

# Rendimiento cuántico de producción de radical hidroxilo por medidas de fluorescencia en el sistema TcPPFe/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV-VIS

The Hydroxyl Radical ( $\Phi_{OH}$ ) Production's Quantic Yield, by Fluorescence in the TcPPFe/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV-VIS System

Fecha de Recepción: 04 de Enero de 2014  
Fecha de Aprobación: 02 de Febrero de 2014

Carlos Enrique Díaz-Uribe\*  
William Andrés Vallejo-Lozada\*\*  
Lizeth Johanna Alvarado-Rueda\*\*\*

## Resumen

El rendimiento cuántico de producción de radical hidroxilo ( $\Phi_{OH}$ ) fue medido desde la fotólisis del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) catalizada por la tetracarboxifenilporfirina de hierro (III) (TcPPFe) bajo luz ultravioleta.  $\Phi_{OH}$  fue determinado por medidas de fluorescencia del producto de reacción entre el radical hidroxilo (HO•) y el tereftalato disódico. La TcPPFe presenta un  $\Phi_{OH}=0,13$ , mientras que la reacción estándar de la fotólisis del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, no catalizada, tiene un  $\Phi_{OH}=0,11$ . La reacción no tiene lugar en ausencia de luz, pero en presencia de luz visible, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y TcPPFe generan HO•.

**Palabras clave:** Radical hidroxilo; Porphirina; Rendimiento cuántico.

## Abstract

The quantum yield to production of hydroxyl radical ( $\Phi_{OH}$ ) was measured from the photolysis of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) catalyzed by tetra-carboxy-phenyl-porphyrin Fe (III) (TcPPFe) under UV irradiation.  $\Phi_{OH}$  was determined by fluorescence measurements by the reaction product between hydroxyl radical (HO•) and the disodium terephthalate. The TcPPFe presented a  $\Phi_{OH} = 0.13$  while the standard uncatalyzed photolysis reaction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> presented a  $\Phi_{OH}=0.11$ . Under light irradiation on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and TcPPFe, the radical HO• was generated and, the reaction did not occur in the absence of light.

**Keywords:** Hydroxyl radical, Porphyrin, Quantum yield.

\* Ph.D. Universidad del Atlántico (Barranquilla, Atlántico – Colombia). carlosdiaz@mail.uniatlantico.edu.co

\*\* Ph.D. Universidad del Atlántico (Barranquilla, Atlántico – Colombia). williamvallejo@mail.uniatlantico.edu.co

\*\*\* M.Sc. Universidad Santo Tomás (Bucaramanga, Santander – Colombia). lizethjohannaalvaradorueda@mail.ustabuca.edu.co

## I. INTRODUCCIÓN

La detección y cuantificación de las especies reactivas del oxígeno recibe hoy en día gran interés debido a su relación en procesos químicos, biológicos y ambientales [1-4]. En muy corto tiempo de vida de los radicales requiere para su detección métodos más sensibles y elaborados. La técnica de resonancia paramagnética electrónica (EPR) es la única técnica que específicamente detecta en forma directa espines no apareados; sin embargo, esta técnica presenta algunas limitaciones, como la baja sensibilidad en medios acuosos y por las condiciones de temperatura [5]. La técnica de fluorescencia es una buena alternativa para la identificación del radical hidroxilo, debido a su alta sensibilidad, a su respuesta lineal a un rango de concentraciones de especies reactivas del oxígeno y a su bajo background fluorescente [6]. El radical hidroxilo (HO•) puede ser identificado debido a la fluorescencia del 2-hidroxitereftalato disódico (Fig.1), que es formado entre el HO• y el tereftalato disódico. El 2-hidroxitereftalato disódico presenta una señal con un máximo en 425 nm [7].

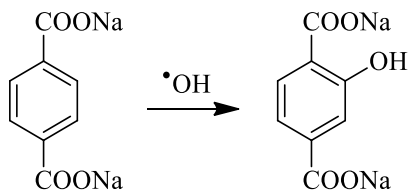


FIG. 1. Reacción del radical hidroxilo y el tereftalato disódico

Entre las maneras de generar radicales hidroxilo se encuentran las reacciones tipo Fenton y foto-Fenton, que utilizan para tal fin peróxido de hidrógeno, sales ferrosas y luz UV [8,9]. Bajo irradiación de la luz UV, el Fe<sup>3+</sup> es continuamente reducido a Fe<sup>2+</sup>, y la reacción Fenton comienza nuevamente; además, las concentraciones son de órdenes de magnitud menores que en la reacción Fenton convencional [10].

En el presente trabajo se aplicó la técnica de fluorescencia para la detección y cuantificación

del HO• formado en la fotólisis del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) catalizada por la tetracarboxifenilporfirina de hierro (III) (TCPPFe) bajo luz UV y visible. Se encontró que la TCPPFe tiene un rendimiento cuántico de producción de radical hidroxilo de 0,2 en presencia de luz UV, y, además, que en presencia de luz visible ( $\lambda > 500$  nm) se genera radical hidroxilo; esto puede indicar que hay una transferencia electrónica entre la tetracarboxifenilporfirina y el metal.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Síntesis y caracterización del fotocatalizador

La tetracarboxifenilporfirina sin metal fue sintetizada de acuerdo con el siguiente método: El pirrol, previamente destilado (0.08 moles), fue adicionado a una mezcla de 4-carboxybenzaldehído (0.08 moles), ácido propiónico (150 mL) y nitrobenzono (45 mL); posteriormente fue calentado durante una hora a 120 °C; después de enfriarse y removerse el solvente al vacío, la porfirina fue disuelta en 250 mL de NaOH 0.1 M. La porfirina fue precipitada con una solución de HCl 0.1 M. El sólido obtenido se lavó con metanol [11].

La porfirina de hierro fue preparada colocando a reflujo la TCPP (0.33 mmol) con cloruro de hierro hexahidratado (1.82 mmol) en 70 mL de dimetilformamida por 2 horas y en ambiente de nitrógeno. El DMF fue destilado y la porfirina precipitada al adicionar agua. El sólido obtenido se lavó con NaOH y HCl. La cantidad de Fe es 0,025 moles por mg de TCPPFe. FT-IR (KBr, cm<sup>-1</sup>): [1605  $\nu$  (C=C)]; [3411  $\nu$  (O-H)]; [1689  $\nu$  (C-N)]; [1268  $\nu$  (C-O)]; [1699  $\nu$  (C=O)].

Los espectros UV-Vis fueron tomados en un espectrofotómetro UV-Vis HP8453. Los espectros infrarrojos se tomaron en un espectrofotómetro marca Bruker modelo Tensor 27, la cuantificación de hierro presente en la TcPPFe se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 372.

### B. Generación y detección del radical hidroxilo

Para la generación de radical hidroxilo se utilizaron 0,12 mmol de TCPPFe en 10 mL de una solución acuosa de tereftalato disódico (4 mM) a una temperatura de 298 K, y posterior adición de 100  $\mu$ L peróxido de hidrógeno (30%) a un pH=3. Para las reacciones en presencia de irradiación ultravioleta se utilizó una lámpara de vapor de mercurio de baja presión (254 nm), y para radiación visible, una lámpara halógena de 100 W, haciendo pasar la luz por una solución de dicromato de potasio 1 M para remover longitudes de onda <500 nm. Varias muestras de la solución se colectaron, filtraron y registraron en un espectrofluorímetro SHIMADZU RF-5301PC en modo de emisión a una longitud de onda de excitación de 315 nm. El registro del espectro se hizo entre 350 y 600 nm.

### C. Cálculo del rendimiento cuántico de producción de radical OH

Para estimar el rendimiento cuántico de la producción de radical OH durante la iluminación de la TCPPFe se usó la siguiente ecuación [12]:

$$\Phi_{HO} = \frac{R_{OH}}{I(1 - 10^{-A})} \quad (1)$$

Donde  $R_{OH}$  es la velocidad de producción de HO•; I es la cantidad de fotones que entran al sistema por unidad de volumen y por unidad de tiempo (54  $\mu$ Einstens/L.s), y A es la absorbancia inicial de la solución a la longitud de onda de irradiación (UV=254 nm). La concentración del radical hidroxilo fue determinada usando una curva de calibración del tereftalato disódico hidroxilado; la velocidad de producción se determinó con el valor de la pendiente de la gráfica de  $\ln [HO\bullet]$  vs. tiempo.

## III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A. Caracterización del fotosensibilizador

El espectro UV-vis de la TCPP obtenida en este trabajo se muestra en la Fig. 2; en él se observa

la banda de absorción Soret a 419 nm (transición  $a_{1u}(\pi)-e_g^*(\pi)$ ), y 4 bandas Q(514, 548, 588 y 645 nm), características de la porfirina no metálica, correspondientes a transiciones  $a_{2u}(\pi)-e_g^*(\pi)$  [13].

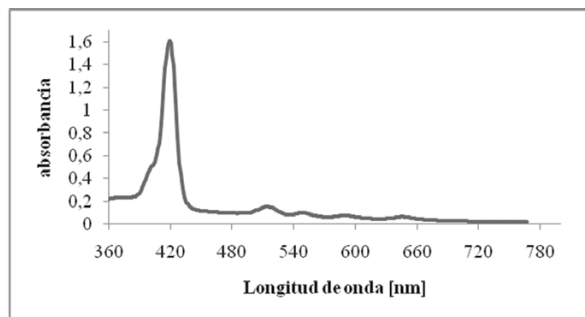


FIG. 2. Espectro UV-vis de la TCPP

El espectro UV-vis de la TCPPFe (Fig.3) exhibe la banda Soret a 413 nm y 1 banda Q en 534 nm. La disminución del número de bandas Q es típico de las metaloporfirinas. Cuando el ión metálico se coordina con los átomos de nitrógeno del macrociclo, la simetría de la molécula se incrementa y el número de bandas Q decrece [14]. La metalación de las porfirinas produce desplazamiento de las bandas Soret y Q por la interacción del metal con la nube electrónica  $\pi$  de los macrociclos. En el espectro de la TCPPFe se observa un desplazamiento de las bandas de absorción hacia el azul, posiblemente debido a la desestabilización de la nube electrónica  $\pi$  del ligando inducida por el metal e incremento de la energía de transición [13].

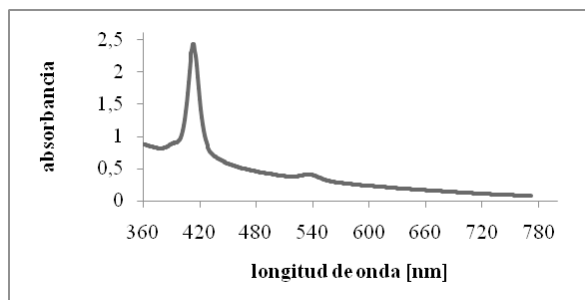


FIG. 3. Espectro UV-vis de la TCPPFe

### B. Generación y detección del radical hidroxilo

La TcPPFe fue iluminada en presencia de tereftalato disódico y peróxido de hidrógeno con luz UV. El espectro de emisión de fluorescencia (Excitación a 315 nm) de la solución fue medido

cada 10 minutos durante la irradiación. Como se muestra en la Fig. 4, el incremento gradual en la intensidad de fluorescencia a 425 nm fue observado con el aumento del tiempo de iluminación.

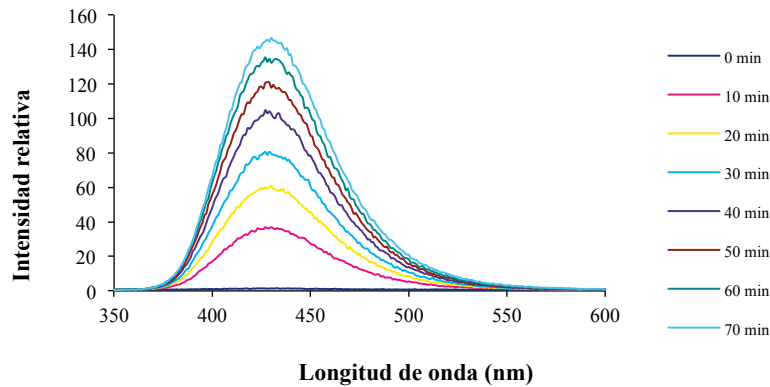


FIG. 4. Espectro de fluorescencia del 2-hidroxitereftalato disódico (excitación 315 nm)

El espectro generado corresponde al compuesto 2-hidroxitereftalato disódico, producto formado durante la fotocatalisis de la TcPPFe debido a la reacción específica entre el radical hidroxilo y el tereftalato disódico (Fig. 1).

El radical hidroxilo se genera al usar solo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y luz incidente de la lámpara de vapor de mercurio; la irradiación del peróxido de hidrógeno, que

involucra longitudes de onda en el ultravioleta, cataliza la producción de radicales hidroxilo, debido a una ruptura del enlace O-O del peróxido de hidrógeno. Al adicionar TcPPFe se observó un aumento de la cantidad de radical hidroxilo de 0.25 mM a 0.29 mM (Fig. 5). La interacción de la luz con el hierro (III) lleva a la formación de hierro (II), conduciendo a la generación de radical hidroxilo y regresando nuevamente a hierro (III), continuando el ciclo catalítico.

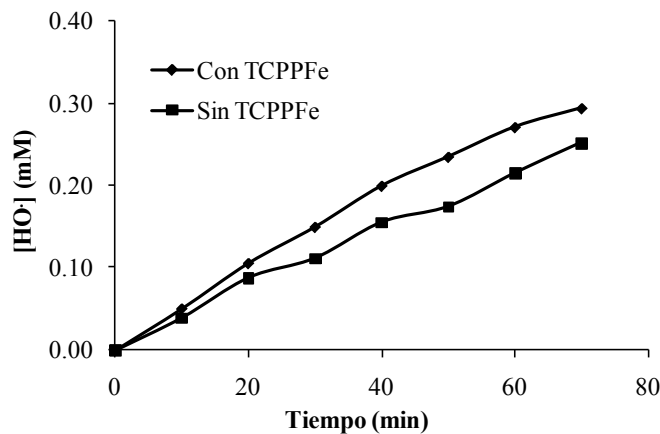


FIG. 5. Formación de 2-hidroxitereftalato disódico en presencia y en ausencia de TcPPFe

El rendimiento cuántico de producción de radical hidroxilo ( $\Phi_{HO}$ ) se determinó midiendo la fluorescencia del producto de reacción entre el radical hidroxilo y el tereftalato disódico. Se encontró un  $\Phi_{HO}$  de 0,13 para la TCPPFe, y uno de 0,11 para la reacción estándar de la fotólisis del  $H_2O_2$ . La generación de radical OH no ocurre en ausencia de luz.

Se observó que en presencia de luz visible, en el sistema TCPPFe/ $H_2O_2$  se genera radical hidroxilo (Fig. 6); esto puede indicar que hay una transferencia electrónica entre la tetracarboxifenilporfirina y el metal; por tal motivo, existe un cambio de estado de oxidación de hierro (III) a hierro (II), y la reacción de Fenton ocurre y se produce radical hidroxilo. La concentración de  $HO\bullet$  estimada en esta reacción fue de 0.06 mM.

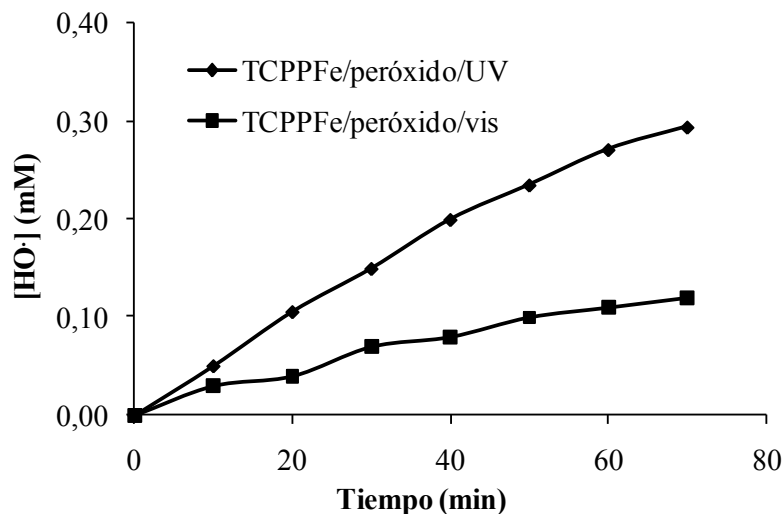


FIG. 6. Formación de 2-hidroxitereftalato disódico en presencia de luz UV y visible

#### IV. CONCLUSIONES

En este trabajo se utilizó la sal de tereftalato disódico, para cuantificar la cantidad de radical hidroxilo generado a partir de la reacción de la tetracarboxifenilporfirina de hierro (III) y peróxido de hidrógeno, bajo irradiación UV y visible. Se encontró que la concentración del radical hidroxilo es de 0.29 mM cuando se usa la TcPPFe, y de 0.25 mM en ausencia de éste y en presencia de luz UV. También se obtuvo una actividad del sensibilizador en presencia de luz visible con una cantidad de 0,06 mM de  $HO\bullet$ , indicando la transferencia electrónica entre el ligando de la TcPPFe y el metal para el inicio de la reacción de Fenton. Se encontró un  $\Phi_{HO}$  de 0,13 para la TCPPFe, y uno de 0,11 para la reacción estándar de la fotólisis del  $H_2O_2$ .

#### REFERENCIAS

- [1] W. Freinbichler, L. Bianchi, A. Colivicchi, C. Ballini, K. Tipton, W. Linert and L. Della. "The detection of hydroxyl radicals in vivo", *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 102, pp.1329-1333, 2008.
- [2] Y. He y D. Hader. "Reactive oxygen species and UV-B: effect on cyanobacteria", *Photochemistry and Photobiology Science*, vol. 1, pp. 729-736, 2002.
- [3] H. Hammel, A. Kapich, K. Jensen and Z. Ryan "Reactive oxygen species as agents of wood decay by fungi", *Enzyme and*

- Microbial Technology*, vol. 30, pp. 445-453, 2002.
- [4] P. Wardman. "Fluorescent and luminescent probes for measurement of oxidative and nitrosative species in cells and tissues: Progress, pitfalls, and prospects", *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 43, pp. 995-1022, 2007.
- [5] G. Bartosz. "Use of spectroscopic probes for detection of reactive oxygen species", *Clinica Chimica Acta*, vol. 368, pp. 53-76, 2006.
- [6] K. Ishibashi, A. Fujishima, T. Watanabe and K. Hashimoto "Detection of active oxidative species in TiO<sub>2</sub> photocatalysis using the fluorescence technique", *Electrochemistry Communications*, vol. 2, pp. 207-210, 2002.
- [7] K. Ishibashi, A. Fujishima, T. Watanabe and K. Hashimoto "Quantum yields of active oxidative species formed on TiO<sub>2</sub> photocatalyst", *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 134, pp. 134, 139-142, 2000.
- [8] M. Tamimi, S. Qourzal, N. Barka, A. Assabbane and Y. Ait-Ichou. "Methomyl degradation in aqueous solutions by Fenton's reagent and the photo-Fenton system", *Separation and Purification Technology*, vol. 61, pp. 103-108, 2008.
- [9] J. Barreiro, M. Duffles and M. Bruun. "Oxidative decomposition of atrazine by a fenton-like reaction in a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ferrihydrite system", *Water Research*, vol. 41, pp. 55-62, 2007.
- [10] D. Yingxun, Z. Minghua and L. Lecheng. "Role of the intermediates in the degradation of phenolic compounds by Fenton-like process", *Journal of Hazardous Materials*, vol. 136, 859-865, 2006.
- [11] A. Adler, F. Longo, J. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour and L. Korsakoff. "A Simplified Synthesis for Meso-Tetraphenylporphyrin", *Journal of Organic Chemistry*, vol. 32, pp. 476, 1967.
- [12] E. White, P. P. Vaughan y R. G. Zepp. "Role of the photo-Fenton reaction in the production of hydroxyl radicals and photobleaching of colored dissolved organic matter in a coastal river of the southeastern United States", *Aquatic Sciences*, vol. 65, pp. 402-414, 2003.
- [13] M. Gouterman, G.H. Wagnière and L.C. Snyder. "Spectra of porphyrins: Part II. Four orbital model", *Journal of Molecular Spectroscopy*, vol. 11, pp. 108-127, 1963.
- [14] W. Zheng, N. Shan, L. Yu and Wang X. "UV-visible, fluorescence and EPR properties of porphyrins and metalloporphyrins", *Dyes and Pigments*, vol 77, pp. 153-157, 2008.