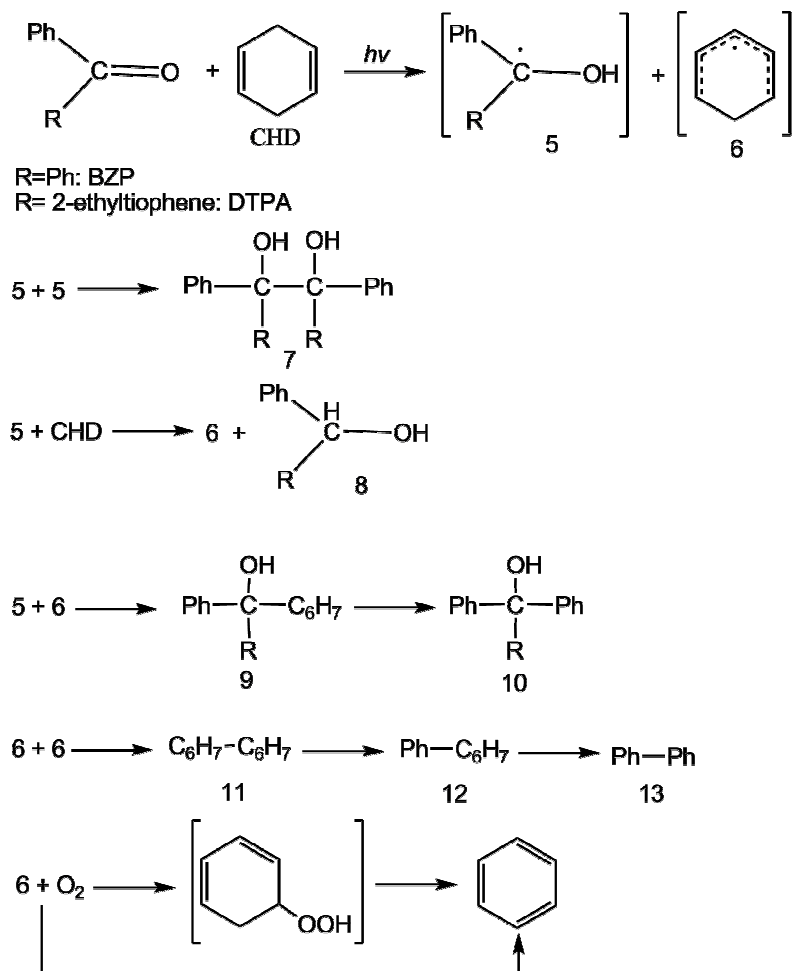
<sup>28</sup> SAMADI, A., MARTÍNEZ, L., MIRANDA, M.; MORERA, I. Mechanism of Lipid Peroxidation Photosensitized by Tiaprofenic Acid: Product Studies Using Linoleic Acid and 1,4-Cyclohexadienes as Model Substrates. *En: Photochem. Photobiol.* Vol. 73(4)(2001); p. 359–365.

producto de la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singlete el benceno  
28

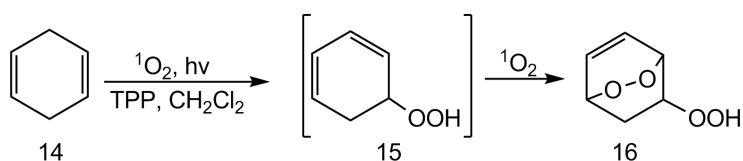
En contraparte, Yardımci, Kaya y Balci<sup>29</sup> encontraron que para la fotooxigenación del 1,4-ciclohexadieno con  $^1\text{O}_2$ , en un sistema de tetrafenilporfirina (TPP), el producto obtenido es un endoperóxido bicíclico (16), en el cual el primer paso es una ene-reacción del oxígeno singlete, para obtener el hidroperóxido (15) intermediario (Figura 19). El sistema dieno conjugado en el hidroperóxido (15), es susceptible a un nuevo ataque por parte del oxígeno singlete, para obtener el dioxetano isomérico(16).

---

<sup>29</sup> YARDIMCI, Ş.; KAYA, N.; BALCI, M. Regioselectivity in the ene-reaction of singlet oxygen with cyclic alkenes: photooxygenation of methyl-substituted 1,4-cyclohexadiene derivatives. En: Tetrahedron, Vol. 62 (2006); p. 10633–10638.



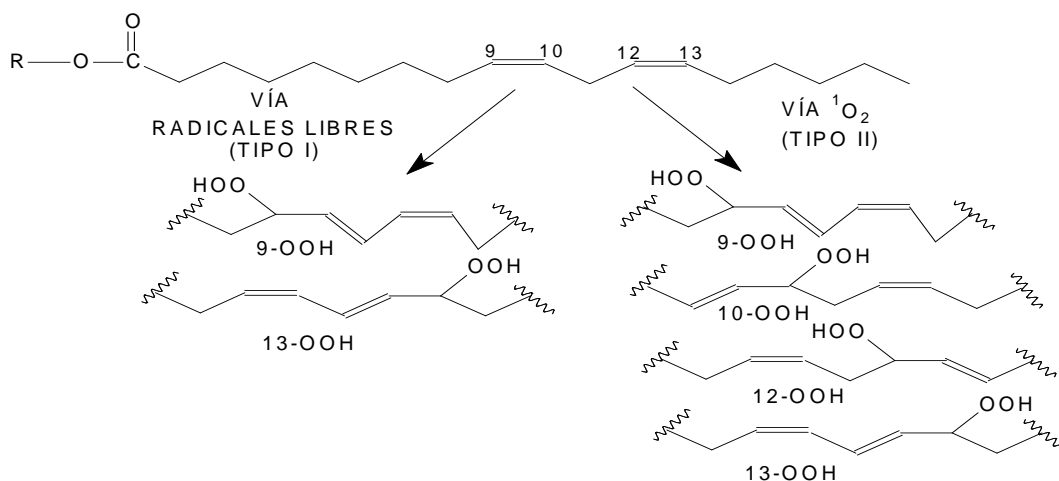
**Figura 18.** Estructuras químicas y rutas de reacción propuestos para los productos formados de la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singlete.<sup>28</sup>



**Figura 19.** fotooxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singlete, en un sistema tetrafenilporfirina y diclorometano.<sup>29</sup>

En cuanto a los procesos fotoquímicos de la oxidación del linoleato de metilo por acción de sensibilizadores como el rosa de bengala, el azul de metileno y las tetrametilporfirinas, se puede llevar cabo vía radicales libres o vía  $^1\text{O}_2$ . Los hidroperóxidos obtenidos en la fotooxidación vía radicales libres se encuentran en

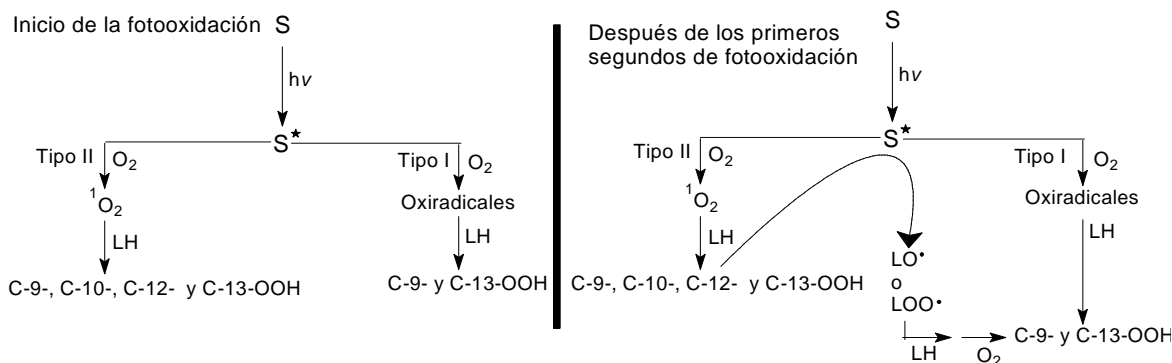
las posiciones C-9 y C-13 de linoleato de metilo, mientras que los obtenidos por la vía  $^1\text{O}_2$  se encuentran en las posiciones C-9, C-10, C-12 y C-13 del mismo lípido. (Figura 20)<sup>30</sup>.



**Figura 20.** Productos de fotooxidación del linoleato de metilo vía radicales libres y oxígeno singlete.<sup>30</sup>

Se ha encontrado que la oxidación vía  $^1\text{O}_2$  no inicia una peroxidación en cadena, pero sus productos hidroperóxidos del linoleato de metilo obtenidos en la reacción de oxidación pueden iniciar una reacción en cadena en presencia de un metal de transición o hasta con el mismo sensibilizador por medio de la pérdida de un hidrógeno de los productos hidroperoxidados. (Figura 21)<sup>26</sup>

<sup>30</sup>STRATTON S. and LIEBLER D. Determination of Singlet Oxygen- Specific versus Radical-Mediated Lipid Peroxidation in Photosensitized Oxidation of Lipid Bilayers: effect of  $\beta$ -Carotene and  $\alpha$ -Tocophorol. *En: Biochemistry*. Vol. 108 (1997); p. 17675.



**Figura 21.** Oxidación fotosensibilizada del linoleato de metilo vía radicales libres y  $^1\text{O}_2$ .<sup>26</sup>

La generación del  $^1\text{O}_2$  mediante sensibilizadores, es un método versátil y conveniente que puede llevarse a cabo en una gran variedad de solventes polares y apolares, en un amplio rango de temperatura (-100 a 100 °C), particularmente es más ventajoso a bajas temperaturas debido a la labilidad de los productos de oxidación<sup>12</sup>. Además los fotosensibilizadores poseen la ventaja de absorber en el rango de visible, brindando grandes lapsos de tiempo para generar  $^1\text{O}_2$ .

En la generación fotoquímica del oxígeno singlete influye el solvente utilizado, incrementando o disminuyendo su tiempo de vida media. Los solventes orgánicos como medio de reacción proporcionan mayor tiempo de vida media al oxígeno singlete, encontrando que el diclorometano es el solvente que se menciona con mayor rendimiento para esta especie oxidante.<sup>31</sup> Aprovechando la poca solubilidad del catalizador  $\text{TcPPH}_2$  en medio apolar, la reacción se realizó en fase heterogénea, brindando una fácil separación del catalizador del medio de reacción y la aplicación de las distintas técnicas de análisis químico.

En este trabajo se estudio la reacción entre el 1,4-ciclohexadieno y el  $^1\text{O}_2$ , generado fotoquímicamente por tetracarboxifenilporfirina. Se determinó la constante y el orden de reacción global de la reacción a 273K.

<sup>31</sup> BÖHME, K.; BRAUER, H. Generation of Singlet Oxygen from Hydrogen Peroxide Disproportionation Catalyzed by Molybdate Ions. *En: Inorg. Chem.* Vol. 31 (1992); p. 3468.

### 3. METODOLOGÍA

Se generó oxígeno singulete ( $^1\text{O}_2$ ) fotoquímicamente mediante el fotosensibilizador tetracarboxifenilporfirina TcPPH<sub>2</sub> en presencia de luz visible.

La reacción se llevó a cabo en fase heterogénea usando como solvente diclorometano.

La detección del  $^1\text{O}_2$  se realizó indirectamente por la fotooxidación del yodo para formar el producto específico triyoduro el cual se determinó por UV-Vis. Para inactivar el  $^1\text{O}_2$  y verificar que la especie oxidante es el  $^1\text{O}_2$  se usó la azida de sodio ( $\text{NaN}_3$ ).

El benceno, producto de oxidación del 1,4-ciclohexadieno con el  $^1\text{O}_2$  se determinó por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM).

#### 3.1. Reactivos y equipos

En el presente trabajo se emplearon los siguientes reactivos: azida de sodio ( $\geq 99\%$ ) (Merck), diclorometano anhidro ( $\geq 99,5\%$ ) (Aldrich), 1,4-ciclohexadieno ( $\geq 97\%$ ) (Sigma), etanol absoluto (Aldrich), 4-carboxibenzaldehído para síntesis (Sigma), ácido propionico (MERCK), Sal de Reinecke  $\text{NH}_4\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{NCS})_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  del 93 % de pureza, SIGMA Aldrich. A.C.S. Y los siguientes equipos: espectrómetro UV-Vis HEWLETT-PARKARD 8453 con arreglo de diodos, cromatógrafo de gases PERKIN ELMER, auto system XL y cromatógrafo de gases-espectrometría de masas (CG-EM).

### 3.2. Síntesis y caracterización del catalizador

*Tetracarboxifenilporfirina sin metal (TcPPH<sub>2</sub>).*

La tetracarboxifenilporfirina sin metal se sintetizó según el método de ADLER<sup>32,33</sup>. El pirrol previamente destilado (0.08 moles) y el 4-carboxibenzaldehído (0.08 moles) se mezclaron con 300 mL de ácido propiónico, y la solución se colocó en reflujo. Luego de 30 minutos de reacción, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El sólido que se obtuvo se lavó con metanol y luego con agua caliente.

La tetracarboxifenilporfirina (TcPPH<sub>2</sub>) se caracterizó por espectrofotometría UV-Vis y por espectrometría infrarroja (IR-FT).

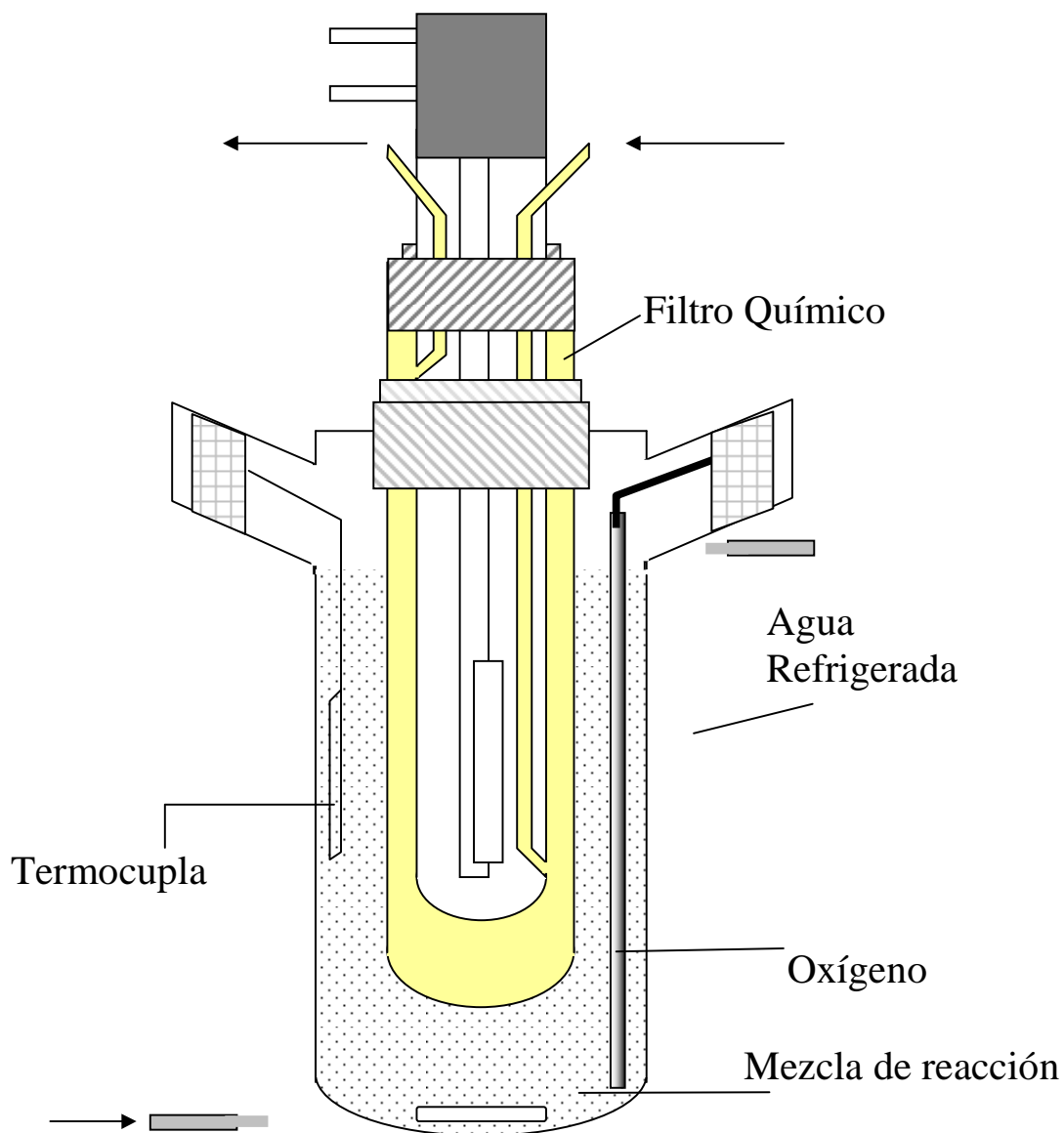
### 3.3. Procedimiento de la reacción de oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singulete

Los experimentos de oxidación del 1,4-ciclohexadieno se realizaron en un fotorreactor usando una lámpara de halógeno de 125 W (Osram) en un vaso cilíndrico pirex con una solución de dicromato de potasio para asegurar que los experimentos de fotooxidación se realizaran sólo por luz visible.

---

<sup>32</sup>ADLER, A.; LONGO, F.; FINARELLI, M.; GOLDMACHER, J.; ASSOUR, J.; KORSKOFF, L. A Simplified Síntesis for meso-Tetraphenylporphin. En: J. Chem. Org. Vol. 32 (1967); p. 476.

<sup>33</sup>LONGO, F.; FINARELLI, M.; KIM, J. The Synthesis and Some Physical Properties of *ms*-Tetra(pentafluorophenyl)-porphin and *ms*-Tetra(pentachlorophenyl)porphin. En: J. Chem. Heterocyclos, Vol. 6 (1969); p. 927.



**Figura 22.** Montaje de reacción para una fotorreacción por luz visible y filtro químico.

Los experimentos de irradiación se realizaron con 10mL de 1,4-ciclohexadieno con diferentes concentraciones: 0.02M, 0.03M, 0.04M, 0.05M, y 0.06M en diclorometano; se usó 0.01 g de catalizador tetracarboxifenilporfirina. Todas las reacciones se llevaron a cabo con burbujeo de oxígeno variando la temperatura desde 5°C a 25°C. La disminución en solución del 1, 4-ciclohexadieno se determinó por cromatografía de gases.

### 3.4. Determinación de la intensidad de luz incidente

El flujo fotónico incidente por unidad de volumen ( $I_0$ ) se realizó por actinometría química, que consiste en la determinación del cambio fotoquímico que sufre una solución con rendimiento cuántico conocido ( $\Phi$ )<sup>34</sup>.

La sal de Reinecke de potasio,  $K[Cr(NH_3)_2(CNS)_4]$ , es un actinómetro químico que puede ser utilizado en la región UV/Vis del espectro, ya que presenta un rendimiento cuántico constante en el rango de 316–750 nm. La determinación del flujo fotónico incidente de la lámpara Phoenix de 220 [V],  $I_0$ , se basa en la liberación del ión tiocianato, ( $SCN^-$ ) a partir de la irradiación de dicha sal, de acuerdo a la reacción (1). Este ión tiocianato puede medirse fácilmente por métodos espectrofotométricos. Se empleó el procedimiento recomendado por Wegner<sup>35</sup> y Cornet<sup>36</sup>.



La generación de los iones  $SCN^-$  ( $ms^{-1}$ ) se determinó por espectroscopia, midiendo la absorción del complejo coloreado a 452 nm. El complejo se preparó tomando una solución 0,1 mol/L de  $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$  en una solución 0,5 mol/L de  $HClO_4$ .

En la tabla 2 se indican las concentraciones que absorben la luz con  $\lambda < 600$  nm. Por encima de los 600 nm, se necesitan hacer correcciones.

---

<sup>34</sup>KUHN, H.; BRASLAVSKY, S.; SCHMIDT, R. Chemical Actinometry. En: Pure Appl. Chem. Vol. 76, No. 12 (2004); p. 2105–2146.

<sup>35</sup>WEGNER, E. and ADAMSON, A. Photochemistry of Complex Ions. III. Absolute Quantum Yields for the Photolysis of Some Aqueous Chromium(III) Complexes. Chemical Actinometry in the Long Wavelength Visible Region. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 88 (1966); p.394–404.

<sup>36</sup>CORNET, J. F.; MARTY, A.; GROS, J.B. Revised Technique for the Determination of Mean Incident Light Fluxes on Photobioreactors. En: Biotechnol. Prog. Vol.13 (1997); p. 408–415.

**Determinación de [SCN<sup>-</sup>].** El flujo fotónico incidente se determinó posteriormente a la fotólisis de una solución de 10 mL de sal potasio de Reinecke,  $K[Cr(NH_3)_2(CNS)_4]$ , 0,01 [M]. En determinados intervalos de tiempo, se analizó alícuotas de 100 $\mu$ L por absorción a 452 nm inmediatamente después de agregar un volumen de la sal de Reinecke, 3 volúmenes del reactivo de hierro y 20 volúmenes de agua destilada y desionizada. La producción de SCN<sup>-</sup> se determina utilizando una curva de calibración con patrones estándares establecidos.

La fotólisis de una solución de 10 mL de sal de Reinecke de potasio,  $K[Cr(NH_3)_2(CNS)_4]$ , 0,01 [M], se realizó en un reactor tipo Batch, con capacidad 12 mL. Se tomaron alícuotas de 100 $\mu$ L a 0, 60, 120, 240, 480, 660, y 900 s, a las cuales se les adicionó los reactivos respectivos e inmediatamente se analizaron las absorbancias a 452 nm.

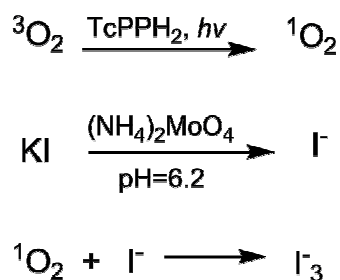
**Tabla 2.** Valores de rendimiento cuántico, en la formación de SCN<sup>-</sup>, sugeridos por Calvert y Pitts<sup>37</sup> y Wegner y Adamson<sup>35</sup>.

Longitud de onda [nm]	Concentración KCr(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NCS) <sub>4</sub> / [mM]	Rendimiento cuántico [mol formado / Einstein absorbido]
350	3,00	0,39
392	5,00	0,32
416	8,00	0,31
452	10,00	0,31
504	5,00	0,30
520	4,00	0,29
545	5,00	0,28
585	10,00	0,27
600	25,00	0,28
676	45,50	0,27
713	46,00	0,28
735	45,00	0,30
750	48,00	0,27

### 3.5. Identificación y determinación del oxígeno singlete

La determinación se realizó con el método yodo / yoduro, el cual se escogió por su rapidez y alta sensibilidad ante el oxígeno singlete. El método consiste en adicionar el ión yoduro (I<sup>-</sup>) al medio de reacción. El oxígeno singlete oxida a el ión triyoduro (I<sub>3</sub><sup>-</sup>) (figura 23), el cual se detecta por las bandas de absorción a 287 y 351nm. La concentración del I<sub>3</sub><sup>-</sup> es proporcional a la concentración del oxígeno singlete presente en la reacción<sup>19</sup>.

<sup>37</sup>CALVERT, J. and PITTS, N. Photochemistry. Willey. New York. (1966); p. 780.



**Figura 23.** Reacción del ión yoduro con oxígeno singlete.

Por este método es posible detectar de manera cuantitativa la presencia del oxígeno singlete. Para corroborar que el oxígeno singlete es la única especie reactiva presente en la oxidación del yoduro, se adicionó azida de sodio. La azida de sodio desactiva el oxígeno singlete y por tanto no se producirá el ión triyoduro.

### **3.6. Determinación de la expresión cinética de la reacción de oxidación del 1,4-Ciclohexadieno con el ${}^1\text{O}_2$**

La determinación de las constantes de velocidad ( $k'$ ) del proceso de oxidación, se realizó mediante el método de las velocidades iniciales, donde se usan las diferencias finitas para cada uno de los experimentos a partir de las distintas concentraciones iniciales, utilizando las pendientes de las curvas de concentración contra tiempo<sup>38</sup>. Se decidió trabajar con las velocidades iniciales porque al inicio de la reacción se puede tener la certeza de las especies reaccionantes. Por el contrario, en etapas posteriores pueden aparecer productos intermedios o presentarse productos que interfieran en el curso de la reacción.

Haciendo uso de la ecuación de Arrhenius ( $k=Ae^{-E_a/RT}$ ), se determinó la energía de activación, en el rango entre 5°C y 25°C a presión atmosférica (680 mmHg). La desaparición del sustrato se siguió mediante la técnica de cromatografía de gases.

<sup>38</sup>LAILER K. Cinética De Las Reacciones. Ed. Alhambra. Madrid. (1971) p.7

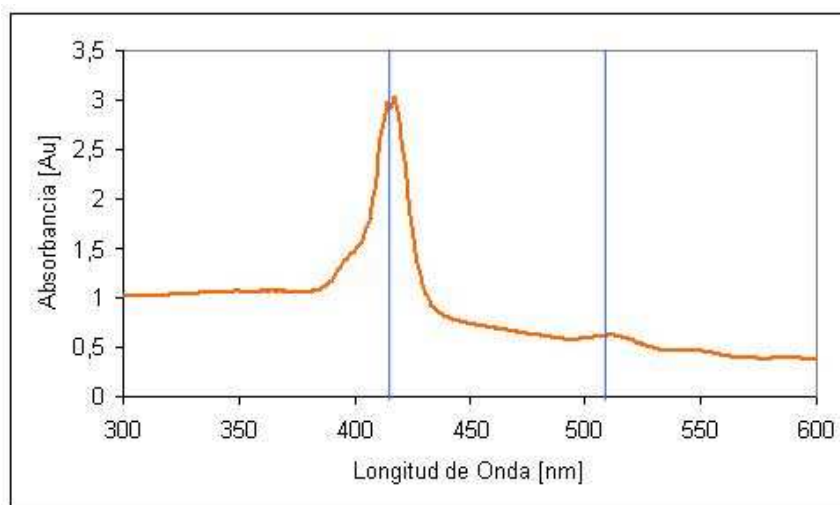
### **3.7. Determinación del producto de oxidación del 1,4-ciclohexadieno con $^1\text{O}_2$ .**

Se determinó el producto de oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singulete en un cromatógrafo de gases Agilent, modelo 6890, con un detector selectivo de masas, modelo 5973, y una columna DB-5MS (60 m x 0.25mm x 0.25 $\mu\text{m}$ ), se uso una velocidad de flujo del gas de arrastre (He) de 1 mL/min. Una alícuota de 2  $\mu\text{L}$  de la muestra se inyectó con división (split) en el puerto de inyección. El programa de temperatura se mantuvo durante 5 min en 45 $^{\circ}\text{C}$ , con una velocidad de 4  $^{\circ}\text{C}$  /min, hasta 150  $^{\circ}\text{C}$ , durante 2 min, con una velocidad de 5  $^{\circ}\text{C}$  /min, hasta 250 $^{\circ}\text{C}$  durante 5min, y con una velocidad de 10min, hasta 275 $^{\circ}\text{C}$  durante 15min y el tiempo total de análisis fue de 75.75 min. Las condiciones en el detector fueron: 70 eV, impacto electrónico, rango de masas entre 30 y 450 m/z: EM voltaje (A-tune 200 V), frecuencia de barrido 20 Hz y temperatura 250  $^{\circ}\text{C}$ .

## 4. RESULTADOS Y DISCUSION

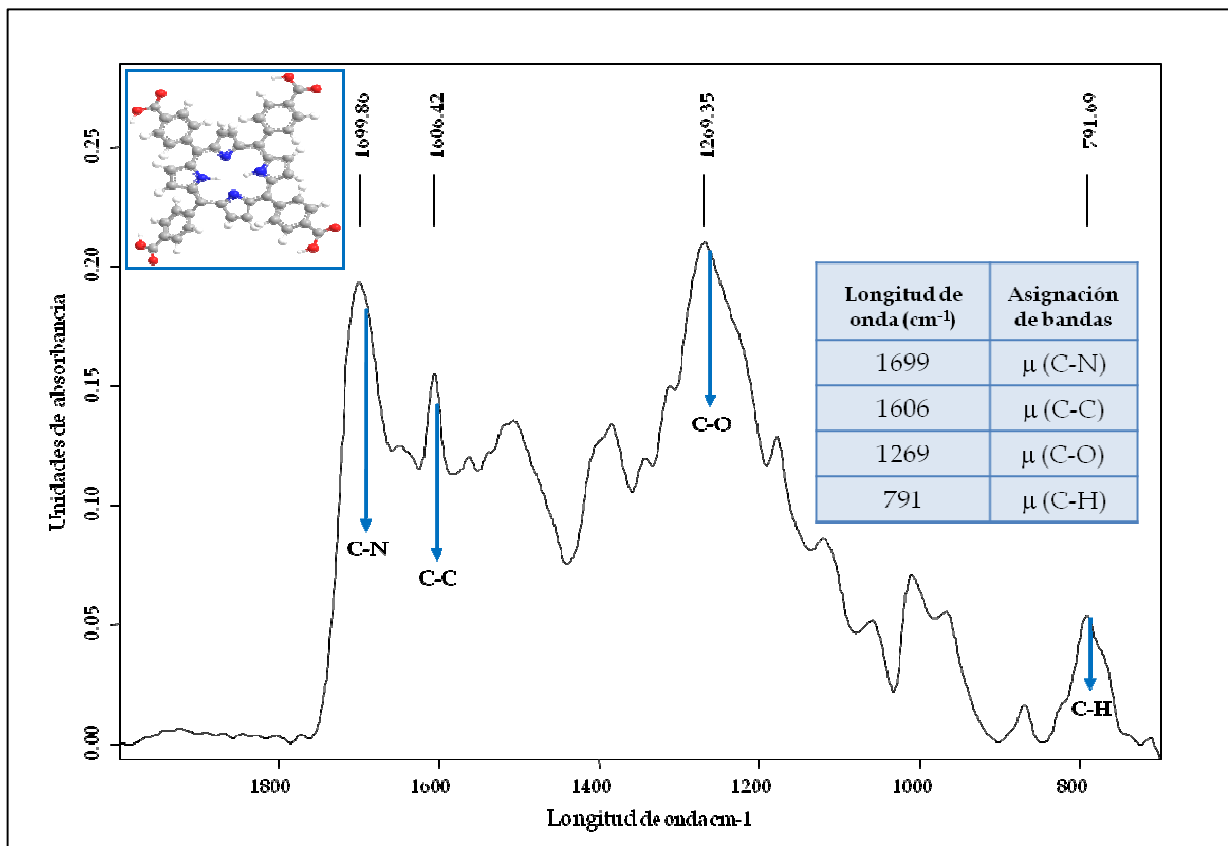
### 4.1. Caracterización de la tetracarboxifenilporfirina (TcPPH<sub>2</sub>)

La tetracarboxifenilporfirina, en el espectro UV-Vis la banda solet en el rango de 400-450 nm y la banda Q entre el rango de 500-700 nm correspondiente a las transiciones  $\pi-\pi^*$  del macrociclo conjugado, (Figura 24). En el espectro infrarrojo se identificaron las bandas descritas y sus correspondientes enlaces, y por comparación con la estructura de la porfirina (Figura 25) se ratificó la identificación del fotosensibilizador, principalmente por los enlaces nitrógeno-hidrógeno (N-H) del macrociclo conjugado y los sustituyentes carboxi con los enlaces oxígeno-hidrógeno (O-H) y carboxilo (C-O)<sup>39</sup>.



**Figura 24.** Espectro UV-Vis de la tetracarboxifenilporfirina.

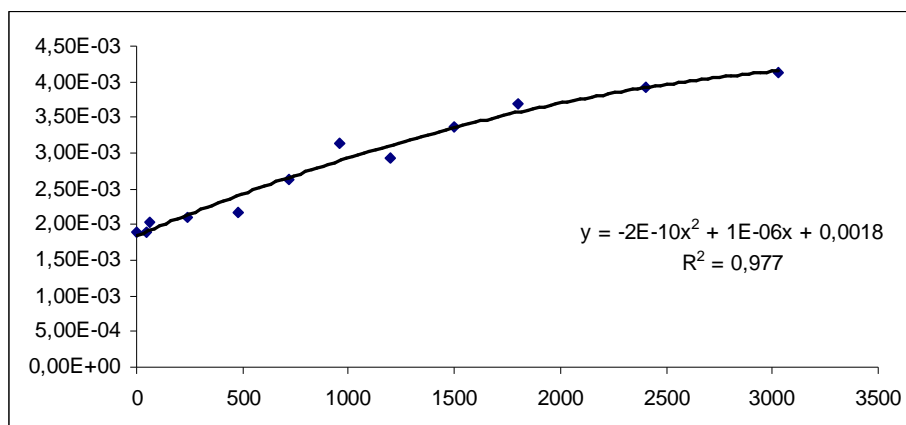
<sup>39</sup>LAN, M.; ZHAO, H.; YUAN, H.; JIANG, C.; ZUO, S.; JIANG, Y. Absorption and EPR spectra of some porphyrins and metalloporphyrins. En: Dyes and Pigments. Vol. 74 (2007); p. 357-362.



**Figura 25.** Bandas IR características de la tetracarboxifenilporfirina (TcPPH<sub>2</sub>).

#### 4.2. Determinación del flujo fotónico incidente ( $I_0$ )

La Figura 26, muestra la concentración molar de SCN<sup>-</sup> generado a partir de la fotólisis del actinómetro químico en función del tiempo.

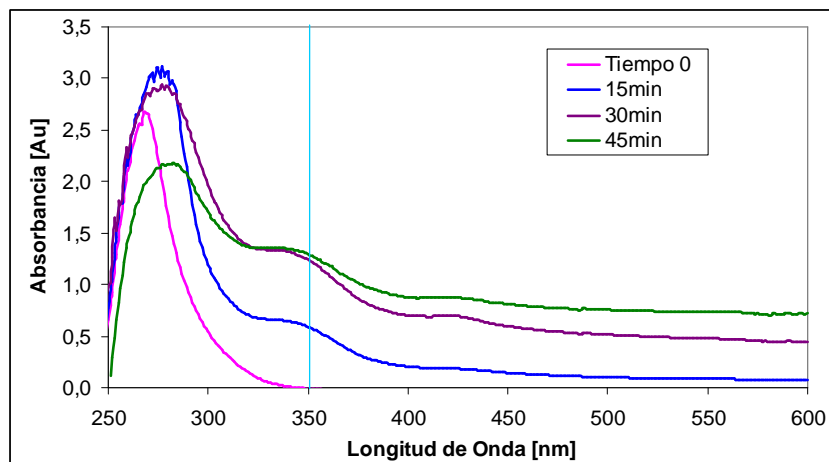


**Figura 26.** Concentración de  $\text{SCN}^-$  generado a partir de la fotólisis de una solución de Sal de Reinecke de potasio,  $\text{K}[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{CNS})_4]$ , 0,01 [M].

De acuerdo a la ecuación de regresión lineal obtenida en la fotólisis de la sal de Reinecke, (ver figura 26), el valor del flujo fotónico es de  $3,21 \mu\text{Einstein}/\text{L} \cdot \text{s}$  para la lámpara Phoenix con filtro de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .

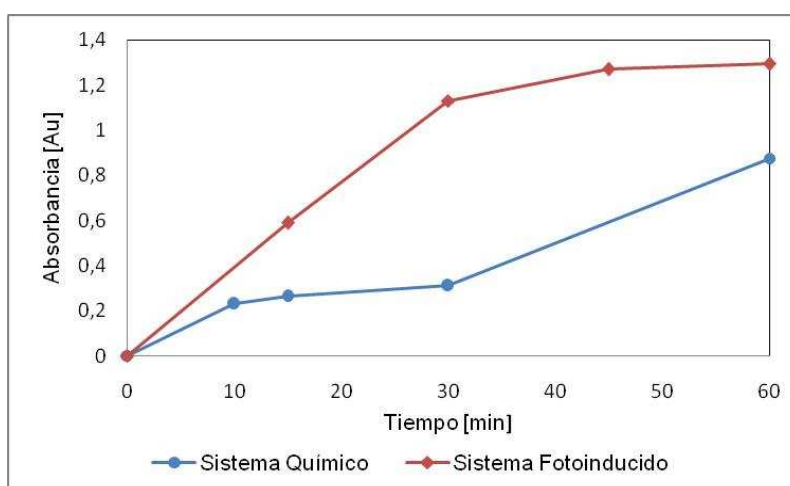
#### 4.3. Identificación indirecta del oxígeno singulete.

El método de yodo/yoduro permite determinar el oxígeno singulete, determinando la absorción del ión triyoduro a 350nm (Figura 27). La absorbancia aumenta a medida que transcurre la reacción (Figura 28) y comprueba la generación del  $^1\text{O}_2$  por los sistemas químico y fotoquímico.



**Figura 27.** Determinación Indirecta del  $^1\text{O}_2$ : cambio de la intensidad de la banda a 350nm del  $\text{I}_3^-$ , generación fotoquímica.

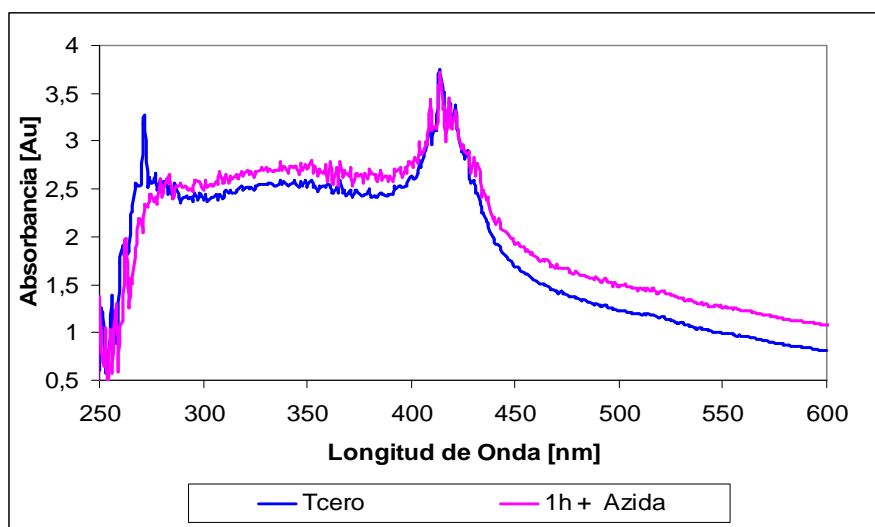
De acuerdo a la figura 27, la generación del ión triyoduro es proporcional a la concentración del oxígeno singlete, el que se encuentra en exceso. El aumento en la absorbancia en la banda de 350nm es notoria de 0-15min y de 15-30min, sin embargo en el rango de 30-45min, el aumento no es tan evidente, debido a que el reactivo de yoduro, es el reactivo limitante y en ese instante se presenta un equilibrio, deteniendo la formación del ión triyoduro.



**Figura 28.** Determinación Indirecta del oxígeno singlete por generación química y fotoquímica.

Como se puede apreciar en la figura 28, en el sistema fotoquímico se observa una tendencia hacia el equilibrio. Éste es alcanzado a los 45 minutos de irradiación. Indicando una producción máxima de oxígeno singlete a partir del oxígeno molecular. Por el contrario para el sistema químico se aprecia que la generación del  $^1\text{O}_2$  es menor y depende de la adición del peróxido de hidrógeno, de tal forma que entre 10 y 15 minutos ocurre la reacción estequiométrica. Mientras que el aumento entre los 30 y 60 minutos se debe a un incremento por efecto de una adición adicional de peróxido de hidrógeno.

Para corroborar que el  $^1\text{O}_2$  es el agente oxidante generado, se adicionó azida de sodio (Figura 29), un desactivador eficiente del  $^1\text{O}_2$  a  $^3\text{O}_2$ , al sistema de reacción. En su presencia no se observa la banda de absorción a 350nm, indicando la no formación del ion triyoduro.



**Figura 29.** Desactivación del oxígeno singlete con Azida de Sodio, en el sistema fotoquímico.

De acuerdo con la figura 29, se estableció un tiempo cero, en el cual no ocurre reacción y no hay señal a 350nm, pero después de una hora de reacción se observa que la absorbancia en esta banda no cambia, lo cual confirma el bloqueo del oxígeno singlete con la azida de sodio.

La señal que se observa entre 400-450nm, corresponde a la tetracarboxifenilporfirina (TcPPH<sub>2</sub>).

#### 4.4. Determinación de la expresión cinética de la reacción de oxidación del 1,4-Ciclohexadieno con el <sup>1</sup>O<sub>2</sub>

A partir de los datos de concentración del 1,4-ciclohexadieno en el medio de reacción medidos a diferentes tiempos de reacción, se calcularon por el método diferencial las velocidades iniciales de la reacción, para cada uno de los experimentos a partir de las distintas concentraciones iniciales, utilizando las pendientes de las curvas concentración vs tiempo, de acuerdo a:

$$r_0 = - \left. \frac{dC}{dt} \right|_{t=0}$$

La determinación de las pendientes se resolvió haciendo uso de métodos numéricos. En este trabajo se calcularon por el método de las diferencias finitas. La derivada de la concentración con respecto al tiempo esta definida por:

$$\frac{dC}{dt} = \lim_{h \rightarrow 0} \frac{C(t+h) - C(t)}{h}$$

Como  $h$  tiene un valor fijo no nulo, en lugar de aproximarse a cero, entonces:

$$\frac{C(t+h) - C(t)}{h} = \frac{\Delta[C](t)}{h}$$

En la diferencia puede ser considerada un operador diferencial que hace corresponder la función  $C$  con  $\Delta C$ , según el teorema de Taylor:

$$\Delta = hD + \frac{1}{2}h^2D^2 + \frac{1}{3}h^3D^3 + \dots = e^{hD} - 1$$

$D$  es el operador derivada que hace corresponder a  $C$  con su derivada  $C'$ , finalmente invirtiendo la exponencial:

$$hD = \log(1+\Delta) = \Delta - \frac{1}{2}\Delta^2 + \frac{1}{3}\Delta^3 - \dots$$

Los dos primeros términos de la serie llevan a:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{\Delta[C](t) - \frac{1}{2}\Delta^2[C](t)}{h} = -\frac{C(t+2h) - 4C(t+h) + 3C(t)}{2h}$$

Utilizando los tres primeros puntos  $(t_0, C_0)$ ,  $(t_1, C_1)$ ,  $(t_2, C_2)$ ; cuyas abscisas equidistan  $h$  ( $h=t_2-t_1=t_1-t_0=5$  min), en función de sus ordenadas se obtiene que:

$$Velocidad\ inicial = \frac{C_2 - 4C_1 + 3C_0}{2h}$$

Donde,

$C_0$ : concentración del 1,4-CH a 0min.

$C_1$ : concentración del 1,4-CH a 5min.

$C_2$ : concentración del 1,4-CH a 10min.

$h$ : es el delta del tiempo transcurrido en cada toma de muestra (5)

Se calcularon las velocidades iniciales mostradas en la tabla 3.

**Tabla 3.** Velocidades iniciales con oxígeno singulete \*  $10^{-5}$  (mol.min $^{-1}$ )

[1,4-CH] x 10 $^{-3}$ (mol/L)	2,00	3,00	4,00	5,00	6,00
T (K)					
<b>283</b>	0,31	0,49	2,65	3,06	4,43
<b>293</b>	0,59	0,93	4,89	6,71	11,72
<b>303</b>	2,18	3,21	4,94	9,02	12,48
<b>313</b>	3,25	4,88	5,07	10,05	13,29
<b>323</b>	5,39	6,88	12,07	12,27	15,29

Para determinar las constantes y el orden de reacción se trabajó considerando la concentración de la especie oxidante en exceso y utilizando la ecuación:

$$v = k' [1,4\text{-CH}]^n$$

Tomando logaritmo a ambos lados de la ecuación:

$$\ln v = \ln k' + n \ln [1,4\text{-CH}]$$

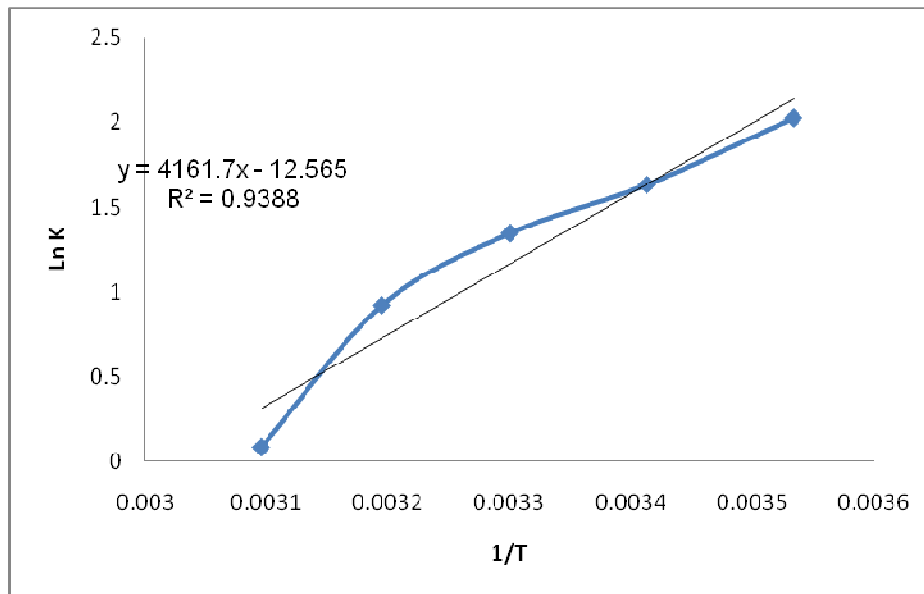
Aplicando regresión lineal ( $y = mx + b$ ), donde el orden de reacción ( $n$ ) es la pendiente y el  $\ln k'$  es el punto de intersección  $b$ . Se obtuvo en promedio  $n = 1.99$ , lo que lleva a una aproximación de orden 2. De acuerdo al punto de intersección  $b$  se despeja una constante de velocidad para el proceso de oxidación ( $k'$ ) para cada una de las temperaturas, para determinar la energía de activación, utilizando la ecuación de Arrhenius y su logaritmo:

$$k(T) = A e^{-E_a/RT} ; \quad \ln k(T) = -E_a/RT + \ln A$$

De acuerdo a la figura 30, y despejando la pendiente, la energía de activación es de 34,57 kJ/mol.K.

La ecuación de velocidad para la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singulete a 25°C es:

$$V = (7,55 \text{ L/mol} \cdot \text{min}) \cdot [1,4\text{-CH}]^2$$



**Figura 30.** Determinación de la Energía de Activación.

Se debe resaltar que no existen datos cinéticos ni termodinámicos para reacciones de lipoperoxidación o moléculas modelos de este tipo de reacciones, donde se garantice solo la existencia de  $^1O_2$ , ya que en el caso de los ácidos grasos, sus respectivos hidroperóxidos se descomponen a radicales, y afectan la cinética y el mecanismo.

El porcentaje de conversión del 1,4-ciclohexadieno se calculo con la siguiente expresión:

$$\% \text{conversión} = ([1,4\text{-CH}]_i - [1,4\text{-CH}]_f) * 100 / [1,4\text{-CH}]_i$$

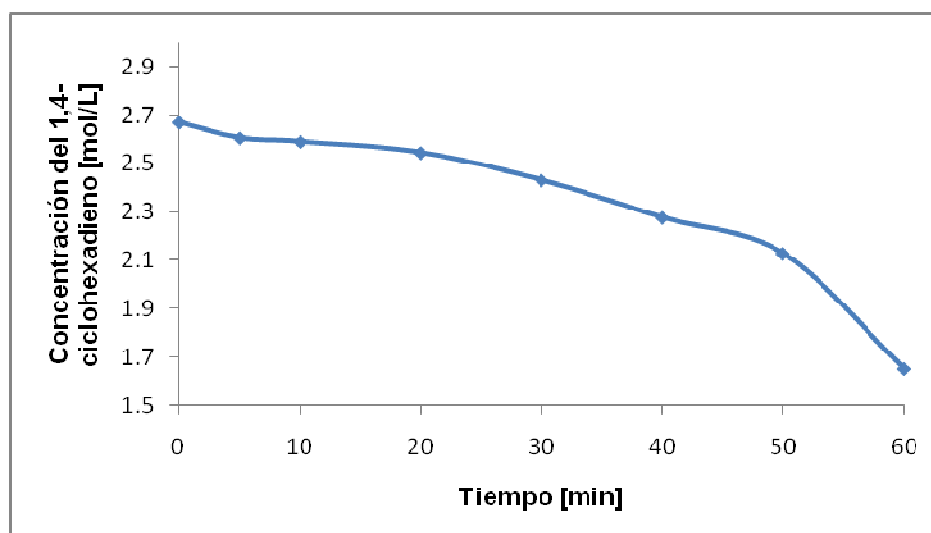
Donde  $[1,4\text{-CH}]_i$  es la concentración inicial del 1,4-ciclohexadieno y  $[1,4\text{-CH}]_f$  es la concentración del 1,4-ciclohexadieno en un tiempo determinado.

**Tabla.4.** porcentaje de conversión del 1,4-ciclohexadieno en su oxidación con  $^1\text{O}_2$  generado fotoquímicamente, en función del tiempo.

Tiempo(min)	Relación de Áreas ( $A_1/A_2$ )	[1,4-CH] * $10^{-3}$ (mol/L)	% Conversión
0	1,43	2,67	0
5	1,39	2,61	2,39
10	1,38	2,59	2,99
20	1,36	2,54	4,68
30	1,30	2,43	8,93
40	1,22	2,28	14,72
50	1,14	2,13	20,29
60	0,89	1,65	38,14

Donde,  $A_1$ : Área del [1,4-CH] ;  $A_2$ : Área del n-heptano (patrón interno)

El % de conversión del 1,4-ciclohexadieno después de 60min de su oxidación con  $^1\text{O}_2$  fue del 38.14%.

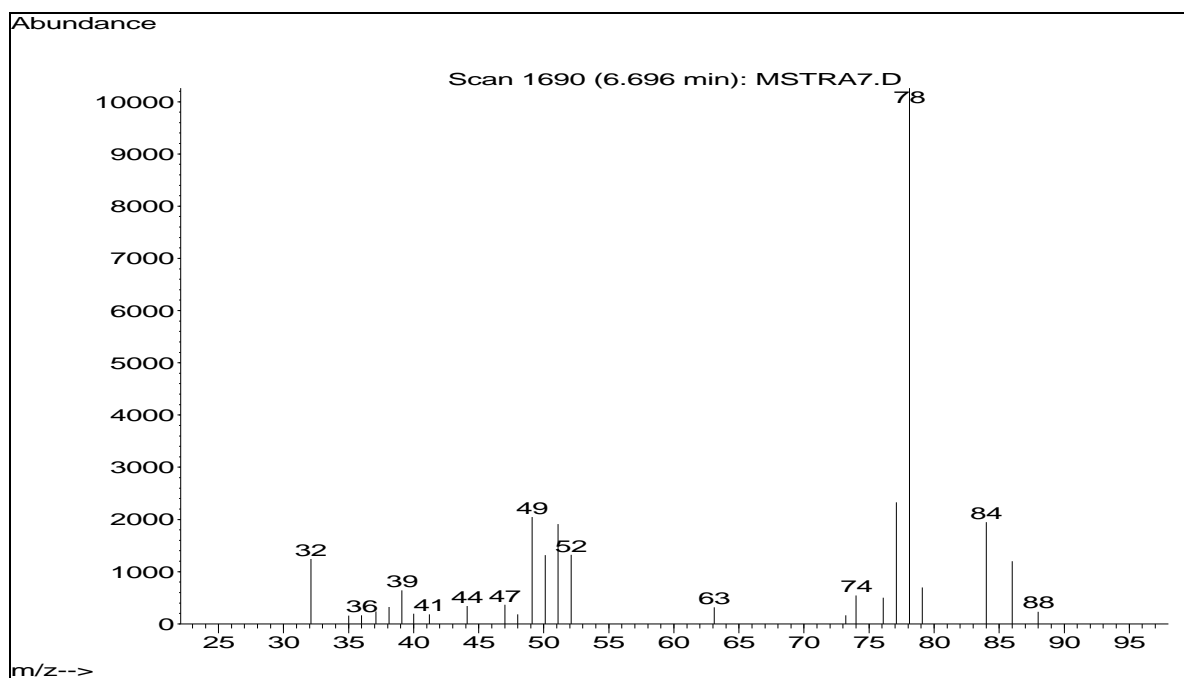


**Figura 31.** Disminución de la concentración del 1,4-ciclohexadieno en su reacción de oxidación con oxígeno singulete generado fotoquímicamente.

De acuerdo a la figura 31, se puede observar que la reacción al transcurrir 60min alcanza el equilibrio, ya que al observar la curva de generación del  $^1\text{O}_2$  (figura 27) se alcanza la máxima producción tomada a los 60min, según la señal de absorbancia detectada para el  $\Gamma_3$ .

#### 4.5. Identificación del producto de reacción

De acuerdo al espectro de masas (figura 32), se obtuvo como único producto de reacción el benceno, lo cual indica que no se generaron radicales libres y que el único agente oxidante fue el oxígeno singulete. En la figura 33 se puede observar la ruta de fragmentación y en la tabla 5, los correspondientes iones característicos.

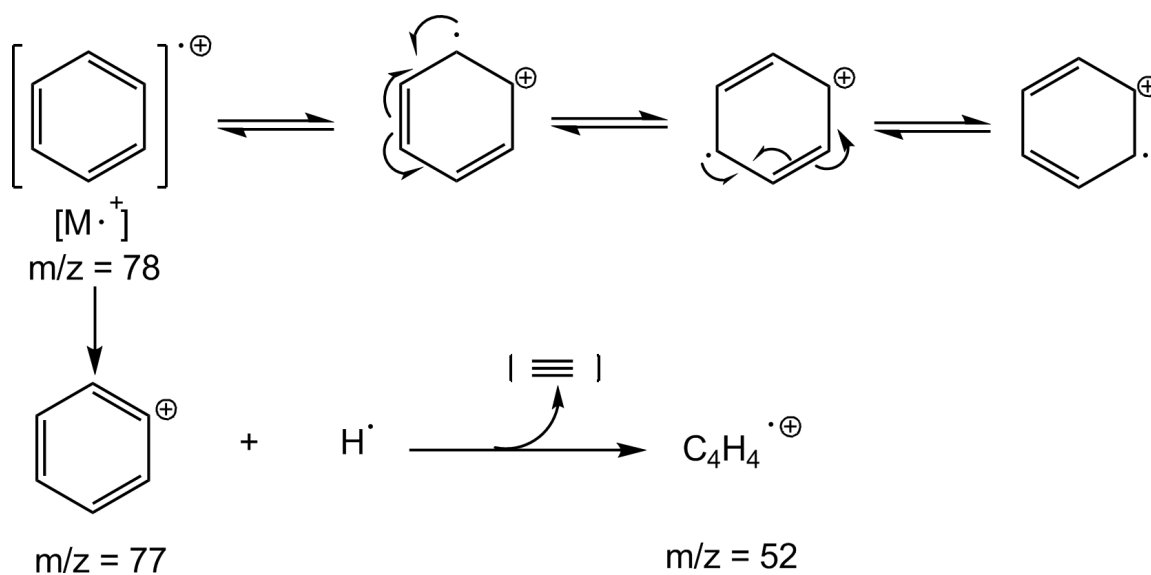


**Figura 32.** Espectro de masas del benceno con trazas del solvente ( $t_R=6.70$ ).

Los iones correspondientes a la masa de 84, 86 y 88, corresponden al solvente, diclorometano ( $m=84$ ) y los respectivos isotopos del cloro.

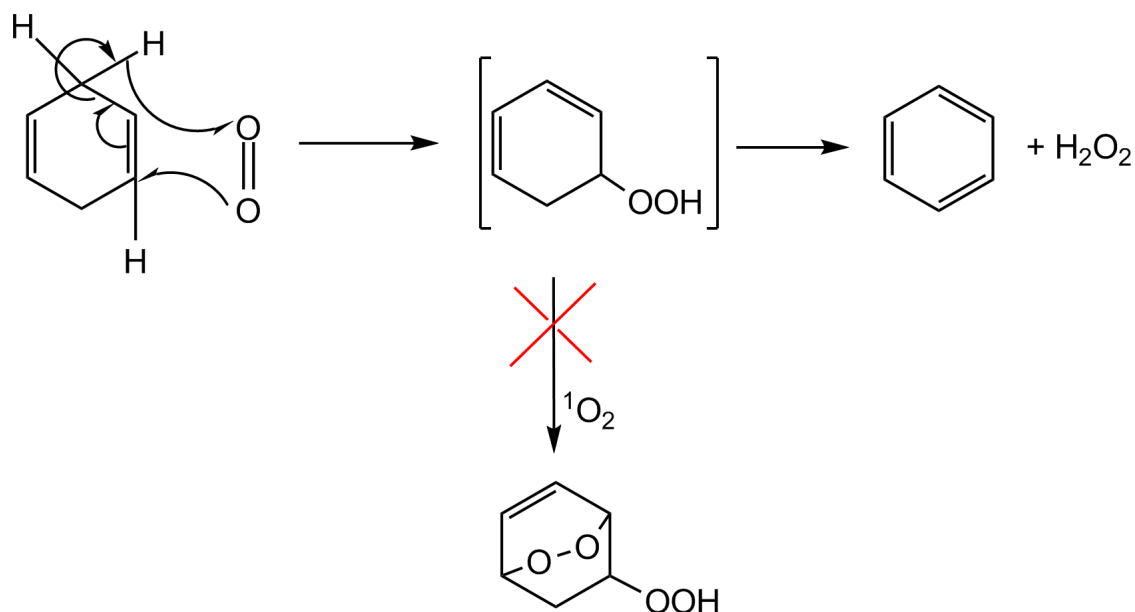
**Tabla.5.** Iones característicos de la ruta de fragmentación del benceno.

<b>ión</b>	<b>Abundancia relativa[%]</b>
<b>52</b>	14
<b>77</b>	24
<b>78 [M<sup>+</sup>]</b>	100



**Figura 33.** Ruta de fragmentación del espectro MS del benceno.

Según los resultados obtenidos se puede plantear el esquema indicado en la figura 33, debido a que no se encontraron posibles dímeros como el bifenilo, ni dioxetanos o endoperóxidos.



**Figura 34.** Posible mecanismo de la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singulete<sup>28, 29</sup>.

En la figura 34 se puede observar como posible ruta la formación de un endoperóxido para la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con  $^1\text{O}_2$ , como lo plantean, Yardimci, Kaya y Balci<sup>29</sup>, sin embargo de acuerdo a los resultados de este trabajo el benceno es el único producto, descartando este tipo de reacciones.

De acuerdo a Foote<sup>5</sup> a partir de la reacción de oxidación de fenoles con oxígeno singulete se obtiene el respectivo hidroperóxido (figura11) y según Samadi<sup>28</sup>, utilizando el 1,4-ciclohexadieno como molécula modelo para la oxidación de lípidos con  $^1\text{O}_2$  (figura 18), se obtiene como producto mayoritario el benceno, planteando como intermediario el hidroperóxido. Con base en estos estudios se postula en este trabajo, el hidroperóxido como posible intermediario en medio orgánico. El hidroperóxido se genera en un proceso concertado a partir del ataque del oxígeno singulete al doble enlace del 1,4-ciclohexadieno y la transferencia de un hidrógeno bisalílico. Seguidamente se da la eliminación de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , obteniendo el benceno como producto final.

El 1,4-ciclohexadieno como molécula modelo para la peroxidación lipídica, presenta restricción por su simetría, lo cual confirma que el  $^1\text{O}_2$  presenta preferencia por los hidrógenos bisalílicos y en el caso de los ácidos grasos esto también ocurre, sin embargo en estas macromoléculas no hay simetría y presentan sistemas dienos conjugados, lo cual brinda mayor posibilidad de que el  $^1\text{O}_2$  oxide el lípido en distintas posiciones.

## 5. CONCLUSIONES

- El método yodo/yoduro permite la identificación indirecta del  $^1\text{O}_2$  mediante el seguimiento de nuestros resultados nos permiten afirmar que:
  - 1) El sistema químico,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ , y el sistema fotoquímico, tetracarboxifenilporfirina (TcPPH<sub>2</sub>) generan oxígeno singulete,  $^1\text{O}_2$ .
  - 2) El fotosensibilizador, tetracarboxifenilporfirina (TcPPH<sub>2</sub>), genera  $^1\text{O}_2$  más eficientemente que el sistema químico,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ .
  - 3) El método yodo/yoduro permite la identificación indirecta del  $^1\text{O}_2$  mediante el seguimiento de la absorción del ión  $\text{I}_3^-$ .
- Se determinó una expresión de velocidad para la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con el  $^1\text{O}_2$  en medio orgánico. Se estimó como la constante global igual a 7,55 L/mol\*min, observándose un semiorden de reacción de dos (2) con respecto al 1,4-ciclohexadieno, y una energía de activación igual a 34,57 kJ/mol.K.
- Se identificó el benceno como único producto de la oxidación del 1,4-ciclohexadieno con oxígeno singulete en medio orgánico, por cromatografía de gases, esto posiblemente por la ausencia de radicales libres, debido a que no se encontró ningún producto de dimerización en los productos.
- Se encontró que el  $^1\text{O}_2$  presenta selectividad por los hidrógenos bisalílicos en la oxidación del 1,4-ciclohexadieno como molécula modelo de lipoperoxidación.

## 6. RECOMENDACIONES

- Realizar la determinación directa de oxígeno singulete por EPR ó fluorescencia, debido a que el método yodo/yoduro no es suficiente para descartar la presencia de otras especies oxidantes de medio, ya que es una identificación indirecta porque se basa solo en la generación del ión triyoduro.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. JIMÉNEZ, L.; MERCHANT, H. Molecular Biology. Publicado en 2003.Ed. Pearson Educación. P. 295.
2. CÁRDENAS, N. and PEDRAZA, J. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. Revista de Educación Química, en prensa. 2006.
3. LEÓN VILLAMIZAR, F. Oxidación de Linoleato de Metilo con Oxígeno Singulete Generado Químicamente por el Sistema  $\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$ . Bucaramanga, 2007, 69 p. Trabajo de grado (Químico). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química.
4. PAEZ, E.; MARTINEZ, F.; DAZA, M.; GRANADOS G.; DIAZ, C. Fotooxidación del antraceno con tetracarboxifenilporfirinas adsorbidas sobre  $\text{TiO}_2$  y  $\text{SiO}_2$  en presencia de radiación visible. En impresión.
5. GREER, A. Christopher Foote's Discovery of the Role of Singlet Oxygen [ $^1\text{O}_2$  ( $^1\Delta_g$ )] in Photosensitized Oxidation Reactions. En: J. Am. Chem. Soc., Acc. Chem. Res., Vol. 39, No 11(2006); p.797-804.
6. DÍAZ, C.; ORTEGA, F.; DAZA, M. Oxidación de antraceno con oxígeno singulete generado químicamente por el sistema molibdato de sodio/peróxido de hidrógeno. En: Revista Colombiana de Química. Vol.37, No.1 (2008); p.45 – 53.
7. GOULAY F.; REBRION C.; LE GARREC J.; Le PICARD S.; CASONA A. The reaction of anthracene with OH radicals: An experimental study of the

kinetics between 58 and 470 K. En: J. Phys. Chem. Vol.120, No.9 (2005); p. 3132.

8. DEROSA, C. and CRUTCHLEY, J. Photosensitized singlet oxygen and its applications. En: *Coord. Chem. Rev.*, Vols. 233-234 (2002); p. 351-371.
9. FRIMER, A. The Reaction of Singlet Oxygen with Olefins: the Question of Mechanism. En: *Chem. Rev.* Vol.79 (1979); p. 359.
10. RYTER, W. and TYRRELL, M. Singlet Molecular Oxygen ( $^1\text{O}_2$ ): A Possible Effector of Eukaryotic Gene Expression. En: *Free Radical Biol. Med.*, Vol. 24, N° 9 (1997); p.1520-1534.
11. NARDELLO, V.; MARKO, J.; VERMEERSCH, G. and AUBRY.  $^{95}\text{Mo}$  NMR and Kinetic Studies of Peroxomolybdic Intermediates involved in the Catalytic Disproportionation of Hydrogen Peroxide by Molybdate Ions. En: *Inorg. Chem.* Vol. 34 (1995); p. 4950.
12. FRESNADILLO, D. Posibilidades para la Provisión de Agua Segura Usando Nuevas Tecnologías, Fotosensibilización y el Sensibilizador: síntesis, propiedades y limitaciones. En: *Solar Safe Water* (2005); p. 3.
13. PORTER, N.; TALLMAN, K.; PRAT. Kinetic Products of Linoleate Peroxidation: Rapid  $\beta$ -fragmentation of Nonconjugated peroxy radicals. En: *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 123 (2001); p. 11827-11828.
14. STRATTON, S. and LIEBLER, D. Determination of Singlet Oxygen-Specific versus Radical-Mediated Lipid Peroxidation in Photosensitized Oxidation of

Lipid Bilayers: Effect of  $\beta$ -Carotene and  $\alpha$ -Tocopherol. En: Biochemistry. Vol. 36, N° 42 (1997); p. 12911 -12920.

15. NARDELLO, V.; CARON, L.; AUBRY, J. Reactivity, Chemoselectivity, and Diastereoselectivity of the Oxyfunctionalization of Chiral Allylic Alcohols and Derivatives in Microemulsions. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 126, N°. 34 (2004); p. 10692-10700.
16. CARON, L.; NARDELLO, V.; ALSTERS, P. Convenient Singlet Oxygenation in Multiphase Microemulsion System. En: J. Mol. Catal. A: Chem. Vol. 251 (2006); p. 194–199.
17. BÖHME, K. and BRAUER, H. Generation of Singlet Oxygen from Hydrogen Peroxide Disproportionation Catalyzed by Molybdate Ions. En: Inorg. Chem. Vol. 31 (1992); p. 3468.
18. NIU, Q. and FOOTE, C. Singlet Molecular Oxygen Generation from the Decomposition of Sodium Peroxotungstate and Sodium Peroxomolybdate. En: Inorg. Chem. Vol. 31(1992); p. 3472.
19. MOSINGER, J. and OLDRICH, J. Bactericidal Nanofabrics Based on Photoproduction of Singlet Oxygen. En: J. Mater. Chem., Vol. 17(2007); p. 164-166.
20. AUBRY, J. and BOUTTEMY, S. Preparative oxidation of organic Compounds in Microemulsions with Singlet Oxygen Generated Chemically by the Sodium Molybdate/hydrogen Peroxide System. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 119(1997); p.5286.

- 21.** STRATTON, S. and LIEBLER, D. Determination of Singlet Oxygen-Specific versus Radical-Mediated Lipid Peroxidation in Photosensitized Oxidation of Lipid Bilayers: effect of  $\beta$ -Carotene and  $\alpha$ -Tocopherol. En: Biochemistry. Vol. 108(1997); p. 17675.
- 22.** OTHA, B. and FOOTE, C. Characterization of Endoperoxide and Hydroperoxide Intermediates in the Reaction of Pyridoxine with Singlet Oxygen. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 124(2002); p.12064.
- 23.** OGUS, A.; ATALAY, A.; BATEMAN, O.; SLINGSBY, C. Vitamin C Induced Oxidation of Eye lens Gamma Crystallins. En: Biochimie. Vol. 80(1998); p. 283-288.
- 24.** URSINI, F.; VUGMAN, M.; FERNÁNDEZ, L. Metabolic changes of several adipose depots as caused by aging. En: Physiology & Behavior. Vol. 50(1991); p. 317-321.
- 25.** VIARENGO, A.; CANESI, L.; PERTICA M.; LIVINGSTONE D. R. Seasonal variations in the antioxidant defence systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. En: Comp. Biochem. Physiol. C: Pharmacol. Toxicol. Vol. 100(1991); p. 187-190.
- 26.** TORRES. Biología de las Especies de Oxígeno Reactivas. En: Mensaje Bioquímico, Vol. 26, (2002); p. 28, 29.
- 27.** TEJERO, I.; GONZÁLES, L.; LLUCH, J. Photo-Oxidation of Lipids by Singlet Oxygen, a Theoretical Study En: Chem. Phys. Lett. Vol. 398 (2004); p. 336.

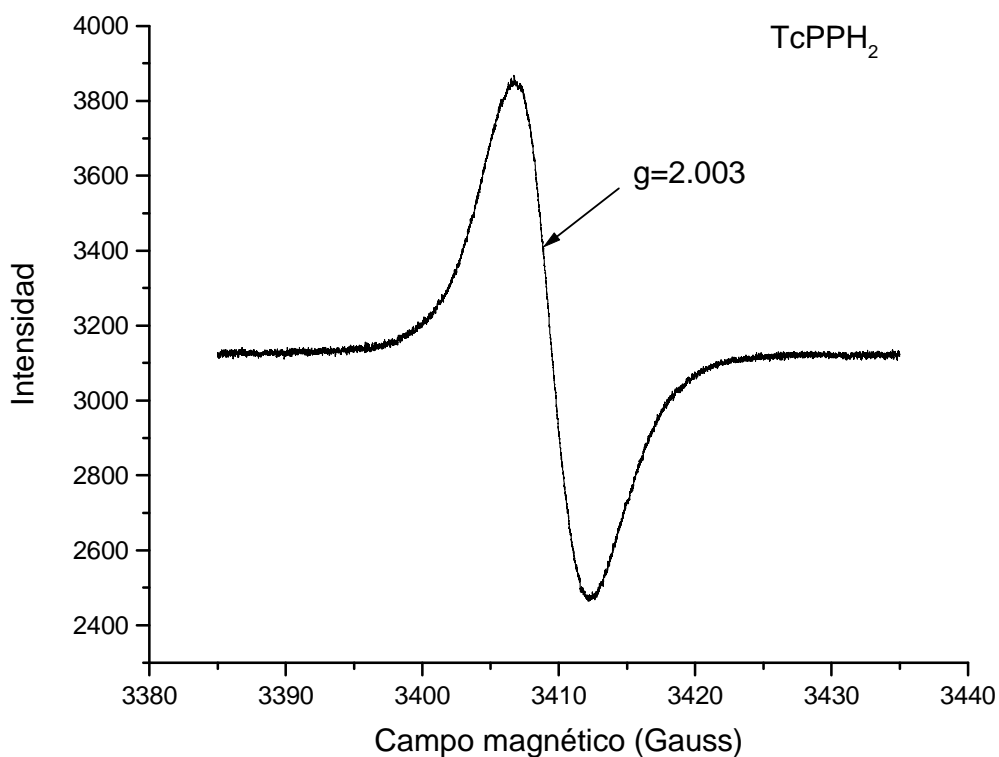
- 28.** SAMADI, A.; MARTÍNEZ, L.; MIRANDA, M.; MORERA, I. Mechanism of Lipid Peroxidation Photosensitized by Tiaprofenic Acid: Product Studies Using Linoleic Acid and 1,4-Cyclohexadienes as Model Substrates. En: Photochem. Photobiol. Vol. 73, N<sup>o</sup> 4 (2001); p. 359–365.
- 29.** YARDIMCI, Ş.; KAYA, N.; BALCI, M. Regioselectivity in the ene-reaction of singlet oxygen with cyclic alkenes: photooxygenation of methyl-substituted 1, 4-cyclohexadiene derivatives. En: Tetrahedron, Vol. 62 (2006); p. 10633–10638.
- 30.** STRATTON, S. and LIEBLER, D. Determination of Singlet Oxygen- Specific versus Radical-Mediated Lipid Peroxidation in Photosensitized Oxidation of Lipid Bilayers: effect of  $\beta$ -Carotene and  $\alpha$ -Tocopherol. En: Biochemistry. Vol. 108(1997); p. 17675.
- 31.** BÖHME, K. and BRAUER, H. Generation of Singlet Oxygen from Hydrogen Peroxide Disproportionation Catalyzed by Molybdate Ions. En: Inorg. Chem. Vol. 31(1992); p. 3468.
- 32.** ADLER, A.; LONGO, F.; FINARELLI, M.; GOLDMACHER, J.; ASSOUR, J.; KORSAKOFF, L. A Simplified Síntesis for meso-Tetraphenylporphin. En: J. Chem. Org. Vol. 32 (1967); p. 476.
- 33.** LONGO, F.; FINARELLI, M.; KIM, J. The Synthesis and Some Physical Properties of *ms*-Tetra(pentafluorophenyl)-porphin and *ms*-Tetra(pentachlorophenyl)porphin. En: J. Chem. Heterocyclos, Vol. 6 (1969); p. 927-321.
- 34.** KUHN, H.; BRASLAVSKY, S.; SCHMIDT, R. Chemical Actinometry. En: Pure Appl. Chem. Vol. 76, No. 12 (2004); p. 2105–2146.

- 35.** WEGNER, E. and ADAMSON, A. Photochemistry of Complex Ions. III. Absolute Quantum Yields for the Photolysis of Some Aqueous Chromium(III) Complexes. Chemical Actinometry in the Long Wavelength Visible Region. En: J. Am. Chem. Soc. Vol. 88 (1966); p.394–404.
- 36.** CORNET, J. F.; MARTY, A.; GROS, J.B. Revised Technique for the Determination of Mean Incident Light Fluxes on Photobioreactors. En: Biotechnol. Prog. Vol.13 (1997); p. 408–415.
- 37.** CALVERT, J. and PITTS, N. Photochemistry. Willey. New York. (1966) ; p. 780.
- 38.** LAIDLER K. Cinética De Las Reacciones. Ed. Alhambra. Madrid. (1971); p.7.
- 39.** LAN, M.; ZHAO, H.; YUAN, H.; JIANG, C.; ZUO, S.; JIANG, Y. Absorption and EPR spectra of some porphyrins and metalloporphyrins. En: Dyes and Pigments. Vol. 74 (2007); p. 357-362.
- 40.** ZHENG, W.; SHAN, N.; YU, L.; WANG, X. UV-visible, fluorescence and EPR properties of porphyrins and metalloporphyrins. En: Dyes and Pigments. Vol. 77 (2008); p. 153-157.

## 8. ANEXOS

### ANEXO I. ESPECTRO EPR-TcPPH<sub>2</sub>

El espectro de EPR de la TcPPH<sub>2</sub> exhibe sólo una línea (figura 35), la cual es atribuida al radical libre en la porfirina; El macrociclo de la porfirina tiene un sistema extenso de electrones  $\pi$  deslocalizados y el centro paramagnético es protegido por efectos de resonancia y los grupos funcionales. Debido a esto el radical libre presente en la porfirina es estable y puede ser medido directamente por EPR.<sup>39, 40</sup>

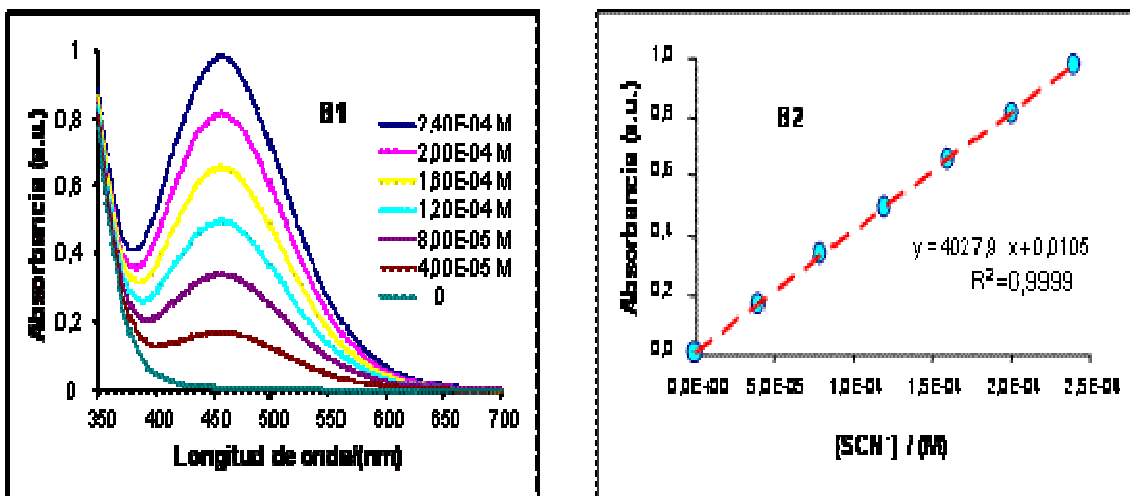


**Figura 35.** Espectro de EPR-TcPPH<sub>2</sub>.

<sup>40</sup>ZHENG, W.; SHAN, N.; YU, L.; WANG, X. UV-visible, fluorescence and EPR properties of porphyrins and metalloporphyrins. En: Dyes and Pigments. Vol. 77 (2008); p. 153-157.

## ANEXO II. CURVA DE CALIBRACIÓN UTILIZADAS EN LA ACTINOMETRÍA

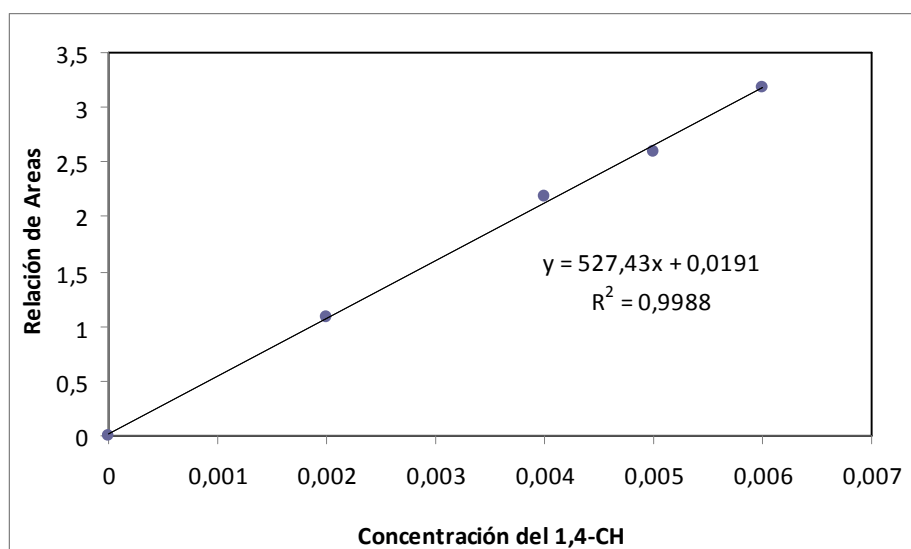
La figura 36 muestra la curva de calibración utilizada para la determinación de la concentración de iones  $\text{SCN}^-$ , mediante soluciones estándar de tiocianato de potasio, KSCN.



**Figura 36.** (B1) Espectro UV/vis de  $\text{SCN}^-$  a diferentes concentraciones;  $\lambda_{\text{max}} = 458$  nm. (B2) Curva de calibración de  $\text{SCN}^-$ .

### ANEXO III. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL 1,4-CICLOHEXADIENO PARA EL CROMATÓGRAFO DE GASES

La curva de calibración del 1,4-ciclohexadieno,  $Ar = 527,43[1,4\text{-CH}] + 0,0191$ , con un coeficiente de correlación de 0,9988, se obtuvo determinando la relación de áreas, en los tiempos de retención a 2.770 y 2.867, para el n-heptano (patrón interno,  $1,5 \cdot 10^{-3}$  mol/L) y el 1,4-ciclohexadieno, respectivamente, con soluciones patrones  $2,0 \cdot 10^{-3}$ ,  $3,0 \cdot 10^{-3}$ ,  $4,0 \cdot 10^{-3}$ ,  $5,0 \cdot 10^{-3}$  y  $6,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L. (ver figura 37)



**Figura 37.** Curva de calibración del 1,4-ciclohexadieno con n-heptano como patrón interno en el cromatógrafo de gases.