

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

COLEGIO POLITÉCNICO

**Estudio DFT del Rol de la Vitamina B₁₂ en la dehalogenación reductiva de
contaminantes orgánicos perfluorinados persistentes**

María Emilia Dueñas Fadic

Javier Torres, PhD - Director de Tesis

Tesis de grado presentada como requisito
para la obtención del título de Licenciada en Química

Quito, Mayo de 2013

Universidad San Francisco de Quito

Colegio Politécnico

HOJA DE APROBACION DE TESIS

**Estudio DFT del Rol de la Vitamina B₁₂ en la dehalogenación reductiva de
contaminantes orgánicos perfluorinados persistentes**

María Emilia Dueñas Fadic

Javier Torres, PhD

Director de Tesis y

Miembro del Comité

Miguel Ángel Méndez, PhD

Miembro del Comité

Cesar Zambrano, PhD

Miembro del Comité

Decano de la Escuela de Ciencias

Quito, Mayo de 2013

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

Nombre: María Emilia Dueñas Fadic

C. I.: 171282182-4

Fecha: 10 de mayo del 2013

Resumen

Recientes estudios experimentales han demostrado que la Vitamina B₁₂ posee un rol fundamental en la defluorinación reductiva del sulfonato de perfluorooctano (e.g., PFOS, C₈F₁₇SO₃⁻), el mismo que ha sido catalogado como un peligroso contaminante orgánico persistente. En el presente trabajo, el complejo PFBS/Vitamina B₁₂ es investigado teóricamente a nivel B3LYP/6-31+G(d,p). En una fase preliminar, los diferentes isómeros de PFOS y varias cobalaminas (e.g., *base-off*, *base-on*; Co¹⁺, Co²⁺, Co³⁺) fueron descritos individualmente. El mejor electrón aceptor de los isómeros PFBS fue seleccionado en base a la localización del orbital LUMO. A la misma vez que el mejor electrón donador de las Cob[n]alaminas fue seleccionado en base de la localización del orbital HOMO. Posteriormente, el complejo PFBS/Vitamina B₁₂ fue modelado en base a las estructuras optimizadas de sus componentes. Los resultados mostraron que es factible la formación de un complejo cuya estabilidad está asociada a una interacción favorable HOMO/LUMO entre las dos especies. Posterior a la optimización del complejo se pudo determinar que ocurre defluorinación del PFBS, lo que sugiere que el complejo PFBS/Vitamina B₁₂ es un posible estado de transición en la ruta de degradación de contaminantes perfluorinados.

Abstract

Recent experimental evidence has demonstrated that in the presence of a strong reducing agent, Vitamin B₁₂ plays a fundamental role in the reductive dehalogenation of perfluorinated compounds (PFCs) such as perfluorooctanate sulfonate (i.e., PFOS, C₈F₁₇SO₃⁻), which is a highly recalcitrant organic pollutant capable of bioaccumulate. The present study, the PFBS/Vitamin B₁₂ complex was theoretical characterized by means of DFT calculations performed at the B3LYP/6-31+G(d,p) level of theory. As a first stage of the work, various structural isomers of PFBS as well as different derivatives of Vitamin B₁₂ (i.e., base-on and base-off; Co¹⁺, Co²⁺, Co³⁺) were studied individually to understand the possible interactions between these species. The best electron acceptor among the PFBS isomers was selected based on the localization of the LUMO orbital. At the same time, the best electron donor was identified among the various Cob[n]alamins by analyzing the localization of the HOMO orbital. By employing the optimized structures of the selected PFBS and Cob[n]alamin, a model for the PFBS/Vitamin B₁₂ complex was built, where a favorable HOMO/LUMO interaction was determined. After relaxation of the resulting complex, defluorination of PFBS was observed, suggesting that the PFBS/Vitamin B₁₂ complex is a possible transition state in the degradation route of perfluorinated persistent contaminants.

Prefacio

En las últimas décadas se ha observado un creciente interés en las propiedades estructurales, electrónicas y termodinámicas de los derivados de la Vitamina B₁₂, la cual es una macromolécula perteneciente a la serie de las Cob[n]alaminas. Este compuesto está formado por un macrociclo corrín cuyos átomos de nitrógeno coordinan a un átomo central de cobalto de número de oxidación variable (i.e., +1, +2, +3). La importancia de la vitamina B₁₂ es principalmente biológica debido a que participa en varios mecanismos metabólicos a nivel celular. Sin embargo, a parte de su importancia biológica, recientes estudios experimentales han demostrado que posee un rol fundamental en la defluorinación reductiva del sulfonato de perfluorooctano (e.g., PFOS, C₈F₁₇SO₃⁻), el mismo que ha sido catalogado como un peligroso contaminante orgánico persistente.

A pesar de que existen estudios teóricos que permiten sugerir que las Cob[n]alaminas tienen un rol fundamental en la dehalogenación reductiva de PFOS, se han reportado pocos estudios teóricos sobre la misma y sobre todo no se ha propuesto un mecanismo válido para su reacción con PFOS. El presente estudio busca alcanzar una mayor comprensión del proceso de dehalogenación reductiva del PFOS en presencia de la vitamina B₁₂.

Cabe mencionar que los resultados de este proyecto han sido considerados de gran relevancia en el campo de la remediación de contaminantes perfluorinados por lo que han sido presentados en varios congresos internacionales como: XXXVIII Congreso de Químicos Teóricos de Expresión Latina QUITEL 2012 (Cancún, México) y 246th ACS National Meeting 2013 (Indianapolis, IN - USA)

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo 1	14
Introducción	14
1. 1 Sulfonato de perfluorooctano (PFOS).....	15
1.1.1 Usos industriales de PFOS.....	16
1.1.2 Implicaciones ambientales de PFOS	17
1.1.3 Métodos propuestos para la degradación de PFOS	18
1.1.4 Presencia de Isómeros Estructurales en PFOS Técnico y su Degradación	22
1. 2 Vitamina B ₁₂	24
1.2.1 Estructura y Propiedades	24
1.2.2 Rol biológico de Vitamina B ₁₂	26
1.2.3 Electroquímica de Vitamina B ₁₂	26
Capítulo 2.....	29
Marco Teórico- Teoría de Funcional de Densidad	29
2.1 Introducción	30
2.1.1 La ecuación de Schrödinger.....	30
2.1.2 Aproximación Born-Oppenheimer	32
2.1.3 Propiedades de la función de onda	33
2.1.4 Método de Hartree Fock y Aproximación de Funciones Base	34

2.1.5 Método “Open Shell”	36
2.2 Antecedentes Históricos de la DFT	37
2.2.1 Hohenberg y Kohn.....	38
2.2.2 Método de Kohn-Sham.....	39
2.2.3 Funcionales	42
2.3 Propiedades electrónicas	44
2.3.1 Densidad Electrónica	45
2.3.2 Densidad de espín.....	45
2.3.3 Potencial Electrostático	45
2.3.4 Orbitales HOMO y LUMO.....	46
Capítulo 3.....	47
Descripción de Métodos y Modelos	47
3.1 Descripción Teórica del Sulfonato de Perfluorooctano PFOS.....	48
3.1.1 Construcción del modelo del PFOS.....	48
3.1.2 Simulación del ataque nucleofílico al PFOS	48
3.2 Descripción Teórica del Complejo Vitamina B ₁₂	50
3.3 Descripción Teórica del complejo Cobalamina--PFBS.....	54
3.3.1 Identificación de sitios de adsorción en las Cob[n]alaminas.....	55
Capítulo 4.....	57

Resultados y Discusión	57
4.1 Simulación del ataque nucleofílico al PFOS	58
4.2 Simulación del Complejo Vitamina B ₁₂	63
4.2.1 Descripción de los diferentes sitios de adsorción identificados	63
4.3 Determinación del mecanismo de descomposición de PFBS adsorbido.....	64
Capítulo 5.....	67
Conclusiones	67
Referencias.....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estructura del PFOS Lineal (a) y vista transversal (b)	15
Figura 2: Esquema del mecanismo básico utilizado para la biomimetización de la dehalogenación reductiva de PFOS en presencia de Vitamina B ₁₂ y citrato de Ti(III) ^{23a}	21
Figura 3: Isómeros estructurales de PFOS	23
Figura 4: Orbitales moleculares LUMO y HOMO de PFOS lineal (a) y 6-CF ₃ -PFOS (b) ³	24
Figura 5: Estructura de Vitamina B ₁₂	25
Figura 6: Esquema de la Vitamina B ₁₂ que muestra la presencia de electrones d ⁸ en el Co(I) ³⁰	27
Figura 7: Paso inicial (a), paso 16 (b) y paso final (c) del ataque nucleofílico al isómero 6-CF ₃ -PFOS.....	50
Figura 8: Estructura de Cob[1]alamina reportada por Jensen ³⁰	51
Figura 9: Configuraciones electrónicas de los estados de oxidación del cobalto por el caso “Open Shell”	53
Figura 10: Isómeros estructurales del PFBS	55
Figura 11: Orbitales LUMO de 2-CF ₃ -PFBS.....	55
Figura 12: (Izquierda) Perfiles de energía correspondientes al ataque nucleofílico de 6CF ₃ -PFOS con los grupos HO ⁻ y HO [•] . (Derecha) Énfasis de la zona del perfil de energía en donde se encuentra el estado de transición.	59
Figura 13: Perfiles de energía para la reacción de PFOS Lineal y el isómero 6-CF ₃ -PFOS con radical HO [•]	60

Figura 14: Orbital HOMO calculado para los seis modelos de la Cob[n]alamina	62
Figura 15: Sitios de adsorción definidos en función de los lóbulos del orbital HOMO de la Cob[I]balamina-base-off.....	63
Figura 16: Estado de transición para ϵ -Cob[1]alamina-base-off/PFBS	64
Figura 17: Perfil de energía para el mecanismo del complejo ϵ -Cob[1]alamina-base- off/PFBS	66
Figura 18: Energía de Activación para el complejo ϵ -Cob[1]alamina-base-off/PFBS.....	66

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Propiedades fisicoquímicas del PFOS	16
Tabla 2: Carga y multiplicidad utilizada en cada sistema.....	53
Tabla 3: Energías obtenidas en la simulación del ataque nucleofílico de PFOS lineal y sus isómeros estructurales con el radical HO•	61

Capítulo 1

Introducción

1. 1 Sulfonato de perfluorooctano (PFOS)

El sulfonato de perfluorooctano (PFOS), $C_8F_{17}SO_3^-$, es un surfactante que posee importantes propiedades fisicoquímicas, por lo que ha sido ampliamente utilizado en varias industrias de manufactura tanto de productos de consumo humano como de desarrollo tecnológico¹. Este compuesto posee una parte polar que corresponde al grupo SO_3^- , y una parte no-polar formada por una cadena de ocho átomos de carbono, en donde los átomos de hidrogeno han sido completamente sustituidos por átomos de flúor. La fórmula estructural del PFOS es $CF_3-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-CF_2-S(=O)(=O)O^-$ y está representada en la Figura 1.

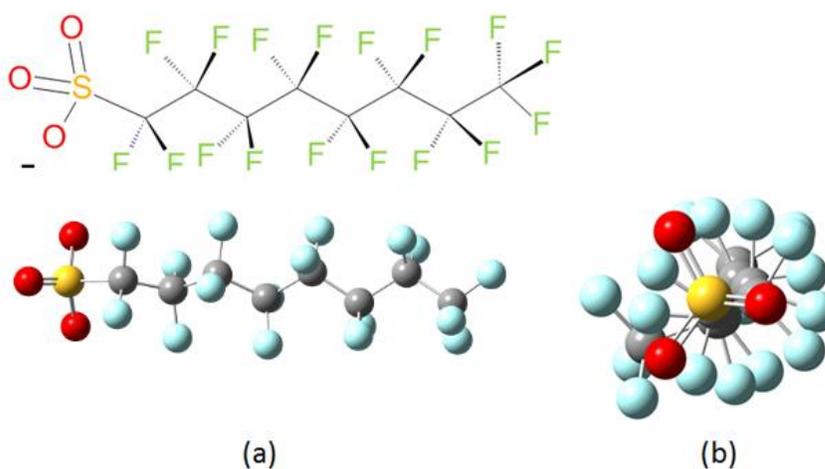


Figura 1: Estructura del PFOS Lineal (a) y vista transversal (b)

Se conoce que el sulfonato de perfluorooctano presenta una gran estabilidad debido a los enlaces C-F por lo que es un compuesto altamente recalcitrante, es decir, resistente a la degradación por medios físico-químicos y biológicos². Todas las propiedades que presenta PFOS se deben principalmente a su estructura helicoidal (Figura 1b) y a la presencia de

enlaces C-F en el esqueleto del compuesto³. PFOS tiene una solubilidad en agua pura de aproximadamente ~550mg/l a 25 °C, lo que se atribuye a sus grupos funcionales y a la estructura, lo que sugiere que PFOS tiende a permanecer en medio acuoso de forma dispersa. En la Tabla 1 se resumen algunas propiedades adicionales de PFOS⁵.

Tabla 1: Propiedades fisicoquímicas del PFOS

Propiedades Fisicoquímicas del PFOS⁶	
Punto de Fusión	≥ 400 °C
Constante de Henry a 20 °C	$3.19 \cdot 10^{-4}$ Pa
Presión de Vapor a 20 °C	$3.27 \cdot 10^{-9}$ atm
Solubilidad en agua	550mg/L

1.1.1 Usos industriales de PFOS

Debido a las propiedades físico-químicas particulares que posee PFOS, este compuesto ha sido ampliamente empleado para la producción de insumos de uso humano y de desarrollo tecnológico. Por ejemplo, PFOS se utiliza en la industria del papel como recubrimiento protector para repeler agua y aceite; además se utiliza como recubrimiento en metales para aumentar la estabilidad química de materiales⁷. Otros ejemplos del uso de PFOS que ocurren en la industria incluyen el tratamiento textil, la producción de espuma contra incendios, fabricación de tinta de impresora, aditivos en agentes de limpieza, y estabilizadores en pinturas de uso industrial⁸.

La aplicación más importante de PFOS ocurre en la industria de los semiconductores ya que este compuesto es indispensable para el proceso de fotolitografía de obleas de silicio⁹, el cual es fundamental para la fabricación de micro-circuitos integrados. PFOS resulta ser indispensable para este proceso debido a que posee la longitud y estructura óptimas¹⁰ para ser utilizado como medio foto-resistente durante el proceso de grabado químico¹⁰. Es importante mencionar que pese a que se han llevado a cabo varios estudios no se ha encontrado un compuesto que pueda reemplazar a PFOS en este proceso dentro de la industria de los semiconductores (PFOS es el único surfactante que proporciona el catalizador necesario para crear un patrón deseado de longitud de ondas cortas, la cadena de PFOS no se rompe en el proceso de fotolitografía, se disuelve fácilmente en el foto-resistente, es no-volátil a temperatura ambiental, es inerte, reduce tensión superficial, y produce capas uniformes).

1.1.2 Implicaciones ambientales de PFOS

A pesar de la gran importancia que posee PFOS en la industria, este compuesto ha sido catalogado como un Contaminante Orgánico Persistente y ha sido incluido como compuesto #20 en la lista de compuestos altamente peligrosos para el ambiente y la salud de los seres humanos preparado en el tratado de Estocolmo en el año 2005¹¹. Se ha determinado que PFOS es un contaminante persistente capaz de bioacumularse en macroorganismos¹². Adicional a esto se conoce que PFOS tiene la capacidad de repeler aceites, grasas y agua por lo que se transporta fácilmente en sistemas lluviosos y se deposita en el suelo en cuestión de días o semanas¹³. Se ha reportado que tanto PFOS como sus compuestos relacionados son foto-químicamente inertes así como resistentes a la degradación biótica y

abiótica¹⁴. Adicionalmente, se ha estimado que la vida media de PFOS en los seres humanos y otros mamíferos es de aproximadamente 1428 días¹⁵, y se ha detectado PFOS en animales silvestres, tales como aves, peces y mamíferos, tanto en zonas urbanas como zonas remotas alrededor del mundo¹⁶(Taiwán: se encontró concentraciones de PFOS de 5440 ng/L en ríos cerca de plantas de semiconductores, China: se encontró que existe 10 ng/L en el agua potable, Alemania: se encontró 1.4 ng por cada kilogramo de comida, Artico: se encontró 180-680 ng PFOS g⁻¹ en los osos polares). Estos datos implican que PFOS posee una alta movilidad y que su efecto contaminante sobre macroorganismos es independiente de la ubicación de estos últimos con respecto a las plantas de producción de PFOS.

Relacionado a lo previamente indicado, resulta particularmente alarmante el hecho de que trazas de PFOS se han detectado en bebés recién nacidos^{12, 17} cuya contaminación se debe a la ingesta pre- y post-natal (i.e., a través del cordón umbilical y la leche materna, respectivamente) del contaminante. En Canadá se encontró que el 61% de la asimilación diaria (410 ng) de PFOS en la población ocurre por ingesta, mientras que en Alemania se ha determinado que por cada kilogramo de comida diaria una persona promedio ingiere 1.4 ng de PFOS^{13a, 17-18}. No se ha encontrado evidencia indiscutible que indique que PFOS pueda causar riesgos en la salud, sin embargo, estudios recientes sugieren que PFOS puede tener un impacto en la forma como el organismo se encarga de metabolizar las grasas en el cuerpo^{13a, 19}.

1.1.3 Métodos propuestos para la degradación de PFOS

Por lo mencionado con anterioridad, varios trabajos de investigación han sido dedicados a buscar un método de degradación para este compuesto. Desafortunadamente no se ha

podido desarrollar procedimientos para la eliminación de PFOS que sean aplicables a nivel industrial por lo que la identificación de un método viable continúa siendo un problema abierto.

Existen varios métodos propuestos para degradar PFOS, los mismos que se presentan a continuación:

Tratamiento por foto-degradación: varios experimentos sobre la foto-degradación de PFOS se han llevado a cabo. En un experimento recientemente publicado²¹ se estudió la foto-degradación de PFOS, en el cual soluciones de 40 μ M de PFOS en agua y de 40 μ M de PFOS en solución alcalina de 2-propanol fueron irradiadas con una lámpara de mercurio a baja presión (254 nm, 32 W) por 10 días para el posterior análisis de los iones de PFOS, sulfatos, fluoruros y otros productos de la degradación. Como resultados del experimento se encontró que después de 10 días 68% PFOS se degradó en agua y 92% en la solución alcalina de 2-propanol. Adicionalmente, se pudo determinar la formación de fluoruros y sulfatos²¹ como productos de la descomposición.

Tratamientos electroquímicos: electrodos fabricados en base a diamante se han empleado exitosamente para la degradación oxidativa de PFOS. En un estudio reciente² se han reportado las tasas de oxidación de PFOS calculadas empleando un reactor compuesto por un electrodo de disco rotatorio en el cual se varia la densidad de flujo y la temperatura. La oxidación de PFOS en este tratamiento produce principalmente fluoruros, dióxido de carbono, sulfatos y ácido trifluoroacético. Adicional a esto, la velocidad de reacción estimada para la reacción fue de orden cero, por lo cual, utilizando el análisis Eyring, se pudo determinar que la energía de activación es de 4.2 kJ/mol para la oxidación de PFOS².

Tratamiento en estado plasma: en un estudio reciente⁸, PFOS pudo ser degradado en medio acuoso utilizando el método directo de plasma generado en el interior de burbujas de oxígeno dentro de la solución. La tasa de descomposición de PFOS se calculó mediante la medición de las concentraciones de F⁻, y se determinó que un reactor de plasma es adecuado para descomponer PFOS en cantidades significativas⁸.

Tratamiento biológico: la dehalogenación reductiva es un mecanismo de gran importancia en el campo biodegradación de compuestos orgánicos halogenados y ha sido empleado exitosamente en el caso particular de los contaminantes clorinados²³. En este proceso, microorganismos anaeróbicos o bacterias obtienen energía para su metabolismo rompiendo el enlace carbono-halógeno de los contaminantes. Un factor clave en este mecanismo es la Vitamina B₁₂, la cual, en principio, actúa como catalizador. El complejo que se conoce como vitamina B₁₂ está constituido por una o varias formas de la Cob[n]alamina, la cual es una macromolécula formada por un átomo de cobalto central que se encuentra coordinado por los átomos de nitrógeno de un anillo corrín. Esta macromolécula es capaz de participar en reacciones de óxido-reducción gracias a que el átomo de cobalto posee varios estados de oxidación (i.e, 1+, 2+ y 3+). En el caso particular de PFOS no se ha podido determinar la familia de bacterias que son capaces de degradar este contaminante, sin embargo Ochoa-Herrera y colaboradores han logrado simular experimentalmente el proceso de biodegradación, lo cual es una indicación de que la dehalogenación reductiva de PFOS es factible. En la Figura 2 se puede observar el mecanismo básico empleado para la biomimetización de la dehalogenación reductiva de PFOS en presencia de Vitamina B₁₂^{23a}

en donde se indica que, a parte de la Vitamina B₁₂, el citrato de Ti(III) es necesario como agente reductor.

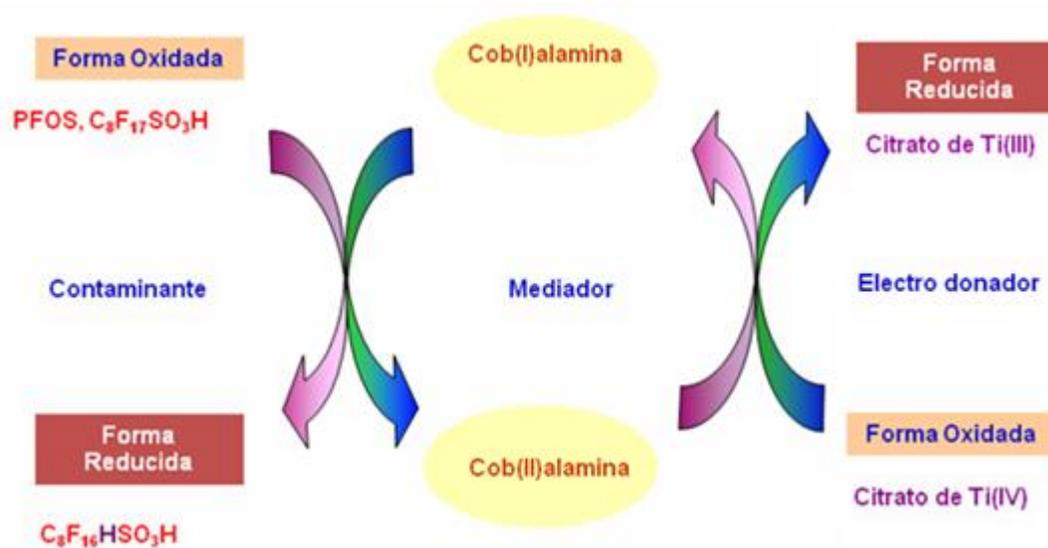


Figura 2: Esquema del mecanismo básico utilizado para la biomimetización de la dehalogenación reductiva de PFOS en presencia de Vitamina B₁₂ y citrato de Ti(III)^{23a}

La mayoría de métodos que se han sugerido para lograr la degradación de PFOS resultan ser muy costosos ya que requieren condiciones extremas de operación. Este hecho prácticamente imposibilita su aplicación a nivel industrial por lo cual no representan soluciones al problema de contaminación por PFOS. Sumado a esto se debe considerar que cada método de degradación propuesto puede producir sustancias que son también contaminantes (ácidos carboxílicos perfluorinados de cadena corta y compuestos perfluorinados volátiles como: CF₄, C₂F₆, C₃F₈). La mimetización del proceso biológico, por otro lado, resulta ser una excepción a estas generalidades debido a que es eficiente y poco costoso por ocurrir en condiciones cercanas a las estándar. En vista de esto, el

tratamiento biológico de PFOS es un método que se podría aplicar a escala industrial sin resultar en un incremento importante de costos y sin el riesgo de producir otros compuestos contaminantes. Sin embargo, para que esto sea posible, estudios deben ser realizados con el objetivo de entender de manera más profunda el rol de la Vitamina B₁₂ en la dehalogenación reductiva de PFOS e incluso definir un posible mecanismo de reacción.

1.1.4 Presencia de Isómeros Estructurales en PFOS Técnico y su Degradación

Uno de los resultados más importantes de los estudios experimentales de Ochoa-Herrera y colaboradores ^{23a} acerca de la dehalogenación reductiva de PFOS es que se ha determinado que este compuesto en su grado técnico (i.e., empleado en la industria de los semiconductores) se encuentra compuesto por varios isómeros estructurales, entre los cuales los más importantes son: 1-CF₃-PFOS, 2-CF₃-PFOS, 3-CF₃-PFOS, 4-CF₃-PFOS, 5-CF₃-PFOS, 6-CF₃-PFOS y n-PFOS o PFOS lineal. En la Figura 3, se pueden observar las estructuras de estos isómeros. Adicional a esto, el estudio de Ochoa-Herrera *et al.* demostró que solo ciertos isómeros de PFOS son susceptibles a degradación, siendo el orden de reactividad el siguiente: 6-CF₃ > 5-CF₃ > 4-CF₃ ~ 3-CF₃-PFOS, mientras que los isómeros 2-CF₃ y 1-CF₃-PFOS así como el compuesto lineal son prácticamente no degradables. Los medios experimentales utilizados como parte del estudio no fueron capaces de dilucidar este resultado, por lo que Torres *et al.* llevaron a cabo un estudio teórico posterior en el cual se investigaron las propiedades electrónicas de los isómeros de PFOS mediante cálculos DFT empleando como el nivel de teoría B3LYP/6-31++G(d,p)³. En este estudio, se determinó que el isómero 6-CF₃-PFOS posee un orbital LUMO muy localizado en la región circundante al carbono terciario de la estructura (i.e., el carbono más susceptible a un ataque

nucleofílico o ataque reductivo) mientras que el compuesto de PFOS lineal tiene un orbital LUMO difuso en toda la estructura (Figura 4). Considerando que un orbital LUMO prominente y localizado facilita los ataques nucleofílicos en una molécula orgánica, se logró explicar de una manera satisfactoria la alta reactividad de 6-CF₃-PFOS en comparación al prácticamente inerte PFOS lineal. En el caso de los isómeros 5-CF₃, 4-CF₃, 3-CF₃-PFOS se observó la misma localización de su orbital LUMO aunque en menor grado si se compara con el isómero 6--CF₃-PFOS lo que indica su menor reactividad.

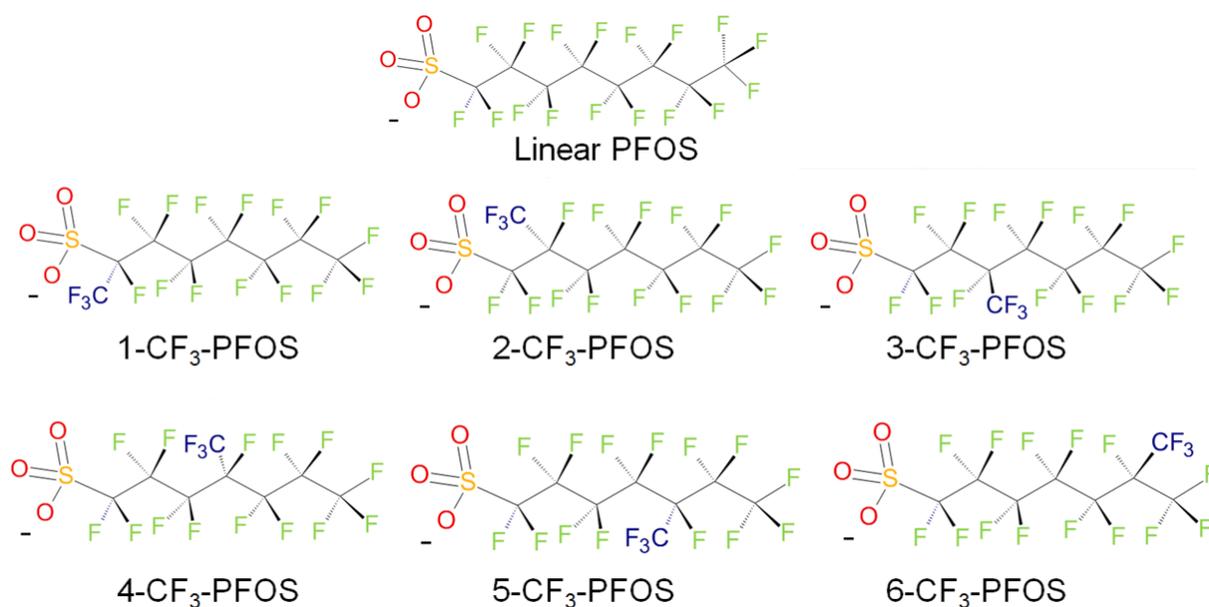


Figura 3: Isómeros estructurales de PFOS

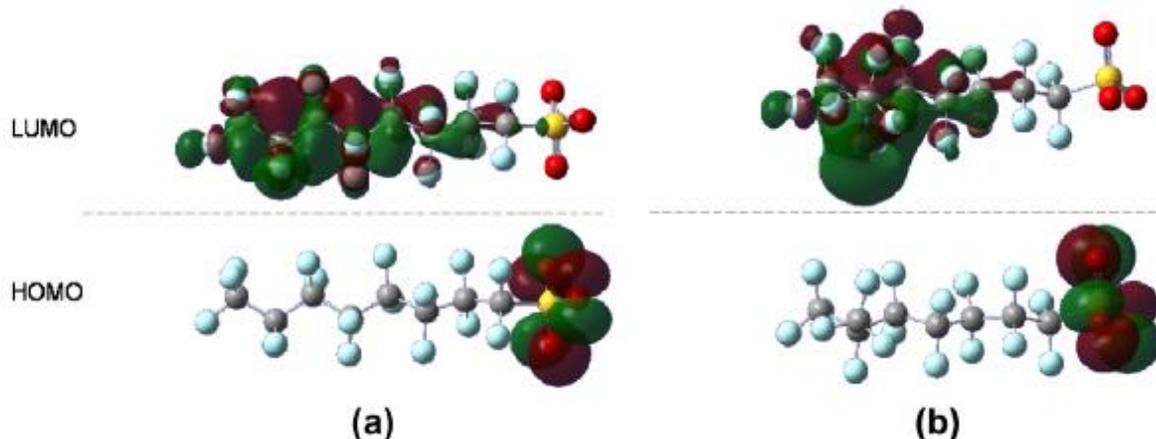


Figura 4: Orbitales moleculares LUMO y HOMO de PFOS lineal (a) y 6-CF3-PFOS (b)³

1. 2 Vitamina B₁₂

Como se mencionó anteriormente, la vitamina B₁₂ es un factor clave en el mecanismo de dehalogenación reductiva de PFOS. A este respecto, Ochoa-Herrera y colaboradores^{23a} determinaron que la reacción de 6-CF₃-PFOS con el agente reductor citrato de titanio III ($E^{\circ}_{\text{red}} = -0.37\text{V}$) no es posible sin la presencia de Vitamina B₁₂ en la solución. Es por esto que esta sección está dedicada a la descripción de este complejo y de sus propiedades.

1.2.1 Estructura y Propiedades

La fórmula empírica de la Vitamina B₁₂, la cual es una macromolécula perteneciente a la serie de las Cob[n]alaminas, es C₆₃H₈₅O₁₄N₁₄PCo y es un compuesto formado por un macrociclo corrín cuyos átomos de nitrógeno coordinan al átomo central de cobalto, el cual posee varios estados de oxidación: +1, +2, +3²⁴. Con el fin de completar el entorno de coordinación octaédrica del cobalto, la posición de coordinación axial inferior está ocupada

por el nitrógeno del grupo 5,6-dimetil bencimidazol como se muestra en la Figura 5. La posición de coordinación axial superior se considera la parte activa de la macromolécula, ya que en esta posición varios sustratos pueden ser adsorbidos para reaccionar.

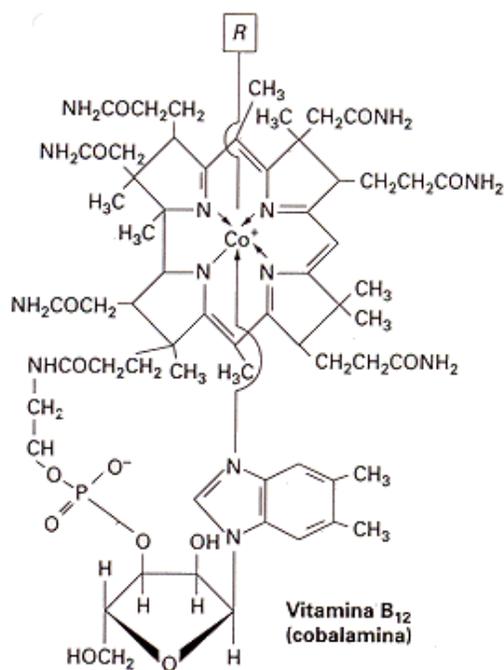


Figura 5: Estructura de Vitamina B₁₂

En cuanto a las propiedades físicas de la Vitamina B₁₂, se puede mencionar que esta macromolécula presenta un color rojo profundo en solución, que está asociado a las transiciones electrónicas metal-ligando ($\pi \rightarrow \pi^*$) que ocurren en su estructura. Además, la Vitamina B₁₂ es soluble en agua y el alcohol, pero insoluble en acetona, cloroformo y éter lo que indica su alto grado de polaridad. El peso molecular de la Vitamina B₁₂ es 1,354 kg/mol, lo cual limita su concentración máxima de saturación a valores cercanos a 8.8 micro moles por litro²⁵.

Para el análisis de este compuesto, es posible usar métodos espectrofotométricos y calorimétricos. Aunque ambos métodos se han ideado para calcular la cantidad de Cob[n]alamina en material microbiano, los mismos carecen de precisión ya que existen compuestos análogos a la Vitamina B₁₂ y otros corrinoideos (i.e., moléculas que contienen el anillo de corrín) que se pueden también estar presentes²⁶. Cuando se utilizan métodos espectrofotométricos, los diferentes corrinoideos presentes en los medios de fermentación, tienen picos de absorción en la misma longitud de onda que la Vitamina B₁₂, causando una interferencia significativa en la determinación del compuesto^{26a}.

1.2.2 Rol biológico de Vitamina B₁₂

La importancia de la Vitamina B₁₂ es principalmente biológica debido a que participa en varios mecanismos metabólicos a nivel celular y de manera particular en el microbiano (i.e., que es la base de la biorremediación de contaminantes halogenados por reducción). La Vitamina B₁₂ es esencial en numerosas reacciones bioquímicas en la naturaleza, la mayoría de las cuales implican redistribución de hidrógeno o carbono. Por ejemplo, la Vitamina B₁₂ reduce ribonucleótidos, además de estar presente en la biosíntesis de metionina, en la isomerización del metilmalonato a succinato, en la isomerización del β metil aspartato a glutamato, y en la conversión de aldehídos en dioles²⁷.

1.2.3 Electroquímica de Vitamina B₁₂

Evidencia obtenida de la literatura^{24a, 26c, 28} sugiere que la Vitamina B₁₂ posee características electroquímicas muy importantes. De forma particular se ha sugerido que esta macromolécula puede actuar como un súper nucleófilo dependiendo del número de ligandos unidos al átomo de cobalto y de su número de oxidación²⁹. En el trabajo teórico de Jensen y

colaboradores³⁰ se determinó que en la enzima transferasa de metilo, la Vitamina B₁₂ sin el ligando axial (forma *base off*) está presente como una especie que participa de forma activa en el ataque del 5-metiltetrahidrofolato para formar Co(III)---metilcobalamina³⁰. El poder nucleofílico de la Vitamina B₁₂ se ha atribuido a los dos electrones que ocupan el orbital axial d_z^2 (Figura 6).

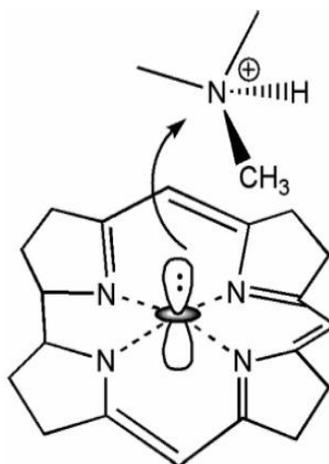


Figura 6: Esquema de la Vitamina B₁₂ que muestra la presencia de electrones d_z^2 en el Co(I)³⁰

Determinaciones previas de la termodinámica de Co(III)/Co(II) de la Vitamina B₁₂ han sugerido, a través de la extrapolación de los datos obtenidos en medios acuosos, que el potencial estándar estimado es +0.270 V vs. SCE, electrodo estándar de calomelano, para su forma *base-off*.

Finalmente se debe indicar que el estudio teórico sobre el efecto electrónico y estérico de la Vitamina B₁₂ de Jensen permite concluir que las propiedades del sustituyente que es adsorbido sobre la posición axial superior son cruciales para el mecanismo que obedece la

reacción en la que participa la Vitamina B₁₂. A este respecto se ha determinado que si el sustituyente adsorbido es un electro-donador, es muy probable que ocurra la ruptura heterolítica de sus enlace; mientras que si el sustituyente es un electro-aceptor la ruptura homolítica de sus enlaces corresponde al mecanismo más favorable²⁹.

Capítulo 2

Marco Teórico: Teoría de Funcional de Densidad

2.1 Introducción

En los últimos años, los métodos de simulación de estructura electrónica basados en la teoría del funcional de la densidad, DFT, se han desarrollado de tal forma que sus resultados presentan gran exactitud en tiempos de cálculo relativamente cortos y sin requerir de enormes recursos computacionales. Los métodos DFT se basan en la premisa de que la energía de una molécula puede determinarse a partir de la densidad electrónica por lo que representan una alternativa a los métodos que se basan en la determinación de la función de onda. Debido a esto se puede mencionar que en los métodos DFT se trata a la densidad de las partículas que forman un sistema como una variable fundamental³¹. Aunque existen versiones de la DFT que permiten explorar los estados excitados de sistemas multieletrónicos, los métodos que se han empleado en el presente trabajo se centran en la descripción de la energía y otras propiedades del estado basal.

2.1.1 La ecuación de Schrödinger

Como primera aproximación de la DFT, se deben revisar los fundamentos básicos de la mecánica cuántica así como algunos métodos fundamentales como el método de Hartree-Fock. La ecuación fundamental de la mecánica cuántica es la ecuación de Schrödinger la cual describe de forma general el comportamiento de sistemas microscópicos (i.e., sistemas formados por electrones y protones)³². La forma de la ecuación de Schrödinger para varias partículas es la siguiente:

$$H\psi(\vec{r}, t) = \frac{ih}{2\pi} \frac{\partial \psi(\vec{r}, t)}{\partial t} \quad [1]$$

Donde ψ es la función de onda, h la constante de Planck, y H es el operador Hamiltoniano³³.

En el caso particular que V (energía potencial) sea independiente del tiempo, la ecuación de Schrödinger se puede simplificar utilizando el método de separación de variables³⁴. Para esto se considera $\psi(\vec{r}, t) = \psi(\vec{r})\tau(t)$ y se reemplaza en la Ecn. 1. Como resultado se obtiene la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo^{31, 32b}:

$$H\psi(\vec{r}) = E\psi(\vec{r}) \quad [2]$$

La energía y otras propiedades de la partícula se pueden obtener a partir de la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo, donde el operador Hamiltoniano está compuesto por los operadores de energía cinética y energía potencial³⁴:

$$H = T + V \quad [3]$$

donde T y V se definen de la siguiente manera para un sistema de varias partículas:

$$T = \frac{-h^2}{8\pi^2} \sum_i \frac{1}{m_i} \left(\frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \right) \quad [4]$$

$$V = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \left(-\sum_i \sum_l \left(\frac{z_l e^2}{\Delta r_{il}} \right) + \sum_i \sum_{j < i} \left(\frac{e^2}{\Delta r_{ij}} \right) + \sum_l \sum_{J < l} \left(\frac{z_l z_J e^2}{\Delta R_{lJ}} \right) \right) \quad [5]$$

donde m es la masa del electrón, ϵ_0 la permitividad en el vacío, y z el número atómico.

Como se puede observar, V está compuesto por tres términos diferentes, el primero de éstos corresponde a la atracción entre electrón y núcleo, el segundo a la repulsión electrón-electrón, y el tercero que corresponde a la repulsión núcleo-núcleo³⁵.

2.1.2 Aproximación Born-Oppenheimer

La aproximación Born-Oppenheimer es una de las primeras aproximaciones utilizadas para simplificar la solución de la ecuación de Schrödinger³⁶. En esta aproximación se separa el movimiento nuclear del electrónico al considerar que la masa del protón, y por ende de los núcleos, es drásticamente mayor a la masa de los electrones. A causa de esto es lógico considerar que, en un sistema molecular, los electrones se mueven con gran rapidez mientras que los núcleos se mantienen estáticos. Considerando la aproximación de Born-Oppenheimer, el Hamiltoniano para un sistema molecular se puede expresar^{32a, 37} como:

$$H = T^{electrón}(\vec{r}) + V^{nucleo-electrón}(\vec{R}, \vec{r}) + V^{electrón}(\vec{r}) + V^{núcleo}(\vec{R}, \vec{r}) [6]$$

En donde se ha eliminado la energía cinética de los núcleos. El Hamiltoniano electrónico que se obtiene a partir de esta aproximación describe el movimiento de los electrones en un campo externo generado por los núcleos³⁷. La ecuación de Schrödinger asociada a este Hamiltoniano es la siguiente:

$$H^{electrón}\psi^{electrón}(\vec{r}, \vec{R}) = E^{electrón}(\vec{R})\psi^{electrón}(\vec{r}, \vec{R}) [7]$$

Donde $\psi^{electron}$ describe únicamente la dinámica de los electrones en el campo de los núcleos que conforman la molécula y $E^{electron}$ es la energía electrónica asociada al estado descrito por $\psi^{electron}$.

2.1.3 Propiedades de la función de onda

Aunque la función de onda de un sistema molecular no posee un significado físico, se sabe que su módulo al cuadrado ψ^2 representa la densidad de probabilidad de que las partículas descritas por la función de onda ψ se encuentren en una determinada región del espacio. Como resultado de esto, la siguiente condición de normalización es válida³⁷:

$$\int_{-\infty}^{+\infty} |\psi|^2 dv = 1 \quad [8]$$

A partir de las Ecms 7 y 8 se puede obtener la expresión que permite calcular el valor esperado de la energía:

$$\bar{E} = \int_{-\infty}^{+\infty} \psi^*(x) H \psi(x) dx \quad [9]$$

Adicional a esto, y debido a que los electrones son partículas conocidas como fermiones (i.e., partículas caracterizados por espín = 1/2), una ψ electrónica adecuada debe ser antisimétrica con respecto al intercambio de las coordenadas de dos partículas, es decir:

$$\psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_i, \dots, \vec{r}_j, \dots, \vec{r}_n) = -\psi(\vec{r}_1, \dots, \vec{r}_j, \dots, \vec{r}_i, \dots, \vec{r}_n) \quad [10]$$

La condición de antisimetría de una función de onda se cumple de forma implícita si se construye ψ usando determinantes de Slater, la misma que está formada por funciones mono-electrónicas, conocidas como spin-orbitales:

$$\phi_{SD} = |S\rangle = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{bmatrix} \chi_1(\vec{x}_1) & \cdots & \chi_N(\vec{x}_1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(\vec{x}_N) & \cdots & \chi_N(\vec{x}_N) \end{bmatrix} [11]$$

La función de onda completa debe también considerar estados electrónicos excitados por lo que su definición formal involucra una combinación lineal de determinantes de Slater:

$$\varphi = \sum_{i=1}^n \phi_{SD}(i) [12]$$

2.1.4 Método de Hartree Fock y Aproximación de Funciones Base

Debido a que la ecuación de Schrödinger no se puede resolver de forma exacta para sistemas con más de un electrón, es necesario recurrir a métodos aproximados cuando se desea describir el comportamiento de sistemas multielectrónicos. Uno de estos métodos aproximados es el método de Hartree-Fock, cuyo principio fundamental es considerar que la función de onda ψ está definida únicamente por la determinante de Slater del estado basal del sistema, Ecn 11.

La construcción de la función de onda en la ecuación anterior está dada entonces como una multiplicación antisimetrizada de spin-orbitales:

$$|\psi_0\rangle = |\chi_1\chi_2 \cdots \chi_a\chi_b \cdots \chi_N\rangle [13]$$

Aplicando la fórmula para calcular el valor esperado de la energía (Ecn 9) se obtiene:

$$E_0 = \langle \psi_0 | H | \psi_0 \rangle = \sum_i \langle \chi_i | h | \chi_i \rangle + \frac{1}{2} \sum_{ij} \langle \chi_i \chi_j | | \chi_i \chi_j \rangle = \sum_i \langle \chi_i | h | \chi_i \rangle + \frac{1}{2} \sum_{ij} \langle \chi_i \chi_i | \chi_j \chi_j \rangle - \langle \chi_i \chi_j | \chi_j \chi_i \rangle [14]$$

donde H es el Hamiltoniano electrónico.

Considerando que cada spin-orbital está definido como la multiplicación de una parte espacial por una parte de spin, $\chi_i(1) = \varphi(\vec{r})\sigma(\omega)$, la ecuación anterior se reduce solo a la parte orbital:

$$E_0 = \langle \psi_0 | H | \psi_0 \rangle = \sum_i \langle \varphi(\vec{r}) | h | \varphi_i \rangle + \frac{1}{2} \sum_{ij} \langle \varphi_i \varphi_j | | \varphi_i \varphi_j \rangle = \sum_i \langle \varphi_i | h | \varphi_i \rangle + \frac{1}{2} \sum_{ij} \langle \varphi_i \varphi_i | \varphi_j \varphi_j \rangle - \langle \varphi_i \varphi_j | \varphi_j \varphi_i \rangle \quad [15]$$

Dentro de la aproximación de funciones base, se puede describir a cada función orbital $\varphi(\vec{r})$ como una combinación de funciones conocidas que se escogen de forma conveniente. En los métodos tradicionales, típicamente se emplea una combinación lineal de funciones Gaussianas, las mismas que tiene la siguiente forma general³⁵:

$$g(\alpha, \vec{r}) = cx^n y^m z^l e^{-\alpha r^2} \quad [16]$$

Donde α es la constante que determina el ancho de la función.

Como resultado de aplicar la aproximación de funciones base, la Ecn. 15 da paso a la siguiente ecuación matricial:

$$\mathbf{HC} = \mathbf{ESC} \quad [17]$$

Donde \mathbf{H} , \mathbf{C} y \mathbf{S} son las matrices del Hamiltoniano, de los coeficientes y de solapamiento, respectivamente. \mathbf{E} es una matriz diagonal que contiene las energías correspondientes a cada estado que se describe con las diferentes columnas de la matriz \mathbf{C} . La existencia de \mathbf{S} en la ecuación se atribuye al hecho de que las funciones Gaussianas empleadas como funciones base no forman un conjunto ortogonal.

Para resolver la ecuación matricial descrita anteriormente se debe recurrir al principio variacional, el cual indica que la energía de la función de onda exacta de un sistema es un límite inferior para las energías calculadas considerando una función de onda aproximada. De esta manera, la solución de la ecuación matricial consiste en la búsqueda de coeficientes que minimizan el valor de la energía del estado basal³⁸.

2.1.5 Método “Open Shell”

Hasta el momento, se han considerado solo sistemas de capa cerrada, lo que significa que dos electrones con diferente espín comparten la misma función orbital. Este caso específico es adecuado para sistemas que contiene un número par de electrones y cuyo spin total es cero. En el caso en el que un sistema multi-electrónico no cumpla con estas dos condiciones, se debe tratar al mismo como un sistema de capa abierta, en el cual los electrones alfa y los electrones beta poseen su propia función orbital. Es decir que se pueden escribir las siguientes expresiones³⁷:

$$\phi_i^\alpha = \sum_{\mu} c_{\mu i}^\alpha \chi_{\mu}$$

$$\phi_i^\beta = \sum_{\mu} c_{\mu i}^\beta \chi_{\mu} \quad [18]$$

Estas dos definiciones dan paso a dos ecuaciones matriciales que se resuelven de forma independiente:

$$H^\alpha C^\alpha = S C^\alpha \epsilon^\alpha$$

$$H^{\beta} C^{\beta} = S C^{\beta} \varepsilon^{\beta} \quad [19]$$

2.2 Antecedentes Históricos de la DFT

Las primeras nociones de la DFT fueron desarrolladas por Thomas y Fermi en 1927, quienes emplearon principios estadísticos para aproximar la distribución de los electrones a modelos sencillos como el gas de electrones que más tarde se extenderían a la descripción de átomos. La ecuación de Thomas-Fermi, junto con el principio variacional, representó el primer esfuerzo para definir una teoría del funcional de densidad ya que de esta manera la energía se calcula sin referirse a una función de onda. En la teoría de Thomas-Fermi se asume un sistema homogéneo de N independiente electrones (i.e., fermiones) donde la energía cinética de cada partícula se obtiene a partir de la siguiente ecuación:

$$\frac{T}{N} = t(n) = \frac{3}{5} \varepsilon_F(n) \quad [20]$$

donde ε_F es la energía de Fermi, la cual depende del número de densidad n de las partículas y se define como el último nivel ocupado por un electrón a 0 K³⁹.

En esta teoría se asume que la densidad $\rho(r)$ varía en el espacio, por lo tanto la energía cinética total es:

$$T(n) \approx \int \rho(r) t(n) d^3r \quad [21]$$

La Ecn. 21 define la forma del funcional de densidad para la teoría de Thomas-Fermi. Si a la Ecn. 18 se le aumenta la energía potencial electrostática y la interacción con un potencial w externo, se obtiene la energía total:

$$E(w, n) \approx \int \rho(r) t(n) d^3r + \int \int \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} d^3r d^3r' + \int \rho(r) w(r) d^3r \quad [22]$$

En 1964, la base teórica para la DFT fue dada por P. Hohenberg y W. Kohn quienes demostraron que la energía exacta del estado basal puede expresarse en términos de funcionales de la densidad; también, demostraron que la densidad del sistema minimiza el funcional⁴⁰. Años más tarde W. Kohn y L. Sham demostraron que el método variacional puede ser aplicado para resolver las ecuaciones de la DFT aplicadas a sistemas multielectrónicos⁴¹.

2.2.1 Hohenberg y Kohn

En un sistema de N partículas bajo un potencial externo w , existe un estado basal ψ no degenerado con una densidad correspondiente, $\rho(r)$. El funcional $F(\rho)$ se puede definir de la siguiente manera⁴⁰:

$$F(\rho) = \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle \quad [23]$$

Mientras que el funcional de energía de cualquier otra densidad $\rho'(r)$ es:

$$E_w(\rho') = F(\rho') + \int \rho'(r) w(r) d^3r \quad [24]$$

Se debe considerar que el objetivo es demostrar que el funcional E_w tiene el valor mínimo para la densidad del estado basal ρ correspondiente a w . Si se tiene una función de onda diferente, ψ' , la cual corresponde a un diferente potencial externo w' con una densidad ρ' , el funcional para ψ' sería:

$$E_w(\psi') = \langle \psi' | H | \psi' \rangle = \int \rho'(r) w(r) d^3r + \langle \psi' | \widehat{H} | \psi' \rangle \quad [25]$$

Se puede observar en la Ecn. 24 que ψ' tiene un valor más bajo de la función de onda en el estado basal ψ , por lo tanto:

$$E_w(\psi') = \langle \psi' | \widehat{T} + \widehat{U} | \psi' \rangle + \langle \psi' | \widehat{w} | \psi' \rangle = F(\rho') + \int \rho'(r) w(r) d^3r > E_w(\psi) = F(\rho) + \int \rho(r) w(r) d^3r \quad [26]$$

A partir de la Ecn. 26 se obtiene la siguiente desigualdad

$$E_w(\rho) < E_w(\rho') \quad [27]$$

Lo que demuestra el teorema de Hohenberg y Kohn⁴⁰, el mismo que indica que para estados basales no degenerados, dos potenciales diferentes no pueden tener asociada la misma densidad del estado basal, por lo tanto se puede definir a la energía del estado basal como un funcional de densidad, $E = E(\rho)$. Como conclusión adicional se puede indicar que la energía $E(\rho)$ toma su valor mínimo cuando $\rho(r)$ corresponde a la densidad del estado basal.

A pesar de que se han definido algunos términos importantes con respecto a la DFT, aún se requiere revisar el enfoque práctico propuesto por Kohn y Sham, quienes demostraron que la evaluación del funcional asociado a un sistema de varias partículas puede ser factorizado en varios problemas de una partícula⁴¹.

2.2.2 Método de Kohn-Sham

Kohn y Sham mostraron como convertir la evaluación del funcional en un problema de una partícula⁴¹. El teorema de Hohenberg-Kohn nos permite construir la teoría de varios-

cuerpos utilizando la densidad del electrón como fundamento. La energía del estado basal de un sistema atómico o molecular se puede describir de la siguiente manera:

$$E_o = \min_{\rho \rightarrow N} (F[\rho] + \int \rho(\vec{r}) V_{Ne} d\vec{r}) \quad [28]$$

donde el funcional universal, $F[\rho]$, contiene la contribución individual de la energía cinética, la interacción Coulombica, y los efectos de intercambio y correlación.

$$F[\rho(\vec{r})] = T[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{ncl}[\rho(\vec{r})] \quad [29]$$

De estos, solo se conoce $J[\rho]$.

Para entender como Kohn y Sham enfrentaron el problema, es necesario recordar el método de Hartree-Fock, donde la función se describe con una sola determinante de Slater construida con N espín orbital. A pesar de que la determinante de Slater en el método de Hartree-Fock es una aproximación de una función de onda de N -electrones, es posible observar que esta determinante también se puede definir como una función de onda exacta para un sistema no interactivo de N -electrones, moviéndose en una potencial efectivo, V_{HF} . Para este tipo de funciones de onda, la energía cinética se puede expresar como:

$$T_{HF} = -\frac{1}{2} \sum_i^N \langle \chi_i | \nabla^2 | \chi_i \rangle \quad [30]$$

El espín orbital, χ_i , está escogido para que el valor esperado de E_{HF} sea el mínimo

$$E_{HF} = \min_{\Phi_{SD} \rightarrow N} \langle \Phi_{SD} | \hat{T} + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee} | \Phi_{SD} \rangle \quad [31]$$

Hasta ahora se ha demostrado que las funciones de onda exactas de fermiones no-interactivos son determinantes de Slater. Por lo tanto, es posible construir un sistema

referencial no-interactivo con Hamiltonianos, donde se introduce un potencial local efectivo, $V_s(\vec{r})$:

$$\hat{H}_s = -\frac{1}{2}\sum_i^N \nabla_i^2 + \sum_i^N V_s(\vec{r}_i) \quad [32]$$

El estado basal de la función de onda está representado con la determinante de Slater:

$$\theta_{SD} = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{bmatrix} \varphi_1(\vec{x}_1) & \cdots & \varphi_N(\vec{x}_1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \varphi_1(\vec{x}_N) & \cdots & \varphi_N(\vec{x}_N) \end{bmatrix} \quad [33]$$

Donde los espines orbitales están determinados por:

$$\hat{f}^{KS} \varphi_i = \varepsilon_i \varphi_i \quad [34]$$

Con un operador de un electrón Kohn-Sham, \hat{f}^{KS} , definido como

$$\hat{f}^{KS} = -\frac{1}{2}\nabla^2 + V_s(\vec{r}) \quad [35]$$

La densidad se define como:

$$\rho_s(\vec{r}) = \sum_i^N \sum_s |\varphi_i(\vec{r}, s)|^2 = \rho_o(\vec{r}) \quad [36]$$

Kohn-Sham sugirieron utilizar la Ecn. 30 para obtener la energía cinética exacta de un sistema referencial no-interactivo,

$$T_S = -\frac{1}{2}\sum_i^N \langle \varphi_i | \nabla^2 | \varphi_i \rangle \quad [37]$$

Como la energía cinética no-interactiva no es igual a la energía cinética para un sistema interactivo, se consideró el funcional $F[\rho]$,

$$F[\rho(\vec{r})] = T_s[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{XC}[\rho(\vec{r})] \quad [38]$$

donde E_{XC} es la energía de intercambio-correlación,

$$E_{XC}[\rho] = (T[\rho] - T_s[\rho]) + (E_{ee}[\rho] - J[\rho]) = T_C[\rho] + E_{ncl}[\rho] \quad [39]$$

La expresión para la energía del sistema real se puede expresar como:

$$\begin{aligned} E[\rho(\vec{r})] &= T_s[\rho] + J[\rho] + E_{XC}[\rho] + E_{Ne}[\rho] \\ &= T_s[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_1)\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + E_{XC}[\rho] + \int V_{Ne}\rho(\vec{r})d\vec{r} = -\frac{1}{2}\sum_i^N \langle \varphi_i | \nabla^2 | \varphi_i \rangle + \\ &\frac{1}{2}\sum_i^N \sum_j^N \iint |\varphi_i(\vec{r}_1)|^2 \frac{1}{r_{12}} |\varphi_j(\vec{r}_2)|^2 d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + E_{XC}[\rho(\vec{r})] - \sum_i^N \int \sum_A^M \frac{Z_A}{r_{1A}} |\varphi_i(\vec{r}_1)|^2 d\vec{r}_1 \quad [40] \end{aligned}$$

Como se puede observar, el único termino no explicito es E_{XC} . Aplicando el principio variacional, se obtiene:

$$\left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + \left[\int \frac{\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_2 + V_{XC}(\vec{r}_1) - \int \sum_A^M \frac{Z_A}{r_{1A}} \right] \right) \varphi_i = \left(-\frac{1}{2}\nabla^2 + V_{eff}(\vec{r}_1) \right) \varphi_i = \varepsilon_i \varphi_i \quad [41]$$

donde

$$V_{XC} = \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho} \quad [42]$$

2.2.3 Funcionales

El análisis de las propiedades de las funciones de modelo agujero a partir de los cuales emergen los funcionales de intercambio-correlación son herramientas esenciales para evaluar la idoneidad de dichos funcionales. El funcional de intercambio-correlación para el modelo agujero tiene dos componente, hueco de Fermi y hueco de Coulomb. El hueco de

Fermi se define como una cantidad no positiva que contiene exactamente una carga elemental. Por otra parte, el hueco de Coulomb puede ser integrado a cero o puede ser negativo, así como positivo⁴².

La mayoría de funcionales de intercambio-correlación se basan en una idea hipotética de un gas de electrones uniformes. En este sistema los electrones se mueven sobre una superficie cargada positivamente, de tal manera que el conjunto total sea eléctricamente neutro. En este modelo se considera que el número de electrones y el volumen de gas se acercan al infinito mientras que la densidad electrónica alcanza a una constante⁴².

En este modelo se escribe E_{XC} como:

$$E_{XC}^{LDA}[\rho] = \int \rho(\vec{r}) \varepsilon_{XC}(\rho(\vec{r})) d\vec{r} \quad [43]$$

Donde $\varepsilon_{XC}(\rho(\vec{r}))$ es la energía de intercambio-correlación de cada partícula y $\rho(\vec{r})$ la densidad. Este modelo describe el funcional LDA, la densidad aproximada local. La cantidad de $\varepsilon_{XC}(\rho(\vec{r}))$ se puede dividir en dos partes, la contribución del intercambio y la contribución de la correlación⁴²:

$$\varepsilon_{XC}(\rho(\vec{r})) = \varepsilon_X(\rho(\vec{r})) + \varepsilon_C(\rho(\vec{r})) \quad [44]$$

El funcional LDA es ineficiente para la mayoría de aplicaciones químicas, por lo tanto, se utiliza la aproximación del gradiente de expansión. Esta aproximación utiliza el gradiente de la densidad, $\nabla\rho(\vec{r})$, con el fin de considerar la falta de homogeneidad: ^{32a}

$$E_{XC}^{GGA}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int \rho \varepsilon_{XC}(\rho_\alpha, \rho_\beta) d\vec{r} + \sum_{\sigma, \sigma'} \int C_{XC}^{\sigma, \sigma'}(\rho_\alpha, \rho_\beta) \frac{\nabla \rho_\sigma}{\rho_\sigma^{2/3}} \frac{\nabla \rho_{\sigma'}}{\rho_{\sigma'}^{2/3}} d\vec{r} + \dots \quad [45]$$

Esta forma del funcional se conoce como la aproximación del gradiente de expansión y se aplica a sistemas en el cual la densidad no es uniforme pero varía lentamente. Para solucionar este problema, se utiliza la aproximación del gradiente generalizado:

$$E_{XC}^{GGA}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int f(\rho_\alpha, \rho_\beta, \nabla \rho_\alpha, \nabla \rho_\beta) d\vec{r} \quad [46]$$

En general, las contribuciones del intercambio son significativamente más grandes en términos absolutos que los efectos de correlación correspondiente, por esta razón, se necesita una expresión exacta para obtener un resultado significativo de DFT. Se puede obtener⁴²:

$$E_{XC} = \int_0^1 E_{ncl}^\lambda d\lambda \quad [47]$$

Utilizando la Ecn. 47, se puede obtener funcionales híbridos, como B3LYP. La expresión para la energía de intercambio-correlación de B3LYP es:

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1 - a)E_X^{LSD} + aE_X^{\lambda=0} + bE_X^{B88} + cE_C^{LYD} + (1 - c)E_C^{LSD} \quad [48]$$

2.3 Propiedades electrónicas

A partir de los orbitales de Kohn-Sham se pueden determinar algunas propiedades electrónicas importantes para un sistema multielectrónico. A continuación se revisan algunas de estas propiedades:

2.3.1 Densidad Electrónica

La densidad electrónica se define como la integral sobre las coordenadas de espín de todos los electrones y sobre toda excepto una de las variables del espacio³⁷:

$$\rho(r) = N \int \dots \int |\Psi(x_1, x_2 \dots x_N)|^2 ds_1 dx_2 \dots dx_N \quad [49]$$

Con esta ecuación se puede determinar la probabilidad de encontrar el electrón N dentro de un espacio finito.

2.3.2 Densidad de espín

La densidad de espín es la densidad de electrones desapareados en una región determinada de un radical. Para un sistema de capa cerrada, la densidad de espín es cero en todas partes. En un sistema de capa abierta, por otro lado, existen probabilidades diferentes de los electrones alfa y de los beta.

$$\rho'(r) = \rho^\alpha(r) - \rho^\beta(r) \quad [50]$$

Como se observa en la ecuación anterior, la densidad de espín se puede definir como exceso de probabilidad de encontrar electrones con espín α respecto de los espines β ⁴³.

2.3.3 Potencial Electrostático

El potencial electrostático se define en función de las cargas nucleares, la posición de los núcleos, y la densidad de carga electrónica respecto de una carga puntual positiva ubicada a una distancia^{32a}.

$$V(r) = \sum_i \frac{Z_i}{|r-R_i|} - \int \frac{\rho(r')}{|r-r'|} dr' \quad [51]$$

2.3.4 Orbitales HOMO y LUMO

La teoría de orbitales frontera, TOF, permite la obtención de información valiosa con relación a la reactividad de compuestos y los mecanismos de reacción a partir del análisis de los orbitales moleculares de un sistema. Todas las especies químicas tienen orbitales periféricos que pueden considerarse como determinantes de sus propiedades químicas. Los orbitales HOMO y LUMO (i.e., orbital ocupado de más alta energía y orbital desocupado de más baja energía, respectivamente) son dos ejemplos representativos. Estos orbitales son aquellos que interactúan con los orbitales de otra especie durante el curso de la reacción. El tipo de interacción y sus consecuencias dependen principalmente de la naturaleza de dichos orbitales. Es necesario conocer la densidad de espín para calcular el HOMO y LUMO, utilizando métodos DFT.

Capítulo 3

Descripción de Métodos y Modelos

3.1 Descripción Teórica del Sulfonato de Perfluorooctano PFOS

3.1.1 Construcción del modelo del PFOS

La forma aniónica del PFOS lineal y sus isómeros fue generada a partir de las estructuras previamente optimizadas al nivel B3LYP/6-311G(d,p) del n-octano y sus isómeros metil ramificados³, añadiendo el grupo terminal SO_3^- a dichas estructuras preliminares y reemplazando todos átomos de hidrógeno con átomos de flúor. Posterior a su construcción, todos los modelos generados fueron optimizadas con el programa Gaussian09 sin considerar restricciones de simetría y utilizando como nivel de teoría B3LYP/6-31++G(d,p). El funcional B3LYP ha demostrado reproducir de forma adecuada las propiedades estructurales de compuestos orgánicos perfluorinados⁴⁴. Adicional a esto, el uso de funciones base que contienen funciones difusas se justifica observando el carácter altamente electronegativo de los átomos de fluor y la fuerte interacción que existe entre estos átomos. Una vez obtenidas las estructuras óptimas de PFOS lineal y sus isómeros estructurales, los orbitales HOMO y LUMO (i.e., orbital molecular ocupado de mayor energía y orbital molecular no ocupado de menor energía, respectivamente) fueron calculados a partir de la función de onda de cada sistema. Los orbitales HOMO y LUMO calculados fueron visualizados con el programa Gauss View⁴⁵.

3.1.2 Simulación del ataque nucleofílico al PFOS

Para entender el rol de la Vitamina B₁₂ en la defluorinación reductiva del PFOS, primero se debe identificar el mecanismo de reacción más favorable para la ruptura de enlaces C-F pertenecientes al contaminante. Es importante mencionar que esto representa un reto para los métodos de simulación mecánico cuántico debido a que los mismos se basan en modelos

estáticos^{45b}. Sin embargo, información relevante acerca del mecanismo se puede obtener considerando el ataque nucleofílico del PFOS lineal y sus isómeros estructurales con agentes pequeños. Con el objetivo de determinar si la ruptura de los enlaces C-F en PFOS involucra un mecanismo homolítico o heterolítico, se consideraron como agentes nucleofílicos tanto al anión hidróxido HO^- como al radical libre $\text{HO}\cdot$, cuyo ataque al PFOS produce, en un proceso concertado, la salida de los grupos F_3C^- y $\text{F}_3\text{C}\cdot$, respectivamente. Para la simulación de esta reacción se consideraron 32 pasos de los cuales en el paso inicial, el nucleófilo se encuentra a 5 Å del carbono del PFOS unido al grupo saliente como se observa en la Figura 7a. En los siguientes 15 pasos, el agente nucleófilo se acerca a la molécula del PFOS a razón de 0.3125 Å/paso mientras que el grupo saliente del carbono terciario se aleja exactamente la misma distancia cada paso. A partir del paso 16 (Figura 7b), se simula la rotación del grupo entrante hasta su posición óptima que se alcanza en el paso 32 (Figura 7c). Para realizar el perfil de energía del ataque nucleofílico de PFOS con los grupos HO^- y $\text{HO}\cdot$, se calculó la energía electrónica de cada uno de los 32 pasos empleando el nivel de teoría B3LYP/6-31++G(d,p). Se debe mencionar que para todos los cálculos se consideró que el sistema es de capa abierta, lo cual es necesario considerando la existencia de electrones desapareados en el proceso. Finalmente, se debe comentar que este procedimiento se aplicó para PFOS lineal y sus isómeros 3-CF₃-, 4-CF₃-, 5-CF₃- y 6-CF₃-PFOS (i.e., isómeros susceptibles a dehalogenación reductiva).

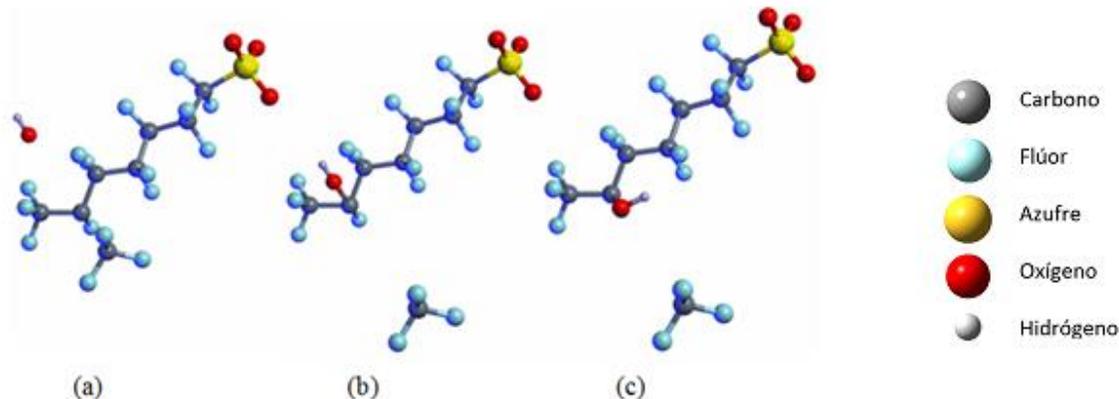


Figura 7: Paso inicial (a), paso 16 (b) y paso final (c) del ataque nucleofílico al isómero 6-CF₃-PFOS

3.2 Descripción Teórica del Complejo Vitamina B₁₂

Para la generación del modelo de la Cob[n]alamina, constituyente fundamental del complejo Vitamina B₁₂, se empleó como punto de partida la estructura reportada por Jensen y colaboradores en un estudio teórico previo acercado de las propiedades electrónicas de esta macromolécula (Figura 8)³⁰. Es importante notar que este modelo resulta ser sumamente simplificado si es comparado con la estructura de la macromolécula real que se muestra en la Figura 5 (ver Capítulo 1). Por esta razón, en el presente estudio, el modelo de Jensen y colaboradores fue complementado añadiendo grupos metilo terminales en lugar de los grupos H₂NOC presentes en el borde externo del anillo corrín de la molécula real, así como una molécula de NH₃ en la posición de coordinación axial inferior del átomo de cobalto que simula la presencia del grupo 5,6 dimetilbenzimidazolo vinculada, a su vez, a una ribosa 3-fosfato, que se une al metal mediante un enlace covalente intramolecular.

Todas las modificaciones necesarias para la construcción del modelo de la Cob[n]alamina empleado en el presente estudio fueron realizadas con el programa MolDraw⁴⁶

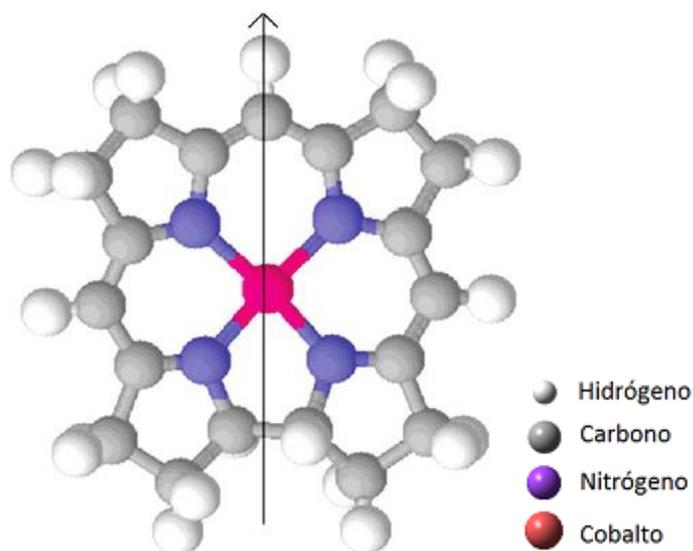


Figura 8: Estructura de Cob[1]alamina reportada por Jensen³⁰

Considerando el número de oxidación variable (i.e., +1, +2, +3) del átomo de cobalto y la presencia o ausencia de la molécula de NH_3 que ocupa la posición de coordinación axial inferior del metal (i.e., casos *base-on* y *base-off*) se definieron seis posibles modelos para la Cob[n]alamina: Cob[I]alamina-*base-on*, Cob[I]alamina-*base-off*, Cob[II]alamina-*base-on*, Cob[II]alamina-*base-off*, Cob[III]alamina-*base-on* y Cob[III]alamina-*base-off*.

Como paso inicial para la descripción teórica de la Cob[n]alamina, se llevó a cabo la optimización geométrica de los seis modelos indicados anteriormente con el programa Gaussian09 utilizando el nivel de teoría B3LYP/6-31+G(d,p). Para todos los cálculos se consideró que los sistemas son de capa abierta debido a los electrones desapareados

pertenecientes al átomo de cobalto central. Es importante mencionar que el programa Gaussian09 no permite modificar directamente el número de electrones de una molécula, por lo que para cada uno de los seis modelos descritos anteriormente el número de oxidación del cobalto se define a través de la carga total y la multiplicidad de cada sistema. Para calcular la carga total en una Cob[n]alamina se debe considerar que el anillo corrín posee una carga de 1-, por lo que en el caso específico de la Cob[I]alamina la carga total es cero. Por otro lado, para calcular la multiplicidad se utiliza la regla de máxima multiplicidad de Hund, la cual establece que la distribución electrónica más estable en los subniveles es la que tiene el mayor número de espines paralelos ⁴⁷. A partir de esta distribución se puede determinar los electrones desapareados en los subniveles para así poder calcular el espín total. Una vez que se tiene el espín total (S), la multiplicidad se utiliza la siguiente ecuación:

$$2S + 1 = M \quad [52]$$

En la Figura 9 se pueden apreciar las configuraciones electrónicas correspondientes a los tres estados de oxidación del cobalto. Estas configuraciones fueron utilizadas para calcular la multiplicidad, de forma simplificada, de las diferentes Cob[n]alaminas. En la Tabla 2 se resume los valores de la carga total y la multiplicidad para los diferentes modelos de la Cob[n]alamina considerados en el presente estudio. Se debe observar que para calcular la multiplicidad del cobalto no se consideró el efecto Jahn-Teller, lo cual predice que el sistema de un compuesto coordinado experimentara una distorsión, de forma que algunos de estos niveles se estabilizaran y otros se desestabilizaran.

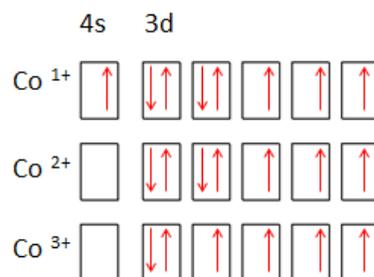


Figura 9: Configuraciones electrónicas de los estados de oxidación del cobalto par el caso “Open Shell”

Tabla 2: Carga y multiplicidad utilizada en cada sistema

Sistemas	Carga	Multiplicidad Original
Cob[I]alamina	0	5
Cob[II]alamina	1	4
Cob[III]alamina	2	5

Una vez obtenida las estructuras óptimas de cada modelo de la Cob[n]alamina, se procedió a realizar cálculos de energía de los seis sistemas utilizando el nivel de teoría a B3LYP/6-31+G(d,p). Con las funciones de onda resultantes, mapas de densidad electrónica y de potencial electrostático además de los orbitales HOMO y LUMO fueron calculados empleando el módulo *cubegen* de Gaussian 09. Los resultados de estos cálculos fueron visualizados en GaussView5^{45a}.

3.3 Descripción Teórica del complejo Cobalamina---PFBS

El objetivo principal del presente estudio es describir de forma teórica la interacción entre varias Cob[n]alaminas y PFOS para obtener información acerca del rol de esta macromolécula en la descomposición del compuesto perfluorinado. Sin embargo, es necesario considerar que la simulación mecánico cuántica del complejo Cob[n]alamina/PFOS representa un esfuerzo computacional enorme por la cantidad de átomos presentes en el modelo (i.e., 119 átomos). Debido a esto, el sulfonato de perflurobutano (PFBS) fue empleado en lugar de PFOS para esta fase del presente trabajo. El empleo de PFBS para la descripción del complejo con Cob[n]alaminas se justifica al considerar que se ha determinado que PFBS posee propiedades estructurales y electrónicas similares a PFOS, es decir que por un lado se sabe que existen isómeros estructurales estables del PFBS (i.e., 1CF₃- y 2CF₃-PFBS, Figura 10) y por otro lado se ha calculado que el orbital LUMO de los isómeros estructurales del PFBS es prominente y localizado lo que explicaría su mayor reactividad en comparación al PFBS lineal, cuyo LUMO es deslocalizado³ (Figura 11). Para la construcción de los modelos correspondientes al PFBS lineal y sus isómeros, se empleó como punto de partida la estructura optimizada de PFOS lineal la cual fue modificada con el programa MOLDRAW para generar los modelos deseados. Posterior a la construcción de los modelos del PFBS lineal y sus isómeros, todos los sistemas fueron optimizados con el programa Gaussian09 usando el nivel de teoría B3LYP/6-31+G(d,p).

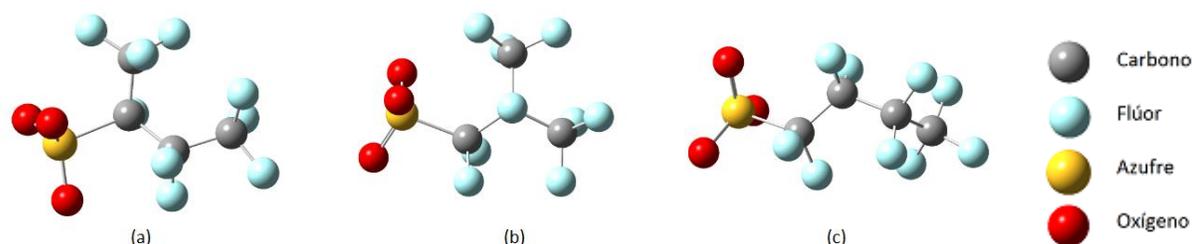


Figura 10: Isómeros estructurales del PFBS

3.3.1 Identificación de sitios de adsorción en las Cob[n]alaminas

En un trabajo teórico reportado por Jensen y colaboradores³⁰, se ha descrito a las Cob[n]alaminas como agentes super-nucleofílicos. Esta característica obedece al hecho de que dependiendo del estado de oxidación del átomo de cobalto y del número de enlaces coordinados que tiene este metal, las Cob[n]alaminas poseen un orbital HOMO prominente y localizado. Recordando que los isómeros estructurales del PFBS poseen orbitales LUMO localizados, es lógico sugerir que en los complejos Cob[n]alaminas/PFBS existe una interacción HOMO-LUMO favorable entre sus componentes. Considerando esto, los sitios de adsorción importantes en las Cob[n]alaminas se pueden identificar analizando la localización del orbital HOMO en cada sistema.

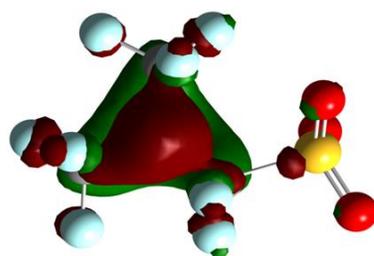


Figura 11: Orbitales LUMO de 2-CF₃-PFBS

Para la construcción de los complejos Cob[n]alamina/PFBS se agregó una molécula del compuesto perfluorinado a una distancia de 5 Å sobre cada sitio de adsorción identificado en las Cob[n]alaminas. Como resultado, se obtuvieron cinco complejos diferentes, los mismos que fueron optimizados con el programa Gaussian09 empleando el funcional B3LYP. Con respecto a las funciones bases empleadas para la optimización de los complejos Cob[n]alamina/PFBS se debe mencionar que el conjunto de funciones base fue incrementado sistemáticamente en el siguiente orden: 6-31G, 6-31+G y 6-31+G(d,p). Esta estrategia fue adoptada para facilitar la determinación de la estructura de equilibrio. Al analizar la estructura de equilibrio de los complejos Cob[n]alamina/PFBS se pudieron identificar posibles estados de transición para la dehalogenación reductiva del PFBS. La geometría más estable de los estados de transición identificados fue refinada empleando el método QST3 implementado en Gaussian09. Finalmente, considerando las energías de los reactivos, estado de transición y productos, se calcularon energías de activación para la dehalogenación reductiva de PFBS en los diferentes complejos Cob[n]alamina/PFBS investigados.

Capítulo 4

Resultados y Discusión

4.1 Simulación del ataque nucleofílico al PFOS

Siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo 3, se simuló el ataque nucleofílico al isómero 6-CF₃-PFOS (i.e., isómero más susceptible a dehalogenación reductiva ^{3, 23a}) tanto con el ion hidróxido HO⁻ como con el radical libre HO•. Los perfiles de energía obtenidos para cada reacción se muestran en la Figura 12. Como se puede observar, ambos perfiles de energía para 6-CF₃-PFOS indica que existen dos estados de transición en la reacción del ataque nucleofílico; el primer estado de transición sucede en el paso 14, mientras que el segundo en el paso 22. En el perfil de energía se puede comparar la energía de activación entre las dos reacciones y se puede observar que la adición de un radical libre requiere menos energía que la adición de un ion ($\Delta E=57.5$ kJ/mol). Por esta razón, es más probable que 6-CF₃-PFOS sea susceptible a una dehalogenación reductiva vía radicales libres (i.e., mecanismo homolítico). Debido a que, la única diferencia entre las dos reacciones es un electrón adicional en el grupo HO-, es posible que la diferencia de energía se dé por las diferentes interacciones intermoleculares que ocurren en la reacción. En el caso del ataque con el grupo OH-, se esperan interacciones fuertemente repulsivas del tipo ion-dipolo debido a la presencia de los átomos electronegativos de fluor que componen la molécula de PFOS

Considerando que para el 6-CF₃-PFOS se determinó que la ruta más probable de reacción involucra la ruptura homolítica de enlaces C-F, para el ataque nucleofílico de PFOS lineal se empleó únicamente al radical OH• como agente nucleofílico. En la Figura 13 se muestra el perfil de energía para la reacción entre PFOS lineal y el radical OH•, en donde se incluye el perfil energético de la reacción entre 6-CF₃-PFOS y el radical OH•

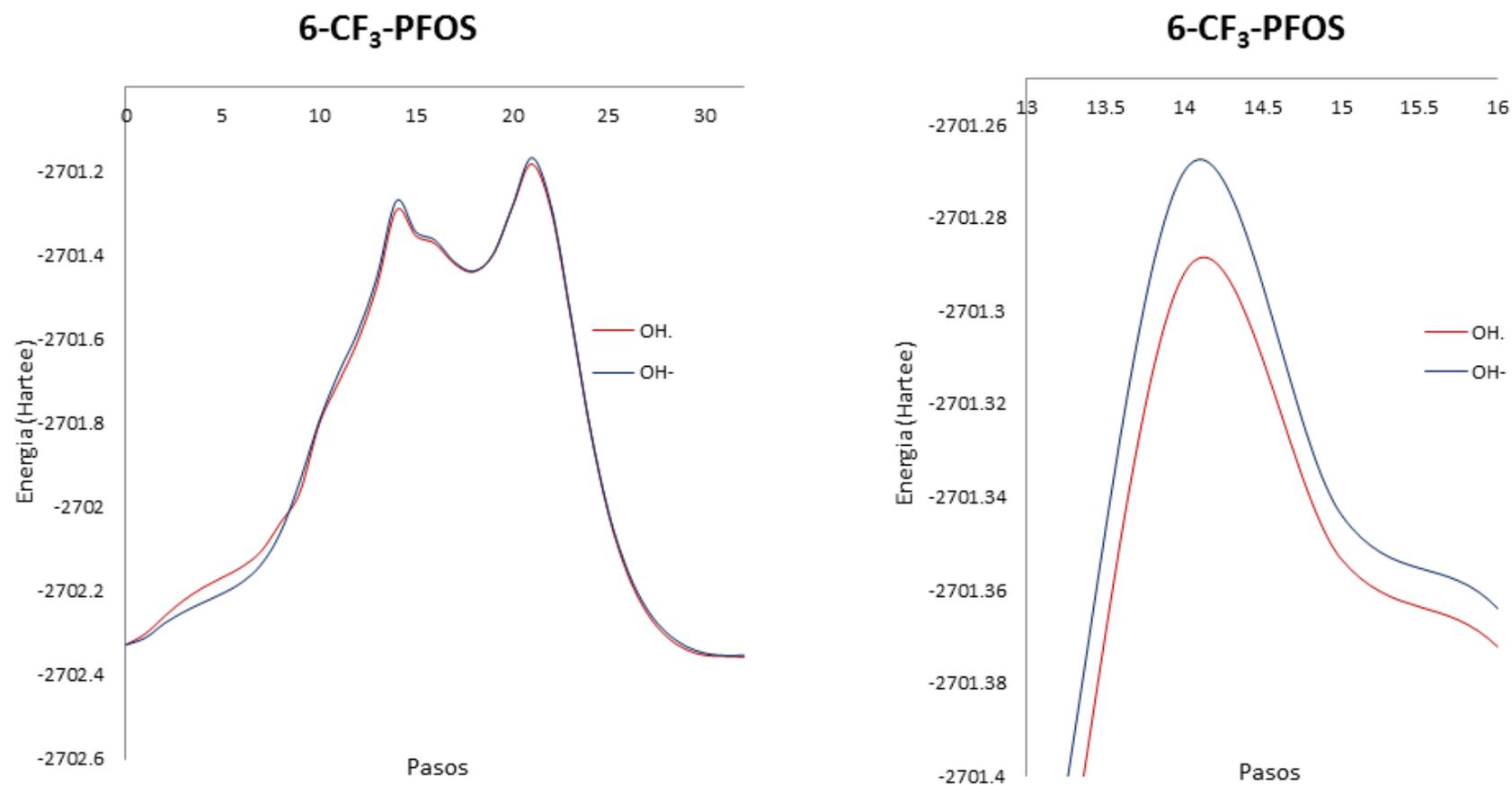


Figura 12: (Izquierda) Perfiles de energía correspondientes al ataque nucleofílico de 6CF₃-PFOS con los grupos HO⁻ y HO•. (Derecha) Énfasis de la zona del perfil de energía en donde se encuentra el estado de transición.

Perfiles de energía para la reacción de PFOS Lineal y el isómero 6-CF₃-PFOS con radical HO•

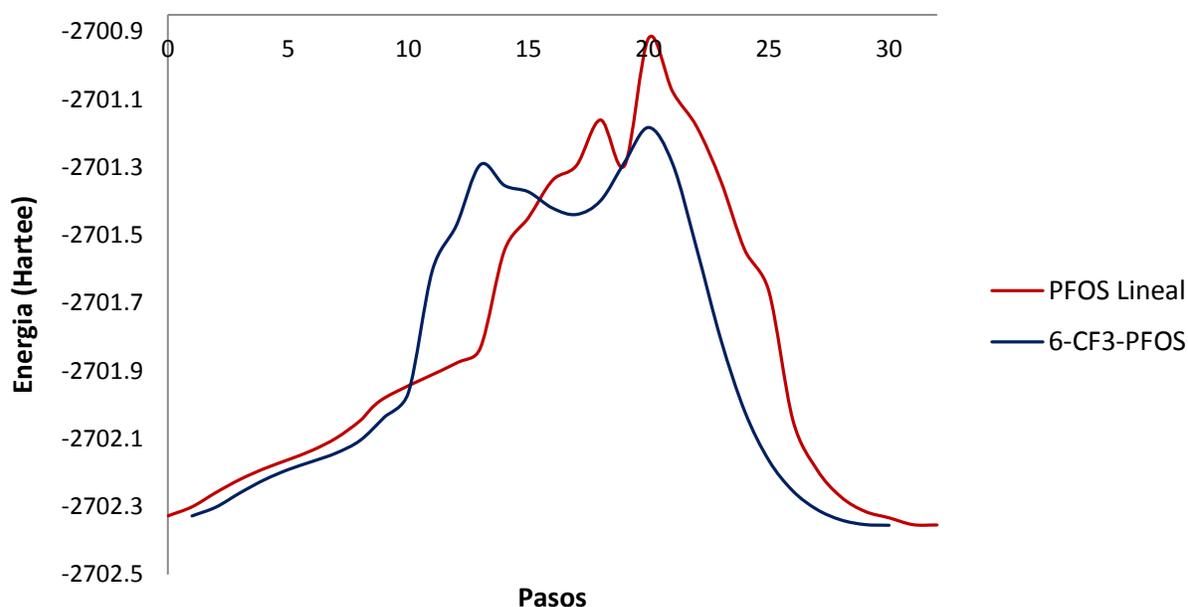


Figura 13: Perfiles de energía para la reacción de PFOS Lineal y el isómero 6-CF₃-PFOS con radical HO•

Como se aprecia en la Figura 13, para PFOS lineal, se puede observar solamente un pico de energía máxima, mientras que para 6-CF₃-PFOS se observan dos picos. Esto puede explicar la disminución de la energía de activación de 6-CF₃-PFOS en comparación con la energía de activación del PFOS lineal, la misma que es 3698.7 kJ/mol lo cual sugiere que la reacción de 6-CF₃-PFOS con HO• es más favorable energéticamente que la de PFOS lineal. Esta observación en particular concuerda con los datos experimentales de Ochoa-Herrera que muestran que únicamente ciertos isómeros de PFOS son susceptibles a la dehalogenación reductiva: 6-CF₃- > 5-CF₃- > 4-CF₃- > 3-CF₃-PFOS. Adicionalmente, la diferencia de energía confirma que la localización del LUMO en el 6-CF₃-PFOS es un factor determinante en su degradación.

Tabla 3: Energías obtenidas en la simulación del ataque nucleofílico de PFOS lineal y sus isómeros estructurales con el radical HO•

	Paso Inicial (Hartree)	Paso Final (Hartree)	Energía Máxima (Hartree)	Energía de Activación (Hartree)	Energía de Activación (kJ/mol)
PFOS Lineal	-2,702.3275	-2,702.3544	-2,700.9187	1.4087	3,698.6537
3-CF ₃ -PFOS	-2,702.3237	-2,702.3565	-2,701.2845	1.0391	2,728.2515
4-CF ₃ -PFOS	-2,702.3226	-2,702.3508	-2,701.2916	1.0310	2,706.9768
5-CF ₃ -PFOS	-2,702.3240	-2,702.3494	-2,701.2443	1.0797	2,834.8321
6-CF ₃ -PFOS	-2,702.3277	-2,702.3567	-2,701.2920	1.0357	2,719.2804

Las energías de activación calculadas siguiendo el mismo procedimiento para la reacción de 3-CF₃-, 4-CF₃-, y 5-CF₃-PFOS con radical HO• como agente nucleofilo se resumen en la Tabla 3. Es importante mencionar que se esperaría un orden creciente en la energía de activación como sugieren los datos experimentales^{3, 23a, 48}, sin embargo, como se puede observar, las energías de activación de 3-CF₃-PFOS y 4-CF₃-PFOS no siguen la tendencia de susceptibilidad a degradación sugerida experimentalmente. Esta observación se puede explicar considerando que en el presente estudio, se simuló al ataque nucleofílico de PFOS como un proceso dinámico empleando métodos de simulación que se basan en modelos estáticos. Es esperado que este hecho en particular conduzca a errores al momento de elegir la dirección del ataque nucleofílico ya que no es posible asegurar que la dirección escogida para la simulación del ataque nucleofílico sea la más adecuada para todos los sistemas. Sin embargo, se debe resaltar el hecho de que las energías de activación para los radicales son todas menores a la energía de activación de PFOS lineal lo que concuerdan con la hipótesis inicial, en la cual se estipula, que los ataques

reductores a compuestos halogenados ocurren mediante intermediarios radicales y sobre carbonos terciarios^{23a, 50}. A modo de comentario final, se puede mencionar que para describir el proceso de forma más adecuada, es necesario utilizar métodos de dinámica molecular⁴⁹ los mismos que no han sido considerados en el presente trabajo de investigación.

Se debe también observar que las energías de activación elevadas sugieren que la Cob[n]alamina desempeña un papel fundamental en la dehalogenación reductiva de PFOS al estabilizar el estado de transición. En la siguiente sección se presentan resultados que indican que la Cob[n]alamina participa de forma relevante en la degradación de contaminantes perfluorinados.

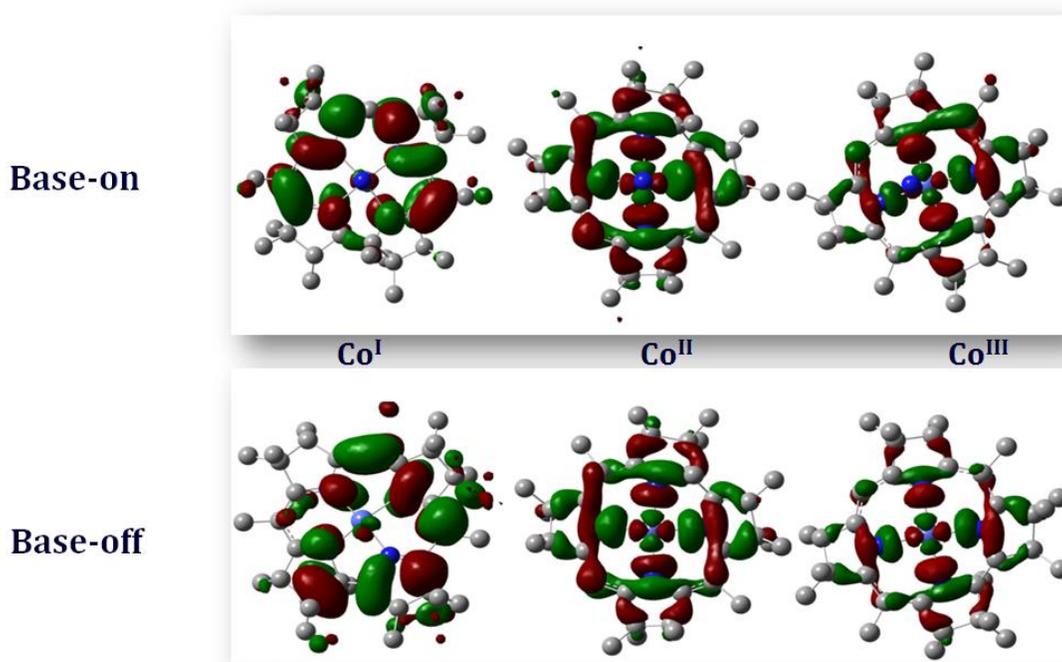


Figura 14: Orbital HOMO calculado para los seis modelos de la Cob[n]alamina

4.2 Simulación del Complejo Vitamina B₁₂

Para determinar el rol de la Cob[n]alamina en la dehalogenación reductiva, es necesario describir el complejo que forma con el contaminante. Como fue mencionado en el capítulo anterior, varios sitios de adsorción pueden ser identificados analizando el orbital HOMO de las diferentes Cob[n]alaminas. En la Figura 14 se muestra el orbital HOMO para las Cob[n]alaminas consideradas en el presente estudio.

Tanto la Cob[I]alamina-*base-on* como la Cob[I]alamina-*base-off* poseen el orbital HOMO más localizado y prominente. Comparando ambos sistemas, se puede definir que la Cob[I]alamina-*base-off* posee el ambiente más adecuado (i.e., HOMO más prominente) para la adsorción del PFBS por lo cual fue elegida para esta fase del estudio.

4.2.1 Descripción de los diferentes sitios de adsorción identificados

En la Figura 14 se puede observar los diferentes sitios de adsorción identificados para las diferentes Cob[I]alamina-*base-off* considerada en el presente estudio. Los sitios de adsorción identificados fueron nombrados con las letras: α , β , γ , δ y ϵ (Figura 15).

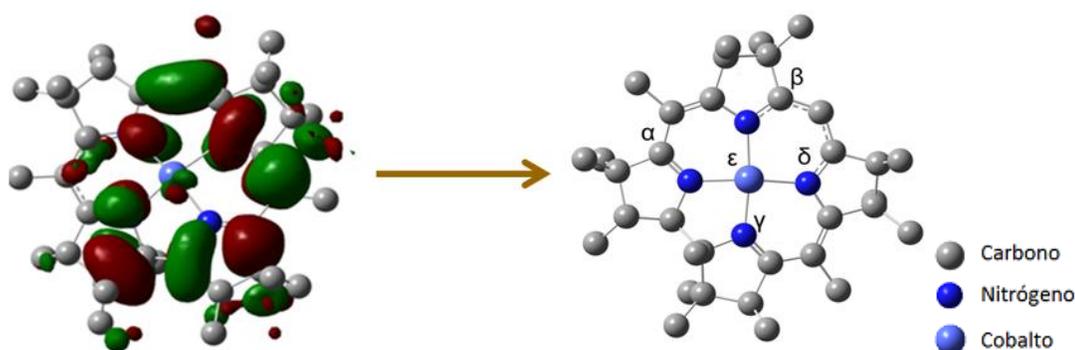


Figura 15: Sitios de adsorción definidos en función de los lóbulos del orbital HOMO de la Cob[I]alamina-base-off

Después de optimizar los diferentes compuestos: α -Cob[1]alamina-base-off/PFBS, β -Cob[1]alamina-base-off/PFBS, γ -Cob[1]alamina-base-off/PFBS, δ -Cob[1]alamina-base-off/PFBS, y ϵ -Cob[1]alamina-base-off/PFBS, se observó que en los complejos β , δ y ϵ ocurre la degradación de PFBS (ver Figura 16). En los otros sitios de adsorción no se observó degradación de PFBS, por lo tanto no se consideraron para la siguiente fase en la cual se optimizaron los estados de transición identificados para posteriormente obtener las energías de activación de las diferentes reacciones.

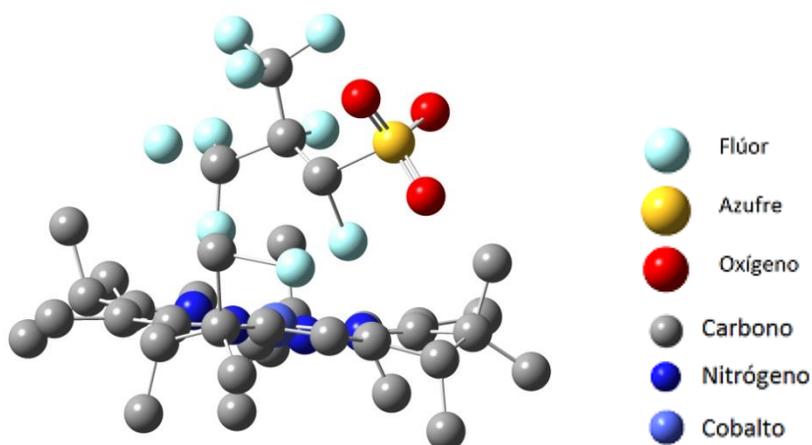


Figura 16: Estado de transición para ϵ -Cob[1]alamina-base-off/PFBS

4.3 Determinación del mecanismo de descomposición de PFBS adsorbido

Como se comentó en el Capítulo 1, se conoce que el mecanismo de reacción en la que participa una Cob[n]alamina depende significativamente del sustrato adsorbido sobre la macromolécula. Para sustratos con carácter electro-donador, se ha determinado que la reacción que ocurre es a través de la ruptura heterolítica de enlaces; mientras que para sustratos con carácter electro-aceptor, la reacción ocurre mediante ruptura homolítica de enlaces. Considerando los datos obtenidos en la sección anterior y el hecho de que el 2-CF₃-PFBS es un sistema aceptor de

electrones (i.e., LUMO localizado) es apropiado sugerir que un mecanismo homolítico es esperado para la reacción entre PFBS y la Cob[I]alamina-*base-off*. Observado esto, los estados de transición en los que se consideran radicales libres fueron propuestos para los tres complejos en los que se observa la descomposición (i.e. β , δ y ϵ).

En el cálculo de optimización se pudo observar que en la posición ϵ , PFBS transfieren un átomo de flúor del carbono terciario el cual se enlaza al átomo de cobalto de la Cob[I]alamina. Para encontrar el perfil de energía, fue necesario optimizar el PFBS sin el átomo de flúor y la Cob[I]alamina con el átomo flúor adicional. Para estos cálculos la carga de cada especie fue determinada utilizando la población de Mulliken, lo cual determina la carga parcial de cada átomo. En el caso de la posición ϵ , la población de Mulliken indicó que la carga de la Cob[I]alamina-F es de -0.045821, lo cual se puede aproximar a 0 y la carga del PFBS sin un flúor es de -0.954179, lo cual se puede aproximar a -1. Utilizando estos datos se pudo optimizar las nuevas estructuras para obtener la energía de Cob[I]alamina-F y de PFBS sin el átomo de flúor. En la Figura 17 se puede observar la reacción del complejo ϵ -Cob[I]alamina-*base-off*/PFBS y en la Figura 18 se puede observar el perfil de energía.

Es importante notar que la energía de activación determinada para la defluorinación reductiva de PFBS en presencia de Cob[I]alamina (434.2 kJ/mol) se puede comparar con la energía de enlace de C-F que es de 490 kJ/mol. Esto indica que la presencia de la Cob[n]alamina permite que el proceso sea favorable en condiciones cercanas a las estándar.

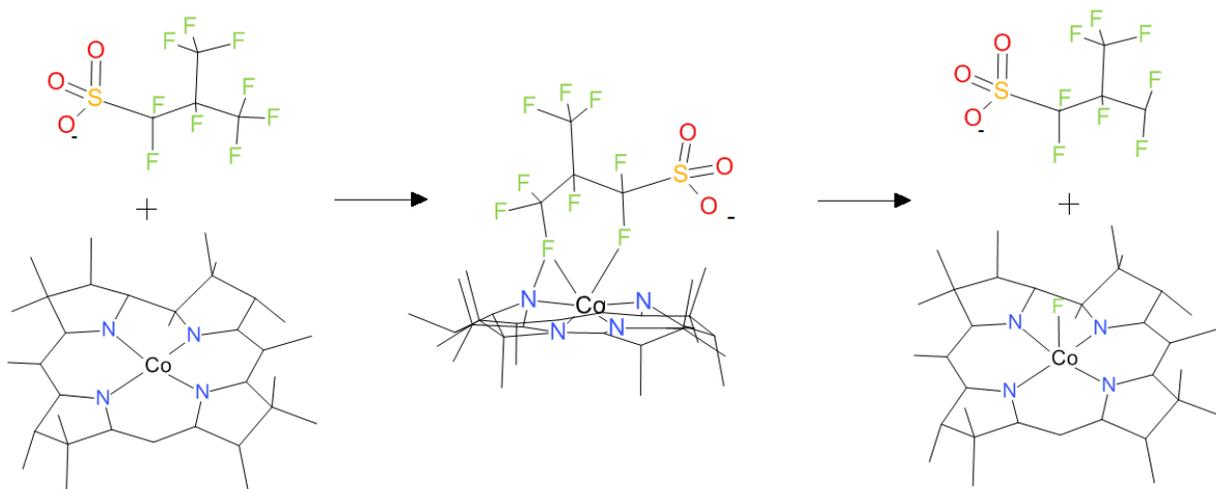


Figura 17: Perfil de energía para el mecanismo del complejo ϵ -Cob[1]alamin-base-off/PFBS

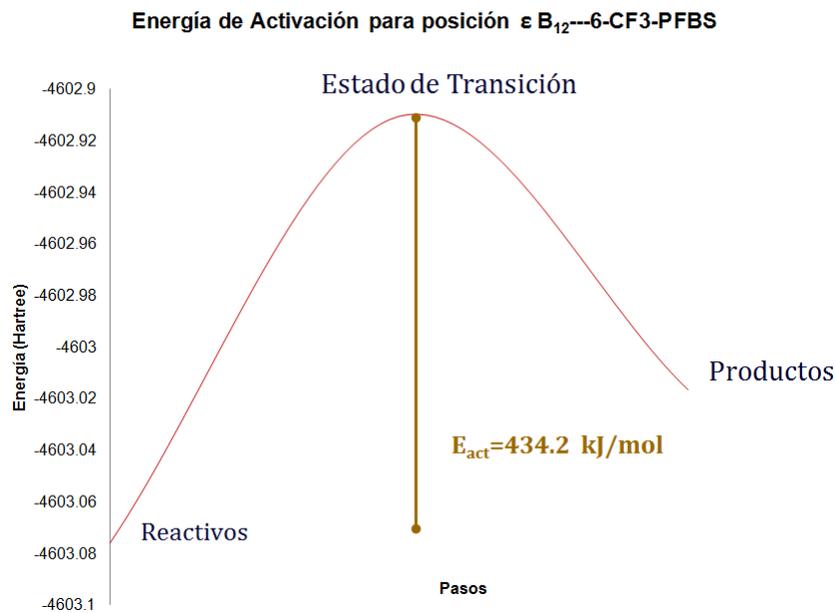


Figura 18: Energía de Activación para el complejo ϵ -Cob[1]alamin-base-off/PFBS

Capítulo 5

Conclusiones

Las propiedades de PFOS lineal y sus isómeros, PFBS y sus isómeros y Cob[n]alaminas (Co^{I} , Co^{II} , Co^{III} , *base-on*, *base-off*) fueron estudiadas teóricamente empleando los programas Gaussian09, Moldraw, GaussView05. Todos los cálculos fueron llevados a cabo usando los funcionales B3LYP y UB3LYP conjuntamente a los de funciones base 6-31G+(d, p).

Como un paso preliminar al estudio para entender el rol de la Vitamina B₁₂ en la defluorinación reductiva de PFOS, se ha logrado describir de forma teórica utilizando cálculos DFT el mecanismo de la defluorinación reductiva de PFOS. De acuerdo a los resultados se puede observar que la defluorinación reductiva de 6-CF₃-PFOS (el isómero con el LUMO más prominente) ocurre probablemente vía radicales libres, es decir a través de rupturas homolíticas de enlaces.

Mediante cálculos DFT también se calcularon las propiedades electrónicas de las diferentes Cob[n]alaminas. De acuerdo a los resultados de estas propiedades se pudo determinar que la Cob[I]alamina *base-off* posee el HOMO más prominente lo cual permite la formación de un complejo Contaminante/Vitamina B₁₂ estabilizado por las interacciones HOMO/LUMO favorables.

Mediante la inspección del HOMO de Cob [I]alamina *base-off* se identificaron cinco sitios de adsorción para el PFBS, el cual fue utilizado como modelo para estudiar el proceso de defluorinación. Se observó que solo tres de los cinco sitios que interactúan favorablemente con el compuesto producen la defluorinación del contaminante. Utilizando estos tres sitios de adsorción, se pudo determinar un posible estado de transición estable y se encontró que la energía de activación de la reacción entre el complejo PFBS/Cob[I]alamina (434.2 kJ/mol) se aproxima a la ruptura de un enlace C-F (490 kJ/mol).

Referencias

1. Hori, H.; Nagaoka, Y.; Yamamoto, A.; Sano, T.; Yamashita, N.; Taniyasu, S.; Kutsuna, S.; Osaka, I.; Arakawa, R., Efficient Decomposition of Environmentally Persistent Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals Using Zerovalent Iron in Subcritical Water. *Environmental Science & Technology* **2006**, *40* (3), 1049-1054.
2. Carter, K. E.; Farrell, J., Oxidative Destruction of Perfluorooctane Sulfonate Using Boron-Doped Diamond Film Electrodes. *Environmental Science & Technology* **2008**, *42* (16), 6111-6115.
3. Torres, F. J.; Ochoa-Herrera, V.; Blowers, P.; Sierra-Alvarez, R., Ab initio study of the structural, electronic, and thermodynamic properties of linear perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its branched isomers. *Chemosphere* **2009**, *76* (8), 1143-1149.
4. *Cooperation on existing chemicals. Hazard Assessment of Perfluorooctane sulfonate*; Organization for Economic Cooperation and Development (OECD): 2002.
5. *3M Reports: "The Science of Organic Fluorochemistry" and "Perfluorooctane Sulfonate: Current Summary of Human Sera, Health, and Toxicology Data"* 1999.
6. Kobuke, Y. Organo-fluorine Compounds: PFOS and PFOA. <http://www.apec-vc.or.jp/e/modules/tinyd01/index.php?id=34>.
7. Carloni, D., Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) Production and Use: Past and Current Evidence. *UNIDO* **2009**, 1-56.
8. Obo, H.; Hayashi, R.; Takeuchi, N.; Yasuoka, K. In *Decomposition of perfluorooctane sulfonate in water using atmospheric plasma*, Plasma Science (ICOPS), 2011 Abstracts IEEE International Conference on, 26-30 June 2011; 2011; pp 1-1.

9. Tang, C. Y.; Fu, Q. S.; Robertson, A. P.; Criddle, C. S.; Leckie, J. O., Use of Reverse Osmosis Membranes to Remove Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) from Semiconductor Wastewater†. *Environmental Science & Technology* **2006**, *40* (23), 7343-7349.
10. Mantsumoto, T., Problems faced by the Semiconductor Industry in the Event that PFOS: Perfluorooctanesulfonic acid and its salts is Listed in the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. *Japan Electronics and Information Technology Industries Association* **2007**.
11. Inspectorate, S. C. *Proposal for listing Perfluorooctane sulfonate (PFOS) in Annex A of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants*; 2005.
12. Giesy, J. P.; Kannan, K., Global Distribution of Perfluorooctane Sulfonate in Wildlife. *Environmental Science & Technology* **2001**, *35* (7), 1339-1342.
13. (a) *Health risks from PFOS and PFOA in food are unlikely according to the scientific knowledge currently available* 2008; (b) So, M. K.; Taniyasu, S.; Yamashita, N.; Giesy, J. P.; Zheng, J.; Fang, Z.; Im, S. H.; Lam, P. K. S., Perfluorinated Compounds in Coastal Waters of Hong Kong, South China, and Korea. *Environmental Science & Technology* **2004**, *38* (15), 4056-4063.
14. Key, B. D.; Howell, R. D.; Criddle, C. S., Defluorination of Organofluorine Sulfur Compounds by *Pseudomonas* Sp. Strain D2. *Environmental Science & Technology* **1998**, *32* (15), 2283-2287.
15. US EPA Perfluoro octyl sulfonates: proposed significant new use rule. **2000**, (Fed Reg 65 (202) 40CFR Part 721; OPPTS-50639; FRL-6745-5, 62319).
16. (a) Kannan, K.; Corsolini, S.; Falandysz, J.; Oehme, G.; Focardi, S.; Giesy, J. P., Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorinated Hydrocarbons in Marine Mammals, Fishes, and Birds from Coasts of the Baltic and the Mediterranean Seas. *Environmental Science &*

- Technology* **2002**, 36 (15), 3210-3216; (b) Van de Vijver, K. I.; Hoff, P. T.; Das, K.; Van Dongen, W.; Esmans, E. L.; Jauniaux, T.; Bouquegneau, J.-M.; Blust, R.; De Coen, W., Perfluorinated Chemicals Infiltrate Ocean Waters: Link between Exposure Levels and Stable Isotope Ratios in Marine Mammals. *Environmental Science & Technology* **2003**, 37 (24), 5545-5550.
17. Fromme, H.; Schlummer, M.; Möller, A.; Gruber, L.; Wolz, G.; Ungewiss, J.; Böhmer, S.; Dekant, W.; Mayer, R.; Liebl, B.; Twardella, D., Exposure of an Adult Population to Perfluorinated Substances Using Duplicate Diet Portions and Biomonitoring Data. *Environmental Science & Technology* **2007**, 41 (22), 7928-7933.
18. Tittlemier, S. A.; Pepper, K.; Seymour, C.; Moisey, J.; Bronson, R.; Cao, X.-L.; Dabeka, R. W., Dietary Exposure of Canadians to Perfluorinated Carboxylates and Perfluorooctane Sulfonate via Consumption of Meat, Fish, Fast Foods, and Food Items Prepared in Their Packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, 55 (8), 3203-3210.
19. Bull, S.; Foxall, K. PFOS and PFOA: Toxicological overview 2009. http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1246260032570.
20. de Tucci, J. R. El teflon y sus posibles efectos sobre la salud. <http://www.verdeynatural.com.ar/difusion/dietetica-y-nutricion/1082-el-teflon-y-sus-posibles-efectos-sobre-la-salud>.
21. Yamamoto, T.; Noma, Y.; Sakai, S.-i.; Shibata, Y., Photodegradation of Perfluorooctane Sulfonate by UV Irradiation in Water and Alkaline 2-Propanol. *Environmental Science & Technology* **2007**, 41 (16), 5660-5665.

22. Moriwaki, H.; Takagi, Y.; Tanaka, M.; Tsuruho, K.; Okitsu, K.; Maeda, Y., Sonochemical Decomposition of Perfluorooctane Sulfonate and Perfluorooctanoic Acid. *Environmental Science & Technology* **2005**, *39* (9), 3388-3392.
23. (a) Ochoa-Herrera, V. Removal of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Related Compounds from Industrial Effluents. University of Arizona, 2008; (b) Smidt, H.; de Vos, W. M., Anaerobic microbial dehalogenation. *Annu. Rev. Microbiol* **2004**, *58*, 30; (c) Field, J. A.; Sierra-Alvarez, R., Biodegradability of chlorinated solvents and related chlorinated aliphatic compounds. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology* **2004**, *3*.
24. (a) Lexa, D.; Saveant, J. M., The electrochemistry of vitamin B12. *Accounts of Chemical Research* **1983**, *16* (7), 235-243; (b) McDowell, L. R., *Vitamins in animal and human nutrition*. Iowa State University Press: 2004.
25. Chemicals, M., 524950 Vitamin B12 (Cyanocobalamin). KGaA, M., Ed. 2013.
26. (a) Quesada-Chanto, A.; Schmid-Meyer, A.; Schroeder, A.; Fuchter, A.; Carvalho-Jonas, M.; Koehntopp, P.; Jonas, R., Comparison of methods for determination of vitamin B12 in microbial material. *Biotechnology Techniques* **1998**, *12* (1), 75-77; (b) Maillard, P.; Giannotti, C., Photolysis of alkylcobaloximes, methyl-salen, cobalamines and coenzyme B12 in protic solvents: an ESR and spin-trapping technique study. *Journal of Organometallic Chemistry* **1979**, *182* (2), 225-237; (c) Schrauzer, G. N.; Deutsch, E., Reactions of cobalt(I) supernucleophiles. The alkylation of vitamin B12s cobaloximes(I), and related compounds. *J Am Chem Soc* **1969**, *91* (12), 3341-3350; (d) Stich, T. A.; Buan, N. R.; Brunold, T. C., Spectroscopic and Computational Studies of Co²⁺Corrinoids: Spectral and Electronic Properties of the Biologically Relevant Base-On and Base-Off Forms of Co²⁺Cobalamin. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (31), 9735-9749.

27. Forrellat, M. H., I, Vitamina B12: Metabolismo y Aspectos Clinicos de su Deficiencia. *Rev. cubana Hematol Inmunol Hemoter* **1999**, 15 (3), 15.
28. (a) Krautler, B., Vitamin B12: chemistry and biochemistry. *Biochem Soc Trans* **2005**, 33 (Pt 4), 806-810; (b) Whitney, E. R.; Rolfes, S. R., The Water Soluble Vitamins: Vitamins B and Vitamins C. In *Understandig Nutrition*, Belmont, T. W., Ed. Thomson Higher Education: Belmont, CA, 2008; Vol. 11.
29. Jensen, K. P.; Sauer, S. P. A.; Liljefors, T.; P.O, N., Theoretical investigation of steric and electronic effects in coenzyme B-12 models. *Organometallics* **2001**, 20 (3), 5.
30. Jensen, K. P.; Ryde, U., Cobalamins uncovered by modern electronic structure calculations. *Coordination Chemistry Reviews* **2009**, 253 (5–6), 769-778.
31. Finocchi, F., Density Functional Theory for Beginners: Basic Principles and Practical Approaches. **2011**.
32. (a) Cramer, C., *Essentials of Computational Chemistry*. John Wiley and Sons: 2004; Vol. 1; (b) Maroto, E. S. F., *Calculos Computacionales de Estructuras Moleculares*. **2011**.
33. Schiff, L. I., *Quantum Mechanics*. 1968.
34. Levine, L. N., *Quantum Chemistry*. 1991.
35. Foresman, J. B., *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*. Gaussian, Inc.
36. Oppenheimer, J. R.; Born, M., *Ann. Physik* **1927**.
37. Hinchliffe, A., *Computational Quantum Chemistry*. Wiley **1988**.
38. Hehre, W. J.; Radom, L., *Ab Initio Molecular Orbital Theory*. **1986**.
39. Mermin, N. D., Thermal Properties of the Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review* **1965**, 137.
40. Hohenberg, P.; Kohn, W., Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review* **1964**, 136.

41. Kohn, W.; Sham, J., Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review* **1965**, *140* (4A), 6.
42. Koch, W. H., M, *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*. Wiley: Germany, 2001; Vol. 2.
43. Almbladh, C. O.; Barth, U. v., Density-Functional Methods in Physics. *Advance Study Institute Series B: Physics* **1885**, 123.
44. (a) Feng, X.; Li, Q.; Gu, J.; Cotton, F. A.; Xie, Y.; Schaefer, H. F., Perfluorinated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Anthracene, Phenanthrene, Pyrene, Tetracene, Chrysene, and Triphenylene. *The Journal of Physical Chemistry A* **2009**, *113* (5), 887-894; (b) Jang, S. S.; Blanco, M.; Goddard, W. A.; Caldwell, G.; Ross, R. B., The Source of Helicity in Perfluorinated N-Alkanes. *Macromolecules* **2003**, *36* (14), 5331-5341; (c) Yamaguchi, M.; Ohira, A., Vibrational Analysis of Side Chain Model Compounds of Perfluorinated Alkyl Sulfonic Acid Ionomers. *The Journal of Physical Chemistry A* **2012**, *116* (44), 10850-10863; (d) Young, C. J.; Donaldson, D. J., Overtone-Induced Degradation of Perfluorinated Alcohols in the Atmosphere. *The Journal of Physical Chemistry A* **2007**, *111* (51), 13466-13471.
45. (a) Dennington II, R.; Keith, T.; Millam, J. M., *Gauss View*. Semichem, Inc. : Shawnee Mission, KS., 2007; (b) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J., J. A.; ; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.;

Rega, N.; Millam, N. J.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J., *Gaussian 09, Revision A.1*. Gaussian, Inc. : Wallingford CT, 2009.

46. Ugliengo, P., *MOLDRAW: A Program to Display and Manipulate Molecular and Crystal Structures*. . Torino, 2006. available on the web at: <http://www.moldraw.unito.it>.

47. McQuarrie, D. D. A.; Simon, J. J. D., *Physical Chemistry: A Molecular Approach*. Univ. Science Books: 1997.

48. Ochoa-Herrera, V.; Sierra-Alvarez, R.; Somogyi, A.; Jacobsen, N. E.; Wysocki, V. H.; Field, J. A., Reductive Defluorination of Perfluorooctane Sulfonate. *Environmental Science & Technology* **2008**, *42* (9), 3260-3264.

49. Pacheco, A. B. Introduction to Computational Chemistry. Molecular Dynamics. <https://www.cct.lsu.edu/~apacheco/tutorials/Intro2CompChem-MD-110427.pdf>.

50. (a) Schmitz, R. P. H.; Wolf, J.; Habel, A.; Neumann, A.; Ploss, K.; Svatos, A.; Boland, W.; Diekert, G., Evidence for a Radical Mechanism of the Dechlorination of Chlorinated Propenes Mediated by the Tetrachloroethene Reductive Dehalogenase of *Sulfurospirillum multivorans*. *Environmental Science & Technology* **2007**, *41* (21), 7370-7375; (b) Banerjee, R.; Ragsdale, S. W., The Many Faces of Vitamin B₁₂: Catalysis by Cobalamin-Dependent Enzymes. *Annu. Rev. Biochem.* **2003**, *72*, 41.