



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**BUAP**

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**“Evaluación de porfirinas sulfonadas como sensor de cadmio y mercurio”**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
Licenciatura en Químico Farmacobiólogo**

**Presenta:  
Sahit Sauza Parrales**

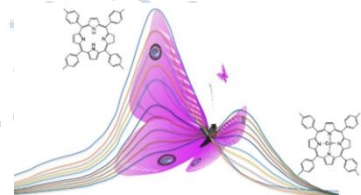
**Director de Tesis  
Dr. José Luis Gárate Morales**

**Asesor de Tesis  
Dra. Rocío Aguilar Sánchez**

**Puebla. Pue., a 3 de mayo del 2024**



Facultad de Ciencias Químicas BUAP



## Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a mi director de tesis el Dr. José Luis Garate por su gran orientación, su apoyo inquebrantable, sus valiosas aportaciones, paciencia, dedicación y sobre todo por brindarme todo el conocimiento de su experiencia, sin el nada de esto sería posible, esta tesis es tan mía como suya.

Agradezco a mi asesora de tesis la Dra. Rocío Aguilar, por su compromiso con mi crecimiento académico; por su apoyo, confianza y por aceptar ser parte de este trabajo.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a los miembros del comité evaluador de esta tesis, quienes dedicaron su tiempo y conocimientos para revisar este trabajo y brindar valiosas contribuciones que han enriquecido significativamente este proyecto. Dra. Adriana Hernández Calva, Dra. Obdulia Sánchez Guadarrama; Dra. Judith Caballero Jiménez.

Al departamento de Química Analítica por brindar las facilidades para la realización de este proyecto. A los compañeros de laboratorio Angy, Cosme, Balderas,

José, Nery, Valeria y todos aquellos que contribuyeron significativamente en la realización de esta tesis; esta tesis. También a todos los profesores que han formado parte de mi desarrollo personal y académico durante esta etapa de mi vida, gracias por aportar un pequeño granito de arena para que pudiera adquirir este gran conocimiento, en especial a todas aquellas personas que contribuyeron.

¡Gracias!

Sahit Sauza Parrales

### **Dedicatorias**

Este trabajo es dedicado a mi familia y amigos, aquellas personas de las que más he aprendido y han caminado a lado mío siempre los llevaré en lo más profundo de mi corazón.

A mi mamá Leticia Parrales, gracias por impulsarme siempre a llegar más lejos y por confiar en mi en todo momento, eres mi claro ejemplo de que siempre se puede conseguir todo lo que quieres en esta vida sin importar los obstáculos que se presenten en el camino, te amo muchísimo.

A mi mamá Lidia Parrales, agradezco todo el apoyo en mis decisiones, por el amor incondicional y la comprensión que siempre me has brindado, estoy muy orgulloso de todos tus logros, siempre serás mi escritora favorita, te amo muchísimo.

A mi papá Gerardo García, que siempre me ha dado las palabras más sabias, y que mientras más pasa el tiempo más lo admiro, muchas gracias por ser parte de mi familia y siempre dar lo mejor de ti, te amo muchísimo.

A mis hermanas; Sara Parrales, por siempre tratar de ver lo que es mejor para mí y siempre aconsejarme a llegar más lejos, te admiro muchísimo, estoy orgulloso de ti y espero algún día poder ser tan fuerte como tú, Te amo muchísimo.

Ahram Parrales, gracias por ser tan comprensiva conmigo, espero que algún día tú también cumplas todos tus sueños y que seas tan feliz, sé que eres una mujer muy fuerte, nada podrá detenerte. Te amo muchísimo.

¡Gracias a todos!

Sahit Sauza Parrales

## Contenido

Resumen .....	6
Abstract.....	8
CAPÍTULO I: ANTECEDENTES .....	9
1.1 ¿Qué es una porfirina? .....	9
1.2 Sensores químicos .....	11
1.3 Metales pesados .....	12
1.4 Efecto de los metales sobre la salud .....	14
1.5 Técnicas analíticas para la determinación de metales .....	15
CAPITULO II: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
2.1 Justificación .....	17
2.2 Hipótesis.....	18
2.2.1 Trabajo H1 .....	18
2.2.2 Nula H0.....	18
2.3 Objetivos .....	18
2.3.1 General .....	18
2.3.2 Específicos.....	18
CAPITULO III: METODOLOGÍA.....	18
3.1 Disolventes y Reactivos.....	18
3.2 Instrumentación .....	19
3.3 Síntesis de porfirinas .....	19
3.3.1 Síntesis de 5,10,15,20-Tetrafenilporfirina (TPP).....	19
3.3.2 Síntesis de 5,10,15,20-Tetratoluenporfirina (TTP).....	20
3.3.3 Síntesis de 5,10,15,20-Tetrakis(4'-sulfonatofenil) porfirina TPP(SO <sub>3</sub> Na) <sub>4</sub> .....	21
3.3.4 Síntesis de 5,10,15,20-Tetrakis(4'-sulfonatotoluen) porfirina TTP(SO <sub>3</sub> Na) <sub>4</sub> .....	22
3.4 Caracterización de porfirinas .....	23
3.4.1 Caracterización por espectroscopia infrarroja FTIR.....	23
3.4.2 Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear <sup>1</sup> H .....	23
3.5 Métodos de cuantificación para la actividad de las porfirinas sulfonadas como sensores colorimétricos para la detección de metales pesados.....	23
3.5.1 Valoración de TPP(SO <sub>3</sub> Na) <sub>4</sub> con acetato de cadmio por UV-Vis .....	23
3.5.2 Valoración de TTP(SO <sub>3</sub> Na) <sub>4</sub> con acetato de cadmio por UV-Vis .....	25
3.5.3 Valoración de TTP(SO <sub>3</sub> Na) <sub>4</sub> con acetato de mercurio por UV-Vis .....	26

3.6 Curva de calibración en fluorescencia .....	28
3.6.1 Valoración por fluorescencia de $TTP(SO_3Na)_4$ con acetato de cadmio.....	28
3.6.2 Valoración por fluorescencia de $TTP(SO_3Na)_4$ con acetato de mercurio .....	29
CAPITULO IV: RESULTADOS.....	31
4.1 Síntesis .....	31
4.2 Espectros UV-Vis de las porfirinas.....	32
4.3 Métodos de Caracterización .....	35
4.3.1 Espectroscopia infrarroja FTIR.....	35
4.3.2 Resonancia Magnética Nuclear $^1H$ .....	41
4.4 Curvas de calibración por espectroscopía UV-Vis .....	46
4.4.1 Valoración de $TPP(SO_3Na)_4$ con acetato de cadmio por UV-Vis .....	47
4.4.2 Valoración de $TTP(SO_3Na)_4$ con acetato de cadmio por UV-Vis .....	49
4.4.3 Valoración de $TTP(SO_3Na)_4$ con acetato de mercurio por UV-Vis .....	52
4.5 Curvas de calibración por fluorescencia .....	55
4.5.1 Valoración de $TTP(SO_3Na)_4$ con acetato de cadmio por fluorescencia.....	55
4.5.2 Valoración de $TTP(SO_3Na)_4$ con acetato de mercurio por fluorescencia .....	57
Conclusiones .....	60
Referencias.....	62
Apéndice.....	65

## Resumen

En este trabajo de tesis se evalúa la capacidad de una serie de porfirinas sulfonadas para funcionar como sensores colorimétricos de cadmio y mercurio en disolventes polares, a través de un método alternativo para la cuantificación de metales que es accesible y costeable usando espectroscopia UV-Visible. Adicionalmente, se reporta la síntesis de dos porfirinas sulfonadas TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> y TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>, y su evaluación con acetato de cadmio, donde ambas presentaron cambios graduales de absorbancia durante los incrementos sucesivos de concentración del metal, en los espectros finales se observaron puntos isobésticos que confirman las reacciones de metalación y descartan que solo se lleve a cabo un proceso de dilución de la muestra original. El espectro UV-Vis es característico de las porfirinas con una banda Soret y 4 bandas Q, las cuales se modifican al existir una coordinación del metal en la porfirina, presentándose como un desplazamiento batocrómico de la banda Soret y la pérdida de dos bandas Q, lo cual es específico de una conjugación con el metal en el núcleo de la porfirina en una proyección planar. Tras la comparación de los espectros de la valoración por UV-Vis entre TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Cd y TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Cd, se observa que los espectros obtenidos con TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> presentan un desplazamiento batocrómico de la banda Soret de 416 nm hasta 431 nm (15 nm diferencia) después de la metalación, mientras que con TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> el desplazamiento fue de 415 nm hasta 430 nm (15 nm). Se observa un cambio mayor en la valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>, por lo que este compuesto se elige para las pruebas con mercurio, donde se observa que el desplazamiento de la banda Soret fue de 415 nm hasta 425 nm (diferencia 10 nm entre la base libre y el compuesto metalado). La evaluación de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con cadmio y mercurio fue realizada mediante fluorescencia, donde se observa la disminución de las señales de emisión como resultado de la coordinación del cadmio o mercurio. No hay un cambio en desplazamiento, ni se observan puntos isobésticos en esta técnica, aunque los coeficientes de correlación indican cambios casi lineales con valores de 0.9 conforme aumenta la concentración del metal. Con base en los resultados obtenidos, se concluye que la porfirina sulfonada sintetizada en este trabajo, TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> puede funcionar

como un excelente sensor colorimétrico para cadmio, destacando su absorción y el desplazamiento de la banda de Soret en el espectro de UV-Vis.

*Palabras clave:* Porfirina, Cadmio, Mercurio, Sulfonadas, Metanol, UV-Vis, Fluorescencia.

### Abstract

This project study sulfonated porphyrins as colorimetric sensors of cadmium and mercury in polar solvents, proposing an accessible and affordable method for the quantification of metals using UV-Visible spectroscopy. The synthesis of sulfonated porphyrins TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> and TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> is described, and the evaluation to react with cadmium acetate in both compounds presented gradual changes in the absorbance when successive increases in concentration of the metal was done. We observed isosbestic points in the final spectrum that confirm the metalation reactions and rule out that only a dilution process of the original sample was carried out. The UV-Vis spectrum is characteristic of porphyrins with a Soret band and four Q bands. In the metalloporphyrin spectrum a bathochromic shift of the Soret band and the loss of two Q bands were observed, which is specific of a conjugation of the metal within the porphyrin nucleus in a planar projection. Analyzing the spectra of the UV-Vis titration between TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Cd and TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Cd, it was observed that the spectra obtained with TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> has a bathochromic shift of the Soret band from 416 nm to 431 nm (15 nm difference) after metalation, while for TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> the shift was from 415 nm to 430 nm (15 nm). A bigger change is observed in the titration of TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>, then it was chosen for the tests with mercury, where it was observed a shift of the Soret band from 416 nm to 426 nm (10 nm difference between the free base and the metal compound). The evaluation of TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> with cadmium and mercury were carried out with fluorescence spectroscopy, where the decrease in the emission signals was observed after the addition of cadmium or mercury. There was no change in displacement and any isosbestic points were observed in this technique; however, the correlation coefficients indicate almost linear changes with values of 0.90 when the metal concentration increases. According to the obtained results, TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> acts as an excellent colorimetric sensor for cadmium, highlighting its absorption and the shift of the Soret band in the UV-Vis spectrum.

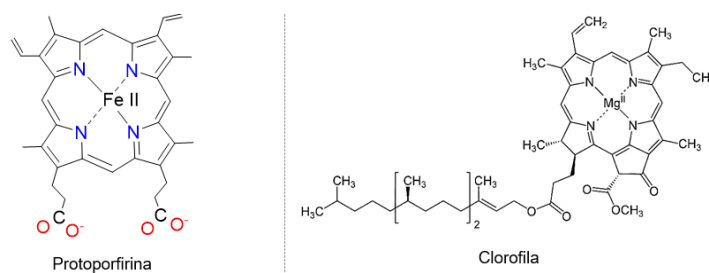
Keywords: Porphyrin, Cadmium, Mercury, Sulfonated, Methanol, UV-Vis, Fluorescence.

## CAPÍTULO I: ANTECEDENTES

### 1.1 ¿Qué es una porfirina?

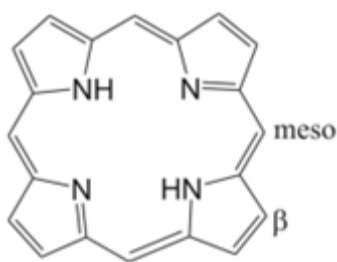
Las porfirinas son compuestos macrocíclicos formados por cuatro pirroles unidos a través de puentes metino. Tiene una estructura plana con un sistema de electrones  $\pi$  que están conjugados y le confieren su carácter aromático y el color púrpura; de hecho, la palabra porfirina se deriva del griego *porphyra*, que significa púrpura (Milgrom, 1997). Las porfirinas son excelentes bases de Lewis con una cavidad de coordinación de 3.7 Armstrong (Å) que le permiten la unión con diferentes iones metálicos, los complejos formados con metales adoptan geometrías generalmente de tipo plano cuadrado, piramidal u octaédrica distorsionada, regularmente con constantes de formación altas que indican la estabilidad de las metaloporfirinas (Biesaga *et al.*, 2000). Se consideran compuestos anfotéricos, ya que pueden actuar como ácidos y desprotonarse formando un dianión, o como bases aceptando protones y formando un dicatión.

Las porfirinas y sus derivados representan una de las familias de compuestos más importantes en bioquímica, por ejemplo, como un cofactor hemo de la hemoglobina, los citocromos, enzimas redox y en el aparato fotosintético de plantas de la clorofila. Figura 1.



**Figura 1.** Estructura química de metaloporfirinas de tipo naturales más estudiadas (Xahuentitla, 2021).

De acuerdo con la sustitución del anillo tenemos dos tipos de porfirinas: las sustituidas en las posiciones - pirrólicas (2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 y 18) denominadas posiciones  $\beta$  que regularmente encontramos en la naturaleza y/o en los puentes metino (5, 10, 15 y 20), también llamadas posiciones meso que regularmente se asocian a las porfirinas sintéticas (Xahuentitla, 2021).  
Figura 2.



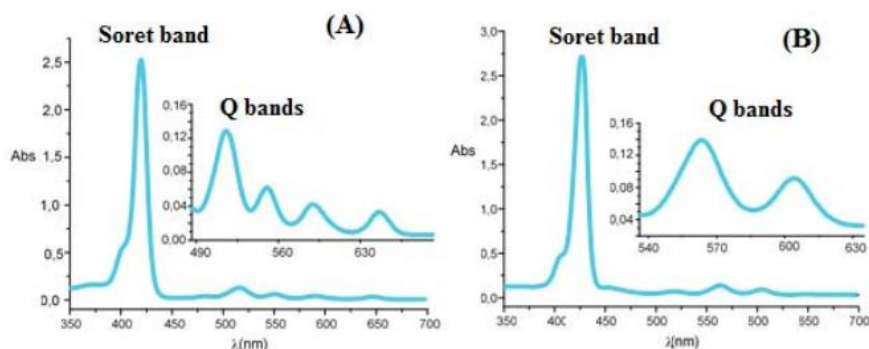
**Figura 2.** Estructura química de porfirina no coordinada que indica las posiciones  $\beta$  y meso donde puede ser sustituida (Valicsek and Horváth, 2013).

La estructura química de las porfirinas es responsable de propiedades muy características tales como:

- ✓ La banda intensa alrededor de 400 - 700 nm que origina colores de rojos a morados.
- ✓ Su débil basicidad.
- ✓ Su facilidad para protonarse formando dicaciones.
- ✓ La flexibilidad para formar enlaces de coordinación con metales y no metales
- ✓ Su capacidad para ajustar y estabilizar el estado de oxidación del centro metálico.
- ✓ El carácter hidrofóbico, su solubilidad en agua está directamente relacionada con los sustituyentes del anillo.

El espectro UV-Vis de las porfirinas libres y metaladas se diferencian por las señales asociadas a:

- a) Una transición  $\pi-\pi^*$  debida a la conjugación del macrociclo, que se presenta como una banda intensa denominada “banda de Soret”, en la región de ultravioleta cercano, alrededor de los 400 nm, Figura 3.
- b) Las bandas de menor intensidad en la región del rojo, entre 500 y 700 nm corresponden a las denominadas bandas Q, las cuales se asocian a una porfirina libre, con la simetría local del anillo porfirínico  $D_{4h}$  Figura 3 (A), cuando la porfirina forma complejos metálicos, desaparecen dos bandas y la simetría del anillo cambia a  $D_{2h}$  Figura 3 (B). (Milgrom, 1997).



**Figura 3.** Espectro de UV-Visible de porfirinas con A) Base libre y B) metaladas (Nasri 2020).

## 1.2 Sensores químicos

La IUPAC define a un sensor químico como “un dispositivo capaz de proporcionar información química específica, formado por un elemento de reconocimiento que está en contacto directo con un elemento de transducción, donde la información química obtenida del sensor se convierte en una señal analítica útil, que permiten la detección de diferentes agentes” (Hulanicki *et al.*, 1991).

Los sensores químicos se clasifican de acuerdo con la naturaleza de la señal que se obtiene, por ejemplo: los sensores electroquímicos, de masa, calorimétricos y ópticos. Entre ellos, los sensores colorimétricos u ópticos se basan en la absorción de luz visible. La señal transmitida por el sensor como consecuencia de la interacción con el analito presenta un cambio de color del sistema que es detectable por el ojo humano, y que puede ser tanto en la intensidad del tono original o en el cambio de un color a otro (Tancredi, 2011).

La señal puede ser medida mediante un equipo espectrofotométrico en el rango de UV-Visible para obtener datos con alta precisión y confiabilidad. En el campo de la Química Analítica, el desarrollo de sensores químicos ha sido objeto de investigación debido a sus aplicaciones en diversas áreas, algunos ejemplos son: el monitoreo ambiental, diagnóstico médico, el control de calidad en la industria, la seguridad alimentaria, etc.

En las últimas décadas las porfirinas han surgido como una clase de sensores químicos colorimétricos, que mediante el uso de interacciones supramoleculares o formaciones de enlaces covalentes entre el analito y la porfirina se han utilizado para detectar compuestos

orgánicos volátiles, especies reactivas de oxígeno, productos químicos industriales tóxicos, iones metálicos, explosivos, patógenos, etc. (Norvaisa *et al.*, 2020).

Específicamente, se ha desarrollado la construcción de materiales a base de porfirina para la detección de iones metálicos aprovechando sus características como cromóforo y molécula orgánica fluorescente. Las porfirinas y las metaloporfirinas se pueden diseñar introduciendo grupos funcionales para modificar el anillo y conectar otras moléculas, de modo que puedan usarse incluso como sonda fluorescente para detectar iones metálicos. También pueden participar en el diseño de otros materiales, como membranas compuestas, complejos metálicos, materiales de estructura organometálica, grafeno y otros materiales (Qi *et al.*, 2020).

### 1.3 Metales pesados

Los metales pesados son considerados según la tabla periódica como elementos químicos de alta densidad (mayor a  $4 \text{ g/cm}^3$ ), masa y peso atómico por encima de 20 uma y son tóxicos en baja concentraciones, su clasificación se basa en el peso molecular, el número atómico o en propiedades físicas relacionadas. Se dividen en 3 clases de acuerdo con su reactividad con otros elementos:

**Clase A:** Son los que reaccionan más con el oxígeno como el Al, Ca, Sr, Ba y La.

**Clase B:** Reaccionan más con el azufre como el Cu (I), Hg y Ag.

**Clase C:** son los metales con afinidad intermedia como Fe, Co, Ni, Zn, As, Cd, Pb y Cu (II).

Algunos metales pesados son esenciales para el funcionamiento de los organismos vivos, requiriéndolos en pequeñas concentraciones, pero se vuelven tóxicos cuando se encuentran en concentraciones elevadas o se modifica su forma química. Los metales pesados están en la naturaleza formando residuos químicos que usualmente se producen en fábricas, o por procesos de refinamiento como se ha visto con el petróleo, donde se han encontrado metales como: aluminio (Al), berilio (Be), cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn), cadmio (Cd), mercurio (Hg) y plomo (Pb), entre otros (S. E. Pabón *et al.*, 2020).

Actualmente, uno de los mayores problemas a nivel ambiental es la contaminación de las fuentes de agua por metales pesados, siendo un serio problema para los habitantes del ecosistema contaminado, y los individuos que consumen esa agua o tienen contacto con ella. El origen de la contaminación del agua con los metales pesados es variado; pero se puede unificar en tres áreas: origen físico, químico o biológico. Con base en estos puntos, la actividad humana es una de las principales causas de contaminación de metales pesados del agua, con el inadecuado proceso de desecho de productos químicos y/o residuos domésticos, la descarga de desechos en ríos o lagos, los vertimientos de los desechos industriales y mineros y los residuos de plaguicidas, entre otros aspectos, ((S. E. Pabón *et al.*, 2020). Al ser tan variadas las fuentes de contaminación, se hace necesario un método rápido y sencillo para detectar metales con alta precisión, en sistemas donde no deberían de estar presentes o donde los límites permisibles sean superados.

Si bien las porfirinas resultan ser un cromóforo que coordina fácilmente metales, la mayoría de ellas son insolubles en agua, lo que limita su aplicación en el análisis y la detección de iones metálicos. Sin embargo, actualmente las porfirinas catiónicas solubles en agua pueden obtenerse por la protonación de grupos piridilo y grupos de aminoácidos en porfirinas; o bien, grupos sulfonato pueden introducirse al anillo porfirínico a través de la reacción de sulfonación, como los compuestos utilizados en esta tesis, por lo tanto, es posible mejorar la solubilidad en sistemas acuosos y aumentar la selectividad iónica de las porfirinas mediante la modificación de sus grupos funcionales. (Qi *et al.*, 2020) Por ejemplo, se han descrito que los anillos de piridina, pirrol y pirazol que contienen grupos NH se pueden utilizar como sitios de coordinación para iones metálicos, por lo tanto, estas moléculas se introducen a menudo como grupo funcional en las porfirinas. Así, se han desarrollado sensores para detectar iones metálicos; por ejemplo, se ha utilizado 5,10,15,20-tetrakis (N-metil-4-piridil) tetracloruro de porfirina catiónico, como sensor óptico que podría detectar simultáneamente  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Cd}^{2+}$  mediante estudios de espectroscopia UV-Vis, donde se observa que el  $\text{Cu}^{2+}$  está unido principalmente al centro de la porfirina, al anillo, mientras que  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  y  $\text{Cd}^{2+}$  no ingresan directamente al centro de la porfirina debido al gran tamaño de sus radios iónicos, sin

embargo esto no le impide generar interacciones químicas las cuales le permitan atrapar a otros iones metálicos de interés. (Qi *et al.*, 2020).

#### **1.4 Efecto de los metales sobre la salud**

Los riesgos a la salud que se generan por metales tóxicos varían dependiendo de las concentraciones en ciertos medios y la duración de exposición, aunque en cantidades bajas algunos pueden ser peligrosos, se ha visto que con la mayoría una exposición prolongada o crónica puede causar problemas de salud, como lo son:

- a) Nefrotoxicidad: se produce usualmente por cadmio y los síntomas que presenta pueden ser glucosuria, síndrome de Fanconi, fosfaturia y aminoaciduria. La nefropatía aguda por plomo causa disfunción tubular proximal, la crónica por plomo se puede caracterizar por hiperplasia, fibrosis intersticial, atrofia de los túbulos, insuficiencia renal y glomerulonefritis. El mercurio causa necrosis tubular aguda.
- b) Carcinogenicidad: puede producirse por el arsénico provocando alteraciones epigenéticas, daño al ADN, cambios en la expresión de la proteína p53, modificaciones de histonas, metilación del ADN y reducción de la expresión de p21. El plomo daña el mecanismo de reparación del ADN, los genes reguladores de tumores celulares y la estructura y secuencia cromosómica al liberar especies reactivas de oxígeno interrumpe la transcripción al desplazar el zinc de ciertas proteínas reguladoras. La actividad peroxidativa del mercurio genera una cantidad significativa de especies reactivas de oxígeno.
- c) Hepatotoxicidad: el cadmio tiene dos tejidos diana humanos: la corteza renal y el hígado; durante la exposición aguda, se acumula en el hígado y está relacionado con una variedad de disfunciones hepáticas. El cadmio cambia el balance redox celular, resultando en estrés oxidativo y daño hepatocelular.
- d) Toxicidad inmunológica: el plomo provoca respuestas inmunitarias, como un aumento de las alergias, las enfermedades infecciosas y la autoinmunidad, así como, cáncer.

- e) Toxicidad cardiovascular: la exposición crónica al plomo puede causar arteriosclerosis e hipertensión.
- f) Toxicidad cutánea: el arsénico promueve enfermedades de la piel, como hiperqueratosis, hiperpigmentación y varios tipos de cáncer de piel.

### **1.5 Técnicas analíticas para la determinación de metales**

La cuantificación de metales es importante debido a la alta contaminación en el medio ambiente, por lo que encontrar métodos o técnicas de análisis que permitan detectar de forma adecuada bajos niveles de concentración de un metal en el agua es esencial para monitorear los niveles de contaminación de recursos hídricos. Actualmente, los métodos que se ocupan para detectar metales bajo normatividad son: (S. E. Pabón *et al.*, 2020).

- A) Espectrometría de Absorción Atómica. La norma NMX-AA-051-SCFI-2001, también conocida como "Análisis de agua - Determinación de metales por absorción atómica en muestras de agua - Método de prueba", es una norma mexicana que establece los procedimientos y requisitos para la medición de metales en muestras de agua utilizando la técnica de absorción atómica. El método para la medición de metales por espectrofotometría de absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas se basa en la generación de átomos en estado basal y en la medición de la cantidad de energía absorbida por éstos, la cual es directamente proporcional a la concentración de ese elemento en la muestra analizada. Se emplea un equipo capaz de generar átomos en estado basal de acuerdo con un sistema de alta temperatura (flama y horno de grafito) o una reacción química (generador de hidruros o vapor frío) para atomizar la muestra y lograr la absorción de energía por parte de los átomos generados. La norma NMX-AA-051-SCFI-2001 es utilizada en México y su cumplimiento garantiza la calidad y confiabilidad de los resultados obtenidos
- B) Espectrometría de plasma de acoplamiento inductivo. Esta técnica suele ir de la mano con otros métodos como lo son la espectrometría de masas o la espectroscopia de

emisión óptica, entre otros, donde el plasma permite el análisis de los analitos que son ionizados en la flama para asegurar su correcta cuantificación.

- C) Técnicas fotométricas o electroquímicas. La prueba fotométrica consiste en hacer reaccionar los metales en el medio con un agente como la ditizona, para someter el complejo formado a un análisis con una longitud de onda determinada para cuantificar la concentración del metal en la muestra analizada (S. E. Pabón *et al.*, 2020).

Como se describe en la parte superior, los métodos son variados y solo uno es reconocido por la norma mexicana para la determinación de metales, por lo que la búsqueda de métodos selectivos, de mayor precisión y fáciles de trabajar continúa siendo constantemente buscando combatir la problemática de contaminación.

## **CAPITULO II: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Durante el crecimiento de las tecnologías modernas, una gran variedad de metales forma parte de productos como enseres domésticos, computadoras, equipos electrónicos y baterías. Aunque estos metales son esenciales para el proceso de fabricación de estos productos, está bien establecido que pueden plantear graves peligros para los seres humanos, la salud y el medio ambiente una vez que dejan de ser útiles y son desechados. Por lo tanto, han habido varios intentos de reducir, reciclar o reutilizar los metales para evitar crear un desperdicio excesivo, aunque los tiraderos de basura ya contienen una gran cantidad de estos productos que se filtran a los mantos acuíferos, por lo que detectar y cuantificar estos metales en nuestro entorno ambiental, por ejemplo, mantos acuíferos campos de riego o cualquier lugar donde se localice la fuente de contaminación, sería beneficioso y daría oportunidad de tomar decisiones de forma rápida (Flores, 2023).

Impulsado por el problema antes mencionado, el desarrollo de metodologías que cualifiquen y cuantifiquen metales pesados con un enfoque en lecturas simples como cambios colorimétricos (a simple vista) o medición de absorbancia, son importantes para el desarrollo de la determinación de los metales ya presentes como contaminantes en la tierra y funcionan acompañando a los métodos usados por la normatividad.

## 2.1 Justificación

La contaminación por metales pesados se ha considerado muy peligrosa, debido a que estos compuestos no son biodegradables y muchos de ellos no pueden ser metabolizados por el organismo, aunque son necesarios en bajas concentraciones para realizar diferentes procesos fisiológicos, se acumulan más rápido de lo que se eliminan del organismo, el consumo de alimentos y agua potable son las principales vías de exposición para el ser humano. En la actualidad se ha buscado diferentes métodos para la detección de metales pesados, los cuales cuentan con una gran sensibilidad debido a que las concentraciones tóxicas para el organismo son muy bajas, se han desarrollado sensores de tipo molecular hasta equipos sofisticados, como por ejemplo el uso de métodos como la espectroscopia de absorción atómica, que se menciona en la NMX-AA-051-SCFI-2016 Análisis de agua. - medición de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas- método de prueba. Este equipo cuenta con una gran sensibilidad la cual nos permite detectar concentraciones en ppm, sin embargo, aunque se obtienen resultados satisfactorios con este método, se requieren instrumentos sofisticados, operadores altamente calificados, el costo del equipo es muy elevado por lo que las probabilidades de que un laboratorio cuente con el equipo son bajas, por lo que se considera poco útil en ensayos de campo en los que los recursos son limitados.

Con la finalidad de encontrar una alternativa costeable y disponible para la detección de metales pesados, se pretende demostrar el funcionamiento de las porfirinas como sensores colorimétricos de estos elementos, modificando a la porfirina para que cumpla dicha función, aprovechando que debido a sus características estructurales tienen una gran afinidad por los metales y muestran bandas intensas en los espectros de la zona del visible. Se plantea que este método será costeable y de rápida detección, ya que se acortará el tiempo de obtención de datos usando colorimetría, fluorescencia o UV-Visible.

## **2.2 Hipótesis**

### **2.2.1 Trabajo H1**

Las porfirinas sulfonadas funcionan como sensores colorimétricos para la detección de metales pesados como cadmio y mercurio.

### **2.2.2 Nula H0**

Las porfirinas sulfonadas no funcionan como sensor colorímetro, al no coordinarse con metales no hay cambios observables.

## **2.3 Objetivos**

### **2.3.1 General**

Evaluar la actividad de las porfirinas sulfonadas como sensores colorimétricos para la detección de metales pesados.

### **2.3.2 Específicos**

- Sintetizar TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> y TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> para incrementar la solubilidad en disolventes polares.
- Realizar la valoración espectrofotométrica de las porfirinas sulfonadas con disoluciones de cationes de cadmio y mercurio.
- Valorar por fluorescencia los complejos de las porfirinas sulfonadas con disoluciones de cationes de cadmio y mercurio.
- Determinar la longitud de onda adecuada para el estudio de los complejos mediante curvas de absorbancia vs concentración

## **CAPITULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1 Disolventes y Reactivos**

Los reactivos utilizados son de la marca Sigma Aldrich y no se realizó ningún proceso de purificación previo a su uso.

Disolventes: Etanol absoluto, metanol grado técnico, acetona 99.5%, diclorometano. 99.5%, cloroformo deuterado y dimetilsulfóxido deuterado.

Reactivos: Ácido propiónico 99.5%, *p*-toluenaldehído 98%, benzaldehído 99.5%, pirrol 98%, ácido sulfúrico concentrado 38%, hidróxido de sodio, acetato de cadmio, acetato de mercurio.

### 3.2 Instrumentación

Para realizar el análisis se emplearon los siguientes instrumentos:

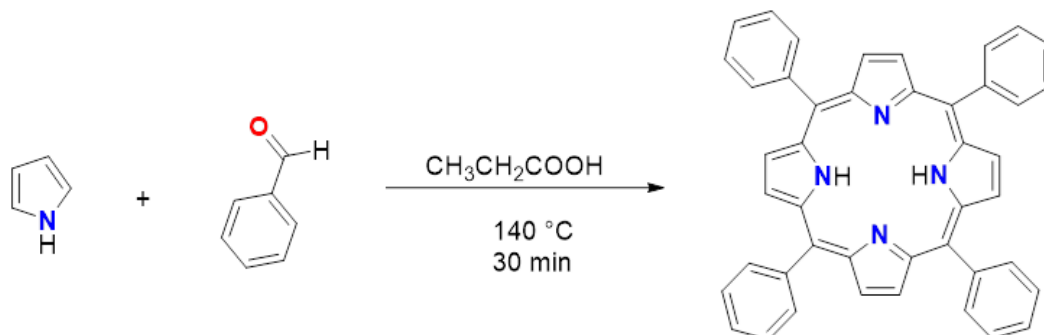
- a) Balanza analítica Symmetry, modelo PA220 (capacidad de 220g X 0.0001g).
- b) Espectrofotómetro Cary-50 Conc Varian, las celdas utilizadas son de cuarzo de 1 cm.
- c) Espectrofotómetro Infrarrojo FT-IR Digilab, modelo Scimitar FT-IR. Utilizando pastillas de KBr.
- d) Fluorímetro Vernier. Modelo SpectroVis Plus; Software: Logger Pro. Version:3.8.5. Las celdas utilizadas son de cuarzo de 1 cm con las cuatro ventanas transparentes.
- e) Espectrometro de Resonancia Magnética Nuclear Bruker 500 MHz. Usando disolventes deuterados de acuerdo con la solubilidad de la muestra.

### 3.3 Síntesis de porfirinas

#### 3.3.1 Síntesis de 5,10,15,20-Tetrafenilporfirina (TPP)

En un matraz de bola de 100 mL se adicionan 10 mL de ácido propiónico, 0.3 mL de pirrol (4.3 mmol) y 0.4 mL de benzaldehído (3.92 mmol), grado reactivo. La reacción se coloca en un sistema de reflujo a 140 °C y en agitación constante por 30 minutos, la mezcla final se deja en reposo por 24 horas a temperatura ambiente hasta la formación de un precipitado color morado. Se filtra al vacío con papel filtro Whatman no.1 y se lava con metanol. Posteriormente se purifica por recristalización, disolviendo el filtrado en diclorometano:metanol 1:1 hasta la obtención de cristales de color morado. Figura 4.

**Rendimiento: 0.1948 g (8.08%). UV-Vis (metanol)  $[(\lambda) \text{ nm}/\text{Abs relativa}]$  417/0.79; 515/0.028; 548/0.01; 590/0.005; 646/0.003. IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3316 (d); 3053 (d); 3022 (d); 1595 (d); 1558 (d); 1472 (m); 1441 (m). *PM*: 614.75 g/mol. *Punto de fusión*:  $>300^\circ\text{C}$ .**

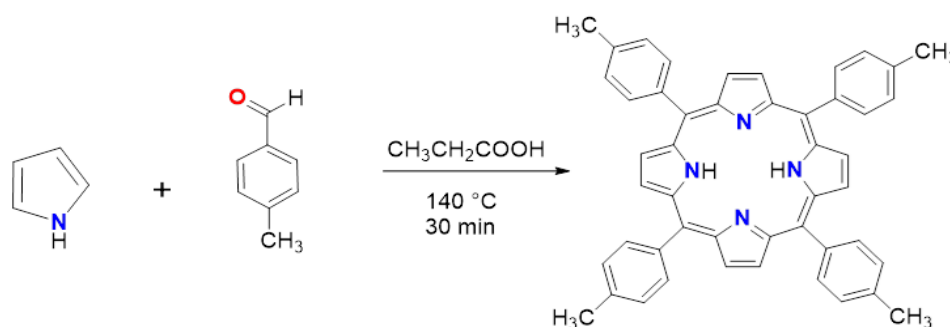


**Figura 4.** Esquema representativo de la síntesis de TPP.

### 3.3.2 Síntesis de 5,10,15,20-Tetratoluenporfirina (TTP)

En un matraz de bola de 100 mL se adicionan 10 mL de ácido propiónico, 0.25 mL de pirrol (3.6 mmol) y 0.4 mL de p-Toluenaldehído (3.4 mmol), grado reactivo. La reacción se coloca en un sistema de reflujo a 140 °C y en agitación constante por 30 minutos, la mezcla final se deja en reposo por 24 horas a temperatura ambiente hasta la formación de un precipitado color morado. Se filtra al vacío con papel filtro Whatman no.1 y se lava con metanol. Posteriormente se purifica por recristalización, disolviendo el filtrado en diclorometano:metanol 1:1 hasta la obtención de cristales de color morado. Figura 5.

**Rendimiento: 0.1827 g (8%). UV-Vis (metanol)  $[(\lambda) \text{ nm}/\text{Abs relativa}]$  419/0.811; 516/0.028; 552/0.014; 592/0.007; 648/0.009. IR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ). 3055 (d); 3024 (d); 3318 (f); 2924 (d); 2851 (d); 1639 (d); 1597 (m); 1474 (m); 1443 (m). *PM*: 670.8 g/mol. *Punto de fusión*:  $>300^\circ\text{C}$ .**



**Figura 5** Esquema representativo de la síntesis de TPP.

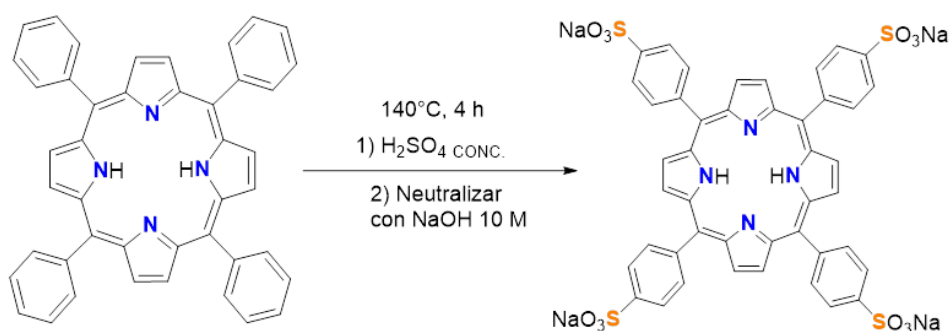
### 3.3.3 Síntesis de 5,10,15,20-Tetrakis(4'-sulfonatofenil) porfirina TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>

En un matraz de bola de 100 mL se adicionan 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado y 0.163 g (0.16 mmol) de TPP, a reflujo a 140 °C y agitación constante por 4 horas. Una vez terminada la reacción se deja enfriar y se coloca en un baño de agua con hielo hasta alcanzar 0 °C, posteriormente se agregan lentamente 12.5 mL de agua desionizada a la mezcla.

**PRECAUCIÓN:** la reacción es exotérmica y puede causar salpicaduras de ácido. Por lo tanto, es necesario disminuir significativamente la temperatura de la mezcla de reacción.

Una vez fría la mezcla de reacción se neutraliza con una disolución 10 M de NaOH hasta llegar a pH 10, o en su defecto hasta observar el cambio de coloración de verde a rosa. Se elimina del crudo de reacción el agua por evaporación y posteriormente se agrega metanol para disolver el crudo de reacción. Se filtra el sólido insoluble y se lava con metanol. Adicionalmente, las aguas madres se evaporan para obtener el producto TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> como un sólido morado, que se purifica por recristalización en una mezcla diclorometano:metanol 1:1. Figura 6.

**Rendimiento: 0.2256 g (137.9%). UV-Vis (metanol) [(λ) nm/Abs relativa] 413/0.64; 512/0.028; 548/0.013; 587/0.009; 642/0.006. IR (KBr, cm<sup>-1</sup>). 1651 (m); 1188 (m). PM:1022.91 g/mol. Punto de fusión: >300°C.**



**Figura 6.** Esquema representativo de la síntesis de TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

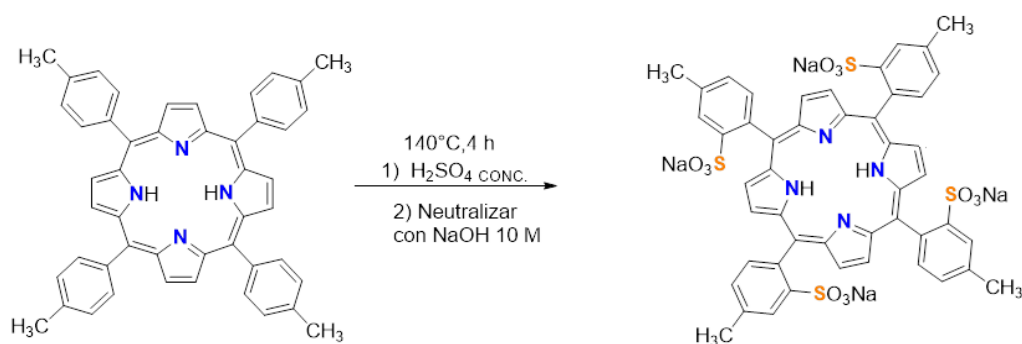
### 3.3.4 Síntesis de 5,10,15,20-Tetrakis(4'-sulfonatotoluen) porfirina TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>

En un matraz de bola de 100 mL se adicionan 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado, 0.172g (0.16mmol) de TTP, a reflujo a 140 °C y agitación constante por 4 horas. Una vez terminada la reacción se deja enfriar y se coloca en un baño de agua con hielo hasta alcanzar 0 °C, posteriormente se agregan lentamente 12.5 mL de agua desionizada a la mezcla.

**PRECAUCIÓN:** la reacción es exotérmica y puede causar salpicaduras de ácido. Por lo tanto, es necesario disminuir significativamente la temperatura de la mezcla de reacción.

Una vez fría la mezcla de reacción se neutraliza con una disolución 10 M de NaOH hasta llegar a pH 10, o en su defecto hasta observar el cambio de coloración de verde a rosa. Se elimina del crudo de reacción el agua por evaporación y posteriormente se agrega metanol para disolver el crudo de reacción. Se filtra el sólido insoluble y se lava con metanol. Adicionalmente, las aguas madres se evaporan para obtener el producto TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> como un sólido morado, que se purifica por recristalización en una mezcla diclorometano:metanol 1:1. Figura 7.

**Rendimiento: 0.2689 g (156.3%). UV-Vis(metanol) [(λ) nm/Abs relativa] 415/0.987; 518/0.055; 557/0.049; 623/0.019; 635/0.021. IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 2924 (d); 2855 (d); 1632 (m); 1184 (m). PM :1079.05g/mol. Punto de fusion: >300°C**



**Figura 7.** Esquema representativo de la síntesis de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

### 3.4 Caracterización de porfirinas

#### 3.4.1 Caracterización por espectroscopia infrarroja FTIR

Se prepararon las muestras en pastillas con KBr seco, todos los espectros se obtuvieron en un espectrofotómetro Infrarrojo FT-IR Digilab, modelo Scimitar FT-IR a temperatura ambiente.

#### 3.4.2 Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear $^1\text{H}$

Todos los espectros de RMN se obtuvieron en un equipo Bruker de 500 MHz, las mediciones se realizaron a temperatura ambiente. Los disolventes deuterados utilizados para los análisis fueron  $\text{CDCl}_3$  para TPP y TTP y  $\text{DMSO-d}^6$  para  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  y  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  de la marca Aldrich.

### 3.5 Métodos de cuantificación para la actividad de las porfirinas sulfonadas como sensores colorimétricos para la detección de metales pesados

La cuantificación se realizó través de valoraciones por espectrofotométrica UV-Vis y fluorescencia, a continuación, se describen los procedimientos para cada uno.

#### 3.5.1 Valoración de $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$ con acetato de cadmio por UV-Vis

La valoración de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  con acetato de cadmio por UV-Vis, se lleva a cabo preparando las siguientes disoluciones madre:

**Disolución de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$ :** se pesan 0.0020 g de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  y se disuelven en 10 mL de metanol, posteriormente se trasvasan a un matraz de aforación de 50 mL, se realizan 3 lavados más con volúmenes de 10 mL metanol al vaso que contenía a la porfirina, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $3.91 \times 10^{-5}$  M.

De la disolución madre de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  se toma una alícuota de 4.35 mL, se coloca en un matraz aforado de 50 mL, y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $3.404 \times 10^{-6}$  M.

**Disolución de acetato de cadmio:** se pesan 0.005 g de acetato de cadmio y se disuelven en 10 mL de metanol, posteriormente se trasvasaron a un matraz de aforación a volumen final de 50 mL, se realizan 3 lavados más con volúmenes de 10 mL metanol al vaso que contenía el acetato de cadmio, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $4.34 \times 10^{-4}$  M.

De la disolución madre de acetato de cadmio se toma una alícuota de 0.39 mL, se coloca en un matraz aforado de 25 mL y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $6.8 \times 10^{-6}$  M.

El seguimiento de la valoración se lleva a cabo en una celda de cuarzo en la que se colocan 2 mL de la disolución de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  ( $6.8 \times 10^{-6}$  mmol). Se mide en el espectrofotómetro, Cary 50 CONC, posteriormente se inicia con las adiciones de acetato de cadmio, hasta alcanzar el punto de equivalencia con la adición de un mililitro total ( $6.80 \times 10^{-6}$  mmol), como se observa en la Tabla 1, entre cada adición, se realizaron las lecturas correspondientes en el espectrofotómetro.

**Tabla 1.** Milimoles agregado de acetato de cadmio por cada 0.1 mL en  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$

Acetato de cadmio ( $6.8 \times 10^{-6}$ M) (mL)	mmoles agregados
0.1	$6.80 \times 10^{-7}$
0.2	$1.36 \times 10^{-6}$
0.3	$2.04 \times 10^{-6}$
0.4	$2.72 \times 10^{-6}$
0.5	$3.40 \times 10^{-6}$
0.6	$4.08 \times 10^{-6}$
0.7	$4.76 \times 10^{-6}$
0.8	$5.44 \times 10^{-6}$
0.9	$6.12 \times 10^{-6}$
1	$6.80 \times 10^{-6}$

### 3.5.2 Valoración de $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$ con acetato de cadmio por UV-Vis

La valoración de  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  con acetato de cadmio por UV-Vis, se lleva a cabo preparando las siguientes disoluciones madre:

**Disolución de  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$ :** se pesan 0.0010 g de  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  y se disuelven en 10 mL de metanol, posteriormente se trasvasan a un matraz de aforación de 50 mL, se realizan 3 lavados más con volúmenes de 10 mL metanol al vaso que contenía a la porfirina, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $1.853 \times 10^{-5}$  M.

De la disolución madre de  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  se toma una alícuota de 9.18 mL, se coloca en un matraz aforado de 50 mL, y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $3.404 \times 10^{-6}$  M.

**Disolución de acetato de cadmio:** se pesan 0.005 g de acetato de cadmio y se disuelven en 10 mL de metanol, posteriormente se trasvasaron a un matraz de aforación a volumen final de 50 mL, se realizan 3 lavados más con volúmenes de 10 mL metanol al vaso que contenía el acetato de cadmio, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $4.34 \times 10^{-4}$  M.

De la disolución madre de acetato de cadmio se toma una alícuota de 0.39 mL, se coloca en un matraz aforado de 25 mL y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $6.8 \times 10^{-6}$  M.

El seguimiento de la valoración se lleva a cabo en una celda de cuarzo en la que se colocan 2 mL de la disolución de  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  ( $6.8 \times 10^{-6}$  mmol). Se mide en el espectrofotómetro, Cary 50 CONC, posteriormente se inicia con las adiciones de acetato de cadmio, hasta alcanzar el punto de equivalencia con la adición de un mililitro total ( $6.80 \times 10^{-6}$  mmol), como se observa en la Tabla 2, entre cada adición, se realizaron las lecturas correspondientes en el espectrofotómetro.

**Tabla 2.** Milimoles agregado de acetato de Cadmio por cada 0.1 mL en TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>

Acetato de cadmio ( $6.8 \times 10^{-6}$ M) (mL)	mmoles agregados
0.1	$6.80 \times 10^{-7}$
0.2	$1.36 \times 10^{-6}$
0.3	$2.04 \times 10^{-6}$
0.4	$2.72 \times 10^{-6}$
0.5	$3.40 \times 10^{-6}$
0.6	$4.08 \times 10^{-6}$
0.7	$4.76 \times 10^{-6}$
0.8	$5.44 \times 10^{-6}$
0.9	$6.12 \times 10^{-6}$
1	$6.80 \times 10^{-6}$

### 3.5.3 Valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de mercurio por UV-Vis

La valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de mercurio por UV-Vis, se lleva a cabo preparando las siguientes disoluciones madre:

**Disolución de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>:** se pesan 0.0010 g de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> y se disuelven en 10 mL de metanol, posteriormente se trasvasan a un matraz de aforación de 50 mL, se realizan 3 lavados más con volúmenes de 10 mL metanol al vaso que contenía a la porfirina, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $1.853 \times 10^{-5}$  M.

De la disolución madre de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> se toma una alícuota de 9.18 mL, se coloca en un matraz aforado de 50 mL, y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $3.404 \times 10^{-6}$  M.

**Disolución de acetato de mercurio:** se pesan 0.0175 g de acetato de mercurio y se disuelven en 3 mL de metanol, posteriormente se trasvasaron a un matraz de aforación a

volumen final de 10 mL, se realizan 2 lavados más con volúmenes de 3 mL metanol al vaso que contenía el acetato de mercurio, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $5.491 \times 10^{-3}$  M.

De la disolución madre de acetato de mercurio se toma una alícuota de 0.012 mL, se coloca en un matraz aforado de 10 mL y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $6.8 \times 10^{-6}$  M.

El seguimiento de la valoración se lleva a cabo en una celda de cuarzo en la que se colocan 2 mL de la disolución de  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  ( $6.8 \times 10^{-6}$  mmol). Se mide en el espectrofotómetro, Cary 50 CONC, posteriormente se inicia con las adiciones de acetato de mercurio, hasta alcanzar el punto de equivalencia con la adición de un mililitro total ( $6.80 \times 10^{-6}$  mmol), como se observa en la Tabla 3, entre cada adición, se realizaron las lecturas correspondientes en el espectrofotómetro.

**Tabla 3.** Milimoles agregado de acetato de mercurio por cada 0.1 mL en  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$

Acetato de mercurio ( $6.8 \times 10^{-6}$ M) (mL)	mmoles agregados.
0.1	$6.80 \times 10^{-7}$
0.2	$1.36 \times 10^{-6}$
0.3	$2.04 \times 10^{-6}$
0.4	$2.72 \times 10^{-6}$
0.5	$3.40 \times 10^{-6}$
0.6	$4.08 \times 10^{-6}$
0.7	$4.76 \times 10^{-6}$
0.8	$5.44 \times 10^{-6}$
0.9	$6.12 \times 10^{-6}$
1	$6.80 \times 10^{-6}$

### 3.6 Curva de calibración en fluorescencia

#### 3.6.1 Valoración por fluorescencia de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de cadmio

La valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de cadmio por fluorescencia, se lleva a cabo preparando las siguientes disoluciones madre:

**Disolución de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>:** se pesan 0.0010 g de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> y se disuelven en 10 mL de metanol, posteriormente se trasvasan a un matraz de aforación de 50 mL, se realizan 3 lavados más con volúmenes de 10 mL metanol al vaso que contenía a la porfirina, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $1.853 \times 10^{-5}$  M.

De la disolución madre de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> se toma una alícuota de 9.18 mL, se coloca en un matraz aforado de 50 mL, y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $3.404 \times 10^{-6}$  M.

**Disolución de acetato de cadmio:** se pesan 0.005 g de acetato de cadmio y se disuelven en 10 mL de metanol, posteriormente se trasvasaron a un matraz de aforación a volumen final de 50 mL, se realizan 3 lavados más con volúmenes de 10 mL metanol al vaso que contenía el acetato de cadmio, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $4.34 \times 10^{-4}$  M.

De la disolución madre de acetato de cadmio se toma una alícuota de 0.39 mL, se coloca en un matraz aforado de 25 mL y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $6.8 \times 10^{-6}$  M.

El seguimiento de la valoración se lleva a cabo en una celda de cuarzo en la que se colocan 2 mL de la disolución de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> ( $6.8 \times 10^{-6}$  mmol). Se mide en el fluorímetro Vernier, posteriormente se inicia con las adiciones de acetato de cadmio, hasta alcanzar el punto de equivalencia con la adición de un mililitro total ( $6.80 \times 10^{-6}$  mmol), como se observa en la Tabla 4, entre cada adición, se realizaron las lecturas correspondientes en el fluorímetro.

**Tabla 4.** Milimoles agregado de acetato de cadmio por cada 0.1 mL para  $TTP(SO_3Na)_4$ 

Acetato de cadmio ( $6.8 \times 10^{-6}$ M) (mL)	mmoles agregados
0.1	$6.80 \times 10^{-7}$
0.2	$1.36 \times 10^{-6}$
0.3	$2.04 \times 10^{-6}$
0.4	$2.72 \times 10^{-6}$
0.5	$3.40 \times 10^{-6}$
0.6	$4.08 \times 10^{-6}$
0.7	$4.76 \times 10^{-6}$
0.8	$5.44 \times 10^{-6}$
0.9	$6.12 \times 10^{-6}$
1	$6.80 \times 10^{-6}$

### 3.6.2 Valoración por fluorescencia de $TTP(SO_3Na)_4$ con acetato de mercurio

La valoración de  $TTP(SO_3Na)_4$  con acetato de mercurio por UV-Vis, se lleva a cabo preparando las siguientes disoluciones madre:

**Disolución de  $TTP(SO_3Na)_4$ :** se pesan 0.0010 g de  $TTP(SO_3Na)_4$  y se disuelven en 10 mL de metanol, posteriormente se trasvasan a un matraz de aforación de 50 mL, se realizan 3 lavados más con volúmenes de 10 mL metanol al vaso que contenía a la porfirina, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $1.853 \times 10^{-5}$  M.

De la disolución madre de  $TTP(SO_3Na)_4$  se toma una alícuota de 9.18 mL, se coloca en un matraz aforado de 50 mL, y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $3.404 \times 10^{-6}$  M.

**Disolución de acetato de mercurio:** se pesan 0.0175 g de acetato de mercurio y se disuelven en 3 mL de metanol, posteriormente se trasvasaron a un matraz de aforación a volumen final de 10 mL, se realizan 2 lavados más con volúmenes de 3 mL metanol al vaso

que contenía el acetato de mercurio, se adicionan al matraz y se lleva a volumen final de 50 mL, obteniéndose una disolución de concentración  $5.491 \times 10^{-3}$  M.

De la disolución madre de acetato de mercurio se toma una alícuota de 0.012 mL, se coloca en un matraz aforado de 10 mL y se lleva al enrase, obteniendo una concentración  $6.8 \times 10^{-6}$  M.

El seguimiento de la valoración se lleva a cabo en una celda de cuarzo en la que se colocan 2 mL de la disolución de  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  ( $6.8 \times 10^{-6}$  mmol). Se mide en el fluorímetro Vernier, posteriormente se inicia con las adiciones de acetato de mercurio, hasta alcanzar el punto de equivalencia con la adición de un mililitro total ( $6.80 \times 10^{-6}$  mmol), como se observa en la Tabla 4, entre cada adición, se realizaron las lecturas correspondientes en el fluorímetro.

**Tabla 5.** Milimoles agregados de acetato de mercurio por cada 0.1 mL para  $\text{TTP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$ .

Acetato de mercurio ( $6.8 \times 10^{-6}$ M) (mL)	Mmoles agregados
0.1	$6.80 \times 10^{-7}$
0.2	$1.36 \times 10^{-6}$
0.3	$2.04 \times 10^{-6}$
0.4	$2.72 \times 10^{-6}$
0.5	$3.4 \times 10^{-6}$
0.6	$4.08 \times 10^{-6}$
0.7	$4.76 \times 10^{-6}$
0.8	$5.44 \times 10^{-6}$
0.9	$6.12 \times 10^{-6}$
1	$6.80 \times 10^{-6}$

## CAPITULO IV: RESULTADOS

### 4.1 Síntesis

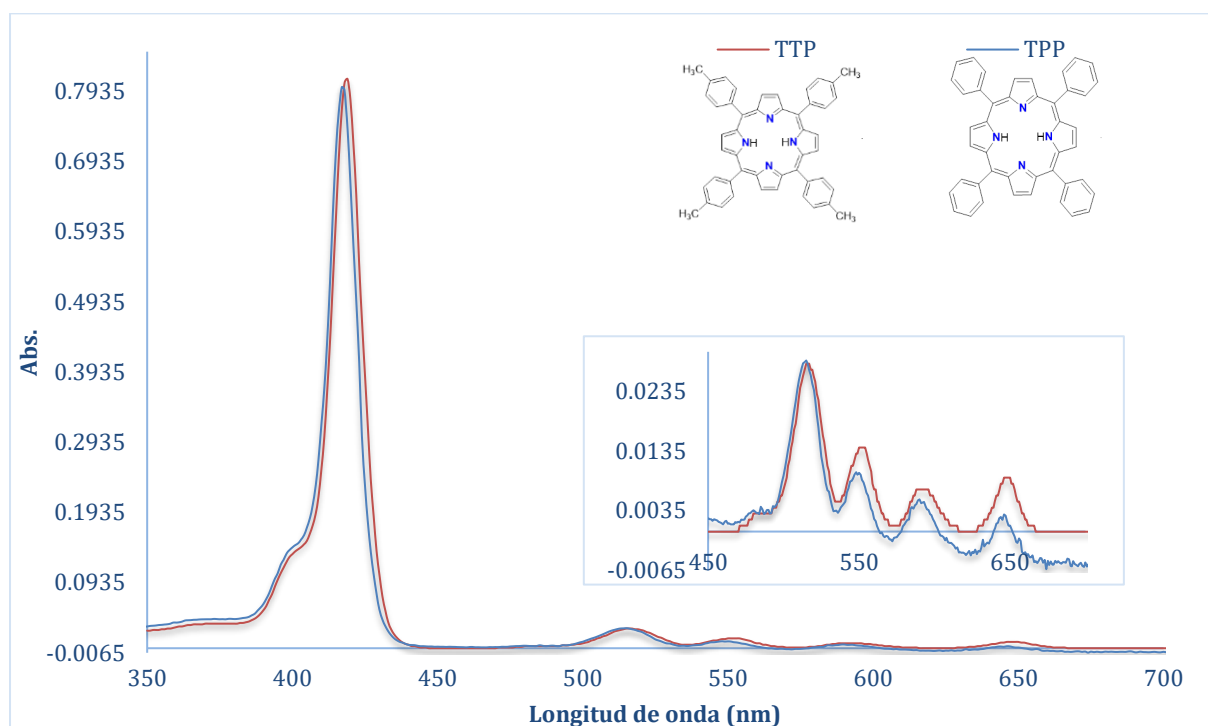
La síntesis de TPP y TTP se llevó a cabo con un ligero exceso de pirrol, debido a que el pirrol no fue destilado previamente y la implementación de reactivos más económicos obteniendo los productos esperados en rendimientos por debajo del 10 %, similares a los reportados para la mayoría de las porfirinas que utilizan el método de Adler (Adler 1964, Sruti *et al.*, 2021). Si bien los rendimientos son bajos, las porfirinas son un producto de valor agregado; ya que el propósito de este trabajo no tiene como enfoque buscar la técnica que nos proporcione mejores rendimientos.

Para la síntesis de las porfirinas sulfonadas se modificó ligeramente la técnica de síntesis reportada por Prabal *et al.* (2017). Trascorridas las 4 horas de calentamiento, la reacción fue enfriada a 0 °C con un baño de agua con hielo, se agregó agua destilada directamente en el matraz de bola, se neutralizó el excedente de ácido adicionando NaOH 10 M, hasta que se observó una coloración color rosa, la mezcla se dejó evaporar a temperatura ambiente, el sólido obtenido se lavó con metanol y se filtró al vacío. Los productos obtenidos fueron caracterizados por la espectroscopia UV-Visible, fluorescencia, FTIR y RMN-<sup>1</sup>H evidenciando la formación de TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> y TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

Se calcularon rendimientos para TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> y TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> arriba del 100%, lo que sugiere remanentes de subproductos de la reacción con NaOH, se trató de eliminarlos con lavados de metanol y filtrando al vacío y además de purificación por cristalización en un sistema diclorometano:metanol 1:1; sin embargo, no fue posible eliminar en su totalidad el hidróxido de sodio usado durante la reacción de neutralización, debido a que las porfirinas sulfonadas y en NaOH presentan solubilidad semejante, sin embargo, se considera que con la pureza lograda de la porfirina sulfonada es posible realizar estudios preliminares en UV-Vis y fluorescencia.

## 4.2 Espectros UV-Vis de las porfirinas

Los espectros UV-Visible de las porfirinas presentaron el patrón característico de la simetría de la molécula, una banda de Soret en la zona de 390-450 nm debida a las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  del anillo porfirínico y cuatro bandas (Q) en la zona de 500-700 nm que corresponden a las transiciones de los enlaces  $n \rightarrow \pi^*$  y  $\pi \rightarrow \pi^*$  de los sustituyentes en la periferia tal y como se reporta en la literatura (Milgrom 1997), en el espectro 1; se observan las porfirinas TTP (rojo) y TPP (azul), entre ambos compuestos se observa un ligero desplazamiento batocrómico de la banda Soret, en TTP debido al sustituyente metilo del anillo aromático, la medición se llevó a cabo en diclorometano a 25°C en el espectrofotómetro Cary-50 Conc Varian. En la Tabla 6 se comparan las bandas observadas y con las bandas de las porfirinas reportados previamente en la literatura observándose que las absorbancias máximas se presentan a longitud de onda similares.

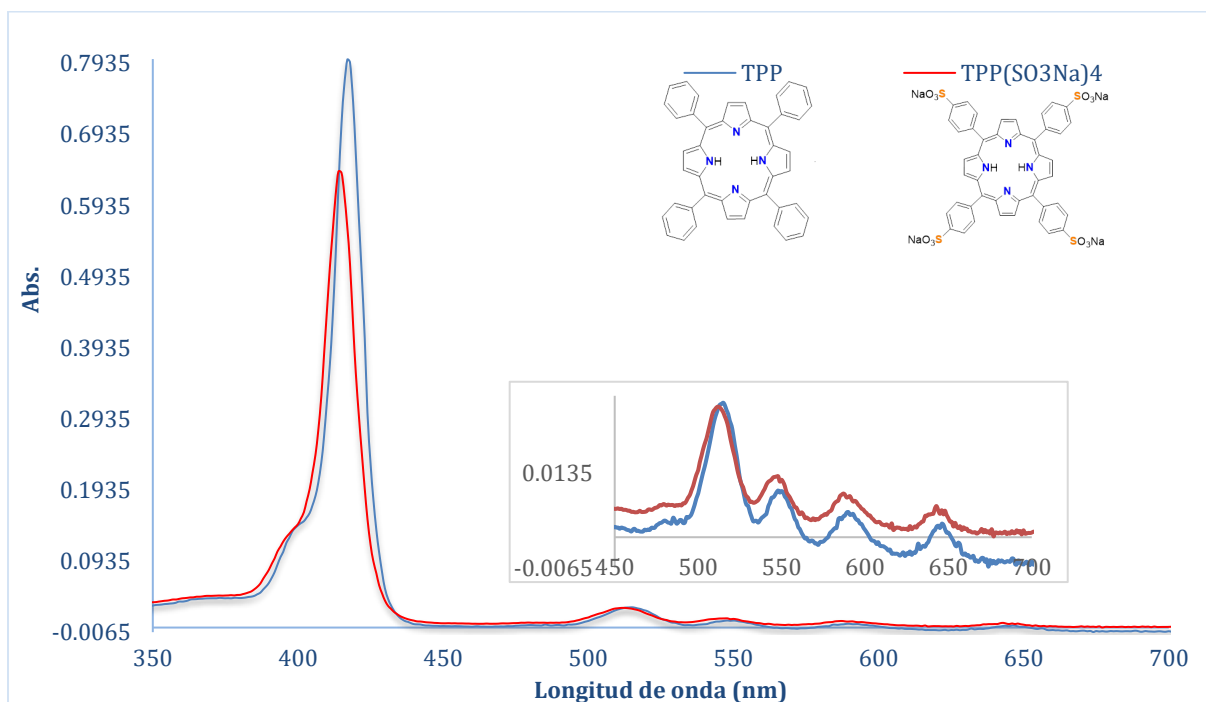


**Espectro 1.** Comparación de los espectros UV-Vis de los compuestos TPP y TTP.

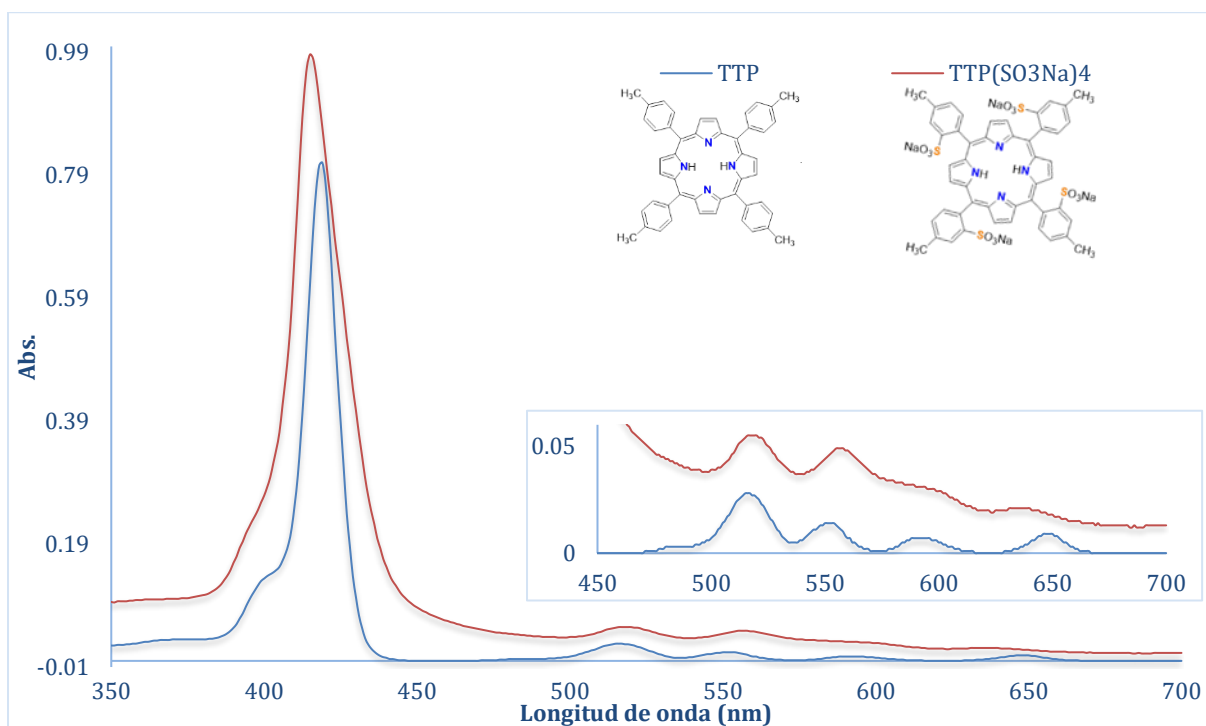
**Tabla 6.** Comparación del comportamiento espectral de TPP & TTP versus las reportadas.

Compuesto	Soret	Bandas Q			
	( $\lambda$ )nm/abs.	( $\lambda$ )nm/abs.			
	Soret	A	B	$\Gamma$	$\delta$
TPP	417/0.79	515/0.028	548/0.01	590/0.005	646/0.003
TTP	419/0.811	516/0.028	552/0.014	592/0.007	648/0.009
TPP (Martínez 2020.)	414	514	549	590	647
TTP (Carballo 2012)	418	511	547	588	643

Tras la síntesis de sulfonación para cada porfirina se tomó el espectro y se comparó con el espectro de la porfirina no sulfonada. En el espectro 2 se presenta dicha comparación de TPP (azul) versus TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> (rojo), observándose en la banda Soret y las 4 bandas Q un ligero desplazamiento hipsocrómico debido a la sulfonación, la medición se llevó a cabo en diclorometano para TPP y en metanol para TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> a 25°C en el espectrofotómetro Cary-50 Conc Varian. De forma similar en el espectro 3 se presenta la comparación de las porfirinas TTP (azul) versus TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> (rojo), la medición se llevó a cabo en diclorometano para TTP y en metanol para TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> a 25°C en el espectrofotómetro Cary-50 Conc Varian; observándose el mismo comportamiento de las porfirinas TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> versus TPP. En la Tabla 7 se resume el comportamiento espectral para efectos de comparación entre las longitudes de onda observadas.



**Espectro 2.** Comparación de los espectros UV-Vis de los compuestos TPP versus TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.



**Espectro 3.** Comparación de los espectros UV-Vis de los compuestos TTP versus TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

**Tabla 7.** Comportamiento espectral de TPP, TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>, TTP y TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

Compuesto	Soret	Bandas Q				
	(λ)nm/abs.	(λ)nm/abs.				
	S	A	B	Γ	Δ	
TPP	417/0.79	515/0.028	548/0.01	590/0.005	646/0.003	
TPP(SO <sub>3</sub> Na) <sub>4</sub>	413/0.64	512/0.028	548/0.013	587/0.009	642/0.006	
TTP	419/0.811	516/0.028	552/0.014	592/0.007	648/0.009	
TTP(SO <sub>3</sub> Na) <sub>4</sub>	415/0.987	518/0.055	557/0.049	623/0.019	635/0.021	

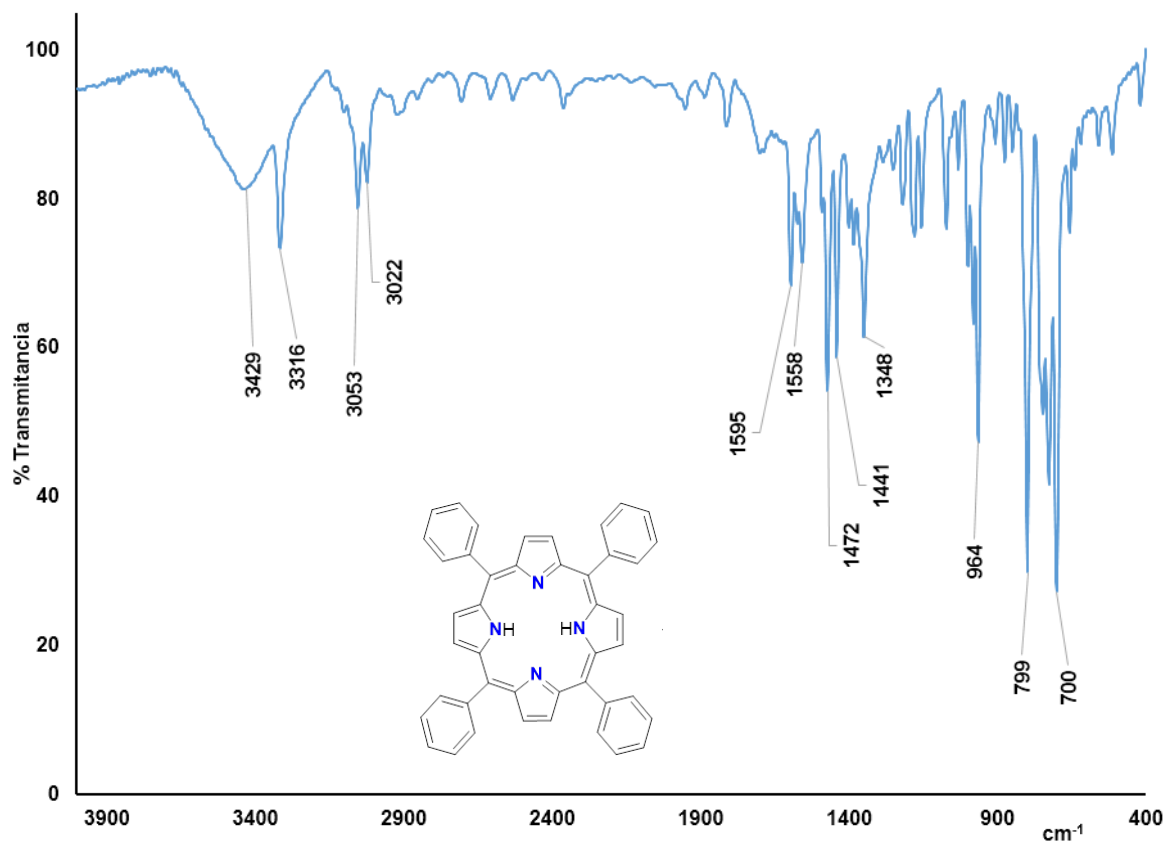
### 4.3 Métodos de Caracterización

#### 4.3.1 Espectroscopia infrarroja FTIR

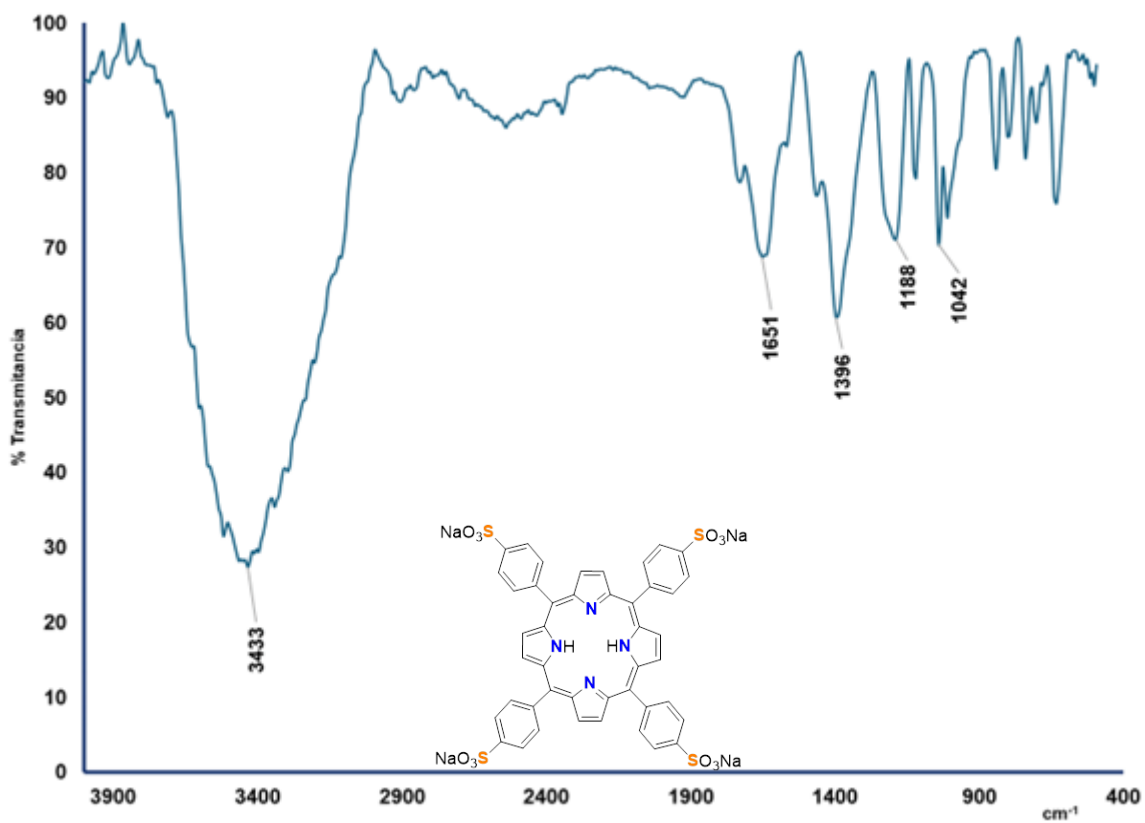
En los espectros 4 al 6 se presentan los espectros FTIR de las porfirinas TPP, TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> y la comparación entre ambas.

En el espectro 4 se observa a la TPP, donde las bandas de intensidad débil en 3053 - 3022 cm<sup>-1</sup> son asociadas al estiramiento del enlace C<sub>sp</sub><sup>2</sup>-H de los anillos aromáticos, el estiramiento del enlace N-H del pirrol se presenta en 3316 cm<sup>-1</sup> como una banda de intensidad débil, el estiramiento del doble enlace C=C aparece a 1595 cm<sup>-1</sup> como una banda de intensidad débil, la banda del estiramiento C-N, también presenta una intensidad débil a 1558 cm<sup>-1</sup>, así como, las bandas de intensidad media conocidas como modos del anillo aromático debidas al estiramiento y contracción del enlace C<sub>p</sub><sup>2</sup>-C<sub>sp</sub><sup>2</sup> en 1472 y 1441 cm<sup>-1</sup>.

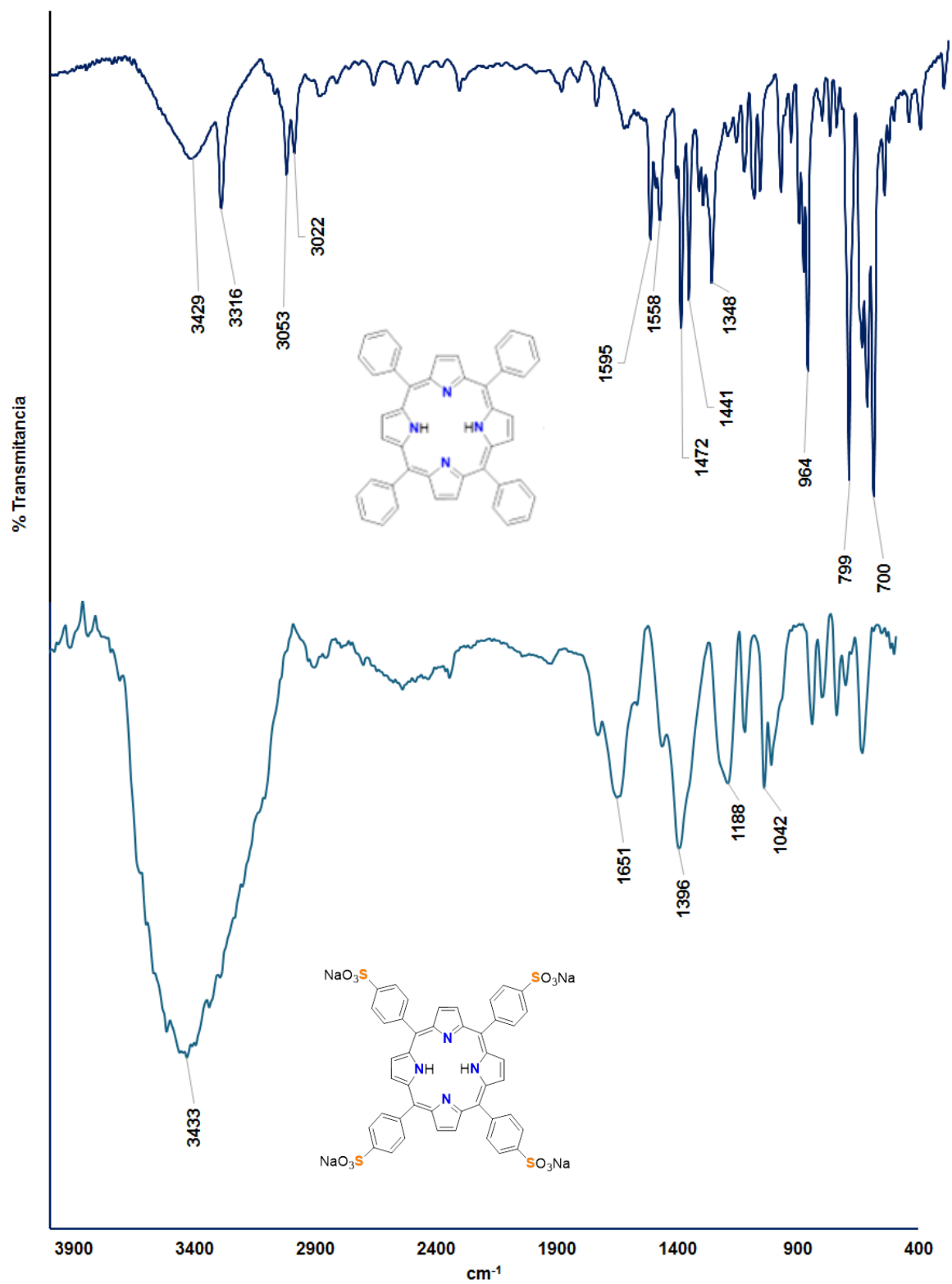
En el espectro 5 se observa a la TPP(SO<sub>3</sub>NA)<sub>4</sub>, se comprueba la sulfonación con la nueva banda de intensidad media y ancha en 1188 cm<sup>-1</sup> característica de los grupos sulfatos, el estiramiento del enlace C-N aparece a 1651 cm<sup>-1</sup> como una banda de intensidad media.



**Espectro 4.** Espectro FTIR de TPP.



**Espectro 5.** Espectro FTIR de TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

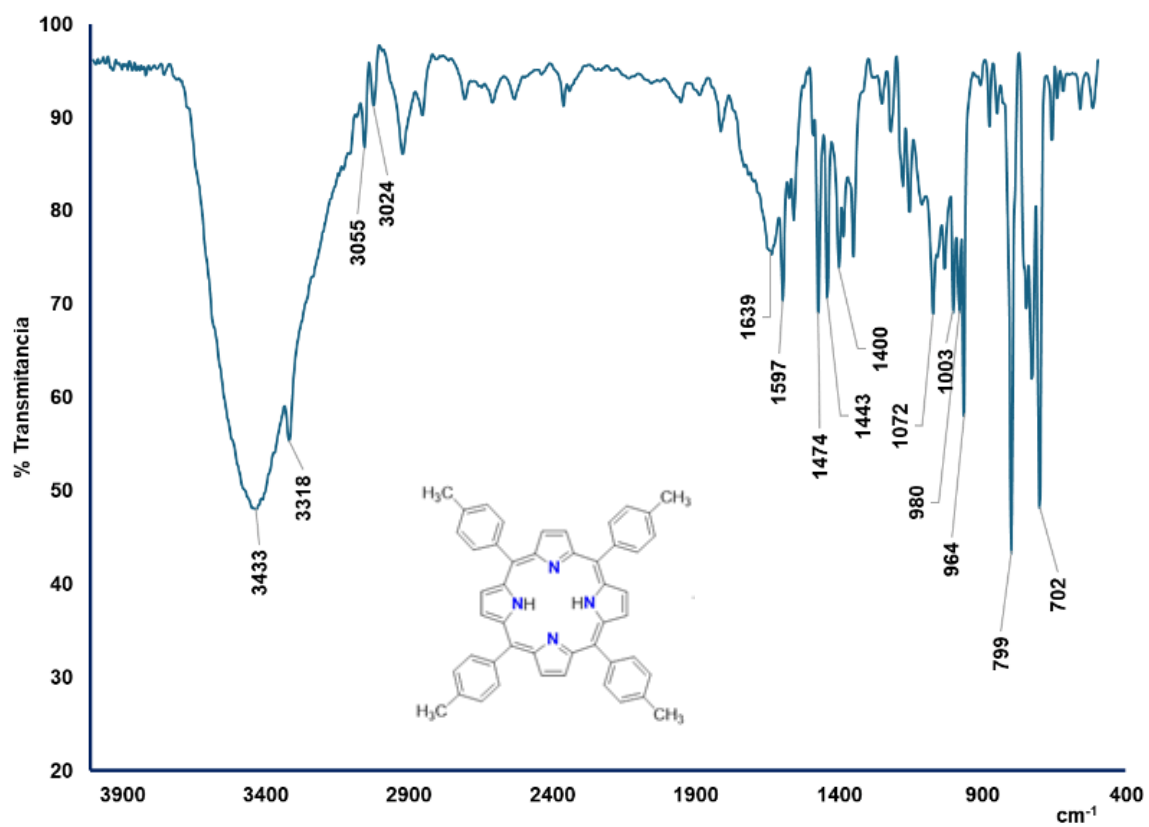


**Espectro 6.** Espectro FTIR de TPP versus TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

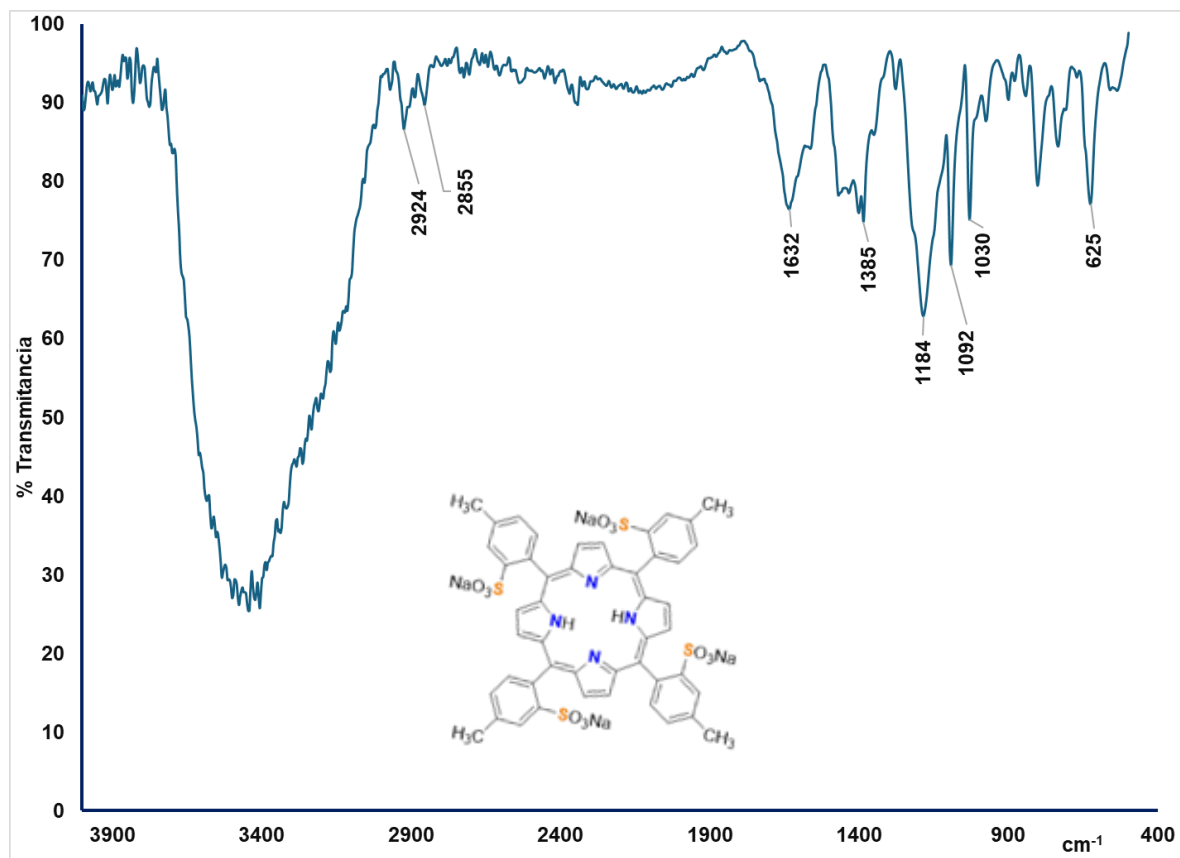
En los espectros 7 al 9 se presentan los espectros FTIR de las porfirinas TTP, TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> y la comparación entre ambas.

En el espectro 7 se observa a la TTP, donde las bandas de intensidad débil en 3055 - 3024 cm<sup>-1</sup> son asociadas al estiramiento del enlace C<sub>sp<sup>2</sup></sub>-H de los anillos aromáticos, el estiramiento del enlace N-H del pirrol se presenta en 3318 cm<sup>-1</sup> como una banda de intensidad fuerte, las bandas de intensidad débil en 2924 y 2851 cm<sup>-1</sup> correspondientes al estiramiento asimétrico y simétrico del enlace C<sub>sp<sup>3</sup></sub>-H respectivamente del CH<sub>3</sub> en la posición *para* del anillo aromático, el estiramiento del enlace C-N aparece a 1639 cm<sup>-1</sup> como una banda ancha de intensidad débil, la banda del estiramiento del doble enlace C=C del anillo aromático a 1597 cm<sup>-1</sup> presenta una intensidad media, así como las bandas de intensidad media conocidas como modos del anillo aromático debidas al estiramiento y contracción del enlace C<sub>p<sup>2</sup></sub>-C<sub>sp<sup>2</sup></sub> en 1474 y 1443 cm<sup>-1</sup>, por ultimo la banda en 1072 cm<sup>-1</sup> correspondiente al movimiento de doblamiento del enlace N-H.

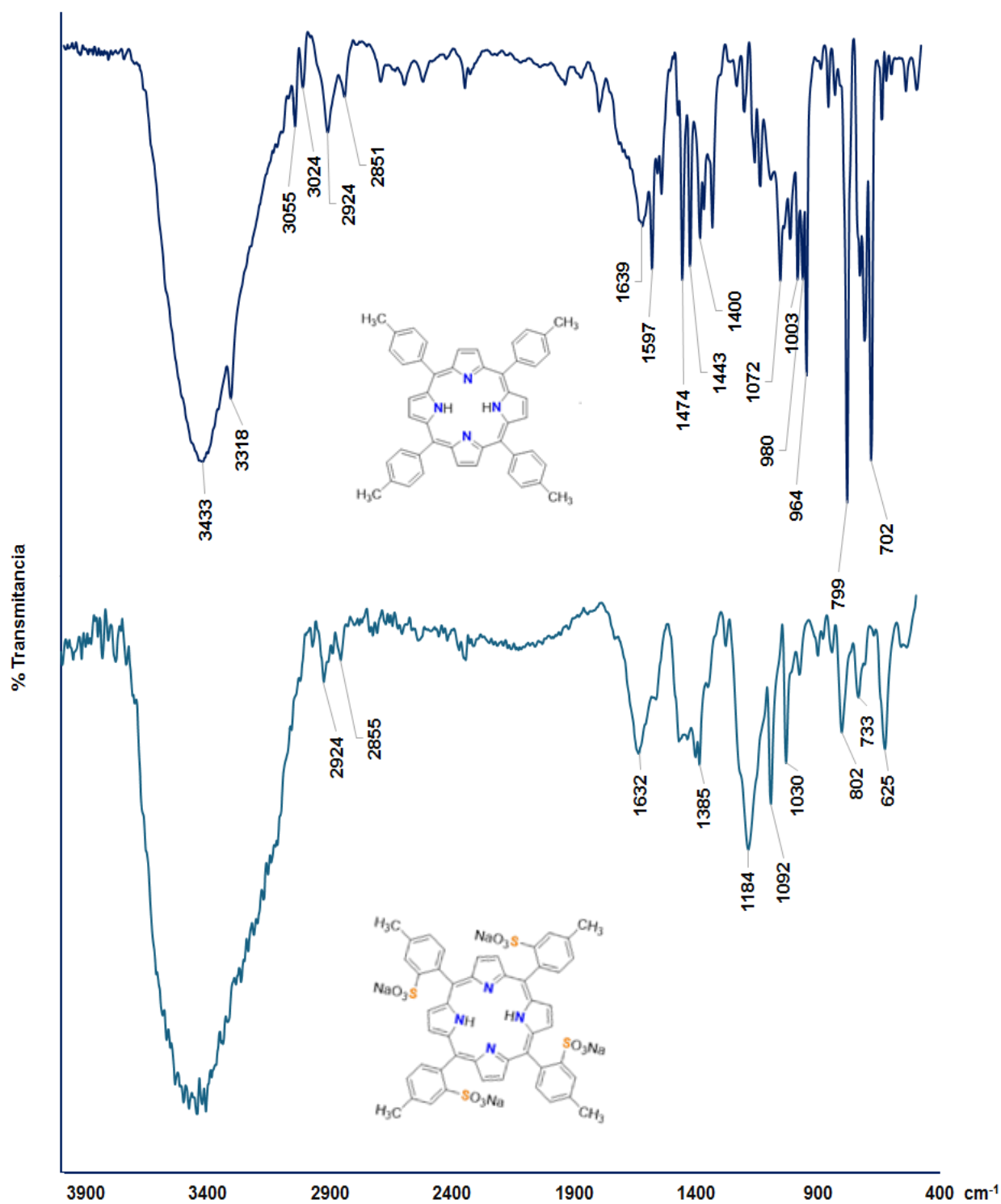
En el espectro 8 se observa a la TTP(SO<sub>3</sub>NA)<sub>4</sub>, se comprueba la sulfonación con la presencia de la banda de intensidad media y ancha en 1184 cm<sup>-1</sup> característica de los grupos sulfatos, las bandas de intensidad débil en 2924 y 2855 cm<sup>-1</sup> correspondientes al estiramiento asimétrico y simétrico del enlace C<sub>sp<sup>3</sup></sub>-H respectivamente del CH<sub>3</sub> en la posición *para* del anillo aromático, el estiramiento del enlace C-N aparece a 1632 cm<sup>-1</sup> como una banda ancha de intensidad media.



**Espectro 7** Espectro FTIR de TTP.



**Espectro 8.** Espectro FTIR de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.



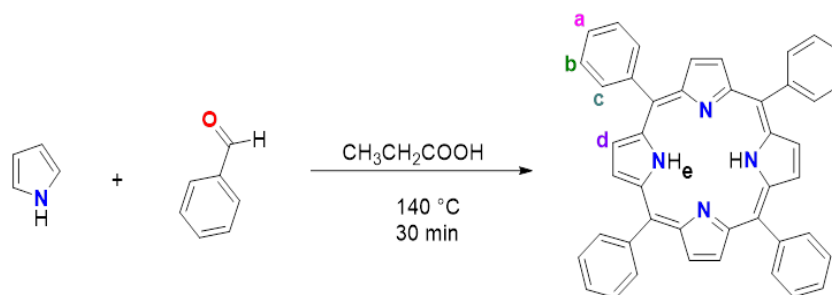
**Espectro 9.** Espectro FTIR de TTP versus TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

### 4.3.2 Resonancia Magnética Nuclear $^1\text{H}$

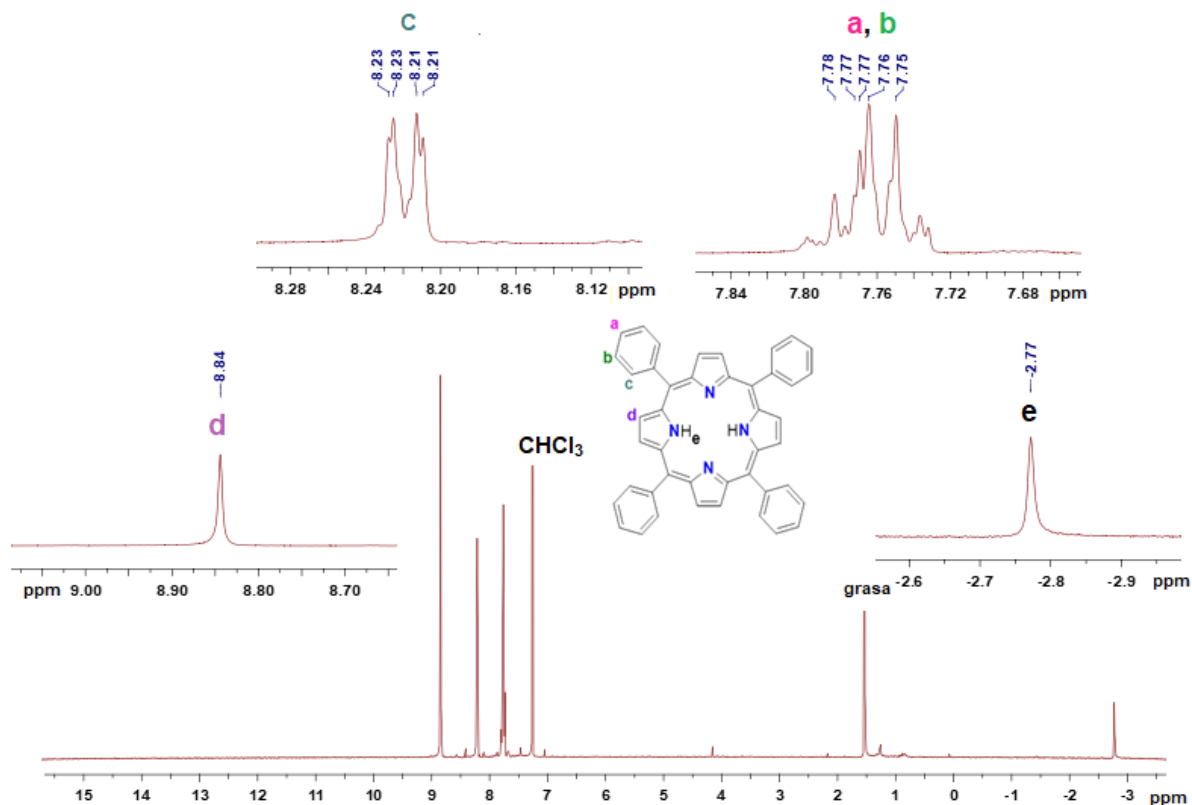
Los desplazamientos químicos para el núcleo de  $^1\text{H}$  tienen como referencia interna al tetrametilsilano (TMS,  $\delta = 0$  ppm) y con una frecuencia de 500 MHz. En los espectros 10 al 13 se muestran las asignaciones de las bandas de RMN  $^1\text{H}$  de cada porfirina. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se reportan en partes por millón (ppm). El efecto de la anisotropía diamagnética del anillo de porfirina es evidente en la desprotección de los protones fenilo y pirrol, los cuales presentan señales en valores altos y en el blindaje de los protones N–H internos lo cual le brinda un efecto apantallamiento que provoca un desplazamiento químico hacia valores negativos.

RMN  $^1\text{H}$  TPP y TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la porfirina TPP se observan cuatro señales de protón coligadas a las señales esperadas, a campo alto aparece un singulete de intensidad media con desplazamiento químico en -2.77 ppm, e integral relativa de 2, correspondiente a los hidrógenos del grupo amino del pirrol asignados como **e** en la porfirina, a campo bajo, en la zona de los hidrógenos aromáticos aparecen las señales asociadas al fenilo, en el intervalo de 7.72 a 7.82 ppm, una señal intensa multiplete relacionada con los hidrógenos *meta*, y *para* asignados como **b** y **a** respectivamente, con integral relativa de 12, seguida de una señal pseudo doble de dobles con desplazamiento químico en 8.22 ppm e integral relativa de 8, asociada a los hidrógenos en la posición *orto* del fenilo, etiquetados como **c**, finalmente una señal singulete con desplazamiento químico en 8.84 ppm, con integral relativa de 8, asociada a los hidrógenos del pirrol asignados como **d**. Espectro 10. (Prabal *et al.*; 2017).



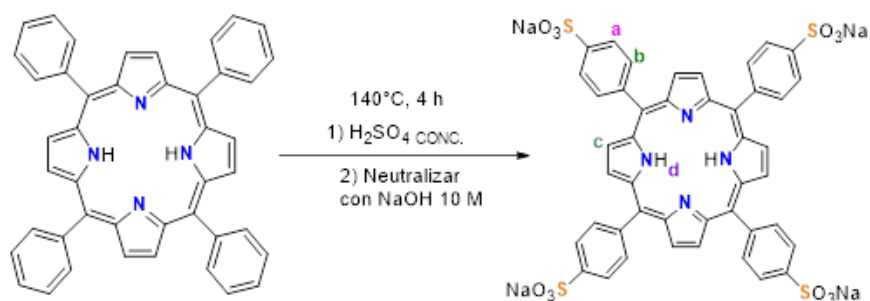
**Figura 8.** Esquema de síntesis de TPP.



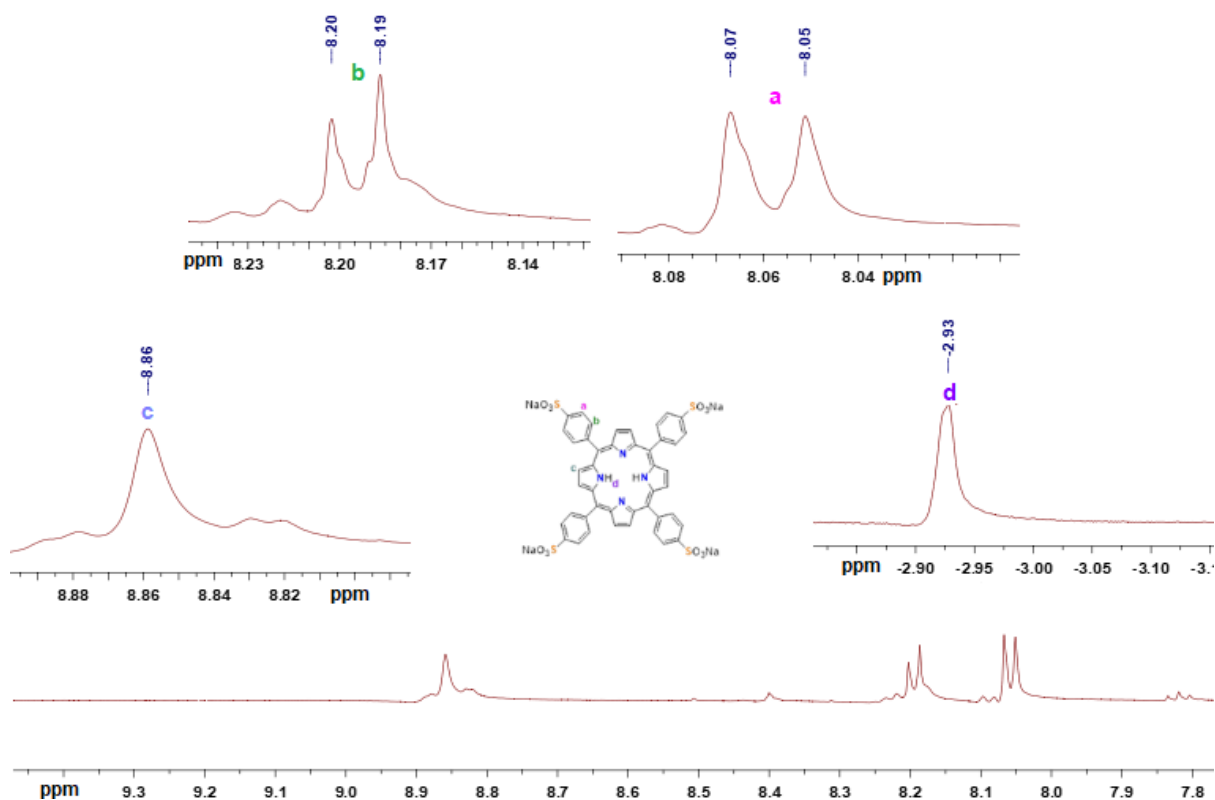
**Espectro 10.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de TPP.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del producto de la sulfonación TPP( $\text{SO}_3\text{Na}$ ), a campo alto aparece un singlete de intensidad media con desplazamiento químico en -2.93 ppm, con integral relativa de 2, correspondiente a los hidrógenos del grupo amino asignados como **d** en la porfirina y que al mismo tiempo confirma la presencia de un solo producto, las señales a campo bajo, en la zona de los hidrógenos aromáticos con desplazamientos químico de 8.06 y 8.20 ppm dos señales dobletes con integral relativa de 8:8, correspondientes a los hidrógenos *meta* **a** y *orto* **b** del fenilo, respectivamente, acompañadas de la ausencia de la

señal de los hidrógenos aromáticos del fenilo en la posición *para*, finalmente una señal singlete con desplazamiento químico en 8.86 ppm, con integral relativa de 8, asociada a los hidrógenos del pirrol asignados como **c**. Espectro 11. (Prabal *et al.*; 2017).

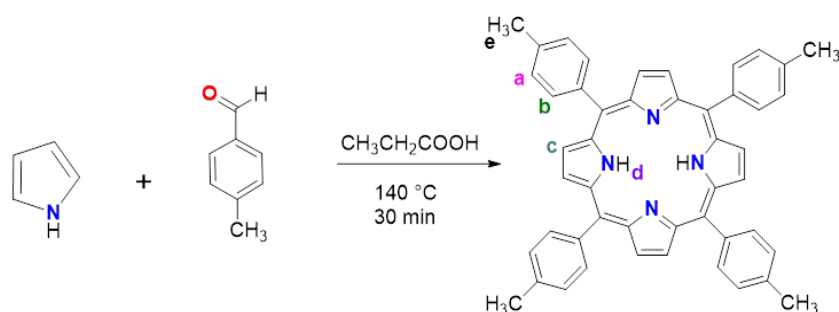


**Figura 9.** Esquema de síntesis de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$

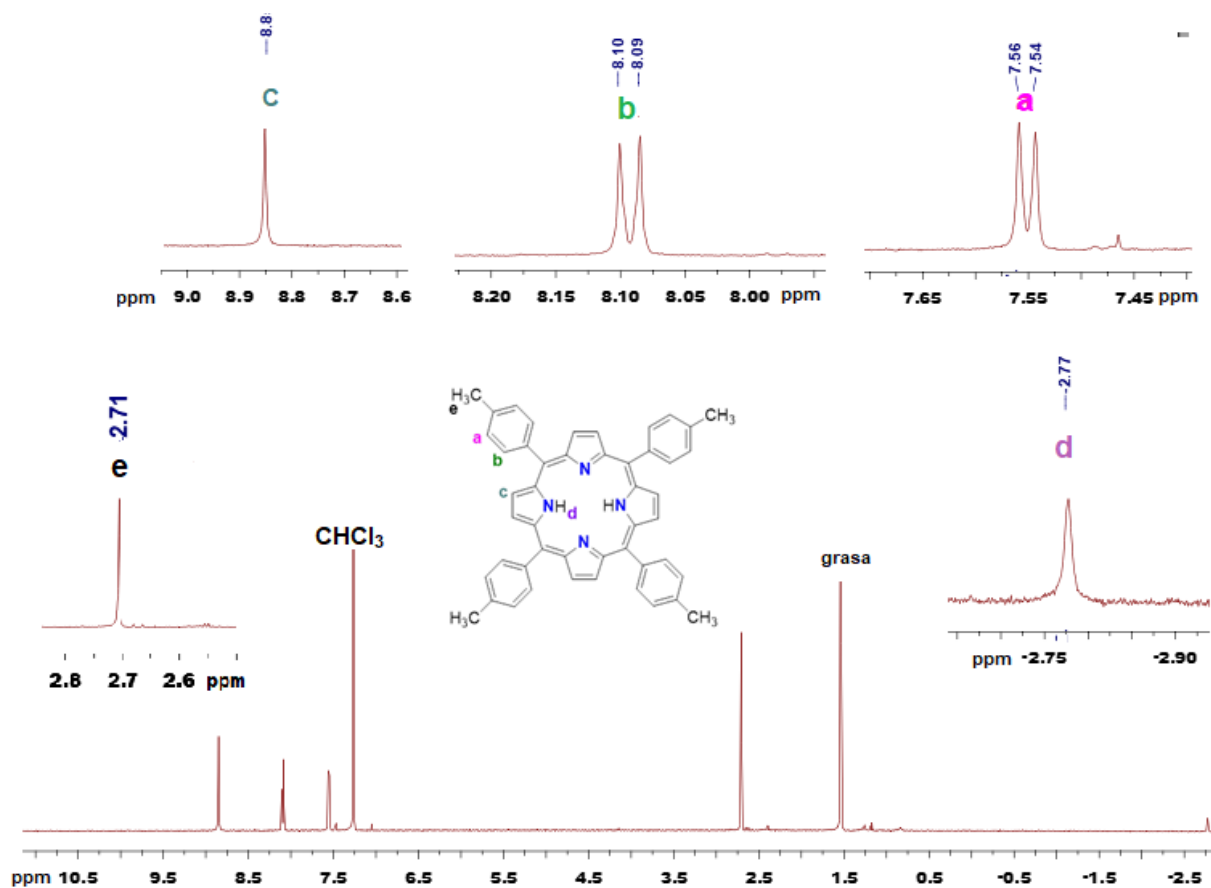


RMN  $^1\text{H}$  TTP Y TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la porfirina TTP se observan cinco señales de protón coligadas a las cinco señales esperadas para protón, a campo alto aparece un singulete de baja intensidad con desplazamiento químico en -2.77 ppm, con integral relativa de 2, correspondiente a los hidrógenos del grupo amino asignados como **d** en la porfirina, a campo medio con desplazamiento químico de 2.71 ppm se observa una señal singulete con integral relativa de 12 correspondiente a los hidrógenos metílicos **e** en la posición *para* del fenilo, a campo bajo, en la zona de los hidrógenos aromáticos aparecen las señales asociadas al fenilo, en 7.55 y 8.09 ppm dos dobletes con integrales relativas de 8:8, correspondientes a los hidrógenos *meta* y *orto* asignados como **a** y **b** respectivamente, finalmente una señal singulete con desplazamiento químico en 8.80 ppm, con integral relativa de 8, asociada a los hidrógenos del pirrol asignados como **c**. Espectro 12. (Prabal *et al.*; 2017).



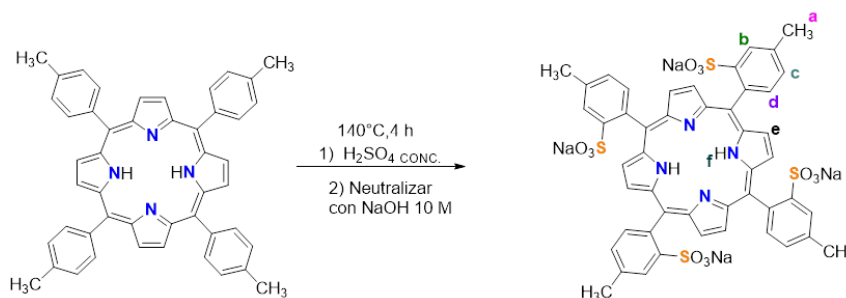
**Figura 10.** Esquema de síntesis de TTP.



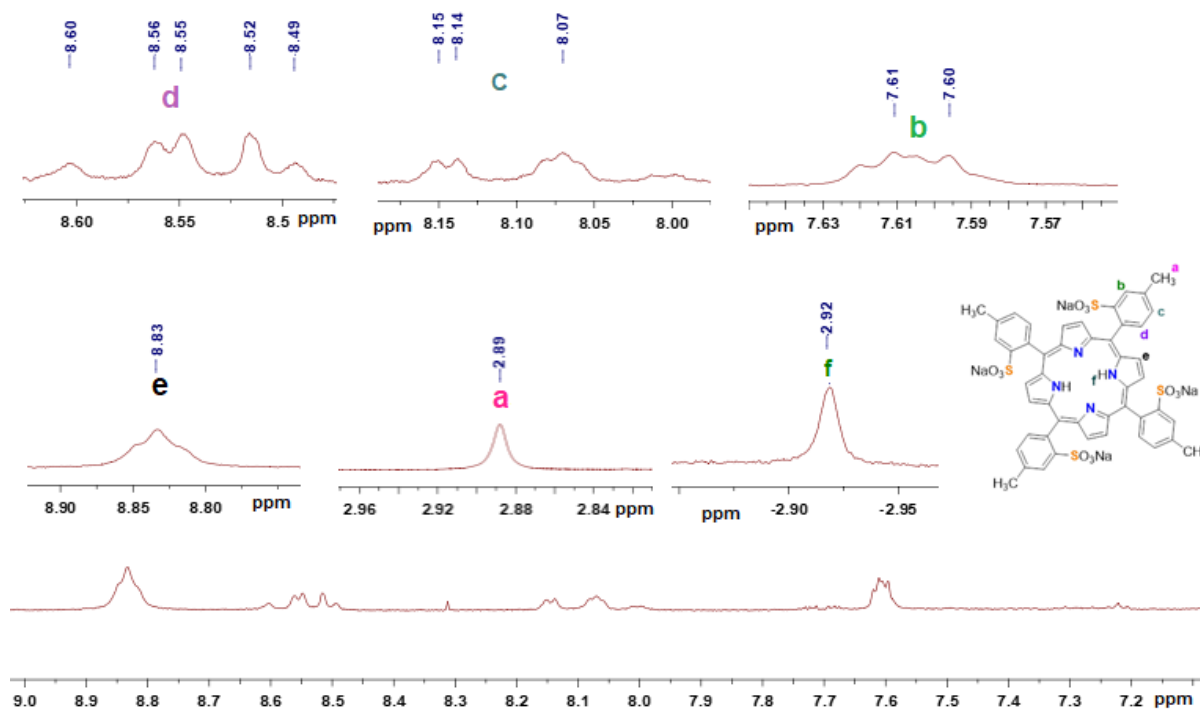
**Espectro 12.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de TTP.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del producto de la sulfonación TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>, a campo alto aparece un singlete de intensidad media con desplazamiento químico en -2.92 ppm, con integral relativa de 2, correspondiente a los hidrógenos del grupo amino asignados como **f** en la porfirina y que al mismo tiempo confirma la presencia de un solo producto, a campo medio con desplazamiento químico de 2.89 ppm se observa una señal singlete con integral relativa de 12 correspondiente a los hidrógenos metílicos **a** en la posición *para* del fenilo, observamos cambios en las señales a campo bajo que indican que la sulfonación se produce en la posición *orto* del anillo aromático, en la zona de los hidrógenos aromáticos con desplazamientos químicos de 7.6, 8.1 y 8.5 ppm tres señales multipletes con integral relativa de 4:4:4, correspondientes a los hidrógenos *meta* **b**, *meta* **c** y *orto* **d** del fenilo, respectivamente, acompañadas de la ausencia de la señal de los hidrógenos aromáticos del fenilo en la posición *para*, finalmente una señal singlete con desplazamiento químico en 8.83 ppm, con

integral relativa de 8, asociada a los hidrógenos del pirrol asignados como **e**. Espectro 13. (Prabal *et al.*; 2017).



**Figura 11.** Estructura química tras su síntesis de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.



**Espectro 13.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.

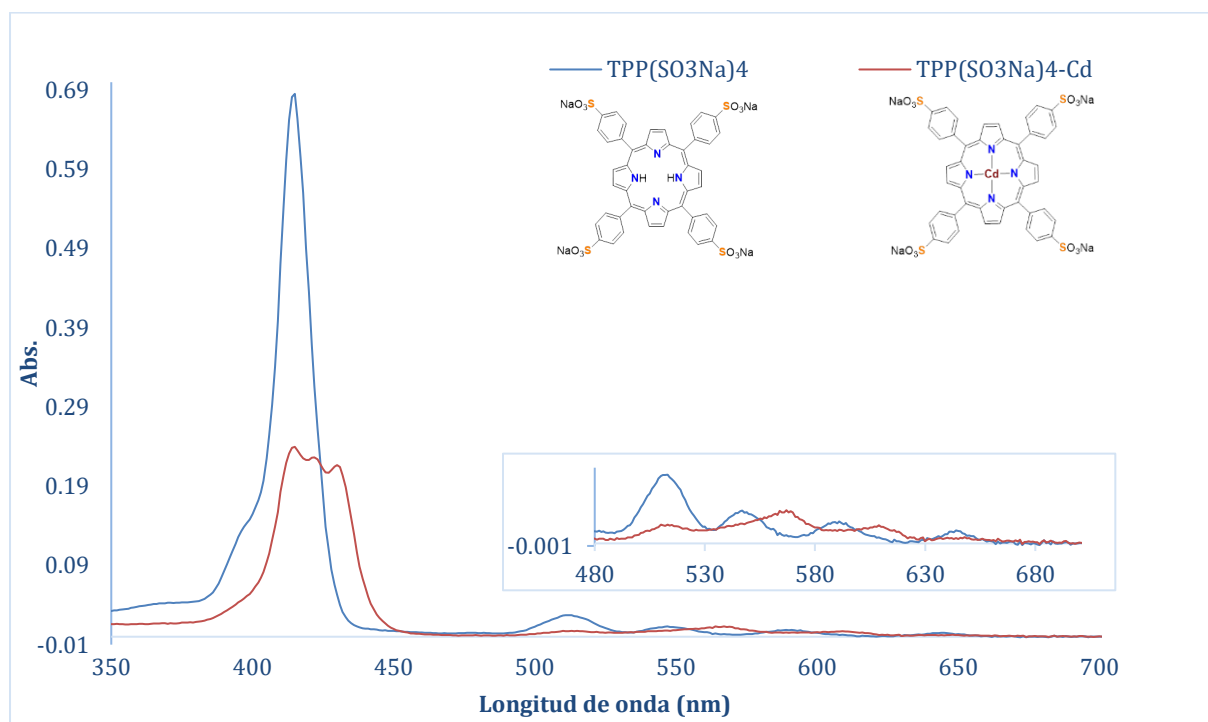
#### 4.4 Curvas de calibración por espectroscopía UV-Vis

Se revisaron las valoraciones espectrofotométricas con TPP y TTP con cobre, como modelo de trabajo; sin embargo, con base en la literatura es necesario agregar un exceso significativo de aproximadamente 1:50 para observar cambios en la banda de Soret y corroborar la formación de la metaloporfirina según Xahuentitla (2021). Por esa razón se buscó aumentar la solubilidad de los sistemas y se decidió realizar las valoraciones de los productos sulfonados con diferentes metales para desarrollar un modelo de trabajo, siendo cadmio y

mercurio los que presentaron mejor comportamiento espectral, debido a que en las pruebas preliminares se observó una reacción muy rápida, de hecho, se necesitó ajustar el perfil de concentraciones para lograr observar los cambios que se describirán a continuación.

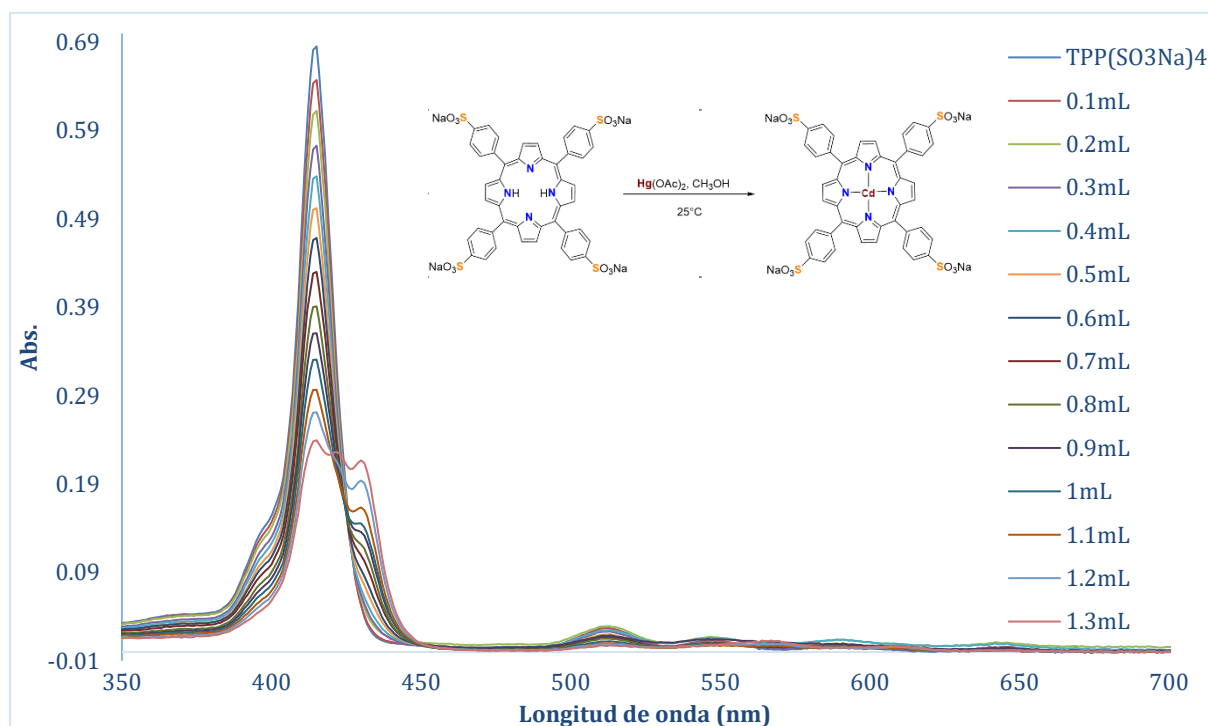
#### 4.4.1 Valoración de $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$ con acetato de cadmio por UV-Vis

La comparación de los espectros entre la porfirina de base libre  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  y la metalada  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4\text{-Cd}$  se observan en el espectro 14. La curva de calibración de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  con acetato de cadmio se llevó a cabo en metanol y se determinó la obtención de la metaloporfirina por espectroscopía UV-Vis. En el espectro 15, se observa un desplazamiento batocrómico de la banda Soret de 415 nm hasta 430 nm (diferencia de 15 nm) debido a la reacción con el acetato de cadmio. También existe un desplazamiento batocrómico de las bandas (Q)  $\beta$  y  $\gamma$  mientras que en las bandas (Q)  $\alpha$  y  $\delta$  desaparecieron por completo.

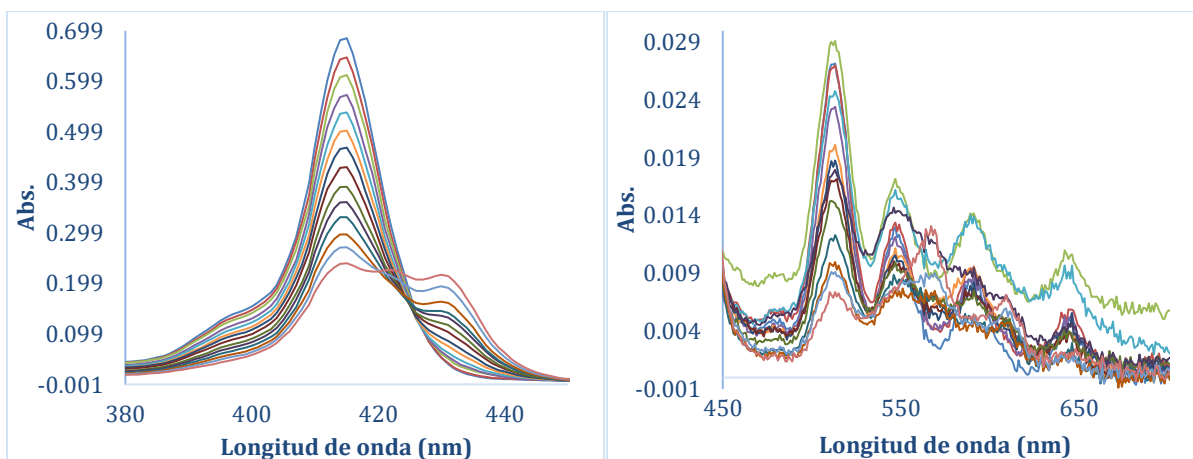


**Espectro 14.** Comparación de los espectros UV-Vis de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  &  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4\text{-Cd}$ .

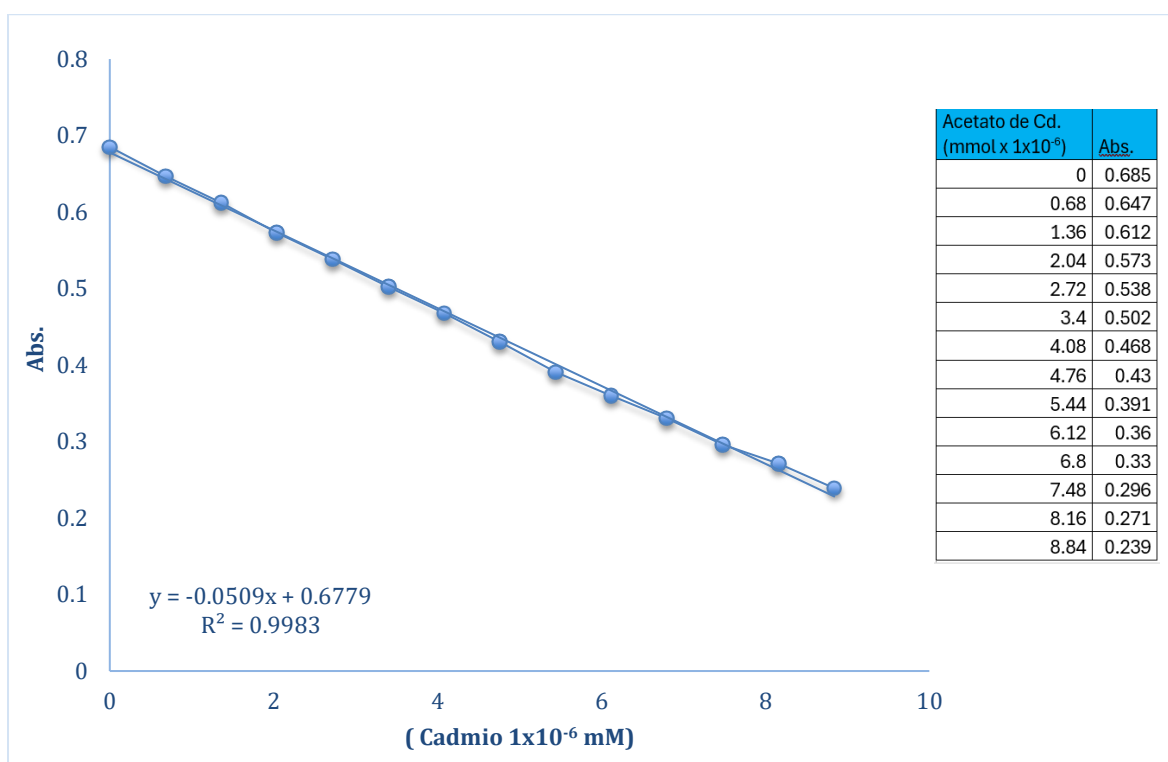
Se presenta la valoración espectrofotométrica de la porfirina con cadmio, se coloca una ampliación en el espectro 16 para observar a detalle los cambios sucesivos. Usando la banda de Soret en 415 nm que disminuye conforme avanza la formación de la metaloporfirina y además es la más intensa, se puede revisar el comportamiento de las gráficas de absorbancia frente a incrementos sucesivos de la concentración de cadmio. Se observa un punto isobéptico en 426 nm, característico de reacciones en equilibrio y que confirma que los cambios no son debidos a procesos de dilución de la muestra. También existe la disminución progresiva de las bandas (Q)  $\alpha$  y  $\delta$ , mientras que en las bandas (Q)  $\beta$  y  $\gamma$  van aumentando. Los cambios de las bandas se describen en el gráfico 1. Al llevar a cabo el análisis de regresión en 415 nm, se observa una pendiente negativa con un coeficiente de correlación de 0.99 que describe un comportamiento ajustable a una línea recta.



**Espectro 15.** Valoración espectrofotométrica por Uv-Vis de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$  con acetato de cadmio.



**Espectro 16.** Ampliación de la banda Soret y bandas Q del espectro 12.

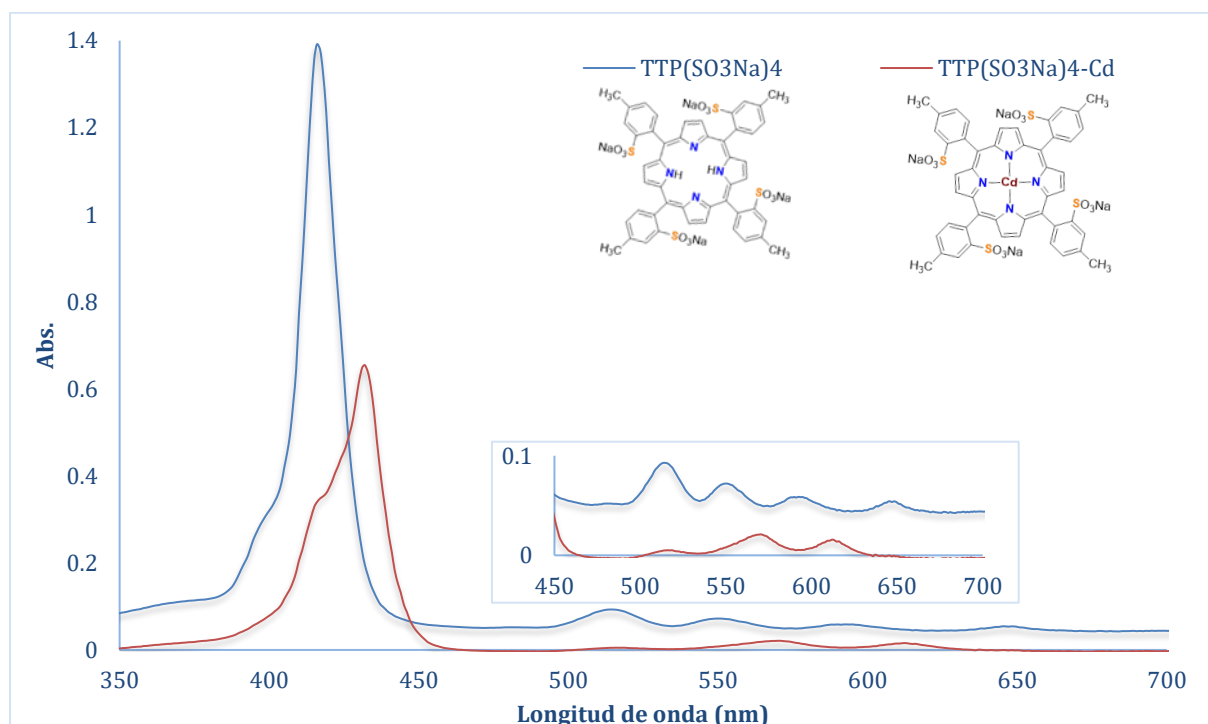


**Gáfico 1.** Linealidad de TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> frente a diferentes concentraciones de acetato de cadmio en metanol.

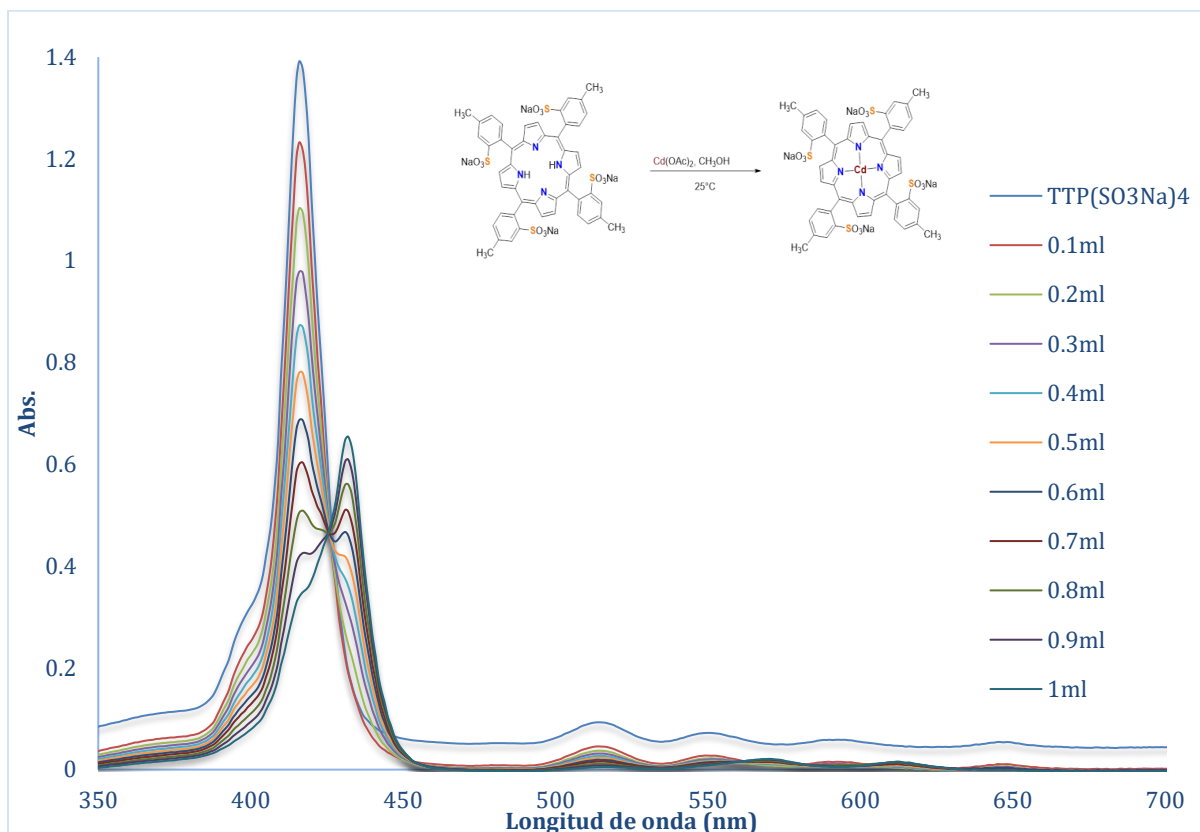
#### 4.4.2 Valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de cadmio por UV-Vis

La curva de calibración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de cadmio se llevó a cabo en metanol y se determinó la obtención de la metaloporfirina por espectroscopia UV-Vis en el espectro 18. Se observa un desplazamiento batocrómico de la banda Soret de 416nm hasta 431 nm (diferencia 15 nm), la formación de un punto isobéptico en 426 nm. También existe la

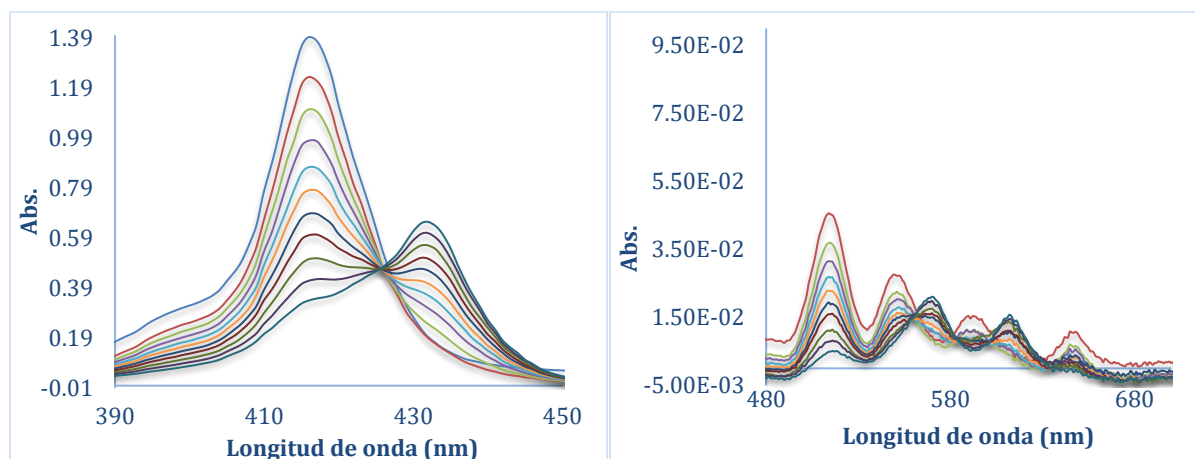
disminución progresiva de las bandas (Q)  $\alpha$  y  $\delta$ , mientras que en las bandas (Q)  $\beta$  y  $\gamma$  fueron aumentando. La comparación de los espectros entre la porfirina de base libre  $TTP(SO_3Na)_4$  y la metalada  $TTP(SO_3Na)_4-Cd$  se observan en el espectro 17 mientras que en el espectro 19 se coloca una ampliación para presentar a detalle el cambio. La banda de Soret en 416 nm disminuye conforme se forma la metaloporfirina, por lo tanto, se utiliza para estudiar los cambios químicos y evaluar la linealidad del cambio de absorbancia ante la presencia de diferentes concentraciones de cadmio. Se determinó la linealidad de la banda Soret en 416 nm, la cual se muestra en la gráfica 2 con un coeficiente de correlación de 0.99.



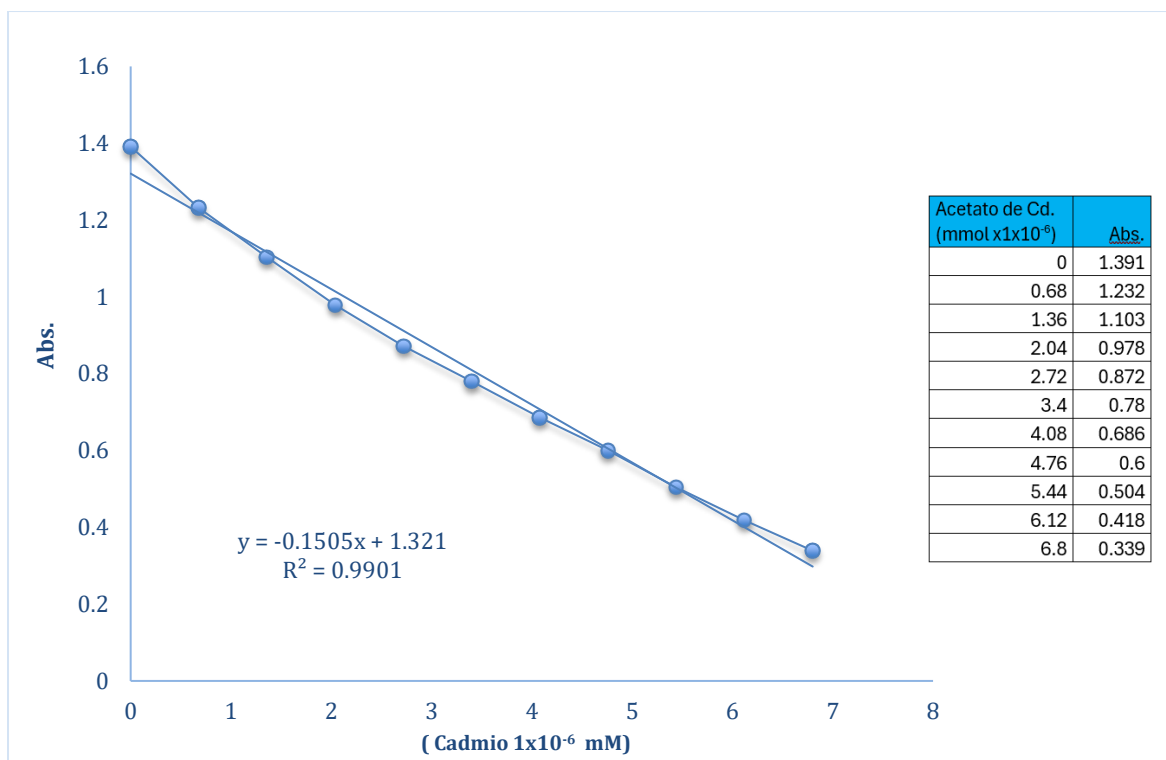
**Espectro 17.** Comparación de los espectros de UV-Vis de  $TTP(SO_3Na)_4$  &  $TTP(SO_3Na)_4-Cd$ .



**Espectro 18.** Valoración espectrofotométrica de  $TTP(SO_3Na)_4$  con acetato de cadmio.



**Espectro 19.** Ampliación de la banda Soret y bandas Q del espectro 15.

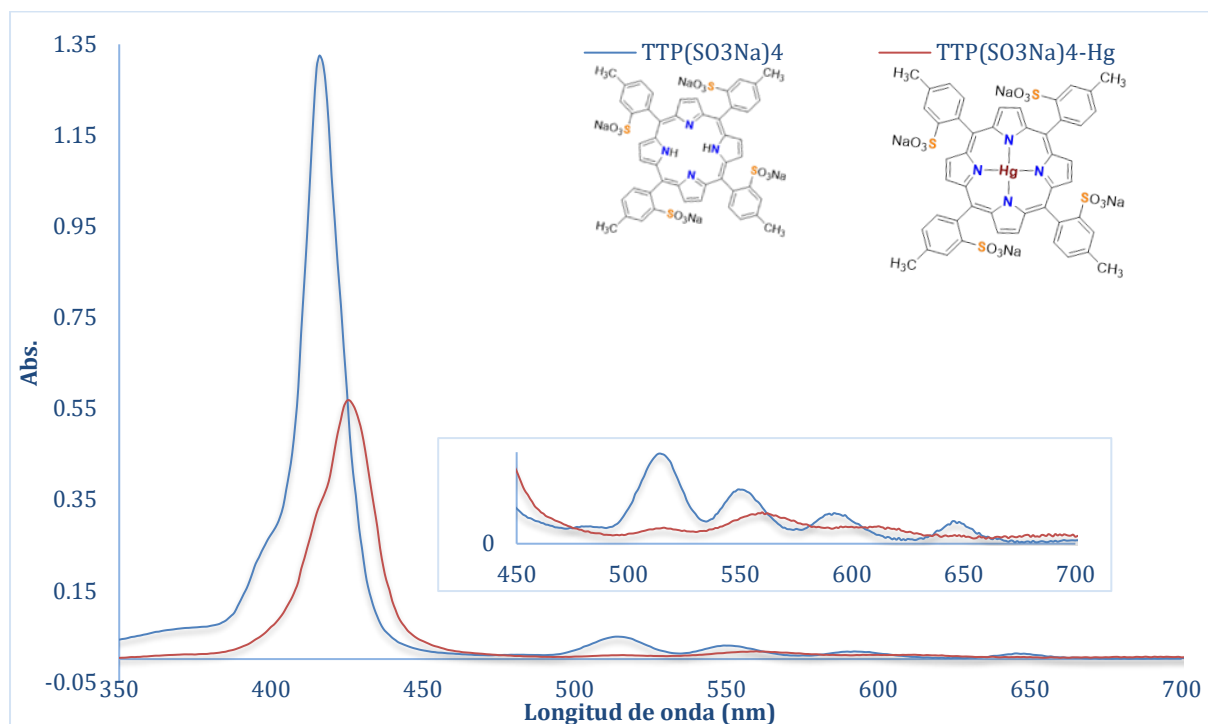


**Gáfico 2.** Linealidad de  $TTP(SO_3Na)_4$  frente a diferentes concentraciones de acetato de cadmio en metano.

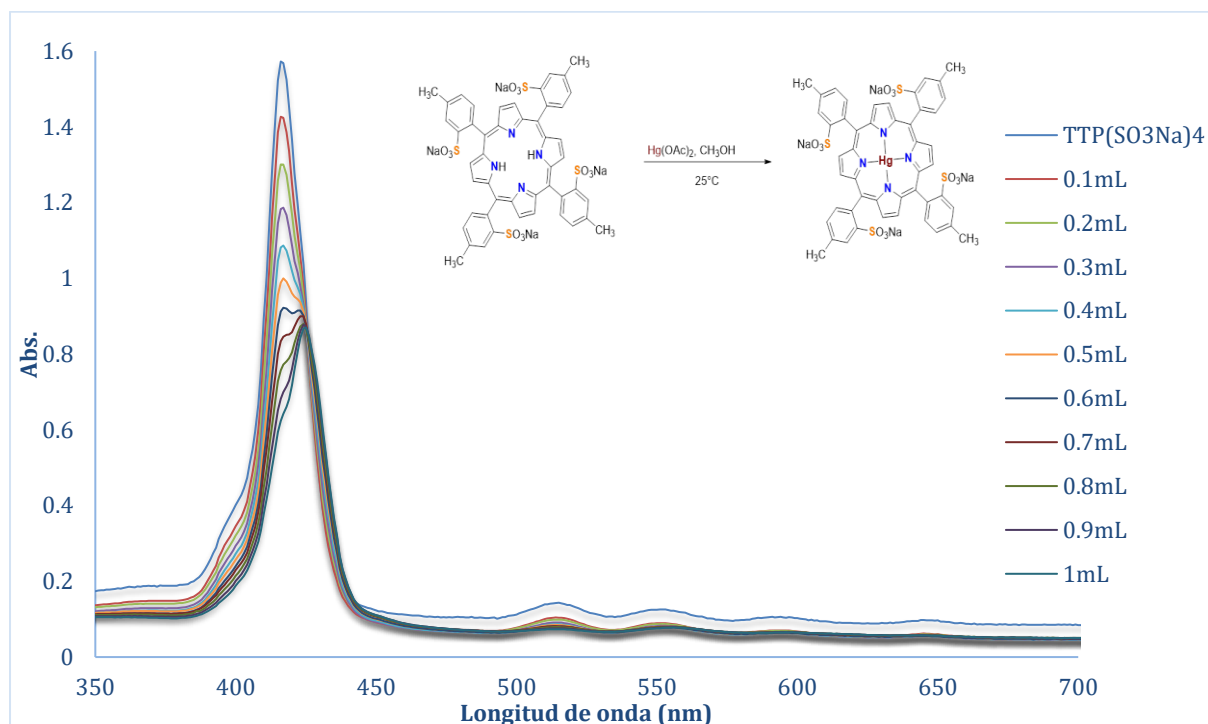
#### 4.4.3 Valoración de $TTP(SO_3Na)_4$ con acetato de mercurio por UV-Vis

Al observar una diferencia significativa en la banda de Soret del producto no metalado y el metalado para  $TTP(SO_3Na)_4$ -Cd, se decidió realizar una prueba acetato de mercurio para revisar el comportamiento de  $TTP(SO_3Na)_4$  ante el Hg, se llevó a cabo en metanol y se verificó la obtención de la metaloporfirina por espectroscopia UV-Vis, tal como se muestra en el espectro 20. Se observa un desplazamiento batocrómico de la banda Soret desde 416 nm hasta 426 nm (diferencia 10 nm), así como, la formación de un punto isobéptico en 426 nm. También existe la disminución progresiva de las bandas (Q)  $\alpha$  y  $\delta$ , mientras que las bandas (Q)  $\beta$  y  $\gamma$  fueron aumentando. Los cambios de las bandas y la valoración se observan en el espectro 21, en el espectro 22 se coloca una ampliación para presentar a detalle el cambio. Usando la Banda de Soret en 416 nm, la cual disminuye conforme se observa la formación de la metaloporfirina, se decide evaluarla linealidad del cambio ante la presencia de diferentes

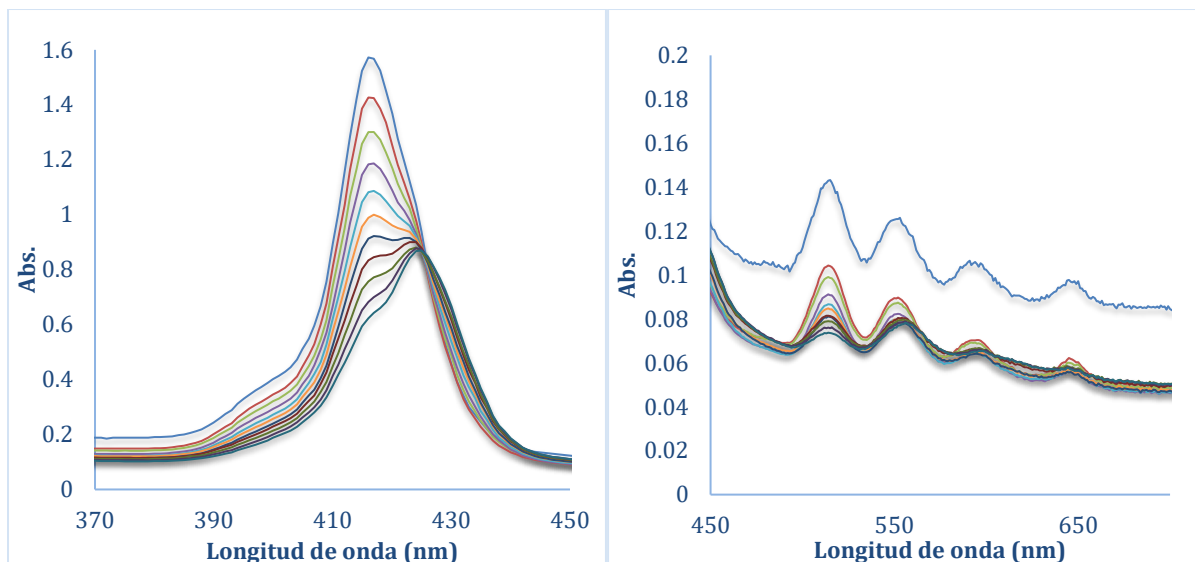
concentraciones de cadmio. Se determinó la linealidad de la banda Soret en 416 nm, la cual se muestra en la gráfica 3 con un coeficiente de correlación de 0.96.



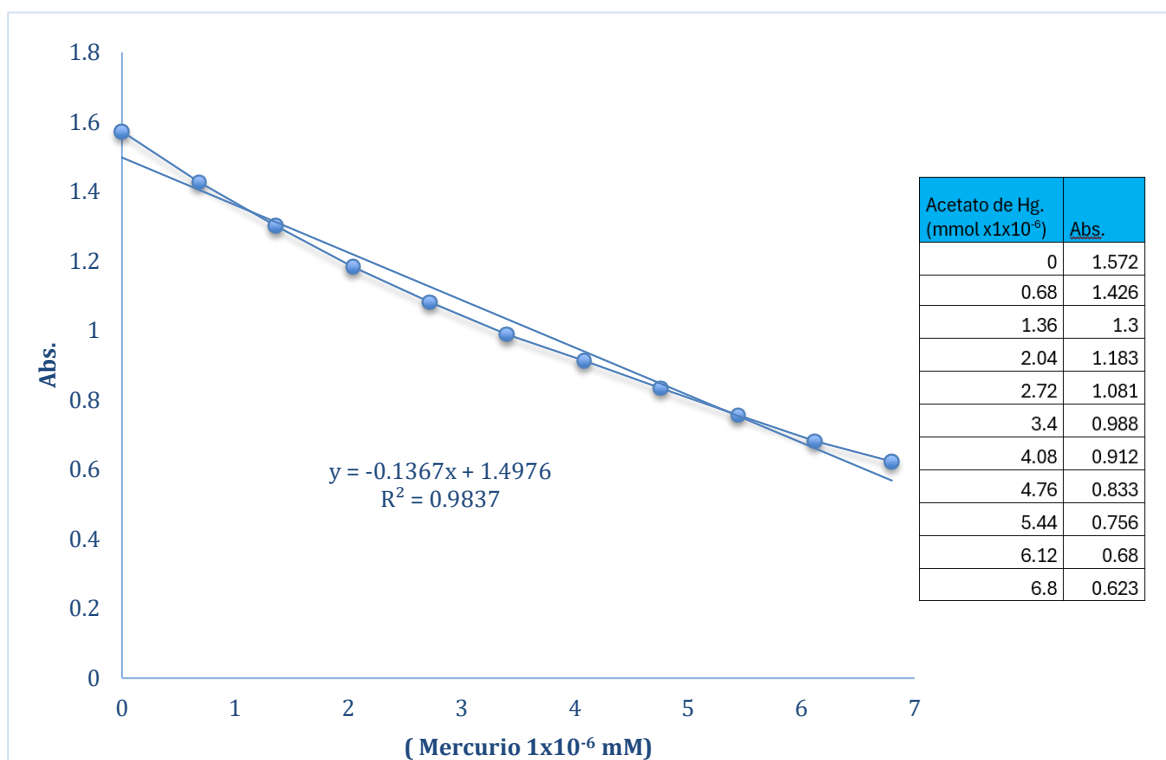
**Espectro 20.** Comparación de los espectros de UV-Vis de  $TTP(SO_3Na)_4$  &  $TTP(SO_3Na)_4-Hg$ .



**Espectro 21.** Valoración espectrofotométrica por UV-Vis de  $TTP(SO_3Na)_4$  con acetato de mercurio.



**Espectro 22.** Ampliación de la banda Soret y bandas Q del espectro 18.



**Gáfico 3.** Linealidad de  $TTP(SO_3Na)_4$  frente a diferentes concentraciones de acetato de mercurio en metanol.

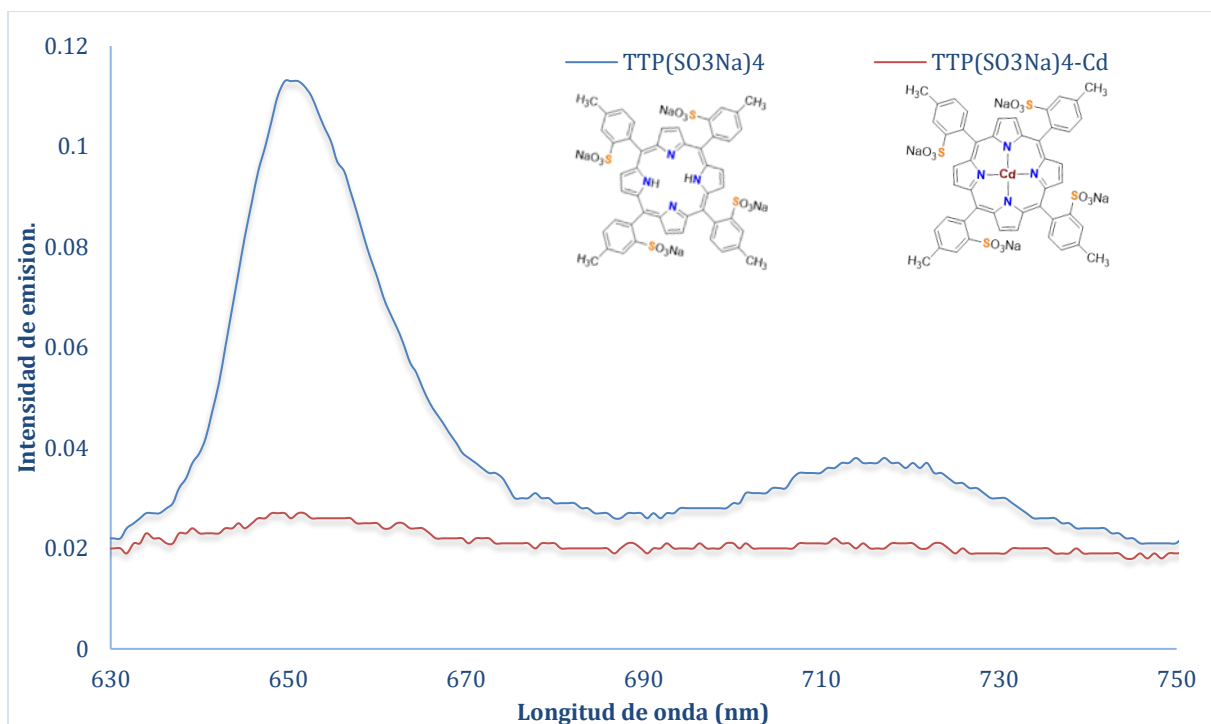
#### 4.5 Curvas de calibración por fluorescencia

Buscando alternativas que permitieran aumentar la sensibilidad de la porfirina en la detección de cadmio y recordando que los rendimientos cuánticos de emisión de las porfirinas son relativamente altos, optamos por utilizar la técnica de fluorescencia, ya que es un método analítico más sensible que una técnica de absorción.

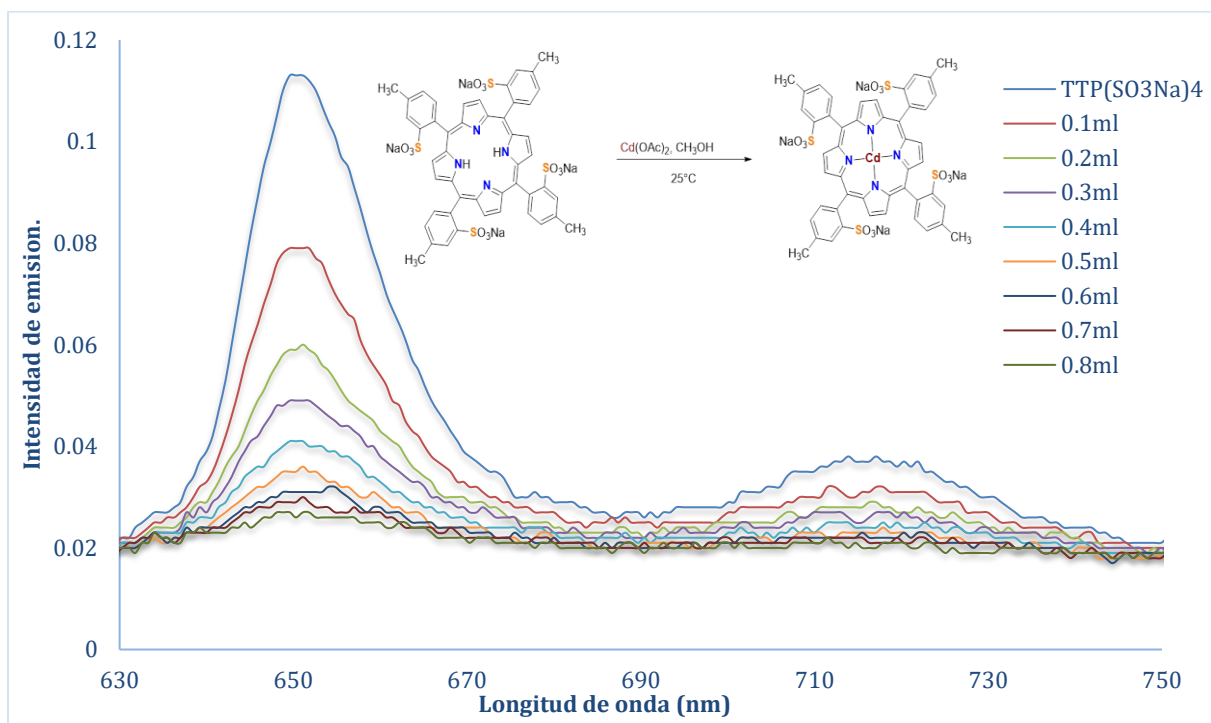
Como ya se ha mencionado anteriormente las porfirinas de base libre y las metaloporfirinas se caracterizan por dos zonas de emisión, la primera de las cuales, está centrada entre 400 y 500 nm y la segunda está entre 550 y 800 nm, que son transiciones de menor energía. Nasri (2020) demostró que la excitación de estos cromóforos conduce, en la mayoría de los casos, a la observación de únicamente dos bandas de emisión, en el caso de la porfirina H<sub>2</sub>TPP, la excitación de la banda de Soret da como resultado dos bandas de emisión centradas en 650 nm y 709 nm. En el caso de una porfirina con sustituyente similar a los trabajados en esta tesis encontramos la porfirina [Zn (TPP)], la excitación de las bandas de Soret en el benceno da como resultado dos bandas de emisión centradas en 645 nm (Nasri, 2020).

##### 4.5.1 Valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de cadmio por fluorescencia

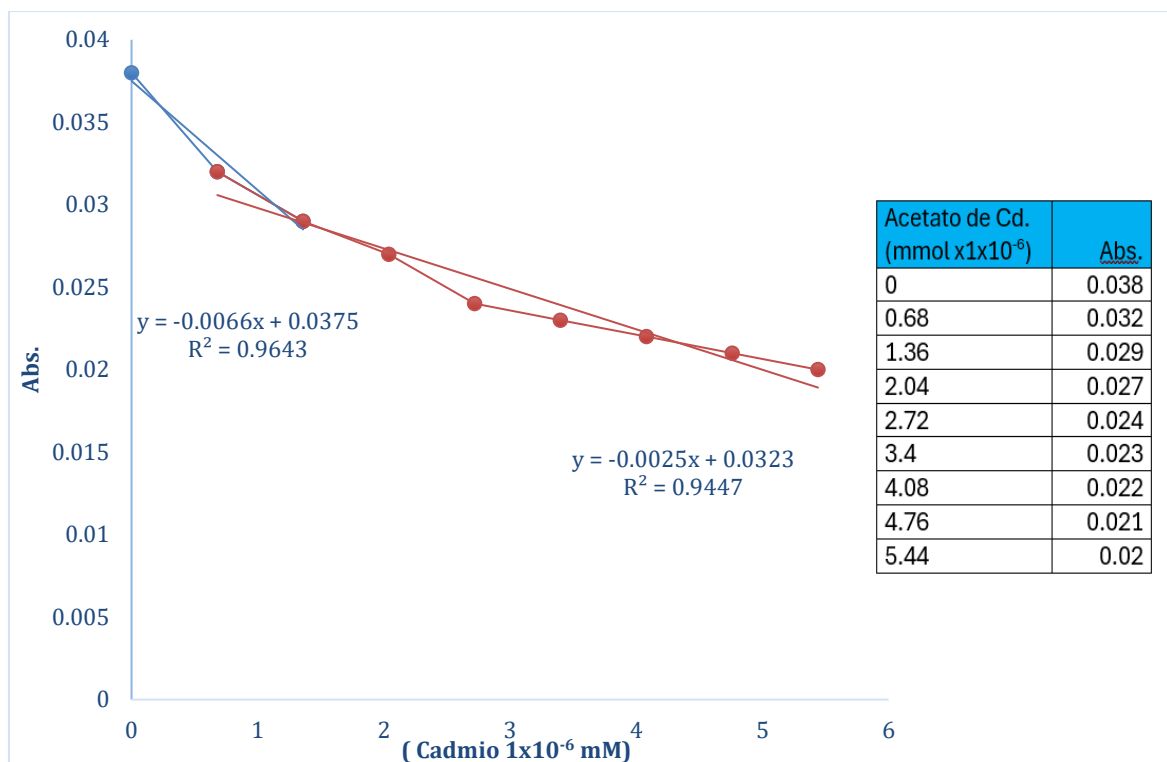
Al observar un mejor comportamiento y diferencias en los espectros de UV-Vis en las curvas de valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con cadmio, se decide realizar las pruebas de fluorescencia para revisar el comportamiento en esta técnica, se llevó a cabo en metanol y se verificó la metalación por fluorescencia usando una longitud de onda de 405 nm como banda de excitación. El espectro de fluorescencia presenta dos bandas de emisión una en 651 y otra en 717 nm, para la valoración con acetato de cadmio, el espectro 23 representa la comparación entre la porfirina sulfonada frente a la metalada con cadmio mientras que el espectro 24 la valoración, en los resultados se observa la disminución de las señales de emisión como resultado de la coordinación con cadmio. No hay un cambio en desplazamiento, ni se observan puntos isobéuticos en esta técnica y los coeficientes de correlación indican cambios casi lineales con valores de 0.9 conforme aumenta la concentración del metal.



**Espectro 23.** Comparación de los espectros de fluorescencia a 405 nm de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> & TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Cd.



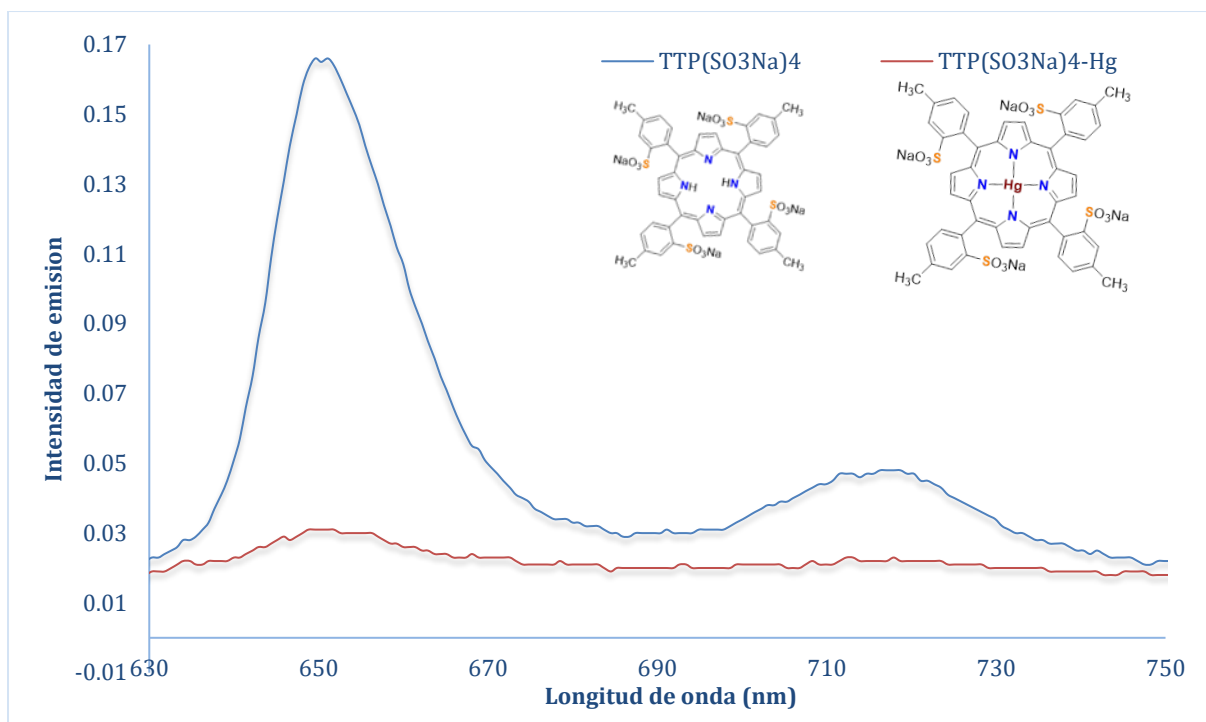
**Espectro 24.** Valoración espectrofotométrica de fluorescencia de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de cadmio.



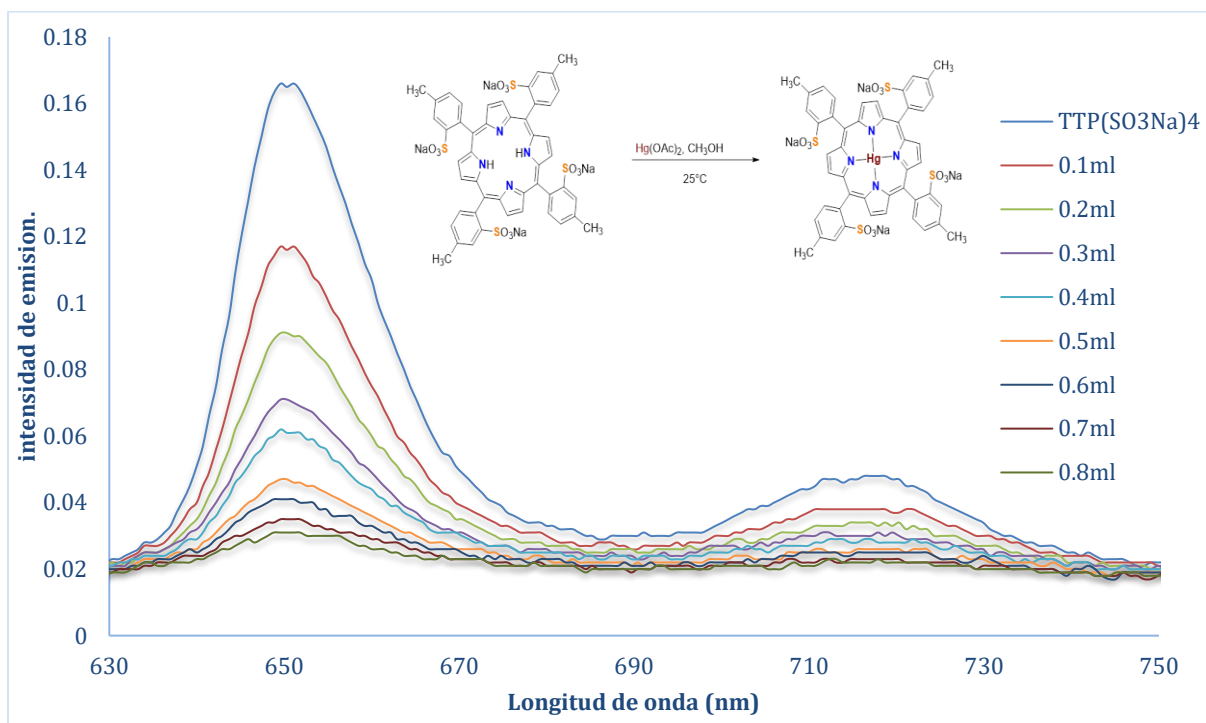
**Gáfico 4.** Linealidad de  $TTP(SO_3Na)_4$  ante diferentes concentraciones de acetato de cadmio en metanol.

#### 4.5.2 Valoración de $TTP(SO_3Na)_4$ con acetato de mercurio por fluorescencia

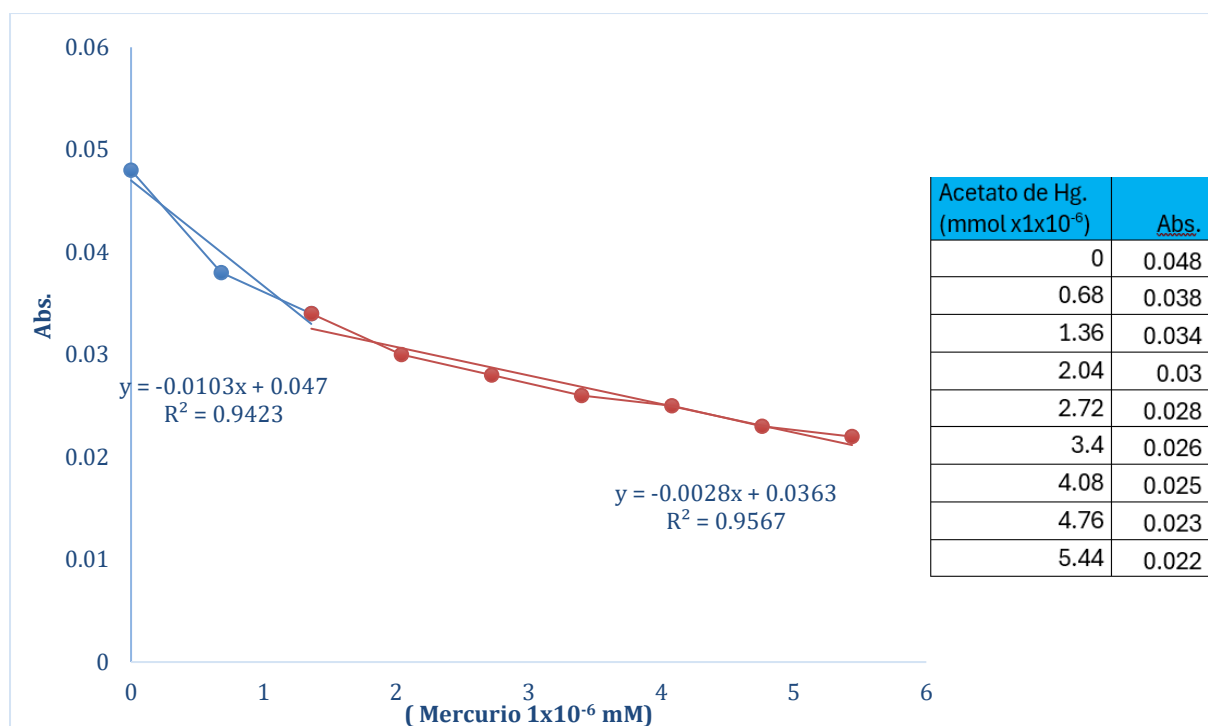
La valoración de  $TTP(SO_3Na)_4$  con mercurio se llevó a cabo en metanol y se verificó la metalación por fluorescencia usando una longitud de onda de 405 nm como banda de excitación. El espectro de fluorescencia presenta dos bandas de emisión una en 651 y otra en 717 nm, para la valoración con acetato de mercurio, el espectro 25 representa la comparación entre la porfirina sulfonada frente a la metalada con mercurio mientras que el espectro 26 la valoración, en los resultados se observa la disminución de las señales de emisión como resultado de la coordinación con mercurio. Nuevamente se distingue un cambio en desplazamiento, ni se observan puntos isobésticos en esta técnica y los coeficientes de correlación indican cambios casi lineales con valores de 0.9 conforme aumenta la concentración del metal.



**Espectro 25.** Comparación de los espectros de fluorescencia a 405nm de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> & TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Hg.



**Espectro 26.** Valoración espectrofotométrica de fluorescencia de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de mercurio.



**Gráfico 5.** Linealidad de  $TTP(SO_3Na)_4$  ante diferentes concentraciones de acetato de mercurio en metanol.

## Conclusiones

Como se ha descrito anteriormente, la síntesis de porfirinas sulfonadas es un método muy efectivo para aumentar su solubilidad en solventes polares y facilitar los enlaces covalentes coordinados entre su núcleo y los metales, lo cual hace que las porfirinas sirvan como un sensor colorimétrico bastante útil, fácil de sintetizar y costeable.

La sulfonación permite que la formación del complejo metal-porfirina se presente como una reacción espontánea y de manera muy efectiva, lo cual nos dice que las porfirinas sulfonadas funcionan como sensores colorimétricos para la detección de metales pesados como cadmio y mercurio.

Se obtienen cambios graduales de absorbancia durante la administración de acetato de mercurio y acetato de cadmio, lo cual destaca la técnica de UV-Vis como una herramienta útil para estudiar las interacciones entre el complejo Metal-porfirina. Se observan que los coeficientes de correlación son cercanos a 0.99, lo que indica que existe linealidad entre la absorbancia y los cambios de concentración en los intervalos de trabajo para todas las valoraciones espectrofotométricas por UV-Vis desarrolladas en este trabajo.

La interacción entre  $TTP(SO_3Na)_4$  y el cadmio presenta un cambio en su espectro UV-Vis significativo, incluso más que  $TPP(SO_3Na)_4$  con cadmio y  $TTP(SO_3Na)_4$  con mercurio, por lo tanto, se demuestra que puede funcionar como un sensor más específico sobre cadmio, debido a los desplazamientos de longitud de onda de la banda Soret y los subsecuentes en las bandas Q.

La fluorescencia presenta cambios disminuyendo la intensidad de la banda de emisión de la porfirina limitando los intervalos de concentración, se descarta que los cambios sean debidos a las diluciones subsecuentes de la muestra, ya que a la par se realiza la determinación por UV-Vis. Las características fotodinámicas de cada porfirina varían dependiendo del tamaño de la molécula, sustituyentes y de los metales con los que se encuentre coordinada, lo cual

abre la posibilidad de que el método en la técnica de fluorescencia pueda ser más efectivo para otra porfirina con diferentes diseños. Se observan comportamientos no lineales con coeficientes de correlación menores a 0.9 lo cual indica que no es un método tan efectivo.

### **Perspectivas**

Implementar nuevos procedimientos en la síntesis o purificación de porfirinas sulfonadas para poder obtener un grado más alto de pureza.

Sintetizar porfirinas con diferentes sustituyentes para que puedan ser estudiadas por fluorescencia.

Determinar los parámetros de validación (reproducibilidad, repetibilidad, robustez, niveles de detección) para la metodología de la detección de cadmio con  $TTP(SO_3Na)_4$  por espectroscopia UV-Vis.

Realizar una comparación con otros métodos de detección como por ejemplo un espectro de absorción atómica, otro sensor molecular, entre otros.

## Referencias

- Biesaga, M., Pyrzyńska, K., & Trojanowicz, M. **2000**. Porphyrins in analytical chemistry. A review. *ELSEVIER*, 51, 209–224. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(99\)00291-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0039-9140(99)00291-X)
- Carballo, T. **2012**. *SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE DERIVADOS DE 1,10-FENANTROLIN-5-AMINA*. (Tesis de licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla).
- Colthup, N. B. **1950**. Spectra-structure correlations in the infra-red region. *J. Opt. Soc. Am.*, 40(6), 397. <https://doi.org/10.1364/josa.40.000397>
- Flores, J. **2023**, January 18. *La basura electrónica y su peligro para el medio ambiente*. National Geographic España. [https://www.nationalgeographic.com.es/mundo-ng/peligros-basura-electronica\\_13239](https://www.nationalgeographic.com.es/mundo-ng/peligros-basura-electronica_13239)
- Harris, D. C., & Lucy, C. A. **2007** *Análisis químico cuantitativo*. Tercera Edición. España. Reverté
- Hulanicki, A., Glab, S. & Ingman, F. **1991**. Chemical sensors: definitions and classification. *Pure and Applied Chemistry*, 63(9), 1247-1250. <https://doi.org/10.1351/pac199163091247>
- Martínez, C. **2020**. *Síntesis de porfirinas con diferentes patrones de sustitución y caracterización de sus efectos antinociceptivos*. (Tesis de maestría, centro de investigación y de estudios avanzados del instituto politécnico nacional sede sur). Repositorio institucional cinvestav. <https://repositorio.cinvestav.mx/bitstream/handle/cinvestav/3730/SSIT0016860.pdf>

Milgrom, L. R. **1997**. *The colours of life: An introduction to the chemistry of porphyrins and related compounds*. Oxford University Press.

Mondal, S., Pain, T., Sahu, K., & Kar, S. **2021**. Large-scale green synthesis of porphyrins. *ACS Omega*, 6(35), 22922–22936. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03534>

Nasri, H. **2020**. Porphyrins and Metalloporphyrins: An overview. *2020 IEEE International Conference on Design & Test of Integrated Micro & Nano-Systems (DTS)*. <https://doi.org/10.1109/dts48731.2020.9196129>

NORMA OFICIAL MEXICANA 2016. NMX-AA-051-SCFI-2016 ANÁLISIS DE AGUA. - MEDICIÓN DE METALES POR ABSORCIÓN ATÓMICA EN AGUAS NATURALES, POTABLES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS. MÉTODO DE PRUEBA. Recuperado de: <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2010/nmx-aa-051-scfi-2016.pdf>

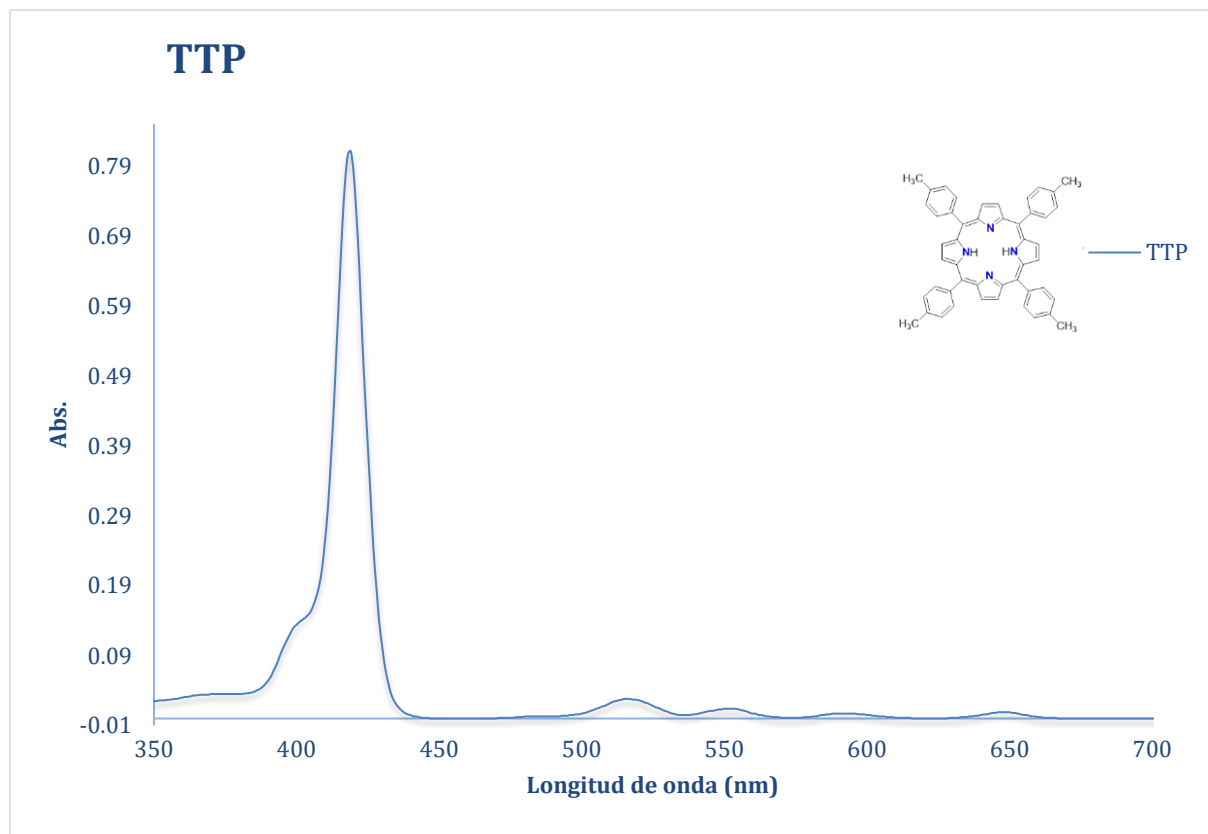
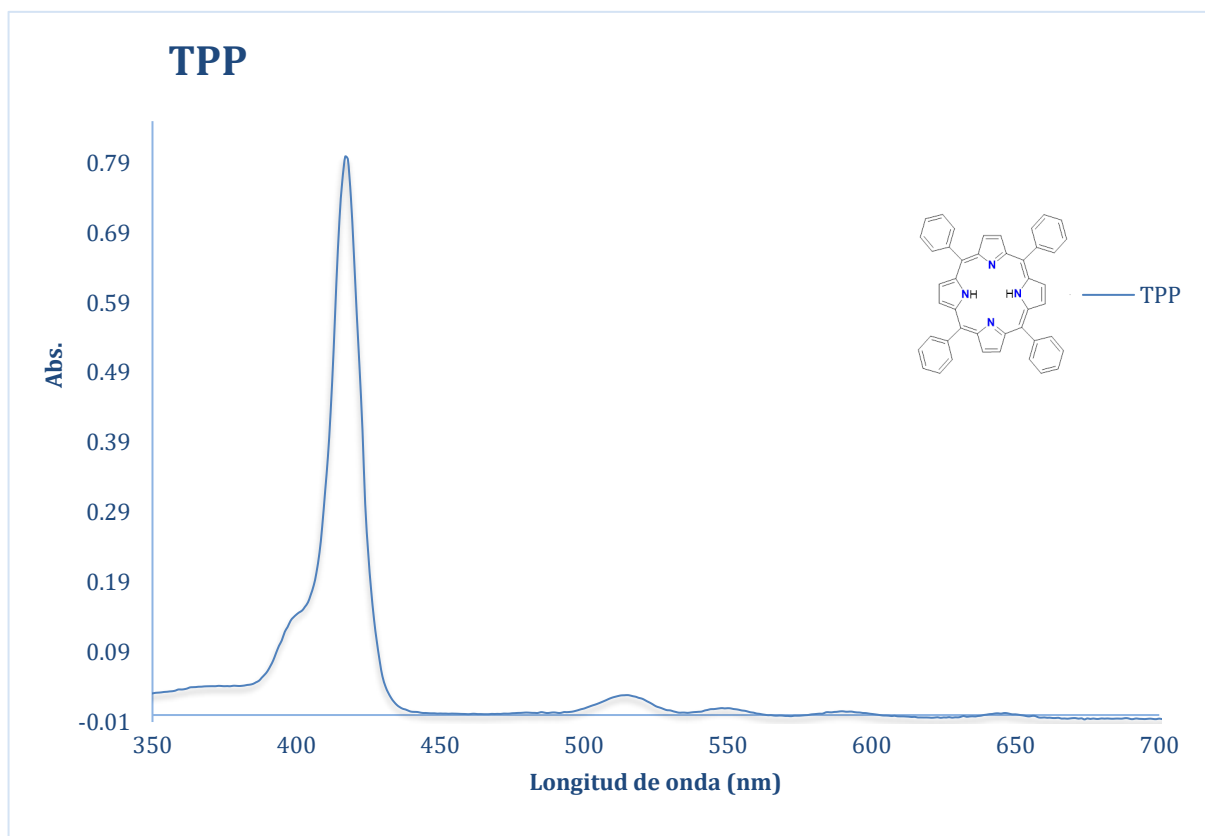
Norvaiša, K., Kielmann, M., & Senge, M. O. **2020**. Porphyrins as colorimetric and photometric biosensors in modern bioanalytical systems. *ChemBioChem*, 21(13), 1793–1807. <https://doi.org/10.1002/cbic.202000067>.

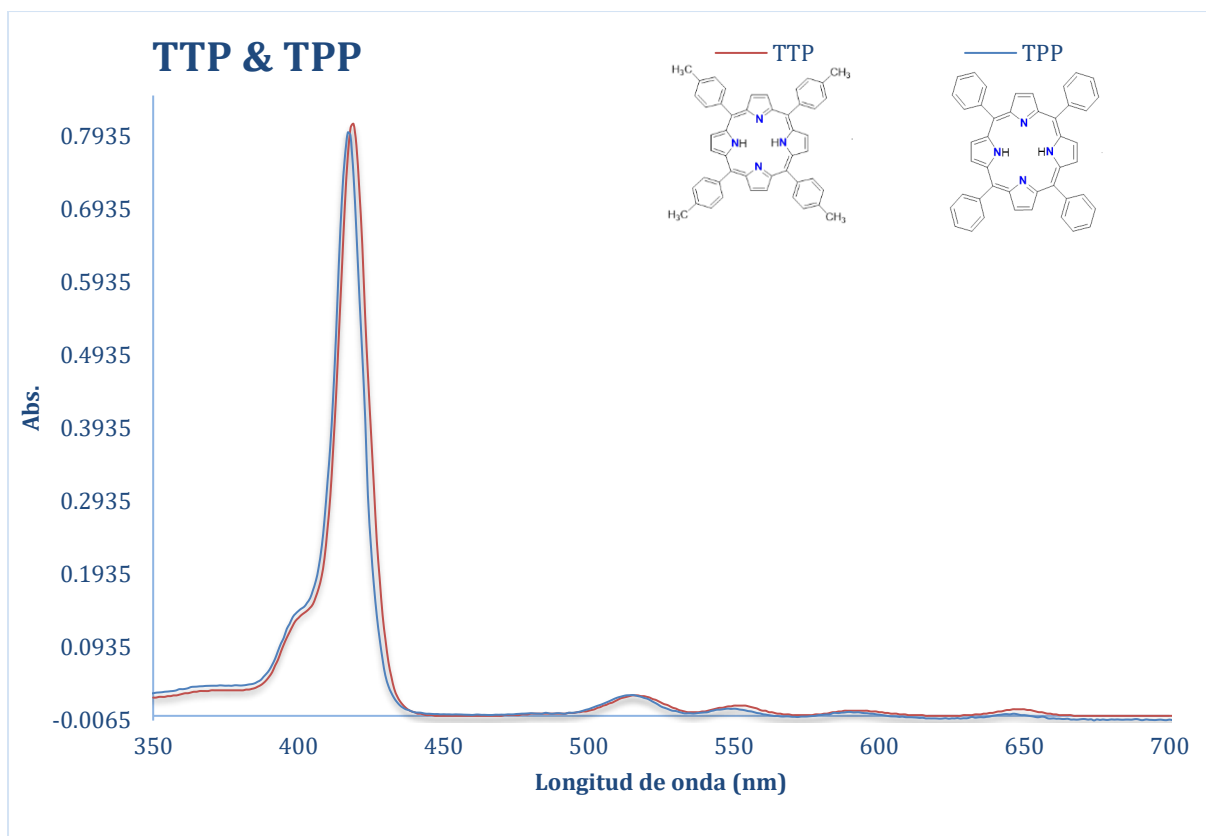
Pabón, S., Benítez, R., Sarria, R., & Gallo, J. **2020**. Contaminación del agua por metales pesados, métodos de análisis y tecnologías de remoción. Una revisión. *Revista Entre Ciencia e Ingeniería*, 14(27), 9-18. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1909-83672020000100009](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-83672020000100009)

Prabpal, J., Vilaivan, T., & Praneenararat, T. **2017**. Paper-Based Heavy Metal Sensors from the Concise Synthesis of an Anionic Porphyrin: A Practical Application of Organic Synthesis to Environmental Chemistry. *J. Chem. Edu.*, 94, 1137–1142. <https://doi.org/10.1021>

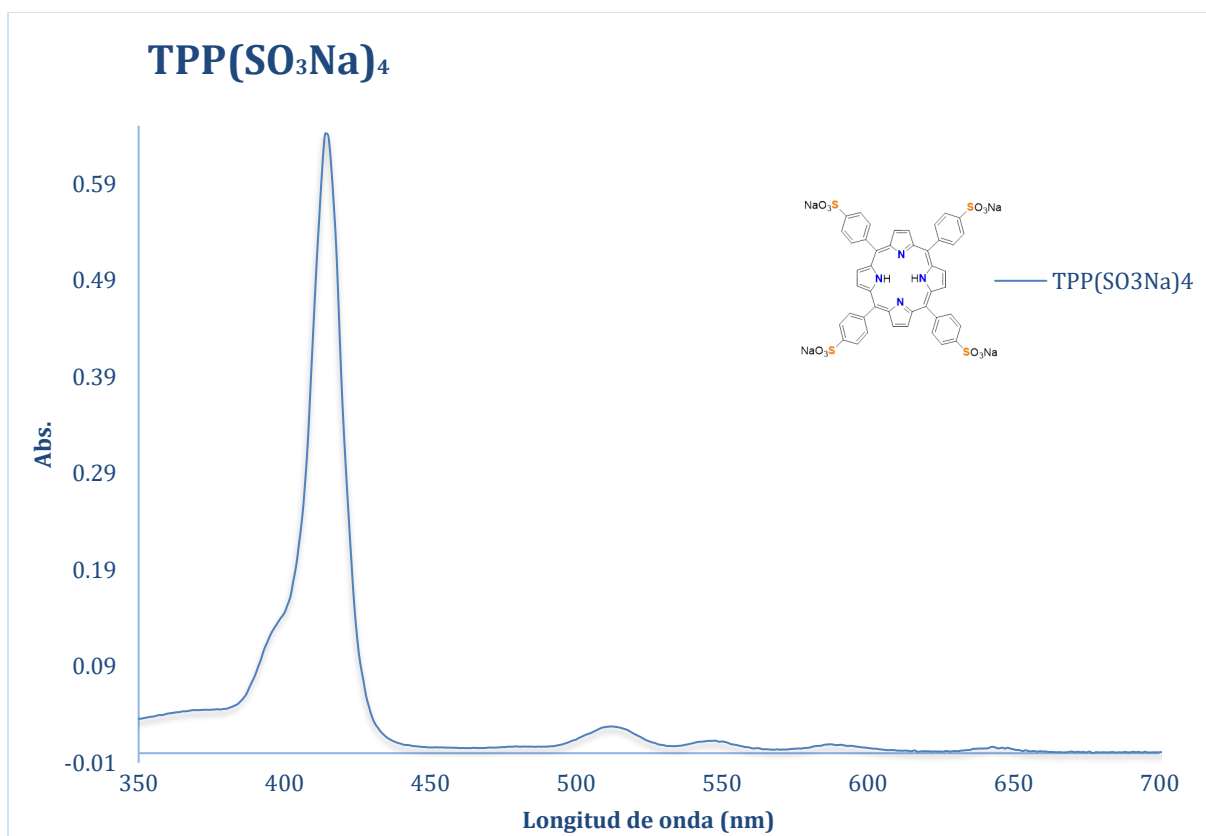
- Qi, Z.-L., Cheng, Y.-H., Xu, Z., & Chen, M.-L. **2020**. Recent advances in porphyrin-based materials for metal ions detection. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(16), 5839. <https://doi.org/10.3390/ijms21165839>
- Sarabando, S. N., Dias, C. J., Vieira, C., Bartolomeu, M., Neves, M. G., Almeida, A., Monteiro, C. J., & Faustino, M. A. **2023**. Sulfonamide porphyrins as potent photosensitizers against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): The role of co-adjuvants. *Molecules*, 28(5), 2067. <https://doi.org/10.3390/molecules28052067>
- Skoog Douglas A., West Donald M., Holler F. James y Crouch Stanley R. (**2015**) *Fundamentos de química analítica*. Novena Edición. México. CengageLearning.
- Tancredi, P. **2011**, diciembre. *Desarrollo de un sensor colorimétrico para detectar plomo*. (Tesis de licenciatura, Universidad de la Republica). Repositorio institucional colibrí universidad de la república Uruguay. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/1359/1/uy24-15520.pdf>
- Valicsek, Z., & Horváth, O. **2013**. Application of the electronic spectra of porphyrins for analytical purposes: The effects of metal ions and structural distortions. *Microchem. J.*, 107, 47–62. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.07.002>
- Xahuentitla, A. **2020**. *Evaluación de los parámetros de desempeño para la determinación de Cu<sup>2+</sup> utilizando 5,10,15,20-tetrafenilporfirina como sensor colorimétrico*. (Tesis de licenciatura, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla). Repositorio institucional BUAP. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/10554>

## Apéndice

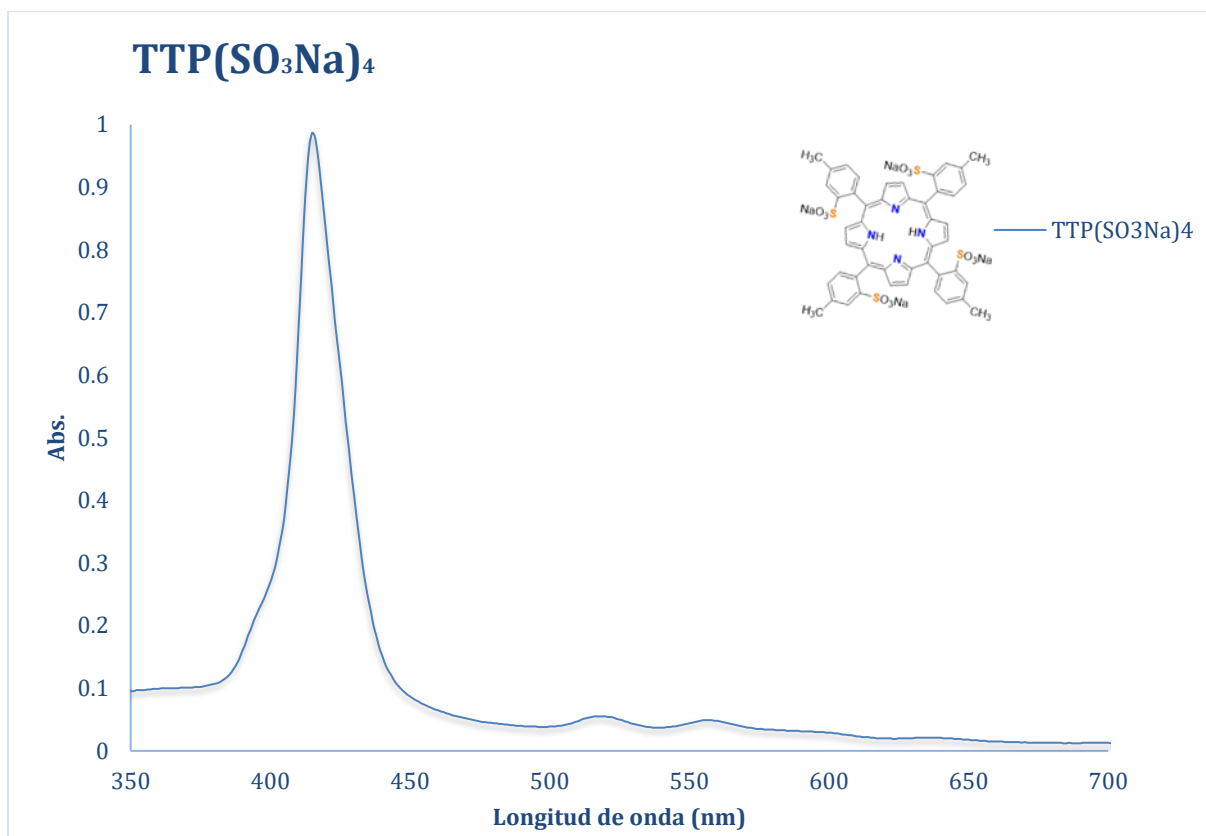




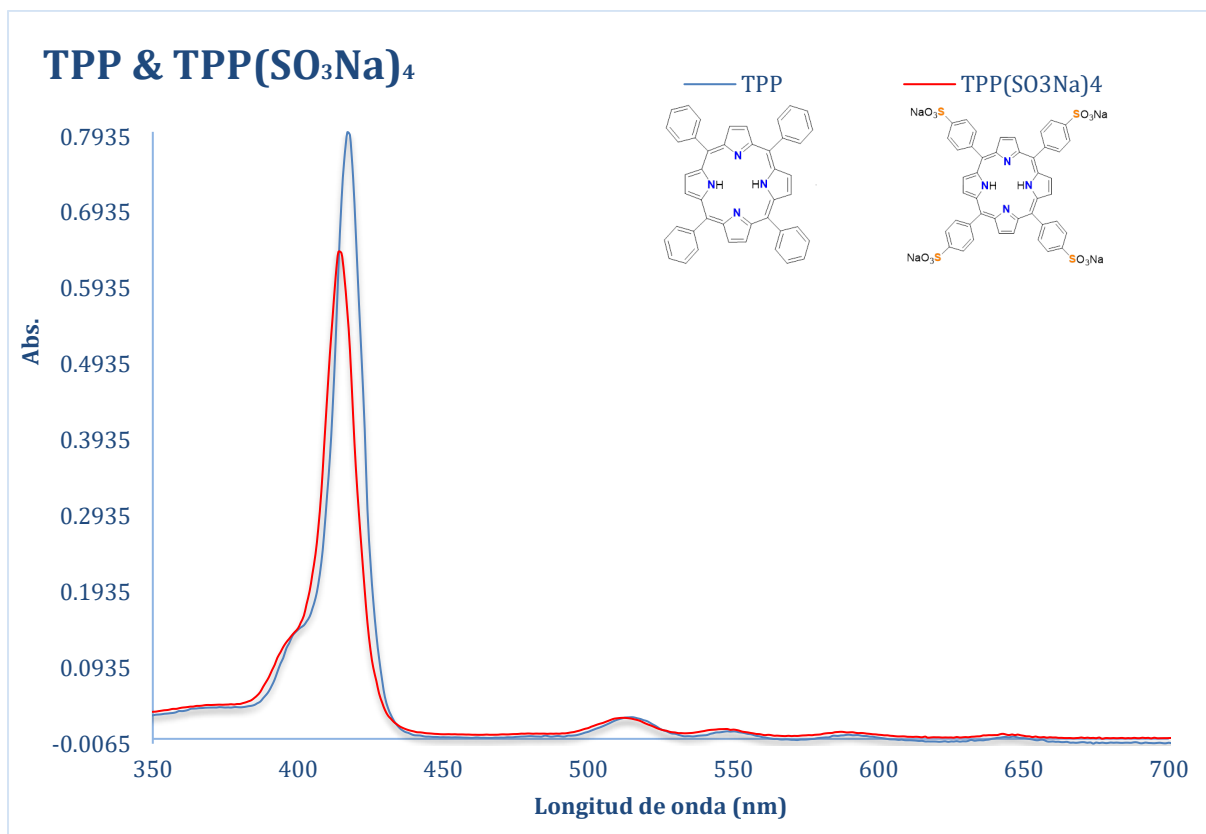
**Espectro C.** Comparación de los espectros UV-Vis de TPP y TTP.



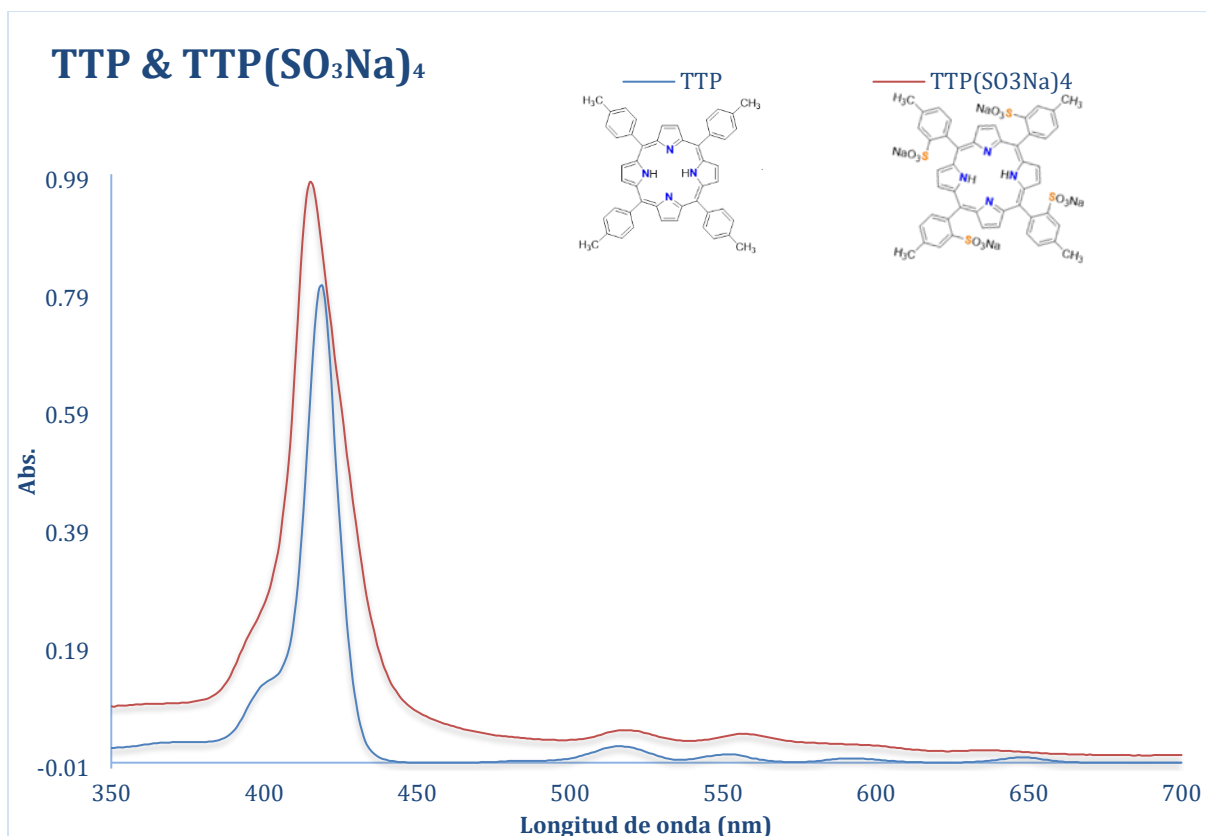
**Espectro D.** Espectro UV-Vis de TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.



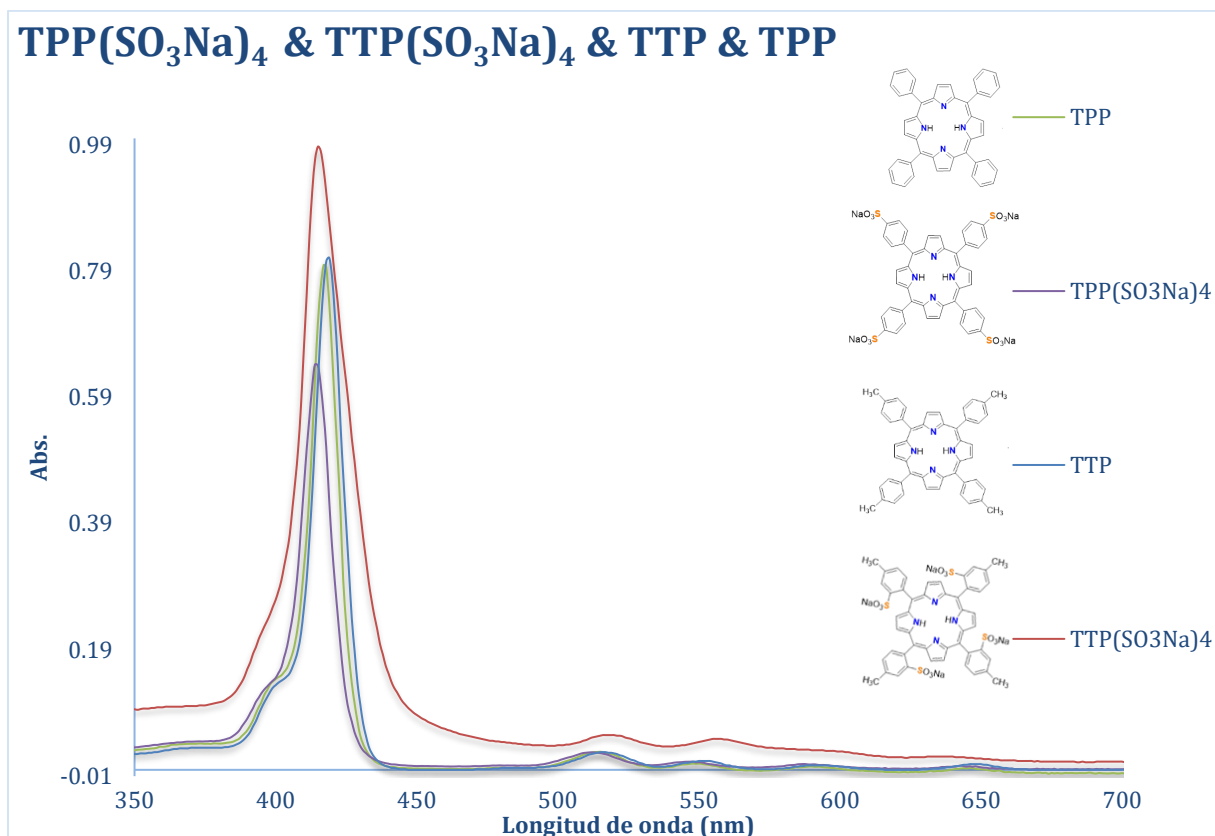
**Espectro E.** Espectro UV-Vis de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.



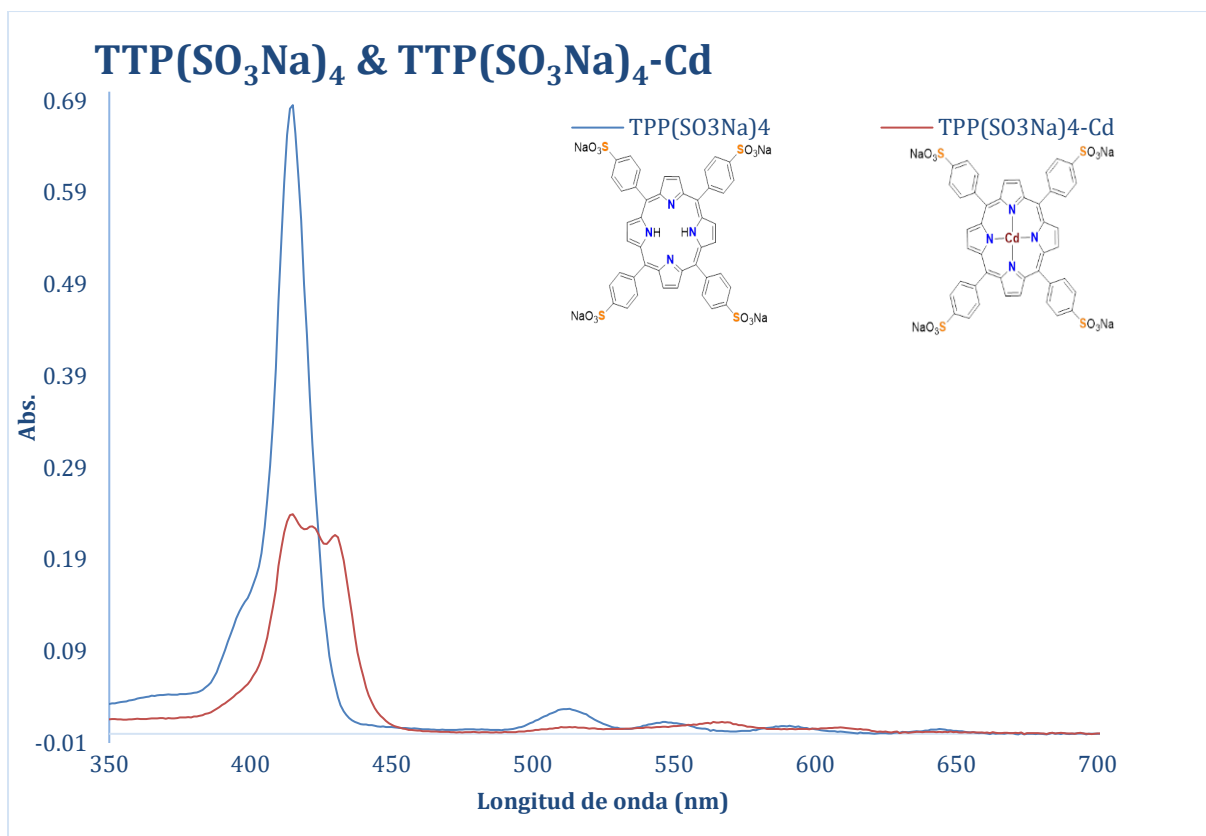
**Espectro F.** Comparación de los espectros UV-Vis de TPP Y TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.



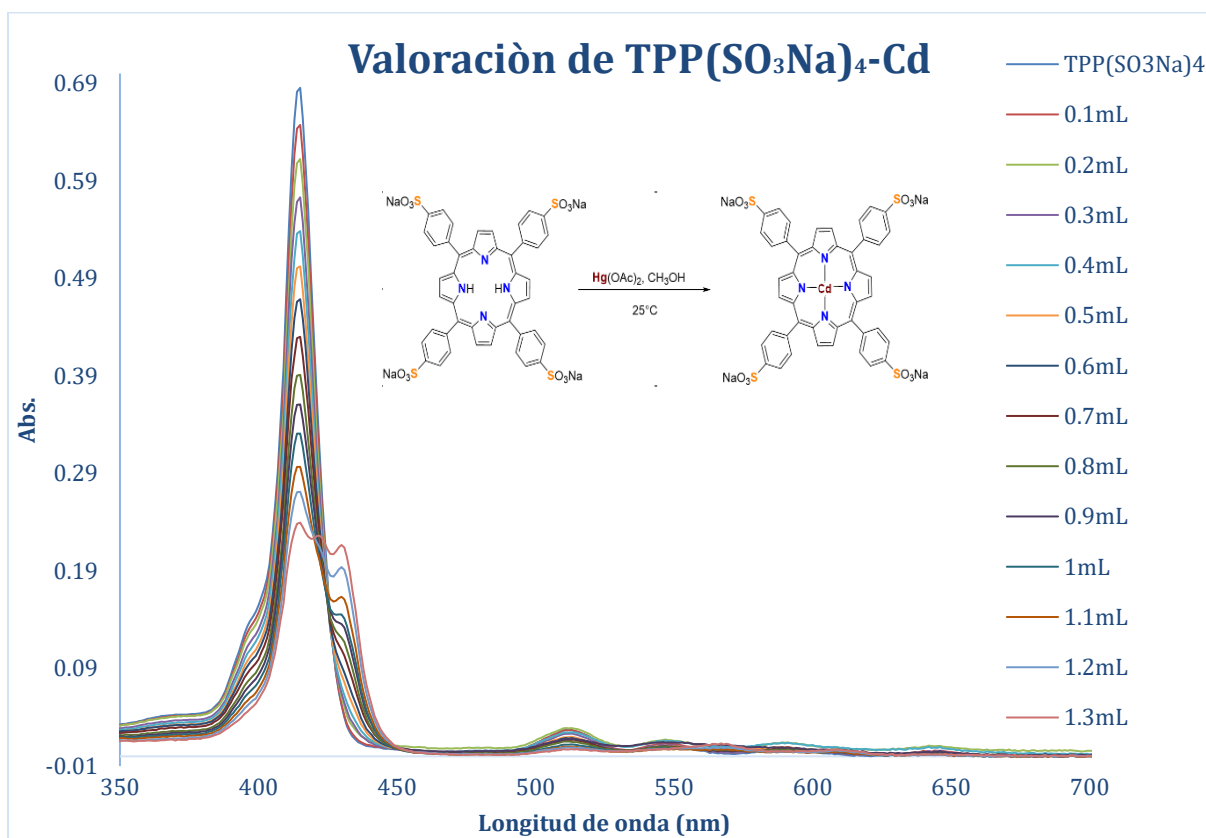
**Espectro G.** Comparación de los espectros UV-Vis de TTP Y TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.



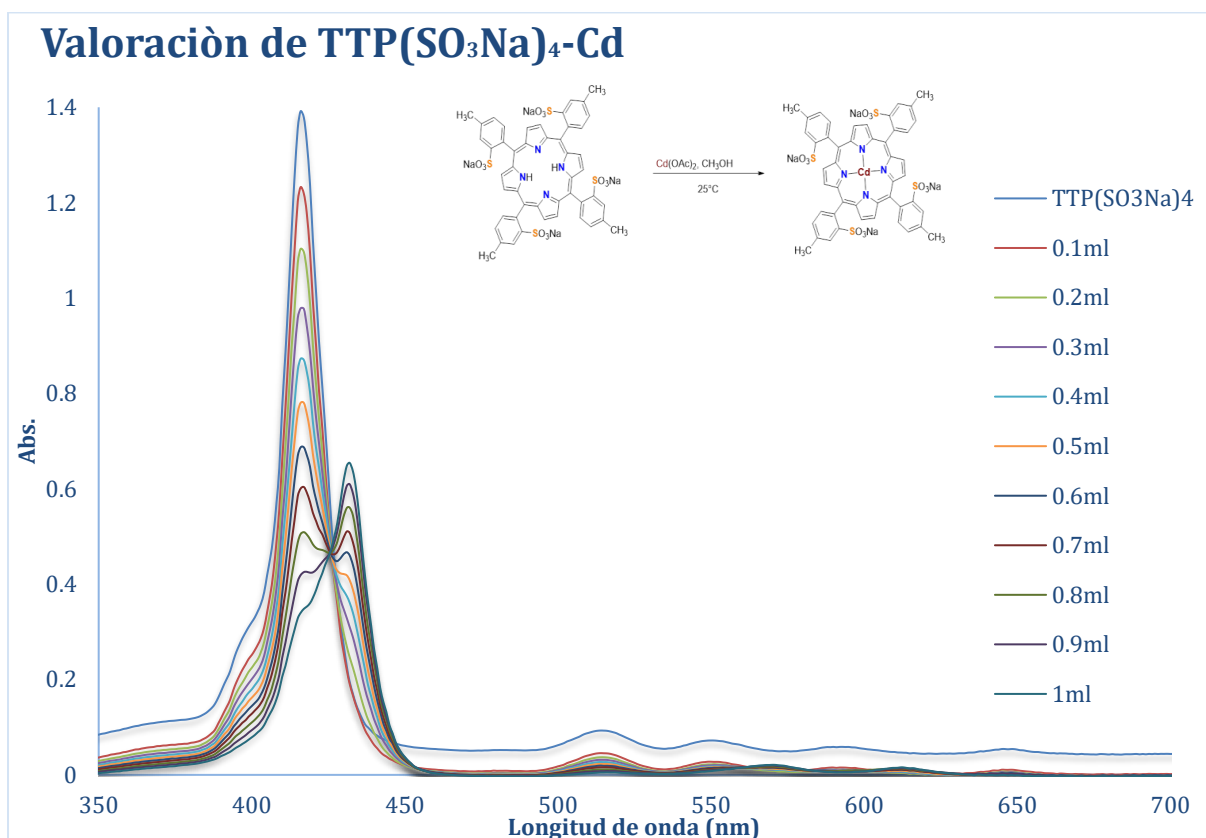
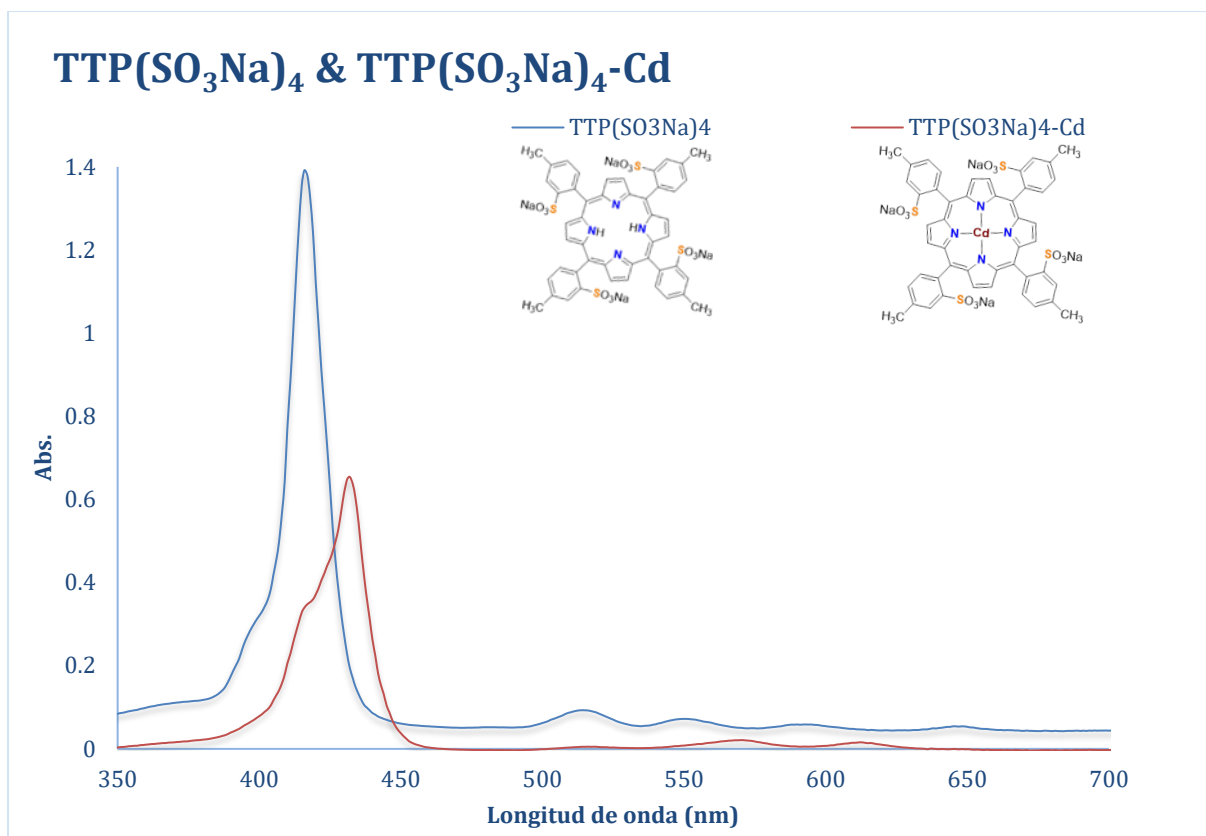
**Espectro H.** Comparación de los espectros UV-Vis de TPP, TTP, TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> y TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.



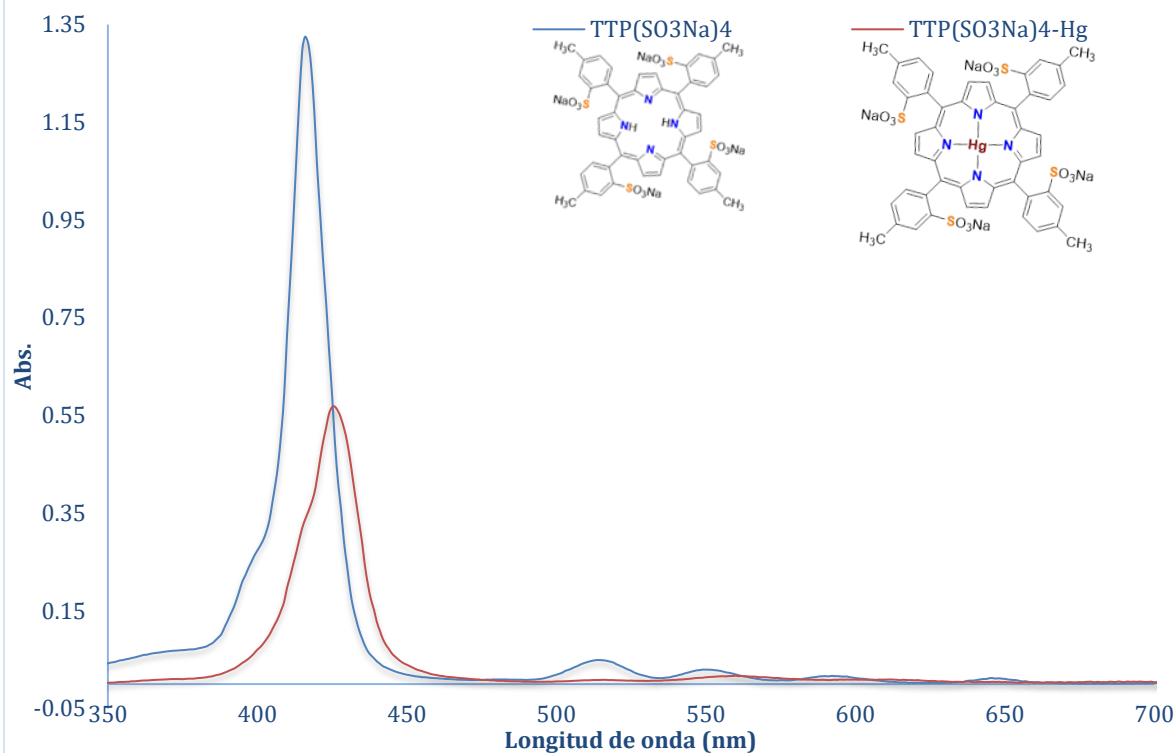
**Espectro I.** Comparación de los espectros de UV-Vis de TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> & TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Cd.



**Espectro J.** Valoración espectrofotométrica por UV-Vis de TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de cadmio.

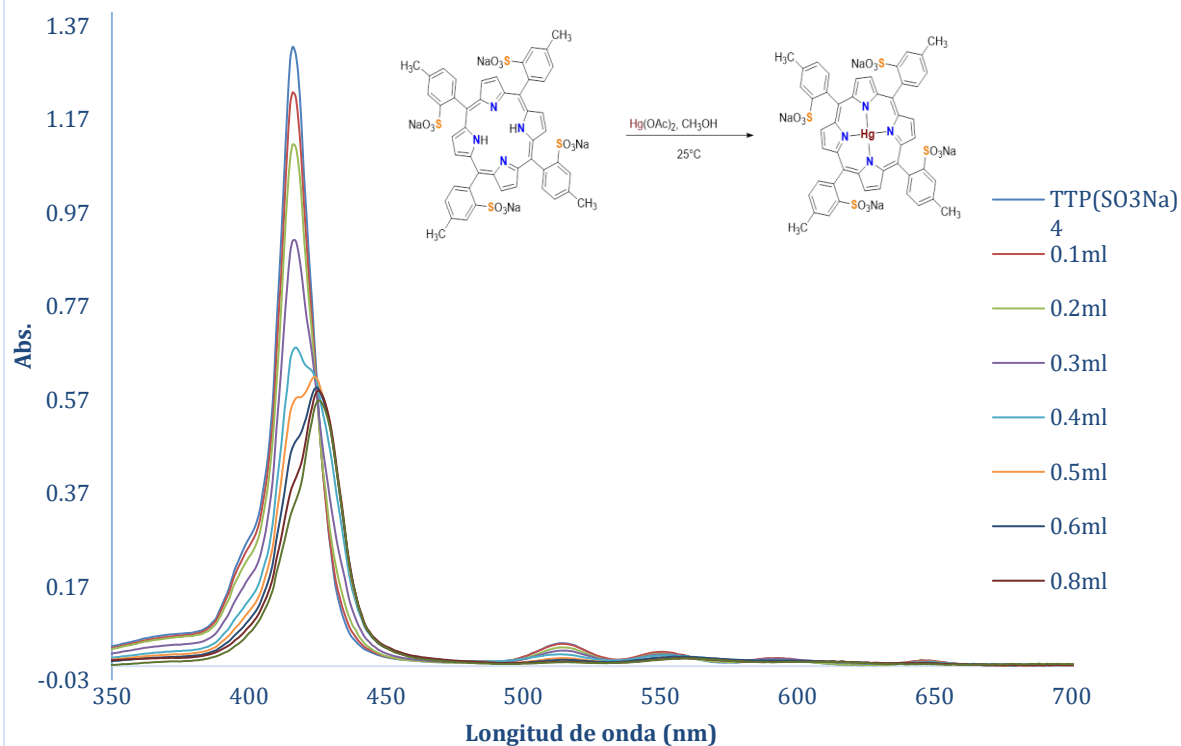


## TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> & TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Hg



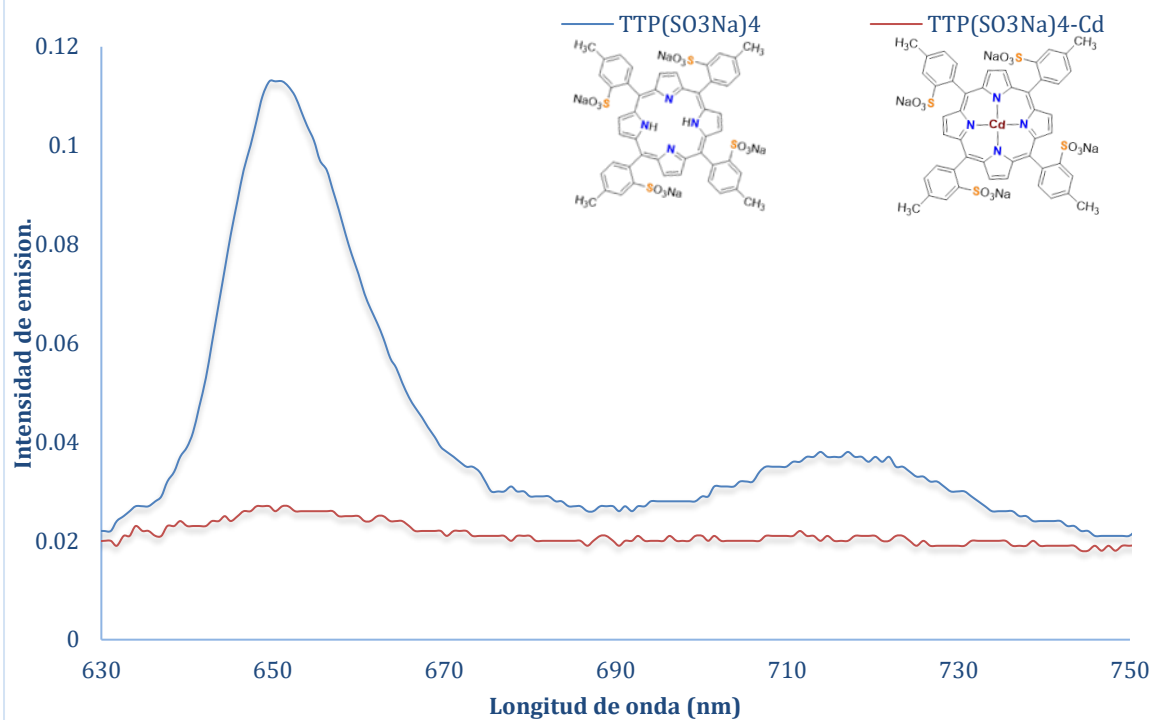
**Espectro M.** Comparación de los espectros de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> & TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Hg.

## Valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Hg



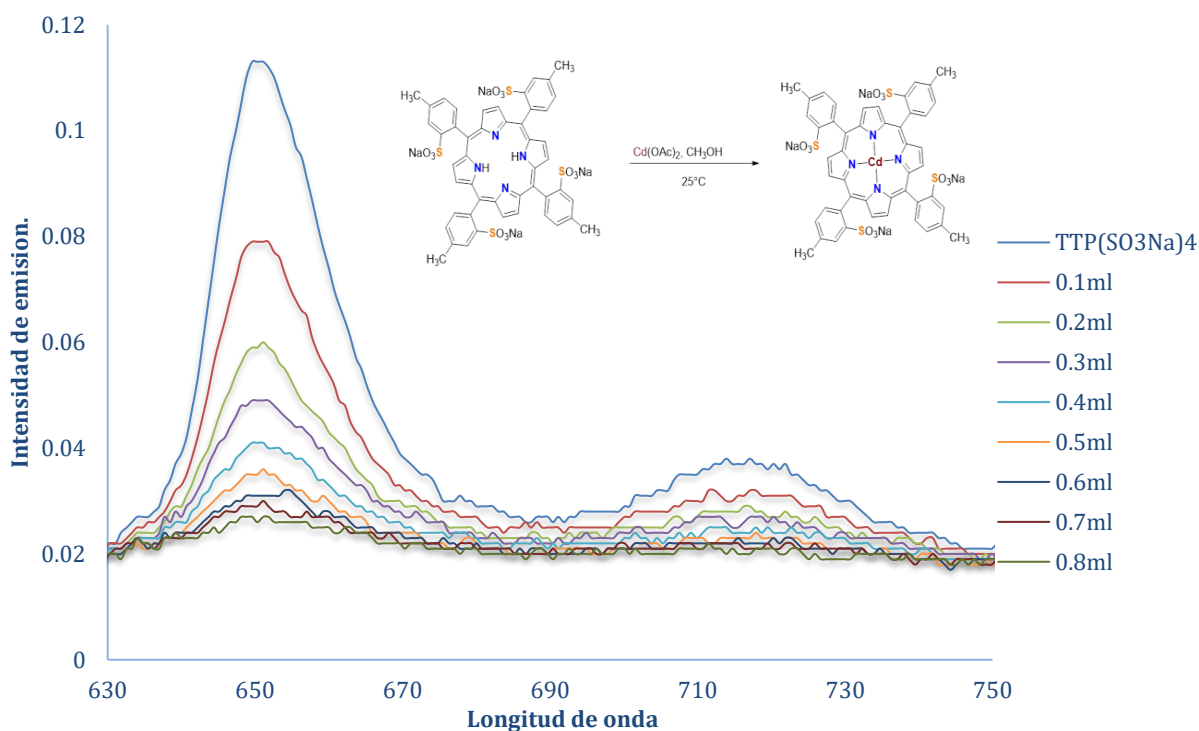
**Espectro N.** Valoración espectrofotométrica de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de mercurio.

## TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> & TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Cd



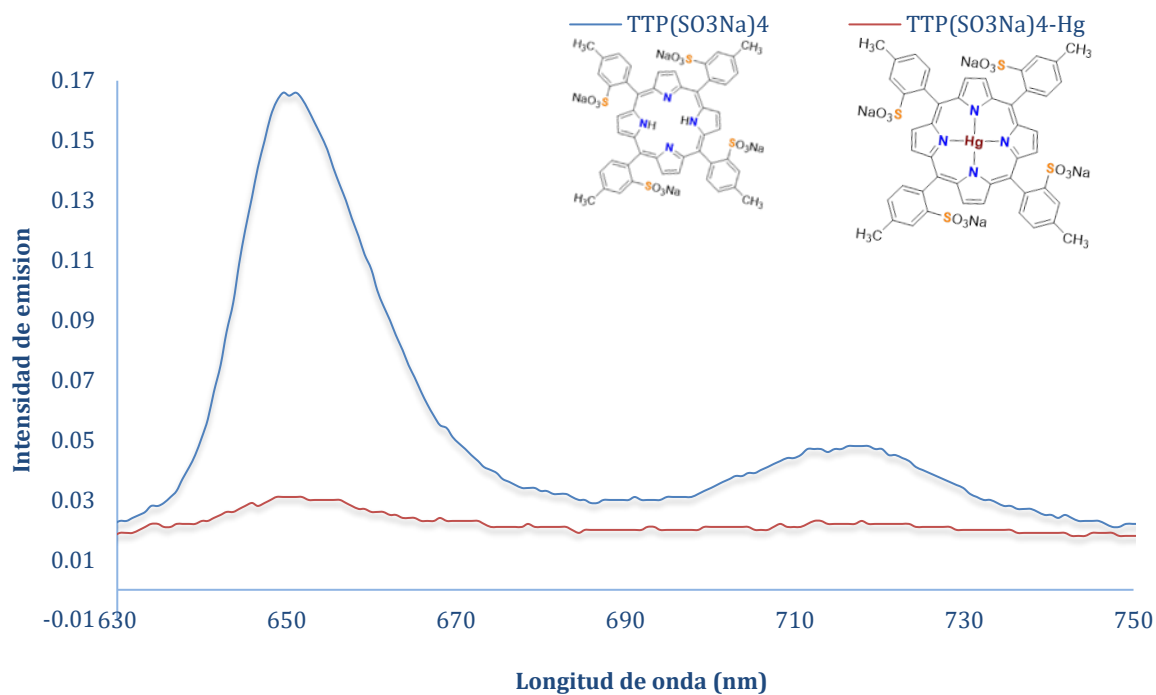
**Espectro O.** Comparación de los espectros de fluorescencia a 405 nm de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> & TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Cd.

## Valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Cd



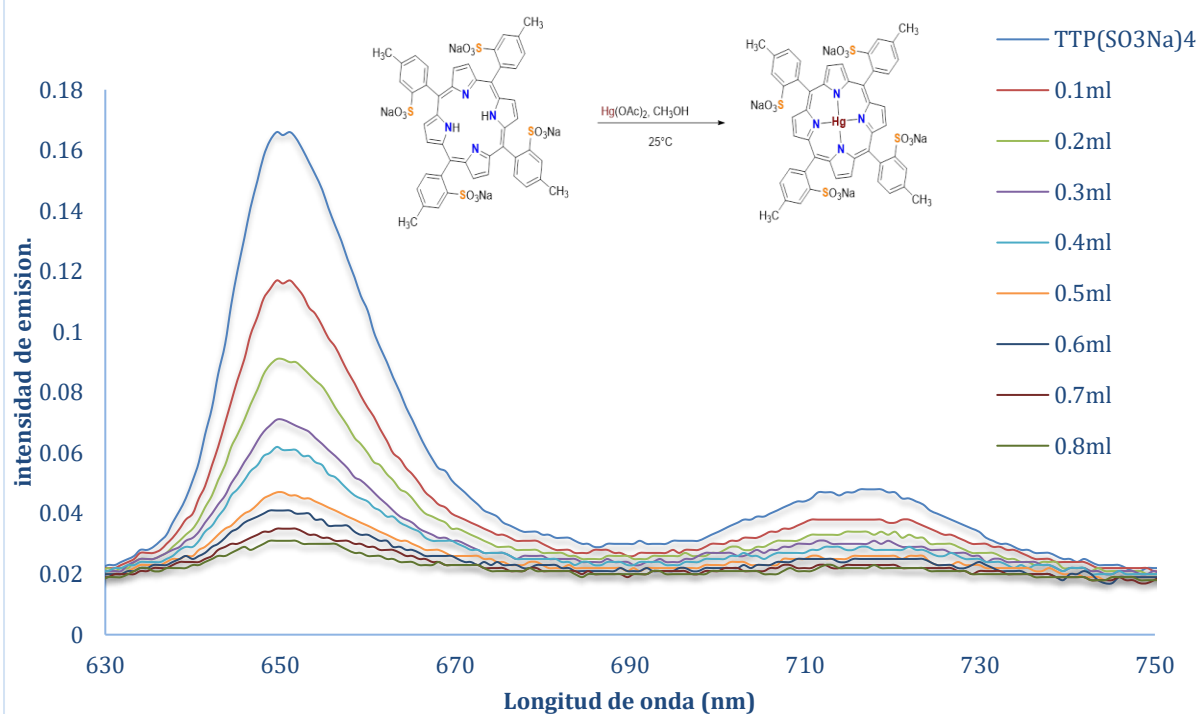
**Espectro P.** Valoración espectrofotométrica de fluorescencia de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de cadmio.

## TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> & TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Hg

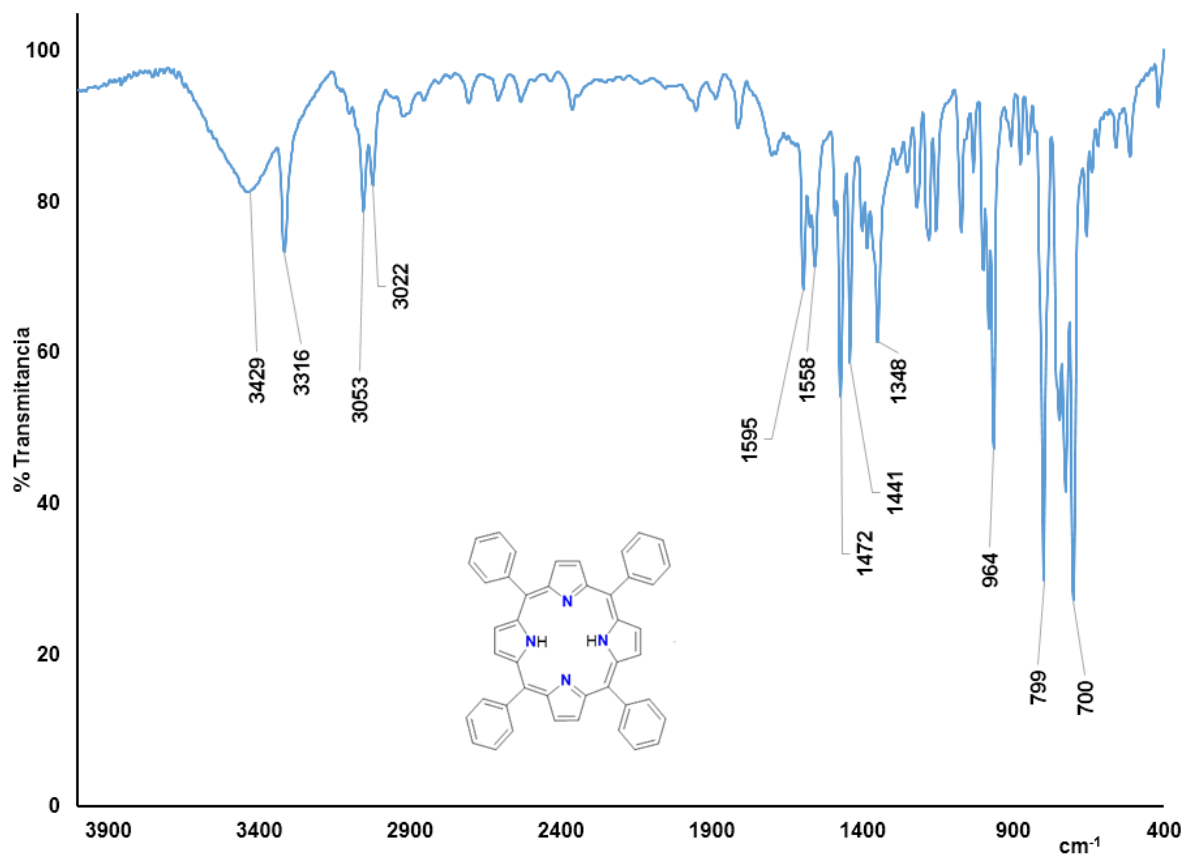


**Espectro Q.** Comparación de los espectros de fluorescencia a 405 nm de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> & TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Hg.

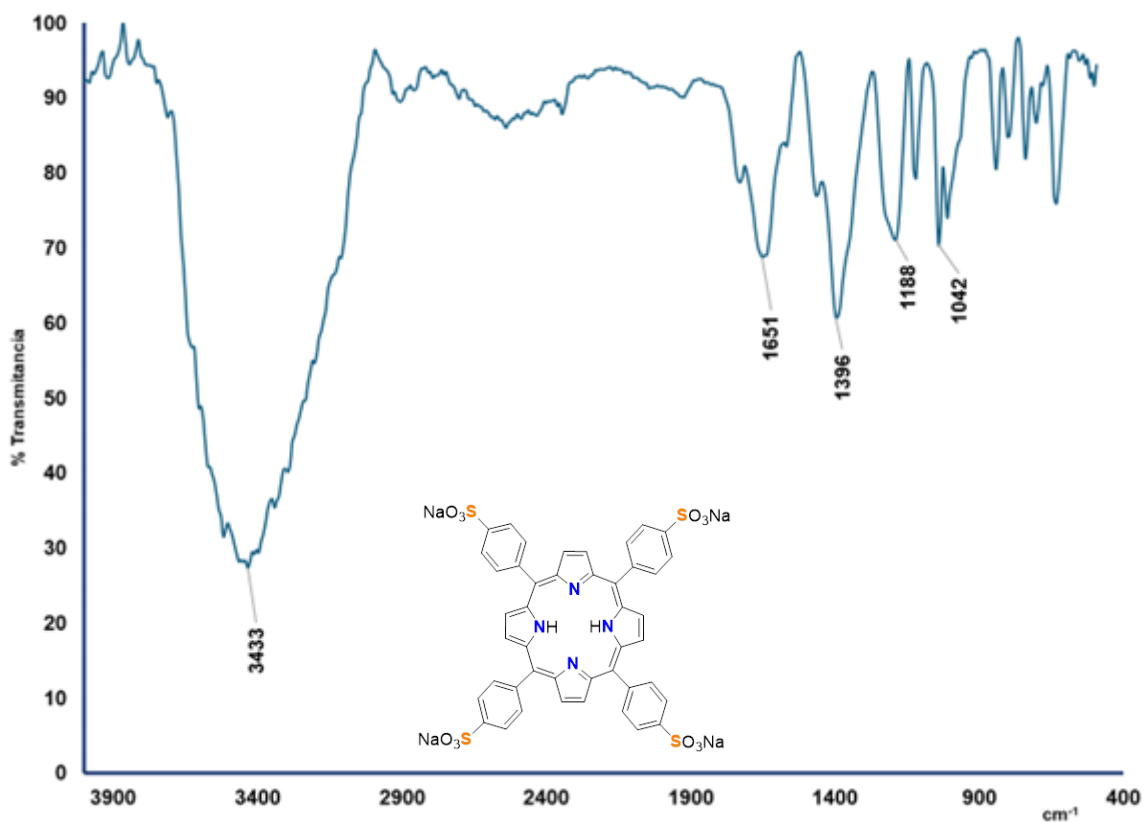
## Valoración de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>-Hg



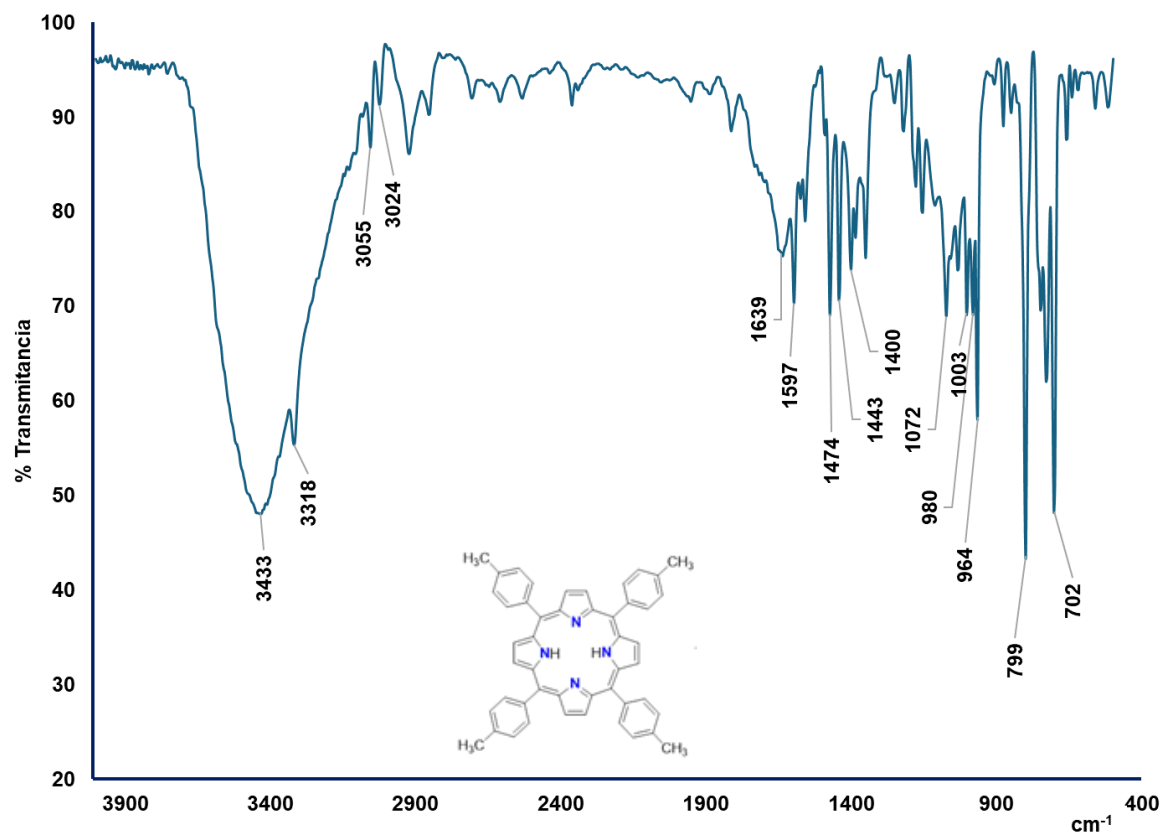
**Espectro R.** Valoración espectrofotométrica de fluorescencia de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub> con acetato de mercurio.



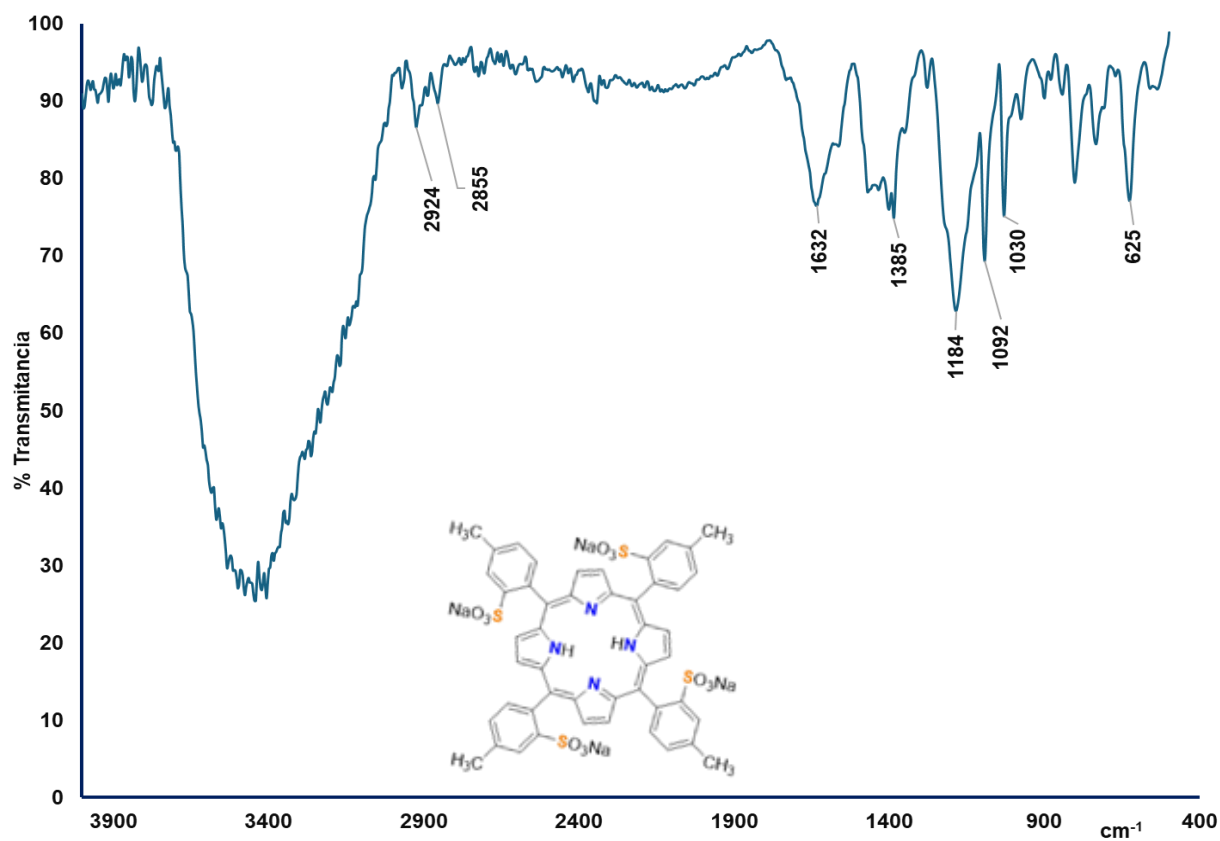
*Espectro S. Espectro FTIR de TPP.*



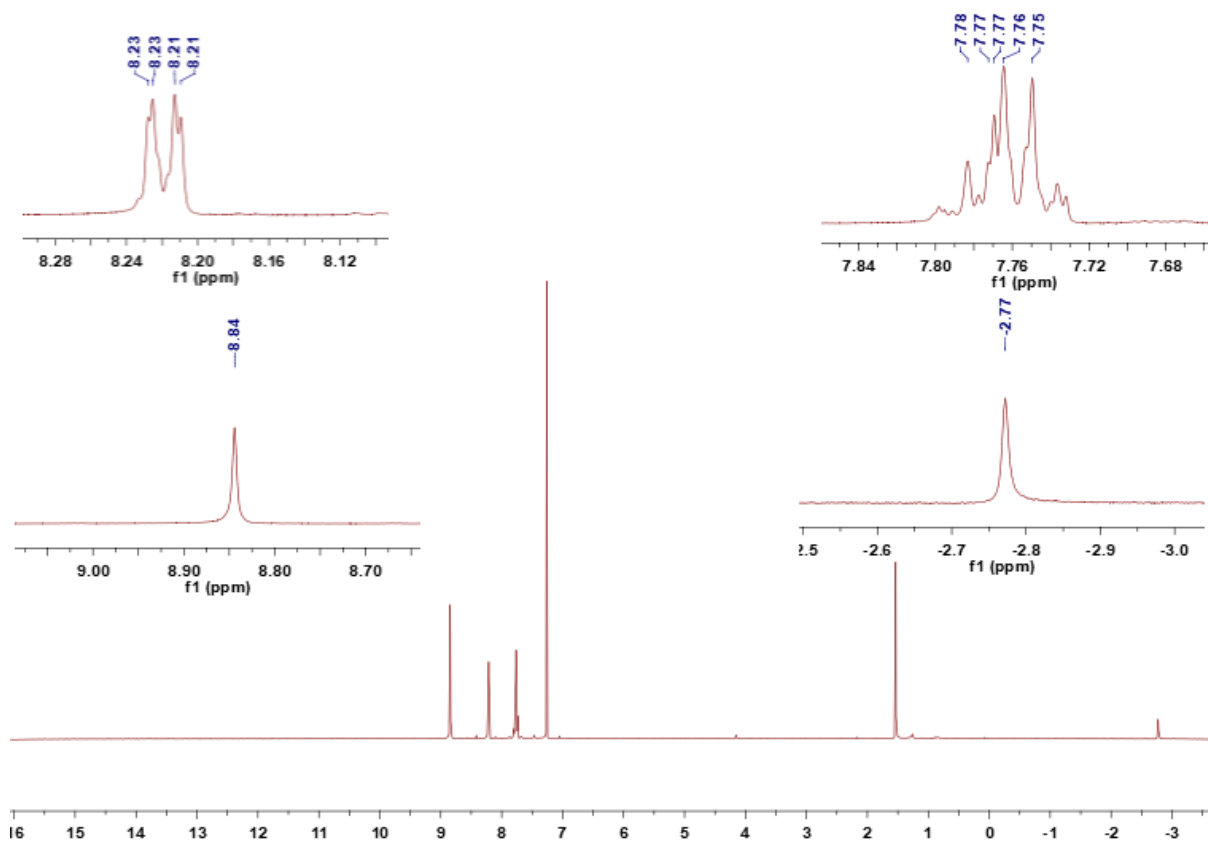
*Espectro T. Espectro FTIR de TPP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.*



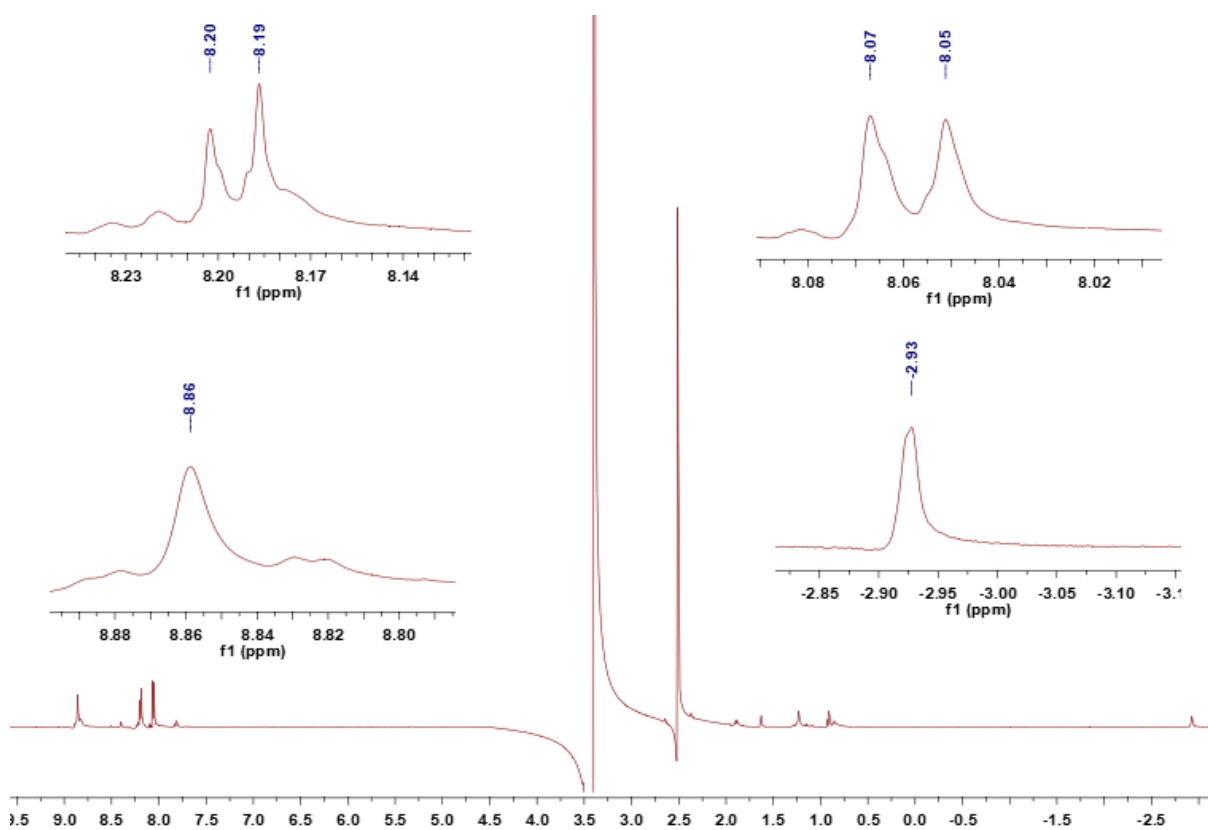
*Espectro U. Espectro FTIR de TTP.*



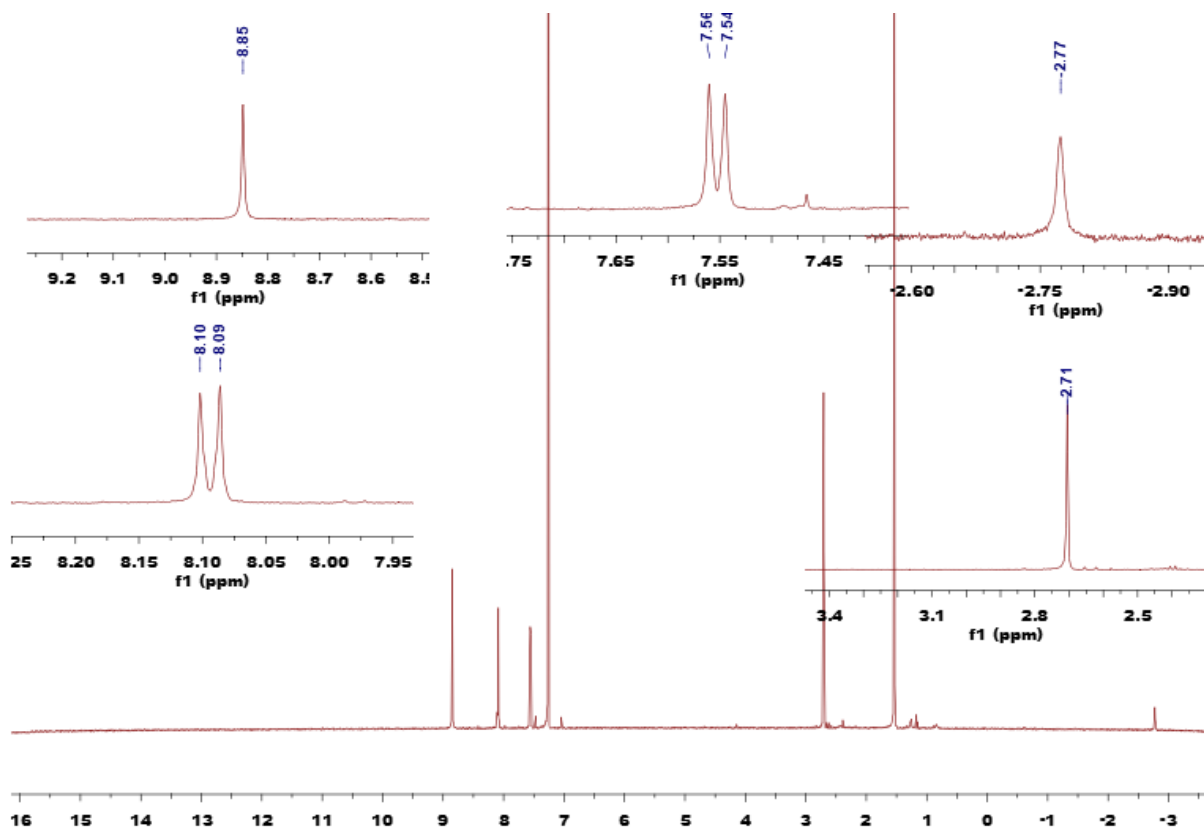
*Espectro V. Espectro FTIR de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.*



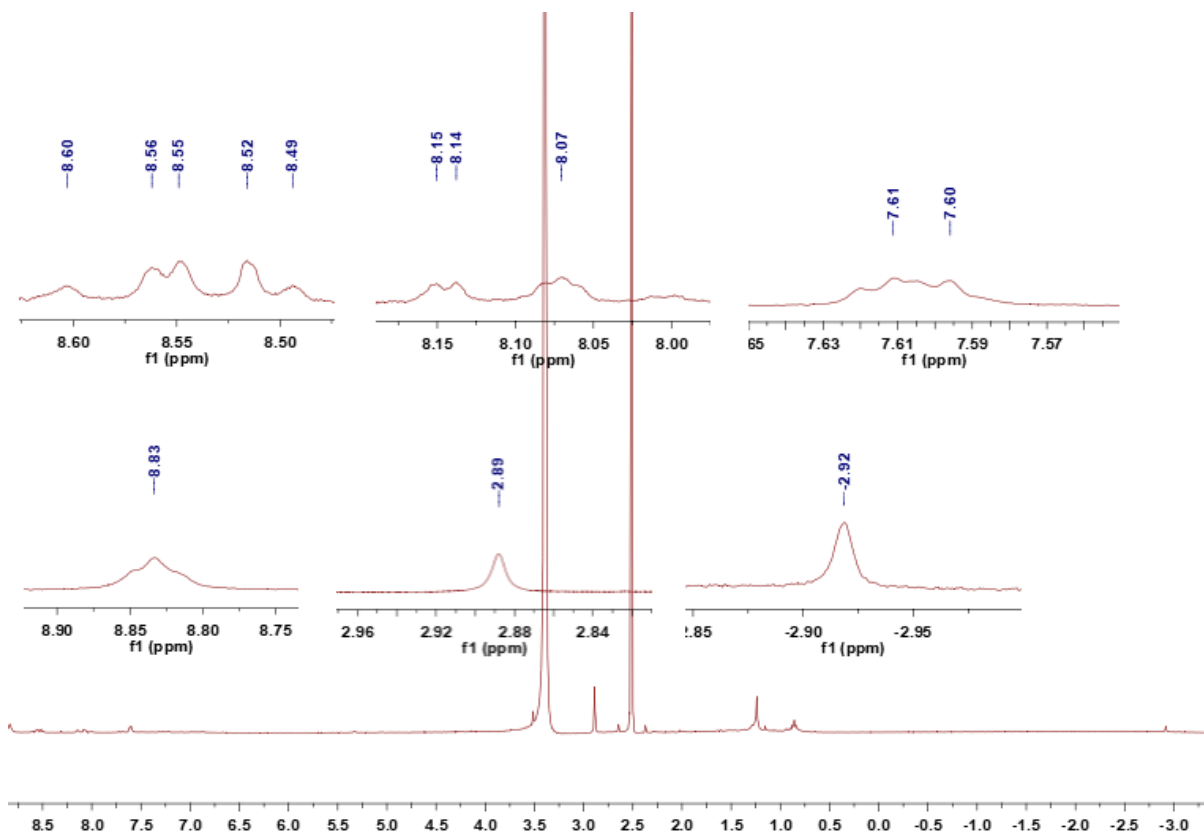
**Espectro W.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de TPP.



**Espectro X.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de  $\text{TPP}(\text{SO}_3\text{Na})_4$ .



Espectro Y. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de TTP.



Espectro Z. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de TTP(SO<sub>3</sub>Na)<sub>4</sub>.