

# PROCESOS DE QUIMILUMINISCENCIA EN AGUAS MARINAS (III). ESTUDIO DEL PEZ LATIA NERITOIDES Y DEL MOLUSCO CIPRIDINA HILGENDORFII. SINTESIS DE LAS ESTRUCTURAS DIOXETANICAS Y ESTUDIO DE LA BIOQUIMILUMINISCENCIA PRODUCIDA

Fernando Paredes Salido y M.<sup>a</sup> Teresa Fernández del Barrio.

Laboratorio de Química.

Centro Asociado de la UNED. Cádiz.

## RESUMEN

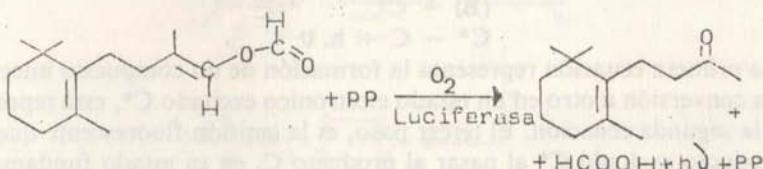
En el presente trabajo, estudiaremos los procesos quimiluminiscentes, sus intermedios, así como la reacción de ciclohexilidenciclohexano con acetato de mercurio y agua oxigenada.

## SUMMARY

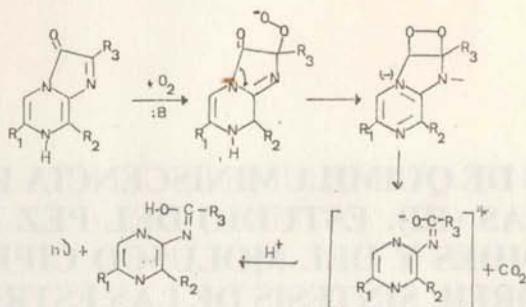
In this article we will study the chemiluminiscent process and their intermediates of the fish *Latia Neritoides* and the reaction of cyclohexilidencyclohexane with  $Hg(OAc)_2$  and  $H_2O_2$ .

## INTRODUCCION

La *Latia Neritoides* es el único animal de agua dulce que es luminiscente. El esquema bioluminiscente, es más complicado, por la exigencia de otra proteína púrpura además de la luciferasa, necesaria para la producción de luz.



En la Cipridina Hilgendorffii, molusco existente en aguas japonesas (ostrocodos), el esquema de producción de luz sigue siendo el mismo de siempre (1).



### ASPECTOS TEORICOS SOBRE LA EMISION DE LA LUZ.

Se define la quimiluminiscencia como la emisión de luz procedente de reacciones químicas a temperatura ambiente, en ausencia de llama. En una gran variedad de reacciones tanto inorgánicas como orgánicas, se emite luz y aunque la mayor parte son poco eficaces en su producción frente a las bioquímicas, el problema está siendo muy investigado en la actualidad. Esto es debido, además del interés teórico que lleva aparejado, al posible uso en la producción de luz.

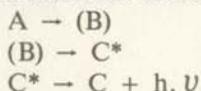
En un principio, un mol de reactivo, puede generar un mol de cuantos, es decir, un einstein. Se calcula que unos 500 g de sustrato, pueden generar 67000 lúmenes/hora luz, lo que es equivalente a una bombilla de 40 W, en funcionamiento continuo durante 6 días.

Como se ha indicado antes, la emisión de luz puede resultar de una incandescencia que es la conversión de energía de vibración en radiante y se da en todos los objetos a temperaturas superiores al cero absoluto; la luminiscencia es la emisión de una radiación electromagnética desde un estado electrónico excitado.

Así en la fluorescencia, la absorción de mayor longitud de onda de una molécula promueve un electrón desde el orbital antienlazante de menor energía, al primer estado excitado singlete (2).

La inversa de este proceso, al cabo de  $10^{-6}$  a  $10^{-9}$  seg. produce un fotón y la molécula vuelve a su estado fundamental. El proceso de la quimiluminiscencia es el mismo, pero la energía necesaria para la excitación electrónica se produce por una reacción química.

Una reacción quimiluminiscente envuelve tres pasos:



La primera ecuación representa la formación de un compuesto intermedio B cuya conversión a otro en un estado electrónico excitado  $C^*$ , está representada en la segunda ecuación. El tercer paso, es la emisión fluorescente que viene del producto excitado  $C^*$  al pasar al producto C, en su estado fundamental.

En toda esta serie de procesos, el rendimiento cuántico, es decir la eficiencia en la producción de luz, viene dada por el producto de los rendimientos de los procesos intermedios, por lo que este tipo de reacciones son muy poco eficaces.

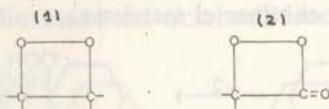
El investigador químico está interesado en establecer la estructura del intermedio B, así como la identidad de la especie emisora y el mecanismo de excitación. Generalmente, la velocidad de reacción y el rendimiento cuántico varían con el tiempo en una reacción quimiluminiscente; de forma que la intensidad no estará relacionada con la cinética de una forma simple, pero si el rendimiento cuántico se puede mantener constante a través de una reacción, la intensidad de la luz emitida será proporcional a la velocidad de la misma y la baja en la emisión de luz será función de la desaparición de los reactivos envueltos en los procesos.

En una reacción quimiluminiscente hay tres cosas que llaman la atención del investigador: la estructura del compuesto intermedio, la identidad de la especie emisora y el mecanismo de excitación. Los productos resultantes pueden ser de dos tipos, dependiendo del spin del electrón, dando una fluorescencia o una quimiluminiscencia.

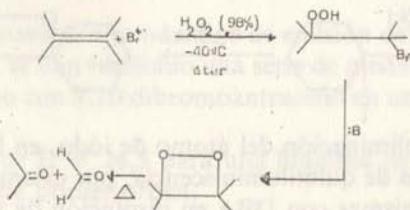
Las medidas las realizamos: a) Medida directa de la emisión luminosa de los compuestos excitantes, b) Transferencia de energía del producto excitado a aceptores aconsejables, seguido bien por medida de la luminiscencia de un aceptor quimiluminiscente o bien midiendo los productos de un aceptor reactivo que sufra, por ejemplo, una isomerización.

## EL COMPUESTO INTERMEDIO

En general se ha postulado (3) que todos los procesos quimiluminiscentes originan un producto intermedio, cuya parte fundamental son los grupos 1,2-dioxetano (1), y peroxilactonas (2).



La primera síntesis de estos compuestos intermedios, 1,2-dioxetanos fue reseñada por K.R. Kopecky de la Universidad de Alberta en 1968, que encontró un auténtico compuesto estable obtenido por ciclación catalizada por base en un bromohidroperóxido (4).



Si la reacción se deja estar mucho tiempo, se obtienen una variedad de productos, entre ellos acetona y acetaldehído.

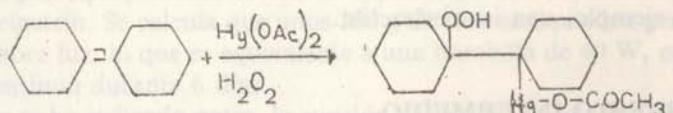
Sin embargo, analizando por cromatografía de gases estos dos productos aparecen con gran rendimiento, mostrándose como una reacción de formación de compuestos carbonílicos, pasando por el intermedio 1,2-dioxetano.

Las medidas de descomposición demostraron una cinética de primer orden siendo un producto relativamente estable, con una vida media de unas 6-7 horas a 36°C y 25 minutos a 66°C.

El otro tipo de intermedios a que se hacía referencia, las peroxilactonas, ha sido posible obtenerlas aunque no estén muy estudiadas (5) (6).

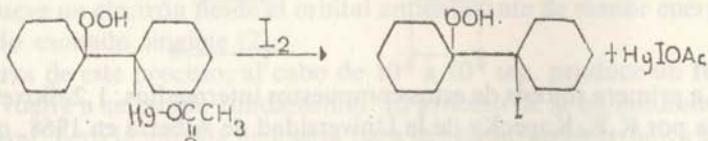
### REACCION DE CICLOHEXILIDENCICLOHEXANO CON ACETATO DE MERCURIO Y AGUA OXIGENADA

El tratamiento de ciclohexilidenciclohexano con acetato de mercurio en presencia de ácido perclórico y con peróxido de hidrógeno, condujo a la aparición de una mezcla de productos diferentes. Esta mezcla fue separada por cromatografía en columna y los eluatos fueron analizados en busca de compuestos conteniendo mercurio y con reacción de peróxidos positiva. En suma se trataba de llevar a cabo la reacción de peroximercuración de ciclohexilidenciclohexano, según el siguiente esquema:

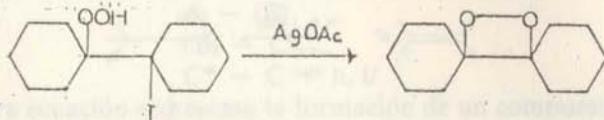


De todas las fracciones obtenidas, se tomaron en cuenta tres de ellas, que respondieron a las características de contener mercurio y dar positiva la reacción de peróxidos, productos I, II, III.

Estos tres productos fueron tratados con yodo, en solución de tetracloruro de carbono, con objeto de eliminar el mercurio:

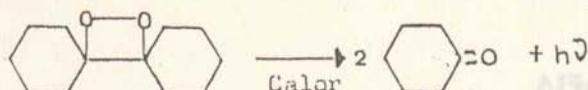


Después de eliminar el yodo residual con tiosulfato sódico, las mezclas de reacción, individualmente fueron tratadas con acetato de plata.



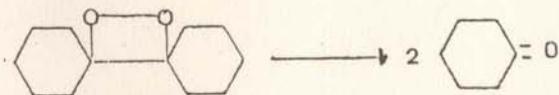
Llevada a cabo la eliminación del átomo de yodo, en las mezclas de reacción, se hicieron ensayos de quimiluminiscencia, por calentamiento de una pequeña fracción de las mismas con DBA en disolución de tolueno. De las tres

fracciones solamente las dos últimas dieron pruebas de quimiluminiscencia, y de los valores de los espectros de  $^1\text{HRMN}$  de los mismos, el producto II fue rechazado. Por tanto el producto fue considerado como 3,3,4,4-diapentano-1,2-dioxetano, en base a su espectro  $^1\text{HRMN}$  en el que puede apreciarse una única absorción a  $1,34 \delta$  y la característica de dar únicamente ciclohexanona por descomposición térmica.



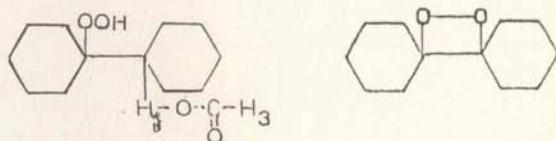
Estos productos se trataron con yodo en tetracloruro de carbono y una vez eliminado el exceso de yodo reaccionante con tiosulfato sódico, se hicieron reaccionar los productos obtenidos con acetato de plata. A todos los productos obtenidos en el tratamiento con la sal de plata, se les sometió a ensayos de quimiluminiscencia, dando positivos los procedentes de las fracciones II y III, se descarta pues la posibilidad de que el producto I sea el 1-Hidroperoxi-1-mercuroacetato de dicrohexilo, centrándose esta posibilidad en los productos II y III.

De la obtención del 1,2-dioxetano del ciclohexilidenciclohexano no cabe duda por su análisis físico, así como el hecho definitivo de que inyectado en un cromatógrafo de gases solo generase ciclohexanona como único producto detectable según la reacción:



Podemos pensar que el producto obtenido por esta reacción con la fracción II está algo impurificado con el dioxetano obtenido a partir del producto III.

Deducimos por consiguiente que la estructura del compuesto III es la de 1-hidroperoxi-1-mercuroacetato de dicrohexilo y la estructura del compuesto buscado es la del 1,2-dioxetano del ciclohexilidenciclohexano.



## ESPECTRO DE EMISION

Con objeto de conocer los máximos de emisión del producto que presenta quimiluminiscencia, se han realizado una serie de medidas de emisión de luz en disolución de tolueno con 9,10-dibromoantraceno en una concentración de este soluto  $5 \cdot 10^{-3}$  Molar.

Valor máximo de  $E = 26,5$  para una longitud de onda de 460 nm. Esto revela una cinética de primer orden.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.— F. McCapra, Accounts of Chemical Research, 9, 201 (1976).
- 2.— W. A. Pryor. «Free Radicals» McGraw-Hill Inc. (1966).
- 3.— F. McCapra. Chem. Commun. 155 (1968).
- 4.— K. R. Kopecky y C. Munford. Can. J. Chem. 47, 709 (1969).
- 5.— W. Adams y J.C. Lin J. Amer. Chem. Soc. 94, 2894 (1972).
- 6.— W. Adams y H.C. Steinmetzer. Angew. Chem. Int. Ed. 11, 540 (1972).