



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Electrogenación de los derivados de la segunda oxidación del ABTS<sup>2-</sup> en  
diferentes disolventes, empleando dos electrodos distintos y su  
caracterización electroquímica y espectroscópica.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**YOANA ANGÉLICA CASTAÑÓN SUÁREZ**



**MÉXICO, D.F.**

**2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: M. en C. Elba Rojas Escudero.  
**VOCAL:** Profesor: Dr. Víctor Manuel Ugalde Saldívar  
**SECRETARIO:** Profesor: M. en C. Lucia Hernández Garcíadiago  
**1er. SUPLENTE:** Profesor: M. en C. Silvia Citlalli Gama González  
**2° SUPLENTE:** Profesor: M. en C. José Guadalupe De La Rosa Canales

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Cubículo 5 Departamento de Química Inorgánica y Nuclear  
División de Estudios de Posgrado Edificio B  
Facultad de Química UNAM; CU.

### **ASESOR DEL TEMA**

---

**Dr. VÍCTOR MANUEL UGALDE SALDÍVAR**

### **SUSTENTANTE**

---

**YOANA ANGÉLICA CASTAÑÓN SUÁREZ**

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres: M. en E. I. Claudia Suárez Aguilar y a la memoria de mi padre M. en C. P. Miguel Ángel Castañón Camacho, por su apoyo y consejos.

A mis hermanos: M. en A. Mijaely Castañón Suárez y Biol. Claudio Castañón Suárez, porque gracias a sus comentarios aprendí muchas cosas más de la vida, de Arqueología y de Biología.

Al Dr. Víctor Manuel Ugalde Saldívar por sus enseñanzas, consejos, comentarios y paciencia durante la realización de la tesis.

A mis profesoras del jurado M. en C. Elba Rojas Escudero y Dra. Lucia Hernández Garciadiego por sus comentarios y aprendizaje que me dieron durante la revisión de la tesis.

A la M. en C. Ingrid Amaranta Membrillo Solís por introducirme al mundo de la Química Inorgánica y Nuclear, por sus enseñanzas y comentarios durante mi servicio social.

A la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) por sus servicios brindados durante la caracterización de los compuestos, más específicamente, a la M. en C. Rosa Isela del Villar por espectroscopía de RMN <sup>1</sup>H, a la M. en C. Nayeli López Balbiaux y al M. en I. Víctor Hugo Lemus Neri por Análisis elemental, al Dr. Marcos Flores Álamo por Cristalografía de rayos X y a la profesora Margarita Guzmán Villanueva y a la profesora Georgina Duarte Lisci por Espectroscopía de Masas.

A la M. en C. Laura Rodríguez Solano por su ayuda en la técnica HPLC y al Profesor Fernando León por su ayuda en los mecanismos de reacción.

A la secretaria Ma. Ysabel Martínez M. del Departamento de Control Escolar de la Facultad de Química, al coordinador de Asuntos Escolares de la Facultad de Química y al Act. Mauricio Aguilar González de la División de Estudios Profesionales de la Facultad de Ciencias por permitirme el intercambio académico F-306 para aprender las asignaturas de la carrera de Biología como fueron Ingeniería de Tejidos y Neurobiología.

A la Dr. Perla Castañeda López coordinadora de la carrera de Q.F.B. y a la subcoordinadora de la carrera de Q.F.B. por su ayuda y orientación en los trámites que realicé durante la carrera.

A los colegas de la empresa farmacéutica Bioreseah de México S.A. de C.V. por enseñarme nuevas técnicas de análisis de medicamentos y por permitirme realizar mis prácticas profesionales en esa empresa.

A la Q.F.I. Yaeli Valdés Vicarte del área de Quejas de producto terminado, CAPA y capacitación de Boehringer Ingelheim-Promeco S.A. de C.V. por sus enseñanzas, atenciones, capacitación y ayuda durante mi proyecto de la estancia estudiantil en dicha empresa.

A la M. en C. Lourdes Mayet por ser mi colaboradora durante la realización de mi segundo artículo Teratogénesis por retinoides. El caso de México. RMCF; (2013) 44 [1], 24-32.

A mis amigos ustedes saben quiénes son y a mi novio I. Q. Gabriel Ekadasi Sánchez López por su apoyo, comprensión y por hacerme sonreír todos los días.

A todos mis profesores por formarme profesionalmente y por sus enseñanzas dentro y fuera del aula.

A mi máxima casa de estudios la UNAM por darme una vasta preparación profesional y también permitirme complementar mi formación con actividades extracurriculares como tocar el violín y ser porrista de football americano PUMAS CU. en las temporadas 2008 y 2010.

**Dedicada a**  
**mis padres y hermanos**

## ÍNDICE

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	i
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>CAPÍTULO 1 – ANTECEDENTES.....</b>	<b>3</b>
1.1. El mediador ABTS <sup>2-</sup> .....	6
1.2. Propiedades espectrofotométricas del ABTS <sup>2-</sup> .....	9
1.3. Propiedades electroquímicas del ABTS <sup>2-</sup> .....	10
<b>CAPÍTULO 2 – HIPÓTESIS, ALCANCE Y OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
2.1. Hipótesis.....	12
2.2. Alcance.....	12
2.3. Objetivos.....	13
2.3.1. General.....	13
2.3.2. Particulares.....	13
<b>CAPÍTULO 3 - SECCIÓN EXPERIMENTAL.....</b>	<b>14</b>
3.1. Listado de reactivos.....	14
3.2. Estudio electroquímico del ABTS <sup>2-</sup> en diferentes disolventes.....	15
3.2.1. Voltamperometría cíclica del ABTS <sup>2-</sup> en los disolventes DMSO, MeOH y H <sub>2</sub> O. ....	16
3.2.2. Cronopotenciometría de pulso sencillo del ABTS <sup>2-</sup> en los disolventes DMSO, MeOH y H <sub>2</sub> O. ....	17
3.3. Electrólisis, formas de realizar una electrólisis y diferencia entre microelectrólisis y macroelectrólisis.....	17

3.3.1. <i>Electrólisis exhaustivas del</i> <i>ABTS<sup>2-</sup> en los disolventes DMSO, MeOH</i> <i>y H<sub>2</sub>O utilizando dos electrodos con</i> <i>superficies de contacto distintas.....</i>	19
<b>3.4. Caracterización espectrofotométrica</b> <b>de las muestras antes del 50 % de la electrólisis</b> <b>y antes del 100 % de la electrólisis de ESPt<sub>2d</sub>.....</b>	22
<b>3.5. Espectroscopía de resonancia magnética</b> <b>nuclear protónica de los productos de</b> <b>la electrooxidación del ABTS<sup>2-</sup>.....</b>	22
<b>3.6. Estudio del compuesto (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>[Zn(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>](ABTS)<sub>2</sub>.....</b>	23
3.6.1. <i>Análisis elemental.....</i>	24
3.6.2. <i>Rayos X.....</i>	25
3.6.3. <i>Caracterización electroquímica</i> <i>(voltamperometrías cíclicas).....</i>	26
<b>CAPÍTULO 4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	27
<b>4.1. Voltamperometrías cíclicas del</b> <b>ABTS<sup>2-</sup> en los disolventes DMSO, MeOH y H<sub>2</sub>O.....</b>	27
4.1.1. <i>Voltamperometría cíclica del ABTS<sup>2-</sup> en DMSO.....</i>	27
4.1.2. <i>Voltamperometría cíclica del ABTS<sup>2-</sup> en H<sub>2</sub>O.....</i>	29
4.1.3. <i>Voltamperometrías cíclicas del ABTS<sup>2-</sup></i> <i>en H<sub>2</sub>O a diferentes velocidades de barrido.....</i>	32
4.1.4. <i>Voltamperometría cíclica del ABTS<sup>2-</sup> en MeOH.....</i>	33
<b>4.2. Cronopotenciometrías de pulso sencillo</b> <b>del ABTS<sup>2-</sup> en los disolventes DMSO y H<sub>2</sub>O.....</b>	37
<b>4.3. Electrólisis exhaustivas de las disoluciones</b> <b>de ABTS<sup>2-</sup> utilizando dos electrodos distintos.....</b>	41
4.3.1. <i>Electrólisis exhaustivas del ABTS<sup>2-</sup> en H<sub>2</sub>O</i> <i>y en MeOH.....</i>	43

4.3.2. <i>Electrólisis exhaustivas del ABTS<sup>2-</sup> en DMSO</i> .....	47
<b>4.4. Caracterización por Voltamperometría cíclica de las disoluciones de ABTS<sup>2-</sup> a través de la electrólisis</b> .....	<b>50</b>
<b>4.5. Caracterización espectrofotométrica de las muestras antes del 50 % de la electrólisis y antes del 100 % de la electrólisis de ESPT<sub>2d</sub></b> .....	<b>53</b>
4.5.1. <i>Espectro de absorción UV-Vis de la muestra antes del 50 % de la electrólisis de ESPT<sub>2d</sub></i> .....	54
4.5.2. <i>Espectro de absorción UV-Vis de la muestra antes del 100 % de la electrólisis de ESPT<sub>2d</sub></i> .....	55
<b>4.6. Caracterización de los productos de la electrooxidación por RMN <sup>1</sup>H</b> .....	<b>57</b>
4.6.1. <i>Espectros de RMN <sup>1</sup>H de los productos de la electrólisis de la zona de alifáticos</i> .....	66
4.6.2. <i>Espectros de RMN <sup>1</sup>H de los productos de la electrólisis de la zona de aromáticos</i> .....	69
<b>4.7. Estudio del compuesto (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>[Zn(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>](ABTS)<sub>2</sub></b> .....	<b>85</b>
4.7.1. <i>Análisis elemental</i> .....	85
4.7.2. <i>Rayos X</i> .....	86
4.7.3. <i>Estudio electroquímico del compuesto (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>[Zn(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>](ABTS)<sub>2</sub></i> .....	88
<b>CAPÍTULO 5 - CONCLUSIONES</b> .....	<b>91</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>92</b>
<b>ANEXO 1. Síntesis del ABTS<sup>2-</sup> según Hünig S. y col. <sup>[47]</sup> 1964</b> .....	<b>a</b>
<b>ANEXO 2. Resultados de la caracterización del compuesto (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>[Zn(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>](ABTS)<sub>2</sub></b> .....	<b>j</b>



## SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

$(\text{NH}_4)_2\text{ABTS}$ : 2,2'-diazino bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato) de amonio

$\text{ABTS}^{2-}$ : 2,2'-diazino bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato) o ABTS dianión

$\text{ABTS}^{\bullet-}$ : ABTS anión radical

$\text{ABTS}^\circ$ : ABTS Dizwitterión

DMSO: Dimetil sulfóxido

MeOH: Metanol

$\text{H}_2\text{O}$ : Agua

$(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$ : Compuesto diamoniohexaacuo zinc(II) 2,2'-diazino bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato)

Espectrofotometría UV-Vis: Espectrofotometría Ultravioleta-Visible

$\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ : Hexafluorofosfato de tetrabutilamonio

$\text{Et}_4\text{NBF}_4$ : Tetrafluoroborato de tetraetilamonio

$\epsilon$ : coeficiente de extinción molar

$\lambda$ : longitud de onda

$E_{+\lambda}$ : potencial de inversión anódico

$E_{-\lambda}$ : potencial de inversión catódico

$E_{i=0}$ : potencial de corriente nula

$E_{1/2}$ : potencial de media onda

$E_{pc}$ : potencial de pico catódico

$E_{pa}$ : potencial de pico anódico

$V_B$ : velocidad de barrido

RMN  $^1\text{H}$ : Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno

TMS: Tetrametilsilicio

$\delta$ : desplazamiento químico

ppm: partes por millón

M: concentración Molar

mM: concentración milimolar

**ESPt<sub>1d</sub>**: Disolución al final de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup> 1 mM en DMSO utilizando una malla de platino como electrodo de trabajo

**ESCv<sub>2d</sub>**: Disolución al final de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup> 5 mM en DMSO utilizando una barra de carbono como electrodo de trabajo

**ESPt<sub>2d</sub>**: Disolución al final de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup> 10 mM en DMSO utilizando una malla de platino como electrodo de trabajo

**ESPt<sub>1m</sub>**: Disolución al final de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup> 5 mM en MeOH utilizando una malla de platino como electrodo de trabajo

**ESCv<sub>1m</sub>**: Disolución al final de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup> 5 mM en MeOH utilizando una barra de carbono como electrodo de trabajo

**ESPt<sub>1a</sub>**: Disolución al final de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup> 1 mM en H<sub>2</sub>O utilizando una malla de platino como electrodo de trabajo

**ESCv<sub>1a</sub>**: Disolución al final de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup> 1 mM en H<sub>2</sub>O utilizando una barra de carbono como electrodo de trabajo

**ESPt<sub>2a</sub>**: Disolución al final de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup> 5 mM en H<sub>2</sub>O utilizando una malla de platino como electrodo de trabajo

**ESCv<sub>2a</sub>**: Disolución al final de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup> 5 mM en H<sub>2</sub>O utilizando una barra de carbono como electrodo de trabajo

## INTRODUCCIÓN

El 2,2'-diazino bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato) de amonio o  $(\text{NH}_4)_2\text{ABTS}$  (Figura 1) es un mediador redox de origen sintético que en los últimos años ha destacado su importancia como alternativa ecológica para disminuir la contaminación de los efluentes generados en la industria de producción del papel <sup>[1-12]</sup> y en la industria textil. <sup>[13-18]</sup>

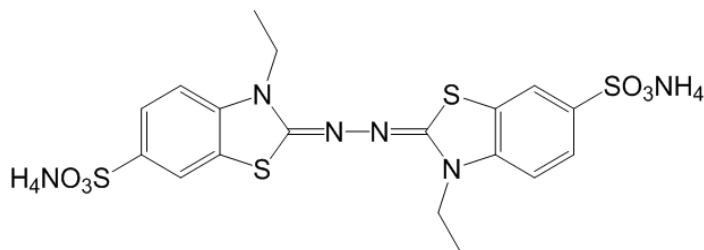


Figura 1. Estructura química del  $(\text{NH}_4)_2\text{ABTS}$ .

El  $\text{ABTS}^{2-}$  presenta dos estados de oxidación con diferente potencial redox y forma dos especies distintas ( $\text{ABTS}^{\bullet-}$  y  $\text{ABTS}^{\circ}$ ), sin embargo, cuando el  $\text{ABTS}^{2-}$  se hace reaccionar con algunas sustancias de interés se lleva a cabo una oxidación monoelectrónica en lugar de dos electrones, que da origen al  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  lo cual disminuye la eficiencia para la degradación de sustratos, dado que la oxidación del  $\text{ABTS}^{\circ}$  permitiría oxidar más eficientemente los sustratos de interés, pues realizaría el intercambio efectivo de dos electrones.

De ahí, la necesidad de proponer nuevos mediadores y/o sistemas que ayuden a hacer más efectiva la degradación de los productos generados en la industria de producción de papel o en la industria textil <sup>[19-23]</sup>, así mismo, también se ha vuelto de gran interés estudiar procesos en los cuales se reutilice el mediador para abatir costos inherentes al mismo.

En la presente tesis se realizó una caracterización electroquímica del  $\text{ABTS}^{2-}$  para estudiar su comportamiento redox en los disolventes dimetil sulfóxido (DMSO), metanol (MeOH) y agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ), con base en estos estudios se realizaron electrólisis exhaustivas con el fin de generar el

segundo estado de oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  y conocer su reactividad, el segundo estado de oxidación fue generado por técnicas electroquímicas (electrólisis exhaustiva por cronopotenciometría de pulso sencillo utilizando electrodos de trabajo con gran superficie de contacto), esta técnica tiene la ventaja de dar resultados más limpios si se compara con lo que reportan diversos autores como Osman, Branchi y Yan-Ru [24-27], los cuales realizaron la oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  por métodos químicos lo que provocó la ruptura de la molécula y los subproductos del  $\text{ABTS}^{2-}$  generan junto con algunos reactivos, aductos. Esta situación promueve la descomposición del  $\text{ABTS}^{2-}$  y dificulta su posible reutilización.

Cuando se generó el segundo estado de oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$ , la disolución resultante se caracterizó por técnicas de espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$  y espectrofotometría UV-Vis, encontrándose que el  $\text{ABTS}^{\circ}$  es poco estable y su molécula se fragmenta para dar origen a la 3-etil-2-benzotiazolina-6-sulfonimina, 3-etil-2-benzotiazolina-6-sulfohidrazona, 3-etil-2-nitrosobenzotiazolina-6-sulfonato o la 3-etildiazino-2-benzotiazolina-6-sulfonato, además de regenerar a la especie  $\text{ABTS}^{2-}$ .

Al analizar detalladamente las estructuras de las moléculas que se generan del mecanismo de descomposición del  $\text{ABTS}^{\circ}$ , se observa que la parte más vulnerable de la molécula es el enlace N-C (del grupo tiazolin) y el enlace  $-\text{N}=\text{N}-$  en el centro de la molécula (grupo diazo), por lo cual se sugiere una alternativa con la que se pueda estabilizar este mediador.

Con el trabajo realizado en la presente tesis, se pretende establecer las bases para diseñar a futuro, la síntesis de una molécula similar al  $(\text{NH}_4)_2\text{ABTS}$ , cuyo segundo estado de oxidación presente una mayor estabilidad en disolución, permitiendo así que en los procesos de oxidación donde participe, realice eficientemente la degradación de sustratos de interés, con un intercambio efectivo de dos electrones.

## **CAPÍTULO 1 – ANTECEDENTES**

El  $\text{ABTS}^{2-}$  y el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  tienen diferentes usos como:

-Indicador de los radicales libres. Esta detección es importante en el campo de la biología, ciencias del medio ambiente y ciencias de los alimentos. Por ejemplo el  $\text{ABTS}^{2-}$  es oxidado por  $\text{NO}_2$  el cual a menudo está implicado en los procesos de algunas enfermedades, otro ejemplo es, su empleo para poder detectar el destino que tienen los desinfectantes de agua o los productos formados al final del proceso, como son las especies reactivas de bromo y cloro, los niveles de contaminación pueden ser monitoreados por la formación del  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  el cual presenta una coloración verde-azulada característica, que puede determinarse por espectroscopía de absorción en el visible. [28-29]

-Permite observar la cinética de la reacción de determinadas enzimas (prueba ELISA) ya que cumple con las siguientes cualidades para ser un cromóforo: ser específico para la peroxidasa, no inhibe la enzima oxidasa, el producto de su primera oxidación es estable, tiene un espectro de absorción UV-Vis definido, es químicamente estable y en particular no es tóxico. [30]

-En la industria alimentaria y de la investigación agrícola, mide la capacidad antioxidante de los alimentos, debido a que al utilizarlo como reactivo de estas pruebas tiene buena reproducibilidad y fácil control de calidad, cuando el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  es adicionado a los antioxidantes éste es reducido a  $\text{ABTS}^{2-}$  y pierde su intenso color verde-azulado característico. [31-33]

-Agente que oxida por sí sólo, capaz de oxidar diferentes compuestos orgánicos sin requerir el uso de una enzima ya que puede efectuar oxidaciones de los sustratos en condiciones desnaturalizantes de las

enzimas. Actúa sobre compuestos aromáticos sustituidos principalmente aquellos que tienen grupos hidroxilo o aminas. [6, 9]

-El  $\text{ABTS}^{2-}$  junto con la enzima Lacasa (enzima fenol oxidasa (EC 1.10.3.2), cataliza la reducción vía cuatro electrones del oxígeno molecular a agua con la consecuente oxidación monoelectrónica del sustrato, usualmente en compuestos polifenólicos) (Figura 2) participando así en el blanqueamiento de la pulpa del papel, llevando a cabo la oxidación de los compuestos fenólicos de la Lignina (polímero insoluble de ácidos aromáticos y fenoles que le da coloración marrón a la madera), logrando así la decoloración de la pulpa que se extrae para fabricar el papel. [34-35]

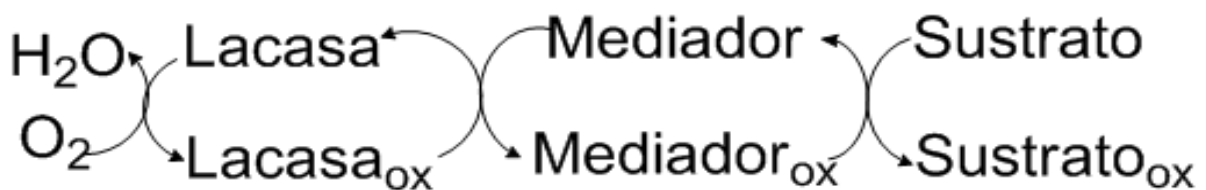


Figura 2. Esquema de la oxidación de sustratos junto con el mediador por la enzima Lacasa, esta enzima cataliza la reducción de cuatro electrones del oxígeno molecular a agua con la consecuente oxidación monoelectrónica del sustrato, usualmente en compuestos polifenólicos.

-Ayuda al blanqueamiento de aguas residuales de la industria textil porque oxida a algunos colorantes textiles, logrando la decoloración de los efluentes desechados por estas industrias. [16, 18, 36]

-Y por último, sirve para la detección de explosivos. El método se basa en la oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  incoloro a una disolución de intensa coloración verde-azulado ( $\text{ABTS}^{\bullet-}$ ), por dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ) que puede ser generado por nitroexplosivos como la NG (nitroglicerina), el DNT (2,4-dinitrotolueno), la RDX (ciclotrimetilentrinitramina), el TNT (trinitrotolueno) o el TNP (trinitrofenol). [37]

Pese a que es una molécula con funciones muy versátiles, estudios previos muestran que la molécula de  $\text{ABTS}^{2-}$  realiza el intercambio de un sólo electrón en los procesos de óxido reducción en los que participa, disminuyendo la eficiencia en la degradación de sustratos, por lo que se necesitan proponer nuevos mediadores y/o sistemas que ayuden a hacer más efectiva la degradación de los compuestos polifenólicos en especial los productos generados en la industria de producción de papel o en la industria textil.<sup>[19-23]</sup>

En este trabajo se propone realizar el estudio de los subproductos del  $\text{ABTS}^{\circ}$  para comprender el mecanismo de degradación y sugerir modificaciones al ión molecular inicial, para en un futuro realizar la síntesis de una molécula más estable que realice la oxidación de los sustratos de interés vía dos electrones.

Los subproductos del  $\text{ABTS}^{\circ}$  fueron generados utilizando técnicas electroquímicas ya que estas técnicas tienen la ventaja de que los experimentos arrojaran resultados más limpios si se compara con lo que reportan diversos autores como Osman, Branchi y Yan-Ru los cuales realizaron la oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  por métodos químicos haciendo reaccionar el  $\text{ABTS}^{2-}$  con sales de  $\text{Ce(IV)}$  o compuestos polifenólicos, lo que provocó la ruptura de la molécula del  $\text{ABTS}^{\circ}$  y los subproductos generaban aductos con los reactivos (polifenoles), lo cual promovía la descomposición de la materia prima y evita su posible reutilización.<sup>[24-27]</sup>

Con el trabajo realizado en la presente tesis, se pretende diseñar a futuro, la síntesis de una molécula similar al  $(\text{NH}_4)_2\text{ABTS}$ , cuyo segundo estado de oxidación presente una mayor estabilidad en disolución, permitiendo así que en los procesos de oxidación donde participe, realice eficientemente la degradación de sustratos de interés, con un intercambio efectivo de dos electrones.

## 1.1 El mediador ABTS<sup>2-</sup>

El ABTS<sup>2-</sup> es el anión de una molécula orgánica (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>ABTS, cuya estructura química es simétrica, la cual posee diferentes grupos funcionales que le confieren actividad oxidante, estos grupos funcionales son dos anillos de etilbenzotiazol que están unidos entre sí por un enlace diazo, y en el anillo de benzotiazolina existe en la posición 6 un grupo funcional sulfonato. Su apariencia es de un polvo, de color amarillo-verde a verde, su fórmula molecular es C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> y su masa molecular es de 548.7 g/mol [38].

El ABTS<sup>2-</sup> está disponible comercialmente en forma de sal de amonio (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>ABTS por lo que en disolución se encuentra ionizado (ABTS<sup>2-</sup>), debido a la disociación de los dos iones amonio que neutralizan las cargas de los grupos sulfonato en la molécula (Figura 3).

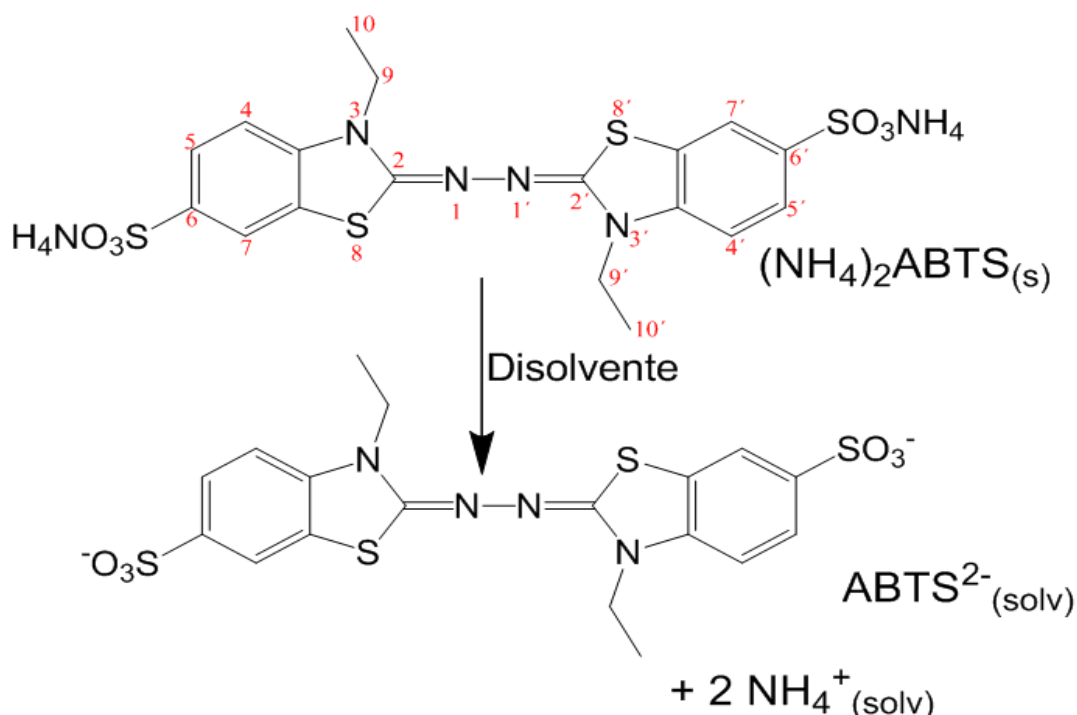


Figura 3. Equilibrio de solvatación de la molécula del  $(\text{NH}_4)_2\text{ABTS}$ , se observa que el  $\text{ABTS}^{2-}$  en disolución tiene carga de 2- debido a la disociación de los dos iones amonio que neutralizan las cargas de los grupos sulfonato en la molécula.



El  $\text{ABTS}^{2-}$  es un agente químico que puede oxidarse en dos etapas (Figura 4 y 5), durante la primera etapa de oxidación ( $\text{ABTS}^{2-}/\text{ABTS}^{\bullet-}$ ) cambia de incoloro a verde azulado, color característico que le confiere propiedades cromóforas y lo hace útil en los estudios cinéticos de oxidación. Estudios previos informan que el  $\text{ABTS}^{2-}$  se puede oxidar a  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  de diferentes formas: por reacción enzima-mediador (Lacasa- $\text{ABTS}^{2-}$ ) cuya oxidación es inmediata, fotólisis <sup>[39]</sup>, oxidación química con  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  <sup>[25]</sup>, o por reacción electroquímica <sup>[6]</sup>.

Durante la segunda oxidación ( $\text{ABTS}^{\bullet-}/\text{ABTS}^{\circ}$ ) se pierde el color verde azulado, aunque no hay un consenso en el color que adquiere, algunos autores sugieren que es color púrpura, otros señalan que posee un color café rojizo y puede ser extraído como producto sólido <sup>[40]</sup> y otros autores informan que es incoloro en solución acuosa o en DMSO <sup>[43, 46]</sup>.

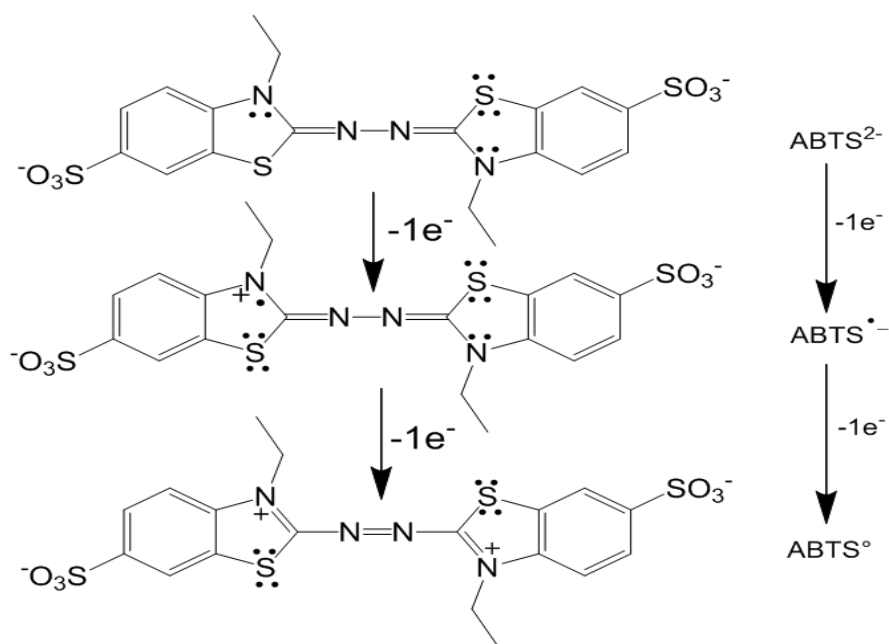


Figura 4. Esquema de los dos estados de oxidación que presenta el  $\text{ABTS}^{2-}$  se observa que en la primera oxidación el  $\text{ABTS}^{2-}$  se transforma en  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  ( $\text{ABTS}$  anión radical) y en la segunda oxidación se transforma en  $\text{ABTS}^{\circ}$  ( $\text{ABTS}$  dizwitterión) ya que la molécula presenta dos cargas negativas y dos cargas positivas por ello se dice que la molécula tiene carga formal neutra.

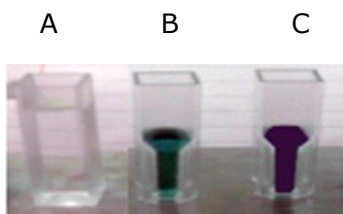


Figura 5. Disoluciones del  $\text{ABTS}^{2-}$  (A),  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  (B) y  $\text{ABTS}^{\circ}$  (C) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  [40]. El  $\text{ABTS}^{2-}$  puede oxidarse en dos etapas, durante la primera etapa de oxidación ( $\text{ABTS}^{2-}/\text{ABTS}^{\bullet-}$ ) cambia de incoloro a verde azulado (B), durante la segunda oxidación ( $\text{ABTS}^{\bullet-}/\text{ABTS}^{\circ}$ ) pierde el color verde azulado, algunos autores sugieren que es color púrpura, otros señalan que posee un color café rojizo y puede ser extraído como producto sólido (C).

Janata y Williams [17] realizaron experimentos para generar el segundo estado de oxidación de azinas benzotiazolinas utilizando  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  logrando llegar al segundo estado de oxidación, sin embargo, reportan que este tipo de moléculas se fragmenta dando lugar a diferentes derivados, concluyendo que la baja estabilidad del  $\text{ABTS}^{\circ}$  está influenciada por el pH de la disolución, debido a la protonación de ambas azinas. También depende en menor medida de la concentración de  $\text{H}_2\text{O}$  presente en la disolución.

Majcherczyk y *col.* [40] también generaron los estados de oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  por medio de reacciones de óxido-reducción, generando el primer estado de oxidación  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  con monosulfato de potasio, peroxidisulfato de potasio y sulfato de cerio (IV) y para la formación del  $\text{ABTS}^{\circ}$  utilizaron peroxisulfato de potasio, aunque no informan que este sea inestable.

Branchi y *col.* [25] realizaron un estudio cinético de la oxidación de alcoholes bencílicos por el  $\text{ABTS}^{\circ}$  y el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  y los compararon con los productos obtenidos de la oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  por la Lacasa, obteniendo como resultado que esa interacción genera los dos intermediarios: el  $\text{ABTS}^{\circ}$  y el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  (Figura 6).



Figura 6. Productos obtenidos de la oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  por la Lacasa;  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  y  $\text{ABTS}^{\circ}$ .

Estas especies también fueron generadas independientemente por la oxidación con sales de  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  (para el  $\text{ABTS}^{\circ}$ ) y con sales de  $\text{Co}(\text{III})$  (para el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ ) y las especies generadas  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  y  $\text{ABTS}^{\circ}$  fueron puestas a prueba como eficientes oxidantes monoelectrónicos durante un estudio cinético de la oxidación de sustratos no fenólicos, concluyendo que debido a que las condiciones experimentales para que reaccione el  $\text{ABTS}^{\circ}$  son demasiado fuertes (disolución 2 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), este inequívocamente se genera y existe en disolución lo suficiente para servir como mediador difusible, pareciera ser poco probable la interacción del  $\text{ABTS}^{\circ}$  con el sustrato, además de existir en condiciones incompatibles con el funcionamiento óptimo de la enzima.

Por otro lado el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  parece ser un intermediario con importancia limitada para la Lacasa, porque es un débil oxidante monoelectrónico incapaz de reaccionar directamente con muchos de los sustratos no fenólicos de la lignina, para resolver esta paradoja los investigadores sugieren una alternativa: la degradación del  $\text{ABTS}^{\circ}$  o  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  a subproductos que se forman "*in-situ*" por hidrólisis, podrían ser los responsables de la oxidación de los compuestos no-fenólicos de la Lignina.

## 1.2 Propiedades espectrofotométricas del $\text{ABTS}^{2-}$

El  $\text{ABTS}^{2-}$  presenta características cromóforas por esta razón la espectrofotometría es muy usada para determinar  $\text{ABTS}^{2-}$  y  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  en procesos que involucran la actividad enzimática y para ello se emplean

los valores de coeficiente de extinción molar ( $\epsilon$ ) informados en la literatura.

En ciertos trabajos, se citan las longitudes de onda en los que el  $\text{ABTS}^{2-}$  presenta máximos de absorción en el espectro UV-Vis. La longitud de onda correspondiente a  $\text{ABTS}^{2-}$  es  $\lambda=340$  nm con un coeficiente de extinción molar  $\epsilon^{340\text{nm}}= 3.66 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . [38]

En el caso del  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ , este presenta máximos de absorción en el espectro de la región del visible según Solís y *col.*[46] a  $\lambda=394, 414, 646$  y  $728$  nm y los coeficientes de extinción molar a otras  $\lambda$  son :  $\epsilon^{214\text{nm}}= 4828 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ,  $\epsilon^{256\text{nm}}= 1846 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  y  $\epsilon^{298\text{nm}}= 2002 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  puede ser caracterizado a  $\lambda=728$  nm, sin interferencias espectrales, atribuidas a la posible formación de un complejo entre  $\text{ABTS}^{2-}$  y  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ , según Johanes y *col.* [41], el cual puede dar como resultado una estimación menor en la concentración de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ .

Para el  $\text{ABTS}^{\circ}$  se encontró información de Scott y *col.* [42] de  $\lambda= 518$  nm con un coeficiente de extinción molar de  $\epsilon^{518\text{nm}}= 3.6 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  y de González [43], que informa que el  $\text{ABTS}^{\circ}$  es incoloro en el disolvente DMSO y presenta máximos de absorción en el espectro UV en  $\lambda= 265$  nm y  $303$  nm con sus correspondientes coeficientes de extinción molar de  $\epsilon^{265\text{nm}}=1.54 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$  y  $\epsilon^{303\text{nm}}= 7 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

### **1.3 Propiedades electroquímicas del $\text{ABTS}^{2-}$**

El  $\text{ABTS}^{2-}$  presenta dos estados de oxidación con diferente potencial de óxido reducción formando dos especies distintas ( $\text{ABTS}^{\bullet-}$  y  $\text{ABTS}^{\circ}$ ), por medio de los estudios de voltamperometría cíclica se determinó que el primer proceso redox de este mediador es un sistema rápido y reversible.

Scott y *col.* [42] reportan los siguientes potenciales de media onda para los sistemas  $\text{ABTS}^{2-}/\text{ABTS}^{\bullet-}$  y  $\text{ABTS}^{\bullet-}/\text{ABTS}^{\circ}$  obtenidos tras el análisis de una voltamperometría cíclica utilizando un electrodo de carbón vítreo, electrodo de referencia Ag/AgCl y una disolución 5 mM de  $\text{ABTS}^{2-}$  con un tampón de acetatos a pH= 4.7, los valores obtenidos fueron:  $E_{1/2 \text{ ABTS}^{2-}/\text{ABTS}^{\bullet-}} = 0.81 \text{ V (ENH)}$  y  $E_{1/2 \text{ ABTS}^{\bullet-}/\text{ABTS}^{\circ}} = 1.09 \text{ V (ENH)}$ .

La información descrita anteriormente plantea que el  $\text{ABTS}^{\circ}$  generado de reacciones redox o por contacto con compuestos polifenólicos, no es estable en disolución y se puede fragmentar en otras moléculas que incluso pueden formar aductos con algunos reactivos, por ello se utilizarán técnicas electroquímicas las cuales arrojarán resultados más limpios lo que permitirá caracterizar los subproductos del  $\text{ABTS}^{\circ}$  por técnicas electroquímicas y espectroscópicas.

## **CAPÍTULO 2 - HIPÓTESIS, ALCANCE Y OBJETIVOS**

### **2.1. Hipótesis**

Si el segundo estado de oxidación ( $\text{ABTS}^\circ$ ) es inestable, entonces al realizar las electrólisis exhaustivas y generarlo, la molécula se fragmentará, y los subproductos derivados de ésta se encontrarán en disolución, lo que permitirá caracterizarlos por medio de técnicas como la voltamperometría cíclica espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$  y espectrofotometría UV-Vis e identificar cuál es la parte más vulnerable de este anión molecular.

### **2.2. Alcance**

Esta investigación pretende indagar sobre el mecanismo que rige la degradación del segundo estado de oxidación ( $\text{ABTS}^\circ$ ) y ayudará a que en un futuro, se pueda diseñar un ión molecular análogo al  $\text{ABTS}^{2-}$  que pueda oxidarse dos veces de forma estable en diferentes disolventes. Esto permitirá su empleo en procesos biotecnológicos de mayor duración y con mayor eficiencia.

## **2.3. Objetivos**

### *2.3.1. General*

Realizar la electrólisis exhaustiva del  $\text{ABTS}^{2-}$  y caracterizar los subproductos formados empleando técnicas electroanalíticas y espectroscópicas.

### *2.3.2. Particulares*

Realizar un estudio electroquímico diagnóstico del  $\text{ABTS}^{2-}$  y de sus diferentes estados de oxidación en los disolventes: dimetil sulfóxido (DMSO), metanol (MeOH) y agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ) utilizando un electrodo de carbón vítreo.

Realizar electrólisis exhaustivas de la disolución de  $\text{ABTS}^{2-}$  con dos electrodos de diferente material (malla de platino o barra de carbono), para generar los productos de electrooxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

Caracterizar los productos de la electrooxidación por medio de técnicas electroquímicas, espectroscopía de resonancia magnética nuclear protónica (RMN  $^1\text{H}$ ) y espectrofotometría UV- Vis.

Identificar los sitios vulnerables en la molécula a través de los cuales se da origen a la descomposición del  $\text{ABTS}^\circ$  para sugerir la síntesis de moléculas análogas que puedan presentar mayor estabilidad.

## CAPÍTULO 3 -SECCIÓN EXPERIMENTAL

### 3.1. Listado de reactivos:

La Tabla 1 muestra los reactivos utilizados, fórmula molecular, características físicas, masa molecular y proveedor.

Tabla 1. Reactivos utilizados.

Reactivo	Fórmula	Características	Masa molecular	Proveedor
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ABTS (2,2'-diazino-bis-(3- etil benzotiazolin-6- sulfonato) de amonio) 98%	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> S <sub>4</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Polvo verde	548.68 g/mol	Sigma Aldrich E.U.A.
DMSO Dimetil sulfóxido 99.9% <b>Reagent A.C.S.</b>	CH <sub>3</sub> SOCH <sub>3</sub>	Líquido transparente	78.13 g/mol	Sigma Aldrich E.U.A.
Metanol grado espectroscópico	CH <sub>3</sub> OH	Líquido volátil	32.04 g/mol	Sigma Aldrich E.U.A.
Agua tridestilada	H <sub>2</sub> O	Líquido transparente	18 g/mol	Facultad de Química UNAM CU.
hexaflorofosfato de tetrabutil amonio 99.0 %	C <sub>16</sub> H <sub>36</sub> F <sub>6</sub> NP	Cristales blancos	387.43 g/mol	Sigma Aldrich E.U.A.
tetrafluoroborato de tetraetilamonio 99.0 %	C <sub>16</sub> H <sub>36</sub> NBF <sub>4</sub>	Cristales blancos	329.27 g/mol	Sigma Aldrich E.U.A.

**Reagent A.C.S.** - Esto designa una sustancia química de alta calidad para uso en laboratorio. La abreviatura "A.C.S.", significa que el producto químico cumple las especificaciones de la American Chemical Society. Con certificado de análisis, disponible bajo petición.



### 3.2 Estudio electroquímico del ABTS<sup>2-</sup> en diferentes disolventes

Todas las mediciones electroquímicas se llevaron a cabo en un potenciostato-galvanostato modelo 263 A, marca Princeton Applied Research, empleando celdas electroquímicas de 10 mL de capacidad, con una disolución 0.1 M de hexafluorofosfato de tetrabutil amonio ( $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ ) o tetrafluoroborato de tetraetilamonio ( $\text{Et}_4\text{NBF}_4$ ) como electrolito soporte, y una configuración de tres electrodos: carbono vítreo ( $0.0706 \text{ cm}^2$ ) como electrodo de trabajo; alambre de platino como electrodo auxiliar y Ag/AgCl como electrodo de referencia (Figura 7). El electrodo de trabajo fue pulido hasta un acabado de espejo para garantizar la homogeneidad de la superficie y eliminar los residuos de la superficie.

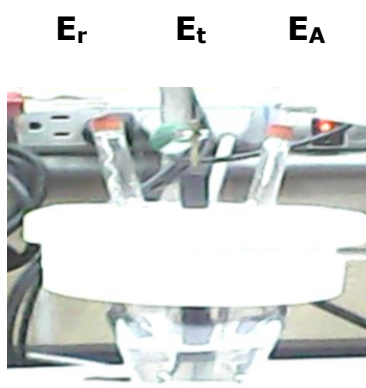


Figura 7. Celda electroquímica de trabajo utilizada en las voltamperometrías cíclicas y cronopotenciometrías de pulso sencillo del ABTS<sup>2-</sup>. La celda consiste en una configuración de tres electrodos: electrodo de trabajo (( $E_t$ ) carbono vítreo ( $0.0706 \text{ cm}^2$ )), electrodo de referencia (( $E_r$ ) electrodo de Ag/AgCl) y electrodo auxiliar (( $E_A$ ) alambre de platino).

Todos los voltamperogramas cíclicos se iniciaron a potencial de circuito abierto ( $E_{i=0}$ ) y las exploraciones de potencial se realizaron en direcciones tanto positivas como negativas (barridos en sentido anódico y catódico respectivamente).

### **3.2.1. Voltamperometría cíclica del ABTS<sup>2-</sup> en los disolventes DMSO, MeOH y H<sub>2</sub>O**

La caracterización de las disoluciones 1 mM de ABTS<sup>2-</sup>, se realizó empleando una disolución 0.1 M de hexafluorofosfato de tetrabutil amonio (Bu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub>) como electrolito soporte (para los disolventes DMSO y MeOH, para la caracterización en H<sub>2</sub>O se utilizó tetrafluoroborato de tetraetilamonio (Et<sub>4</sub>NBF<sub>4</sub>)), variando el potencial con respecto al tiempo y se registró como respuesta el cambio en la intensidad de corriente, en función del potencial aplicado.

Se caracterizó la disolución de ABTS<sup>2-</sup> 1 mM a una velocidad de barrido de 100 mV/s en sentido anódico y catódico, así mismo se realizó un estudio de voltamperometría cíclica a diferentes velocidades de barrido, las velocidades de barrido en sentido anódico que se probaron fueron: 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 y 1000 mV/s. El estudio de las diferentes velocidades de barrido se hizo después de hacer una determinación de la resistencia para compensar la caída óhmica del medio electrolítico.

El estudio pretende identificar los procesos de oxidación y reducción característicos del ABTS<sup>2-</sup> en cada uno de los disolventes, para posteriormente hacer la determinación del potencial redox utilizando los valores de potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ) y potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) de los procesos de oxidación y reducción respectivamente, de acuerdo con la ecuación siguiente:  $E_{1/2} = (E_{pc} + E_{pa})/2$ .

### **3.2.2 Cronopotenciometría de pulso sencillo del ABTS<sup>2-</sup> en los disolventes DMSO, MeOH y H<sub>2</sub>O**

Las cronopotenciometrías de pulso sencillo se realizaron a diferentes magnitudes de perturbación de corriente, observando el cambio de potencial, variando el tiempo del experimento de 60 segundos para las perturbaciones de corriente de mayor magnitud ( $-15$  y  $-10 \mu\text{A}$ ), hasta 180 segundos para las perturbaciones de corriente de menor magnitud ( $-1$  y  $-2 \mu\text{A}$ ).

Las perturbaciones de corriente que se probaron fueron de  $-1$ ,  $-2$ ,  $-3$ ,  $-4$ ,  $-5$ ,  $-6$ ,  $-7$ ,  $-8$ ,  $-9$ ,  $-10$  y  $-15 \mu\text{A}$ , con la finalidad de observar la rapidez de los procesos de oxidación que presenta el ABTS<sup>2-</sup> en función a la perturbación de corriente impuesta, y ver su comportamiento en los diferentes disolventes, esta técnica también permitió observar si existían procesos de adsorción de la disolución en el electrodo de trabajo y poder determinar en cual disolvente se tendrían mejores resultados para llevar a cabo las electrólisis exhaustivas.

### **3.3. Electrólisis, formas de realizar una electrólisis y diferencia entre microelectrólisis y macroelectrólisis.**

#### **Electrólisis**

La electrólisis se define como el proceso que separa los elementos o fragmentos de un compuesto por medio de la electricidad. En ella ocurre la liberación de electrones por los aniones en el ánodo (oxidación) y la captura de electrones en el cátodo (reducción).

Los métodos electroanalíticos como parte de los métodos fisicoquímicos de análisis, se basan en los principios de estimulación del sistema químico

en estudio, el cual responde en función de sus características estructurales, reactivas y de concentración (Figura 8).

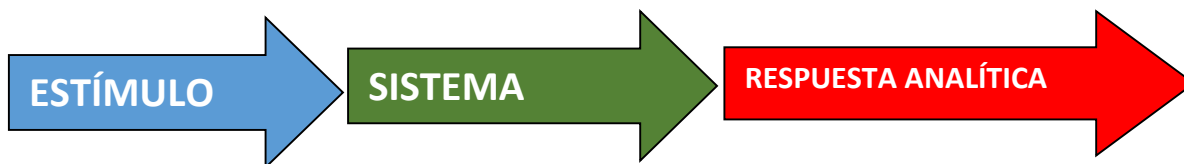


Figura 8. Los métodos electroanalíticos se basan en los principios de estimulación del sistema químico en estudio, el cual responde en función de sus características estructurales, reactivas y de concentración.

El estímulo puede ser la imposición de un potencial eléctrico o la imposición de una corriente eléctrica.

Los sistemas están constituidos por cualquier interface polarizada o electrodo.

La respuesta analítica depende del tipo, magnitud y duración del estímulo eléctrico desde milisegundos hasta horas, en función del evento que se requiere detectar en el electrodo. [44]

### Formas de realizar una electrólisis

Estímulo	Sistema	Respuesta analítica
Corriente $I=f(t^*)$	Galvanostato	Potencial ( $V(t)^*$ ) $V=f(t^*)$
Potencial $V=f(t^*)$	Potenciostato	Corriente ( $I(t)^*$ ) $I=f(t^*)$

\*duración del estímulo en segundos.

### Diferencia entre macroelectrólisis y microelectrólisis

En una microelectrólisis la cantidad transformada al finalizar la electrólisis es menor o igual a 2 % de la concentración inicial del analito [45]. En este estudio se realizaron microelectrólisis para la caracterización electroquímica del compuesto, donde se utilizó un electrodo de carbono vítreo con una superficie de contacto pequeña de 0.0706 cm<sup>2</sup>.

En una macroelectrólisis la cantidad de analíto transformada al final del proceso es equivalente a la concentración inicial <sup>[45]</sup>, para lograr esto se necesita mayor superficie del electrodo en contacto con el analíto por ello la necesidad de utilizar la malla de platino o la barra de carbono como electrodos de trabajo.

### ***3.3.1. Electrólisis exhaustivas del ABTS<sup>2-</sup> en los disolventes DMSO, MeOH y H<sub>2</sub>O utilizando dos electrodos con superficies de contacto distintas***

Con base en los resultados obtenidos de las voltamperometrías cíclicas y cronopotenciometrías de pulso sencillo se pudieron fijar los parámetros para realizar las electrólisis exhaustivas con el objetivo de oxidar hasta el segundo estado de oxidación al ABTS<sup>2-</sup> y generar los productos de la electrooxidación del ABTS<sup>2-</sup> para posteriormente caracterizarlos por espectroscopía de RMN <sup>1</sup>H y espectroscopía UV-Vis.

Las electrólisis exhaustivas se llevaron a cabo empleando celdas electroquímicas de 10 mL de capacidad, con una agitación constante (50 rpm) para garantizar que el flujo másico hacia el electrodo fuera el mismo, se utilizó un arreglo de tres electrodos, los electrodos utilizados fueron: malla de platino o barra de carbono como electrodo de trabajo para tener mayor superficie de contacto con el analíto; electrodo de alambre de cromo níquel en una disolución de Bu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub> 0.1 M como electrodo auxiliar y electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia (Figura 9).

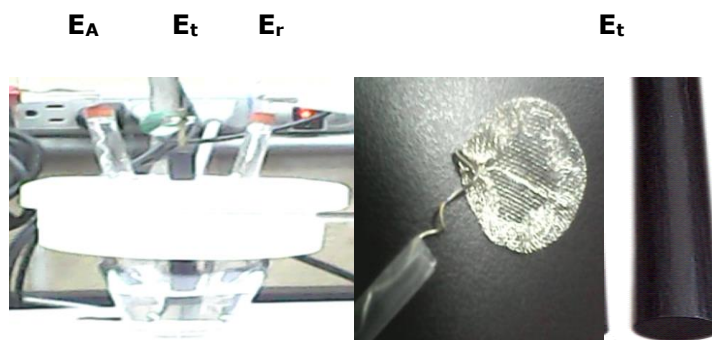


Figura 9. Fotografía de la celda electroquímica empleada para las electrólisis exhaustivas del  $\text{ABTS}^{2-}$ . Electrodo empleado en la celda electroquímica: barra de carbono o malla de platino como electrodo de trabajo ( $E_t$ ), Electrodo de referencia ( $E_r$ ) electrodo de  $\text{Ag/AgCl}$  y electrodo auxiliar ( $E_A$ ) alambre de cromo níquel en una disolución de  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  0.1 M).

Para realizar las electrólisis de  $\text{ABTS}^{2-}$  se utilizaron los disolventes DMSO, MeOH y  $\text{H}_2\text{O}$  por las siguientes razones:

DMSO: Estudios previos informan que es un disolvente favorable para estabilizar especies reactivas o radicales como son el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  y el  $\text{ABTS}^\circ$ .

$\text{H}_2\text{O}$ : Es un disolvente común y económico, la mayoría de los procesos biológicos o biotecnológicos se llevan a cabo en este disolvente.

MeOH: Es un líquido volátil que al evaporarse permite recuperar las especies de interés y caracterizarlas sin la influencia del disolvente.

En un inicio se pretendía utilizar la técnica de cronoamperometría de pulso sencillo con perturbaciones de potencial a voltajes que garantizaban que el  $\text{ABTS}^{2-}$  ya se había oxidado a  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  o a  $\text{ABTS}^\circ$ . Sin embargo, en los intentos previos con esta técnica, se evidenció un problema con el equipo, debido a limitaciones en el voltaje de compilación de 20 V, que impide lecturas de corriente muy grandes, provocando que el equipo presentara una sobrecarga de potencial. Por ello, se decidió cambiar el método de perturbación y se utilizó la técnica de cronopotenciometría de pulso sencillo, técnica electroquímica que consiste en aplicar una señal de

corriente, registrando los valores de potencial del electrodo de trabajo en función del tiempo.

Para realizar las electrólisis exhaustivas se impuso una perturbación de corriente constante de 500  $\mu\text{A}$  en un tiempo aproximado de dos horas, cuando se detectó el segundo salto de potencial en la gráfica, se suspendió el experimento y se volvió a iniciar uno nuevo, pero esta vez a una perturbación de corriente menor de 100  $\mu\text{A}$ , con la finalidad de garantizar que todo el  $\text{ABTS}^{2-}$  se oxidara a  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  y continuar la conversión de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  a  $\text{ABTS}^{\circ}$ , durante el experimento se realizaron las voltamperometrías cíclicas para verificar las electrotransformaciones del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

La Tabla 2 muestra la nomenclatura de las electrólisis exhaustivas del  $\text{ABTS}^{2-}$  que se realizaron, la concentración de las disoluciones de  $\text{ABTS}^{2-}$ , electrodo de trabajo empleado (E. trabajo), disolvente y las condiciones en las que se llevaron a cabo (perturbación de corriente impuesta y tiempo de electrólisis)

Tabla 2. Nomenclatura de las electrólisis de  $\text{ABTS}^{2-}$  realizadas a diferente concentración, electrodo de trabajo, disolvente y condiciones.

<b>Clave</b>	<b>[<math>\text{ABTS}^{2-}</math>]</b>	<b>E. trabajo</b>	<b>Disolvente</b>	<b>Condiciones</b>
<b>ESPt<sub>1d</sub></b>	1 mM	Malla de Pt	DMSO	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s
<b>ESCv<sub>2d</sub></b>	5 mM	Barra de C	DMSO	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s
<b>ESPt<sub>2d</sub></b>	10 mM	Malla de Pt	DMSO	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s
<b>ESPt<sub>1m</sub></b>	5 mM	Malla de Pt	MeOH	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s
<b>ESCv<sub>1m</sub></b>	5 mM	Barra de C	MeOH	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s
<b>ESPt<sub>1a</sub></b>	1 mM	Malla de Pt	H <sub>2</sub> O	300 $\mu\text{A}$ en 3800 s
<b>ESCv<sub>1a</sub></b>	1 mM	Barra de C	H <sub>2</sub> O	300 $\mu\text{A}$ en 3800 s
<b>ESPt<sub>2a</sub></b>	5 mM	Malla de Pt	H <sub>2</sub> O	300 $\mu\text{A}$ en 3800 s
<b>ESCv<sub>2a</sub></b>	5 mM	Barra de C	H <sub>2</sub> O	300 $\mu\text{A}$ en 3800 s

### **3.4. Caracterización espectrofotométrica de las muestras antes del 50 % de la electrólisis y antes del 100 % de la electrólisis de ESPT<sub>2d</sub>**

Se obtuvieron los espectros de absorción Ultravioleta-Visible en el intervalo de longitudes de onda ( $\lambda$ ) de 190 nm a 800 nm, de las muestras antes del al 50 % de la electrólisis y antes del 100 % de la electrólisis de **ESPT<sub>2d</sub>**, las cuales se disolvieron en DMSO para obtener las concentraciones de 20  $\mu$ M y 200  $\mu$ M en DMSO. En las determinaciones se utilizaron celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico y DMSO como blanco, en un espectrofotómetro de arreglo de diodos HP 8452.

A partir de los espectros obtenidos se determinaron las  $\lambda$  de máxima absorción, características de cada compuesto, con sus correspondientes coeficientes de extinción molar ( $\epsilon$ ) ( $L \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

Esta caracterización espectroscópica de cada una de las muestras seleccionadas se realizó con el objetivo de determinar la(s) longitud(es) de onda máxima de absorción para analizar las diferencias que presentan en el espectro de absorción los subproductos del ABTS<sup>2-</sup> el disolvente de trabajo.

### **3.5. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear protónica de los productos de la electrooxidación del ABTS<sup>2-</sup>.**

Los espectros de RMN <sup>1</sup>H del ABTS<sup>2-</sup> y de los productos de la electrólisis en cada disolvente se realizaron en el espectrómetro de resonancia magnética nuclear marca VARIAN, con la frecuencia para hidrógeno de 400 MHz, utilizando tetrametilsilicio (TMS) como referencia interna, también se adicionó a las disoluciones de estudio 1 mL de D<sub>2</sub>O. Se colocó este disolvente deuterado debido a que es necesaria la presencia del



núcleo de deuterio en la muestra para controlar la estabilidad del campo magnético mediante el canal que fija la señal (canal de Lock - canal de anclaje).

Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en ppm (partes por millón) y la constante de acoplamiento (J) en Hz (Hertz). La terminología utilizada para la multiplicidad es: singulete, doblete, triplete y cuarteto, asignándose las señales en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  con base a su desplazamiento químico y multiplicidad.

Para analizar mejor esas señales y encontrar la correlación que había entre ellas, se realizó la espectroscopía de correlación homonuclear hidrógeno-hidrógeno (COSY) donde se identificaron las señales de los núcleos de los hidrógenos acoplados en la molécula, que corresponden a  $\text{H}_a$  y  $\text{H}_b$ , y  $\text{H}_c$ ,  $\text{H}_d$  y  $\text{H}_e$  (Figura 10) de las distintas especies derivadas del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

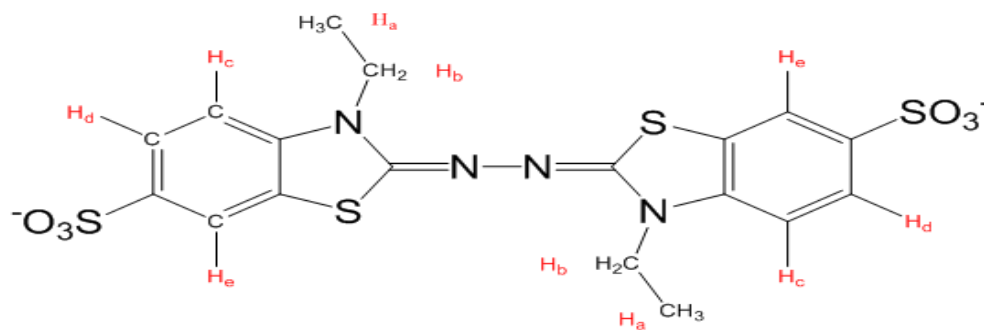


Figura 10. Identificación de los hidrógenos con diferente ambiente químico  $\text{H}_a$ ,  $\text{H}_b$ ,  $\text{H}_c$ ,  $\text{H}_d$  y  $\text{H}_e$  del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

### 3.6. Estudio del compuesto $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$

El compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  fue preparado con la finalidad de conocer si el  $\text{ABTS}^{2-}$  formaba un compuesto estable con el  $\text{Zn}^{2+}$  y de ser posible obtener una muestra para caracterizarla por cristalografía de

rayos X, de igual forma esta estrategia podría emplearse para caracterizar también los derivados de la electrooxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  y obtener su estructura tridimensional con los resultados que aporta esta técnica.

\*Síntesis del compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$ .

Se agregaron 0.2752 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{ABTS}$  a una mezcla 1:10 de agua/metanol esta disolución se añade gota a gota a una disolución con 0.076 g de  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  en 10 mL de MeOH.

La mezcla se deja a una evaporación lenta y se obtienen cristales de color verde claro, estos cristales corresponden a  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  o  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4)_2$ , cuya masa molecular es de 1234.73 g/mol.

El compuesto sintetizado se caracterizó por las técnicas de análisis elemental, cristalografía de rayos X y voltamperometría cíclica.

### **3.6.1. Análisis elemental**

Esta técnica determina la fórmula mínima de cada compuesto, con ello se puede calcular el error relativo con respecto a los porcentajes elementales del C, N, H y S del compuesto analizado.

La determinación de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre se lleva a cabo mediante la oxidación completa e instantánea de la muestra, la cual convierte todas las sustancias orgánicas e inorgánicas en productos de combustión.

Los gases que resultan de esta combustión pasan a través de un tubo de reducción y son arrastrados a una columna cromatográfica por un gas acarreador (Helio), donde son separados y detectados por un detector de conductividad térmica (TCD), el cual da una señal proporcional a la concentración de los componentes individuales de la mezcla.

El resultado final es un porcentaje relativo de cada elemento (carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre) presente en la muestra.

Este estudio se realizó en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación de la Facultad de Química UNAM CU. Utilizando un Analizador Elemental marca PERKIN ELMER 2400, utilizando Cistina como estándar.

### **3.6.2. Rayos X.**

En esta técnica se aprecia la estructura del compuesto, de esta manera se conocen los posibles enlaces que se forman en la molécula, y por lo tanto el tipo de coordinación que se presenta en el compuesto así como su geometría.

En la difracción de rayos X monocristal la muestra es impactada con un haz de radiación cuya longitud de onda es 0.71073 y 1.5418 Angstroms con fuente de molibdeno y cobre respectivamente. El análisis de las intensidades de difracción  $hkl$  permite construir un mapa de densidad para elucidar la estructura cristalina.

La gran ventaja de esta técnica es que no es destructiva y que permite trabajar de forma óptima con cristales de 0.1 mm.

Este estudio se realizó en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación de la Facultad de Química UNAM CU. Utilizando un difractómetro de rayos X-monocristal Gemini (radiación de cobre y molibdeno) con detector atlas de 135 mm de área activa, equipado con un sistema de baja temperatura (Cryojet), colimadores de 0.3, 0.5 y 0.8 mm para cada radiación y los resultados se obtuvieron a una temperatura de 130 K.

### **3.6.3. Caracterización electroquímica (Voltamperometrías cíclicas).**

La caracterización de las disoluciones 1 mM de  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  en DMSO empleando una disolución 0.1 M de  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  como electrolito soporte, variando el potencial con respecto al tiempo y se registró como respuesta el cambio en la intensidad de corriente, en función del potencial aplicado.

Los experimentos se realizaron a una velocidad de barrido de 100 mV/s en sentido anódico y catódico. Así mismo se realizó un estudio de voltamperometría cíclica a diferentes velocidades de barrido de potencial en sentido anódico a velocidades de barrido de: 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 y 1000 mV/s.

El estudio pretende identificar los procesos de oxidación y reducción característicos del  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  en cada uno de los disolventes, para posteriormente hacer la determinación del potencial redox utilizando los valores de potencial de pico anódico ( $E_{\text{pa}}$ ) y potencial de pico catódico ( $E_{\text{pc}}$ ) de los procesos de oxidación y reducción respectivamente, de acuerdo con la ecuación siguiente <sup>[45]</sup>:

$$E_{1/2} = (E_{\text{pc}} + E_{\text{pa}})/2.$$

## **CAPÍTULO 4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. Voltamperometrías cíclicas del ABTS<sup>2-</sup> en los disolventes DMSO, MeOH y H<sub>2</sub>O**

Se realizaron estudios de voltamperometría cíclica de la disolución de ABTS<sup>2-</sup> en los disolventes DMSO, MeOH y H<sub>2</sub>O, el estudio pretende identificar los procesos de oxidación característicos del ABTS<sup>2-</sup> en cada uno de los disolventes, para posteriormente hacer la determinación del potencial redox utilizando los valores de potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ) y potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) de los procesos de oxidación y reducción, respectivamente.

#### **4.1.1. Voltamperometría cíclica del ABTS<sup>2-</sup> en DMSO**

Se preparó una disolución 1 mM, disolviendo 2.8 mg del ABTS<sup>2-</sup> en 5 mL de DMSO, al cual se adicionó previamente 0.1970 g de Bu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub> (electrolito soporte). Se obtuvieron voltamperogramas cíclicos a una velocidad de barrido de 100 mV/s, en una ventana de potencial de -0.25 a 1.25 V/Ag-AgCl.

En la Figura 11 se muestran los voltamperogramas cíclicos típicos de la disolución 1 mM de ABTS<sup>2-</sup> obtenidos a 100 mV/s, iniciando el barrido de potencial en sentido anódico (•••) en el intervalo de  $E_{i=0}$  a  $E_{+\lambda}$  se observan dos procesos de oxidación ( $I_{pa1}$  y  $I_{pa2}$ ) cuyos valores de potencial de pico anódico ( $E_{pa1}$ ) es de 0.60 V/Ag-AgCl y ( $E_{pa2}$ ) es de 1.00 V/Ag-AgCl. Cuando se invierte la dirección de barrido de potencial, se observan dos procesos de reducción en el intervalo  $E_{+\lambda}$  a  $E_{-\lambda}$  ( $I_{pc1}$ ,  $I_{pc2}$ ) a valores de potencial de pico catódico ( $E_{pc1}$ ) de 0.54 V/Ag-AgCl y ( $E_{pc2}$ ) es de 0.94 V/Ag-AgCl, después se continúa con el barrido de potencial y se hace una inversión de potencial en dirección de  $E_{-\lambda}$  a  $E_{i=0}$ .

Cuando el barrido de potencial se inicia en dirección catódica (—) no se observan procesos de reducción en el intervalo  $E_{i=0}$  a  $E_{-\lambda}$ , consistente con el estado de oxidación del  $ABTS^{2-}$ . Cuando se llega a la barrera catódica, se hace una inversión de potencial de  $E_{-\lambda}$  a  $E_{+\lambda}$  identificando los dos procesos de oxidación observados en el voltamperograma en sentido anódico, a valores idénticos de potencial de pico.

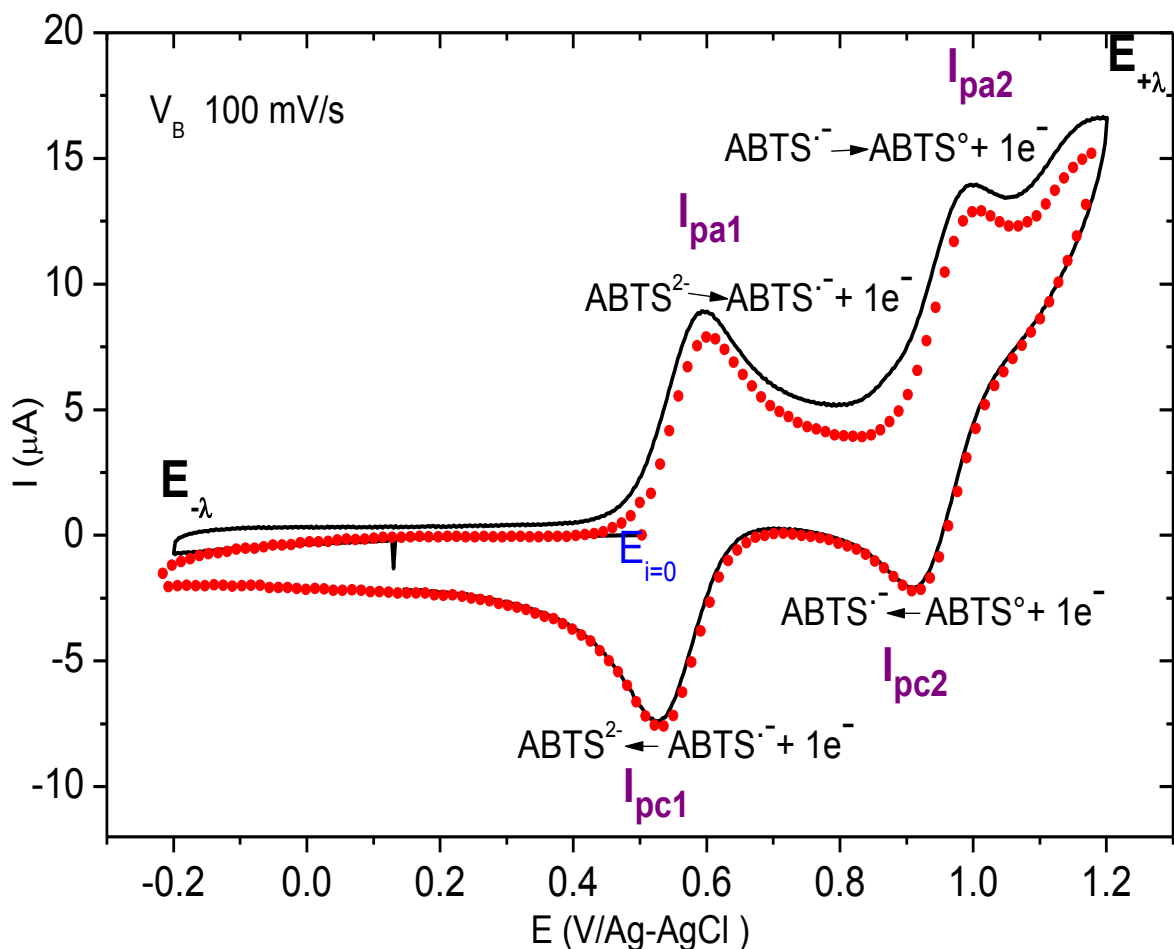


Figura 11. Voltamperogramas cíclicos típicos de una disolución 1 mM de  $ABTS^{2-}$  en DMSO obtenidos a 100 mV/s sobre un electrodo de carbón vítreo ( $0.0706 \text{ cm}^2$ ) empleando como electrolito soporte una disolución de  $Bu_4NPF_6$  0.1 M. Iniciando el barrido de potencial en dirección positiva (•••) y en dirección negativa (—).

Los potenciales de media onda calculados mediante la fórmula  $E_{1/2} = (E_{pa} + E_{pc})/2$ , para el sistema  $ABTS^{2-}/ABTS^{\bullet-}$  son de  $E_{1/2} = 0.57 \text{ V/Ag-AgCl}$  y para el sistema  $ABTS^{\bullet-}/ABTS^{\circ}$  de  $E_{1/2} = 0.97 \text{ V/Ag-AgCl}$ .

Con base en las diferencias de potencial de pico anódico y catódico (por ejemplo  $E_{pa1} - E_{pc1}$ ) igual a 0.06 V para ambos procesos, es posible establecer que la disolución de  $ABTS^{2-}$  estudiada presenta primero un proceso de oxidación monoelectrónico identificado como:  $ABTS^{2-} \rightarrow ABTS^{\bullet-} + 1 e^-$  a  $E_{1/2} = 0.57$  V/Ag-AgCl, seguido por un segundo proceso de oxidación monoelectrónico correspondiente a  $ABTS^{\bullet-} \rightarrow ABTS^{\circ} + 1 e^-$  a  $E_{1/2} = 0.97$  V/Ag-AgCl.

#### **4.1.2. Voltamperometría cíclica del $ABTS^{2-}$ en $H_2O$**

Se preparó una disolución 1 mM del  $ABTS^{2-}$  en  $H_2O$ , disolviendo 2.8 mg de  $ABTS^{2-}$  en 5 mL de  $H_2O$  al cual se adicionó previamente 0.1035 g de  $Et_4NBF_4$  (electrolito soporte). Se obtuvieron voltamperogramas cíclicos a una velocidad de barrido de 100 mV/s en una ventana de potencial de -2.0 V a 1.5 V/Ag-AgCl.

En la Figura 12 se muestra los voltamperogramas cíclicos típicos de una disolución 1 mM de  $ABTS^{2-}$  en  $H_2O$  obtenidos a 100 mV/s, iniciando el barrido de potencial en sentido anódico (●●●) en el intervalo de  $E_{i=0}$  a  $E_{+\lambda}$  se observan dos procesos de oxidación ( $I_{pa1}$  y  $I_{pa2}$ ) cuyos valores de potencial de pico anódico ( $E_{pa1}$  y  $E_{pa2}$ ) son 0.30 y 0.70 V/Ag-AgCl respectivamente. Cuando se invierte la dirección de barrido, se observan dos procesos de reducción en el intervalo  $E_{+\lambda}$  a  $E_{-\lambda}$  ( $I_{pc1}$ ,  $I_{pc2}$ ), a valores de potencial de pico catódico ( $E_{pc1}$  y  $E_{pc2}$ ) de 0.2 y 0.6 V /Ag-AgCl, después se invierte la dirección de barrido de  $E_{-\lambda}$  a  $E_{i=0}$ .

Cuando el barrido de potencial se inicia en dirección catódica (—) no se observan procesos de reducción en el intervalo  $E_{i=0}$  a  $E_{-\lambda}$ , lo cual es consistente con el estado de oxidación del  $ABTS^{2-}$ . Cuando se llega a la barrera catódica se hace una inversión de potencial ahora de  $E_{-\lambda}$  a  $E_{+\lambda}$  se identifican los dos procesos de óxido reducción observados en el

voltamperograma en sentido anódico, a valores idénticos de potencial de pico.

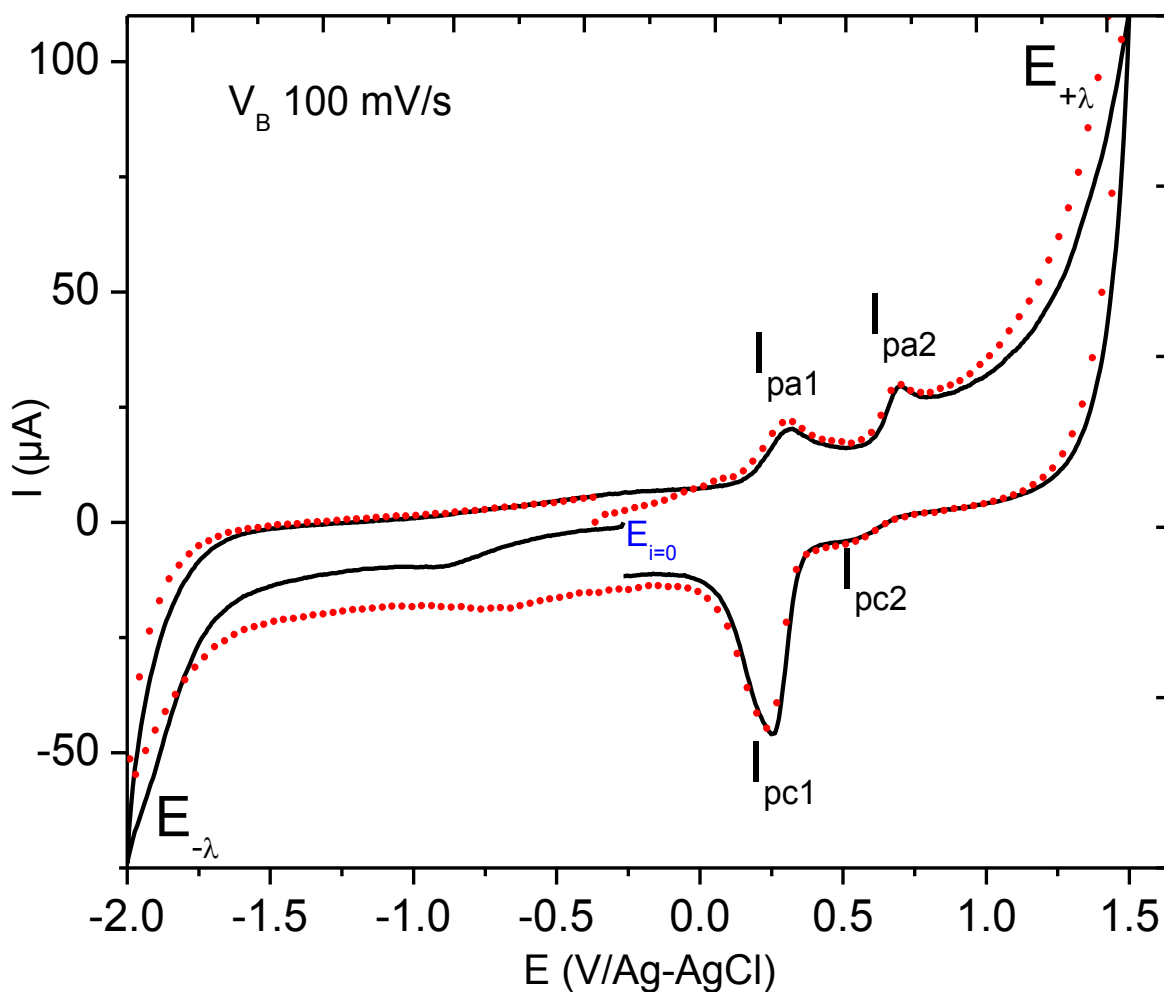


Figura 12. Voltamperogramas cíclicos típicos de una disolución 1 mM de  $\text{ABTS}^{2-}$  en  $\text{H}_2\text{O}$  obtenidos a 100 mV/s sobre un electrodo de carbón vítreo ( $0.0706 \text{ cm}^2$ ) empleando como electrolito soporte una disolución de  $\text{Et}_4\text{NBF}_4$  0.1 M. El barrido de potencial se inicia en dirección positiva (•••) y en dirección negativa (—).

Los potenciales de media onda calculados mediante la fórmula  $E_{1/2} = (E_{pa} + E_{pc})/2$  para el sistema  $\text{ABTS}^{2-}/\text{ABTS}^{\bullet-}$  es  $E_{1/2} = 0.25 \text{ V /Ag-AgCl}$  y para el sistema  $\text{ABTS}^{\bullet-}/\text{ABTS}^{\circ}$  es  $E_{1/2} = 0.65 \text{ V /Ag-AgCl}$ .



La disolución de  $\text{ABTS}^{2-}$  estudiada presenta primero un proceso de oxidación monoeléctrico identificado como:  $\text{ABTS}^{2-} \rightarrow \text{ABTS}^{\bullet-} + 1 e^-$  a  $E_{1/2} = 0.25 \text{ V/Ag-AgCl}$ , seguido por un segundo proceso de oxidación monoeléctrico correspondiente a  $\text{ABTS}^{\bullet-} \rightarrow \text{ABTS}^{\circ} + 1 e^-$  a  $E_{1/2} = 0.65 \text{ V/Ag-AgCl}$ .

Al comparar las intensidades de  $I_{pc1}$  e  $I_{pc2}$  de la Figura 12 se observa que la intensidad de  $I_{pc1}$  es mucho mayor que  $I_{pc2}$  y mayor a su vez que  $I_{pa1}$  e  $I_{pa2}$  y que  $I_{pc2}$  es la corriente más pequeña de las señales observadas, por lo que se sugiere que al generar el segundo estado de oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$ , se presenta un proceso de comproporción o anfolización entre el  $\text{ABTS}^{2-}$  presente en la disolución y el  $\text{ABTS}^{\circ}$  generado en el electrodo, obteniéndose como producto dos moléculas de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ , la reacción se representa en la Figura 13.

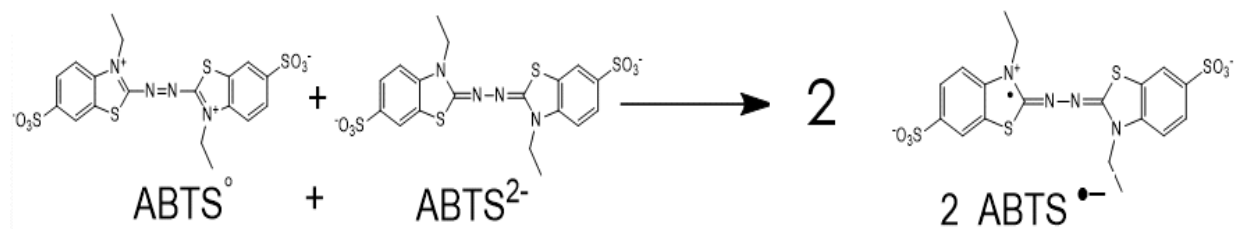


Figura 13. Reacción de comproporción o anfolización del  $\text{ABTS}^{2-}$  y  $\text{ABTS}^{\circ}$  para dar dos moléculas de  $\text{ABTS}$ .

Esta observación ya ha sido reportada por diversos autores como Solís, González, Castro y Torres [9, 11, 23, 45 y 46].

La reacción es corroborada cuando al sistema se le realiza un estudio de voltamperometría cíclica a diferente velocidad de barrido y se observa que  $I_{pc2}$  aumenta de intensidad al aumentar la velocidad de barrido, como se muestra en la siguiente sección.

### **4.1.3. Voltamperometrías cíclicas del $ABTS^{2-}$ en $H_2O$ a diferentes velocidades de barrido**

Como parte de la caracterización del  $ABTS^{2-}$  en distintos disolventes, se realizó un estudio de voltamperometría cíclica a diferentes velocidades de barrido, debido a que un cambio en la velocidad de barrido equivale a un cambio en el perfil de concentraciones del  $ABTS^{2-}$  en la superficie del electrodo de trabajo, de tal manera que cuando la velocidad de barrido de potencial aumenta, también aumenta la velocidad de difusión de las especies electroactivas en la superficie del electrodo, ya que se modifica rápidamente la concentración de las especies electroactivas en la superficie del electrodo.

La Figura 14 muestra los voltamperogramas cíclicos en sentido anódico de la disolución 1 mM de  $ABTS^{2-}$  en  $H_2O$  a distintas velocidades de barrido, utilizando un electrodo de carbón vítreo como electrodo de trabajo y una disolución 0.1 M de  $Et_4NBF_4$  como electrolito soporte.

Al generar el  $ABTS^{\circ}$ , se presenta un proceso de comproporción o anfolización entre el  $ABTS^{2-}$  presente en la disolución y el  $ABTS^{\circ}$  generado en el electrodo, el cual ya fue descrito anteriormente.

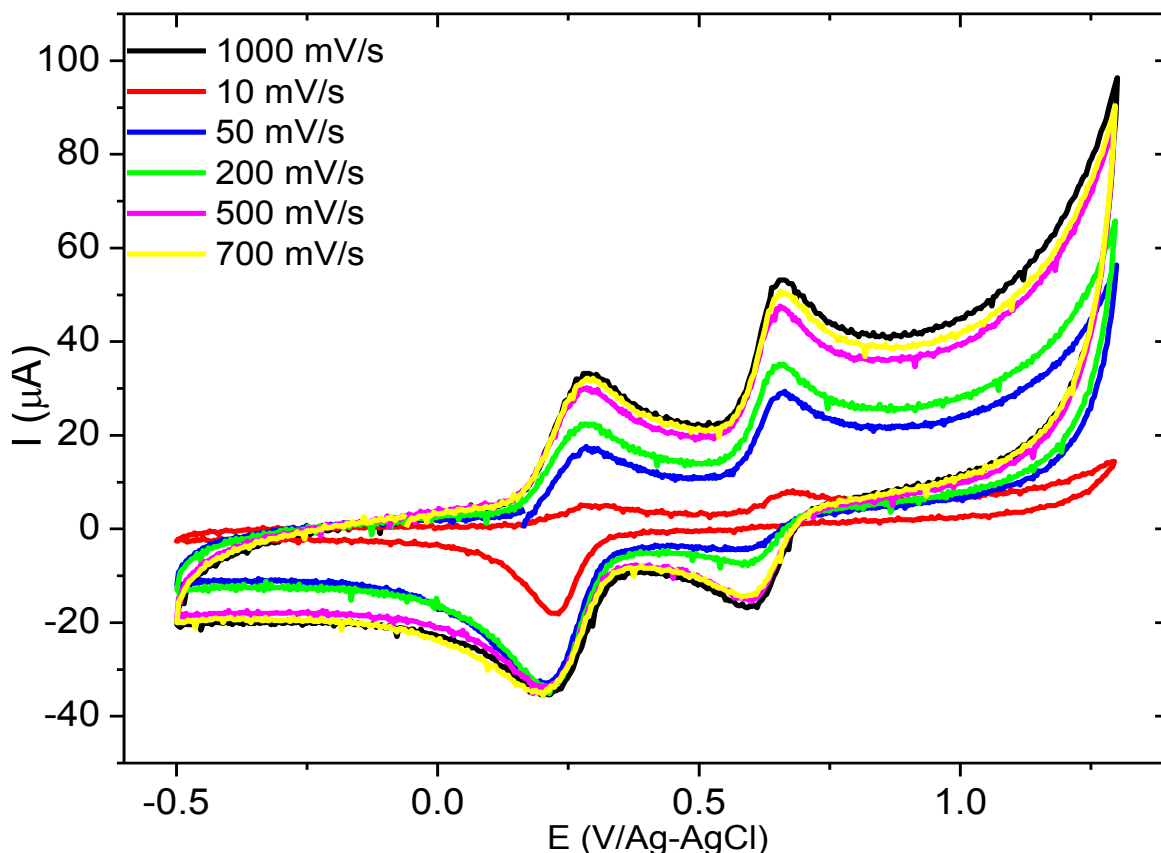


Figura 14. Voltamperogramas cíclicos en sentido anódico de la disolución 1 mM de  $\text{ABTS}^{2-}$  en  $\text{H}_2\text{O}$  obtenidos a diferentes velocidades de barrido, utilizando un electrodo de carbón vítreo y una disolución 0.1 M de  $\text{Et}_4\text{NBF}_4$  como electrolito soporte.

#### 4.1.4. Voltamperometría cíclica del $\text{ABTS}^{2-}$ en MeOH

Se preparó una disolución 1 mM del  $\text{ABTS}^{2-}$  en MeOH disolviendo 2.8 mg del  $\text{ABTS}^{2-}$  en 5 mL de MeOH al cual se adicionó previamente 0.1970 g de  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  (electrolito soporte). Se obtuvieron voltamperogramas cíclicos a una velocidad de barrido de 100 mV/s en una ventana de potencial de -0.4 a 1.5 V/Ag-AgCl.

En la Figura 15 se muestran los voltamperogramas cíclicos típicos de una disolución 1 mM de  $\text{ABTS}^{2-}$  en MeOH obtenidos a 100 mV/s, iniciando el barrido de potencial en sentido anódico (•••) en el intervalo de  $E_{i=0}$  a  $E_{+\lambda}$  se observan dos procesos de oxidación ( $I_{pa1}$  y  $I_{pa2}$ ) cuyos valores de

potencial de pico anódico ( $E_{pa1}$  y  $E_{pa2}$ ) son 0.48 y 0.98 V/Ag-AgCl respectivamente. Cuando se invierte la dirección de barrido de potencial, se observan dos procesos de reducción en el intervalo  $E_{+\lambda}$  a  $E_{-\lambda}$  ( $I_{pc1}$ ,  $I_{pc2}$ ) a valores de potencial de pico catódico ( $E_{pc1}$  y  $E_{pc2}$ ) de 0.38 y 0.75 V/Ag-AgCl.

Cuando el barrido de potencial se inicia en dirección catódica (—) no se observan procesos de reducción en el intervalo  $E_{i=0}$  a  $E_{-\lambda}$  y cuando se llega a  $E_{-\lambda}$  se hace una inversión de potencial y se barre ahora de  $E_{-\lambda}$  a  $E_{+\lambda}$  y de  $E_{-\lambda}$  a  $E_{i=0}$ , donde se identifican los dos procesos de oxidación observados en el voltamperograma en sentido anódico, con valores idénticos de potencial de pico.

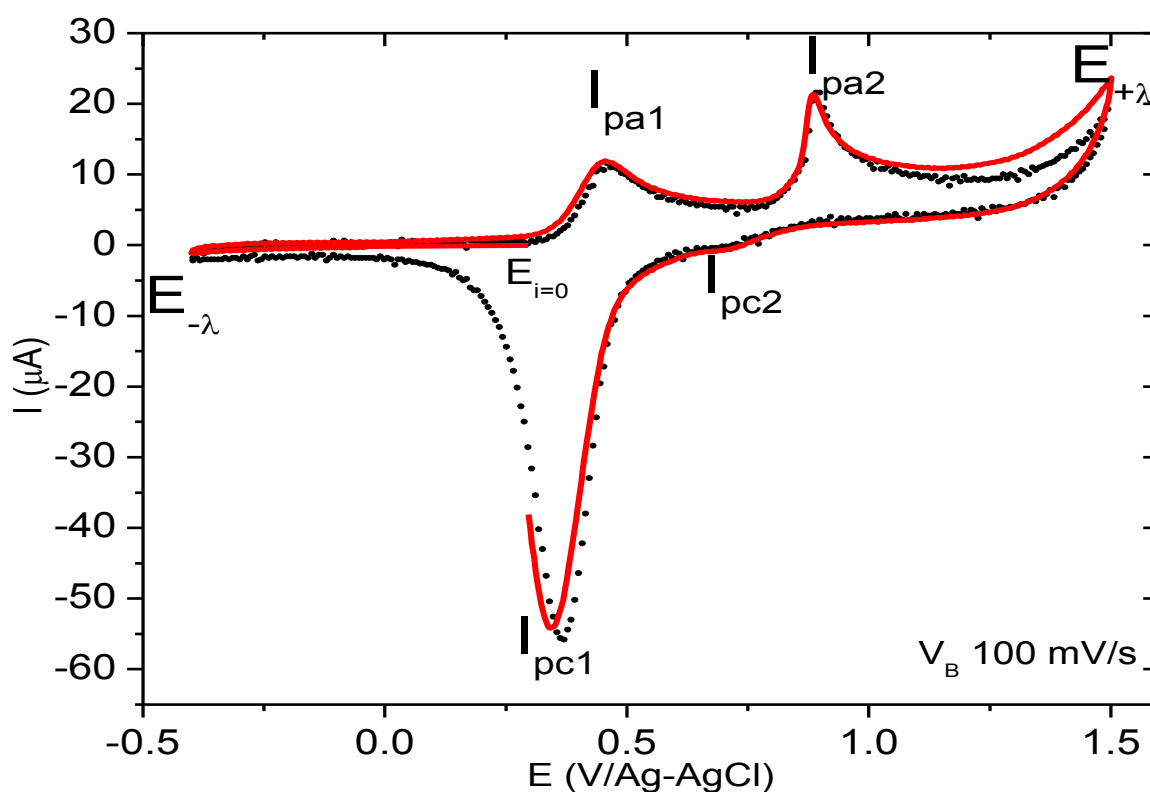


Figura 15. Voltamperogramas cíclicos típicos de una disolución 1 mM de  $ABTS^{2-}$  en MeOH obtenidos a 100 mV/s sobre un electrodo de carbono vítreo ( $0.0706\text{cm}^2$ ) empleando como electrolito soporte una disolución de  $Bu_4NPF_6$  0.1 M. Iniciando el barrido de potencial en dirección positiva (●●●) y en dirección negativa (—).

El potencial de media onda calculado para el sistema  $\text{ABTS}^{2-}/\text{ABTS}^{\bullet-}$  es  $E_{1/2} = 0.43 \text{ V/Ag-AgCl}$  y para el sistema  $\text{ABTS}^{\bullet-}/\text{ABTS}^{\circ}$  es  $E_{1/2} = 0.86 \text{ V/Ag-AgCl}$ .

En este estudio se observa un pico agudo en  $I_{pa2}$  que sugiere la adsorción del  $\text{ABTS}^{\circ}$  al electrodo de trabajo, adicionalmente se observa que la señal de reducción  $I_{pc2}$  es de muy baja intensidad poniendo en evidencia el mismo fenómeno de anfolización descrito para el sistema en  $\text{H}_2\text{O}$ .

Dado el comportamiento de la disolución del  $\text{ABTS}^{2-}$  en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{MeOH}$ , se sugiere que el disolvente más conveniente para estudiar el  $\text{ABTS}^{\circ}$  es el  $\text{DMSO}$  ya que no presenta el fenómeno de adsorción en el electrodo de trabajo y la anfolización es escasa.

Para concluir con el análisis de este estudio en la Figura 16 se muestran los voltamperogramas cíclicos del  $\text{ABTS}^{2-}$  en los disolventes  $\text{DMSO}$ ,  $\text{MeOH}$  y  $\text{H}_2\text{O}$  donde se observa que los potenciales de pico anódico y catódico cambian por que el  $\text{ABTS}^{2-}$  presenta diferente comportamiento en cada uno de los disolventes.

Este estudio de voltamperometría cíclica permitió obtener los siguientes parámetros:

**DMSO**  $E_{1/2} \text{ ABTS}^{2-}/\text{ABTS}^{\bullet-} = 0.57 \text{ V/AgCl-Ag}$   $E_{1/2} \text{ ABTS}^{\bullet-}/\text{ABTS}^{\circ} = 0.97 \text{ V/AgCl-Ag}$

**H<sub>2</sub>O**  $E_{1/2} \text{ ABTS}^{2-}/\text{ABTS}^{\bullet-} = 0.25 \text{ V/AgCl-Ag}$   $E_{1/2} \text{ ABTS}^{\bullet-}/\text{ABTS}^{\circ} = 0.65 \text{ V/AgCl-Ag}$

**MeOH**  $E_{1/2} \text{ ABTS}^{2-}/\text{ABTS}^{\bullet-} = 0.43 \text{ V /AgCl-Ag}$   $E_{1/2} \text{ ABTS}^{\bullet-}/\text{ABTS}^{\circ} = 0.86 \text{ V/AgCl-Ag}$

Mismos que serán utilizados para realizar las electrólisis exhaustivas y obtener los productos de la electrooxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  y caracterizarlos por técnicas espectroscópicas y electroquímicas.

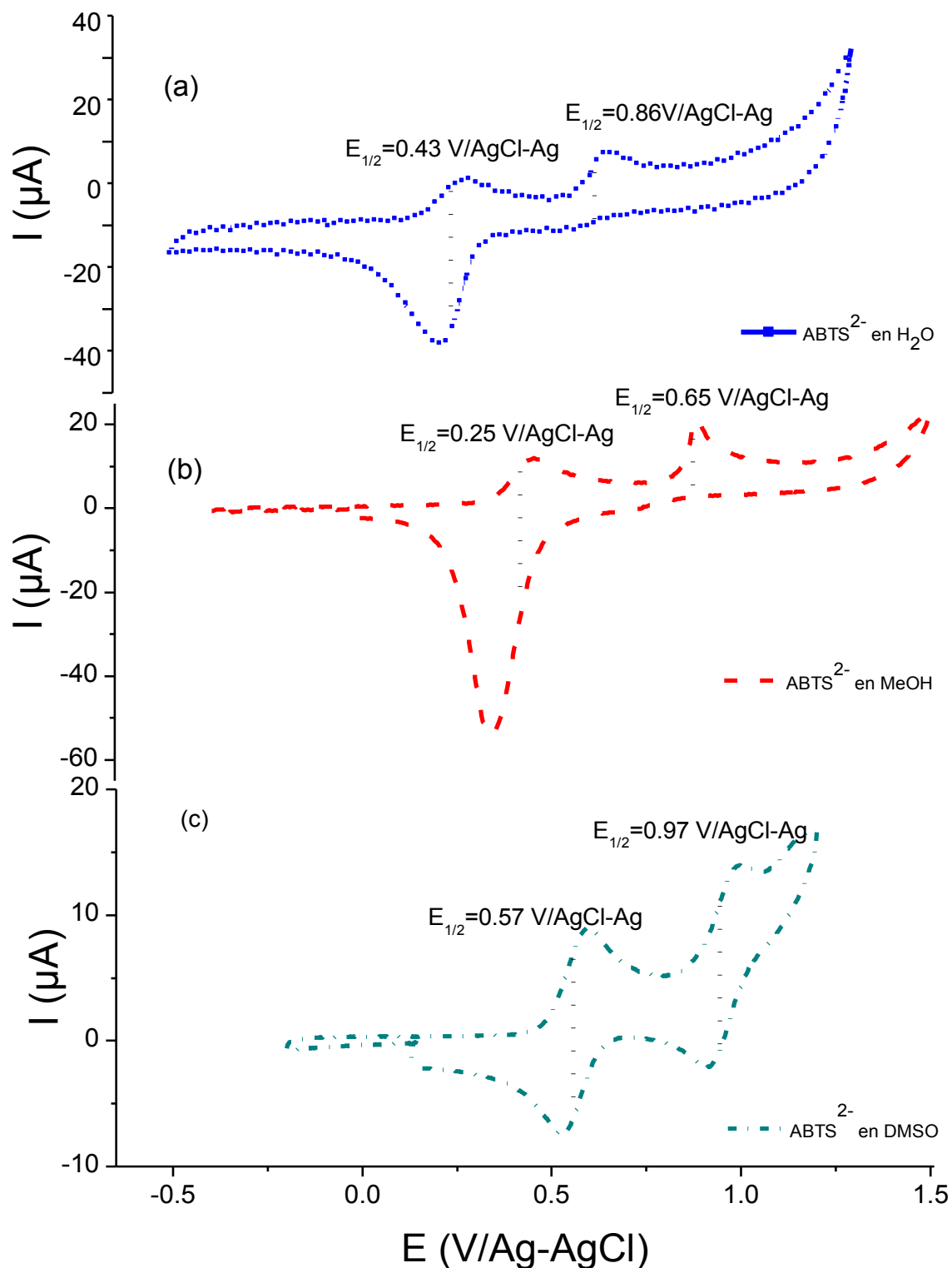


Figura 16. Voltamperogramas cíclicos de las disoluciones 1 mM de  $ABTS^{2-}$  en (a)  $H_2O$  ( $\square\square$ ), (b) MeOH ( $---$ ) y (c) DMSO ( $\bullet-\bullet-$ ), obtenidas a 100 mV/s sobre un electrodo de carbón vítreo ( $0.0706\text{ cm}^2$ ) empleando como electrolito soporte una disolución 0.1 M de  $Bu_4NPF_6$  ó  $Et_4NBF_4$ .

## **4.2. Cronopotenciometrías de pulso sencillo del $\text{ABTS}^{2-}$ en los disolventes DMSO y $\text{H}_2\text{O}$**

Las cronopotenciometrías de pulso sencillo se realizaron a diferentes magnitudes de perturbación de corriente (-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10 y -15  $\mu\text{A}$ ) observando el cambio de potencial (salto de potencial de valores menores a valores mayores), variando el tiempo del experimento de 60 segundos para las perturbaciones de corriente de mayor magnitud (en valor absoluto) (-15 y -10  $\mu\text{A}$ ), hasta 180 segundos para las perturbaciones de corriente de menor magnitud (valor absoluto) (-1 y -2  $\mu\text{A}$ ), utilizando un electrodo de carbón vítreo como electrodo de trabajo.

En las cronopotenciometrías de pulso sencillo (Figuras 17 y 18) se puede observar que a menor perturbación de corriente (-1 a -5  $\mu\text{A}$ ) se aprecian mejor los detalles del primer y segundo salto de potencial correspondientes a la primera oxidación de  $\text{ABTS}^{2-}$  a  $\text{ABTS}$  y la segunda oxidación de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  a  $\text{ABTS}^{\circ}$ , pero conforme se aumenta la magnitud de perturbación de corriente (-8 a -15  $\mu\text{A}$ ) el primer salto de potencial empieza a ser imperceptible, esto indica que la perturbación de corriente es tan alta que el  $\text{ABTS}^{2-}$  se oxida directamente a  $\text{ABTS}^{\circ}$  (perturbación de corriente de -10 a -15  $\mu\text{A}$ ).

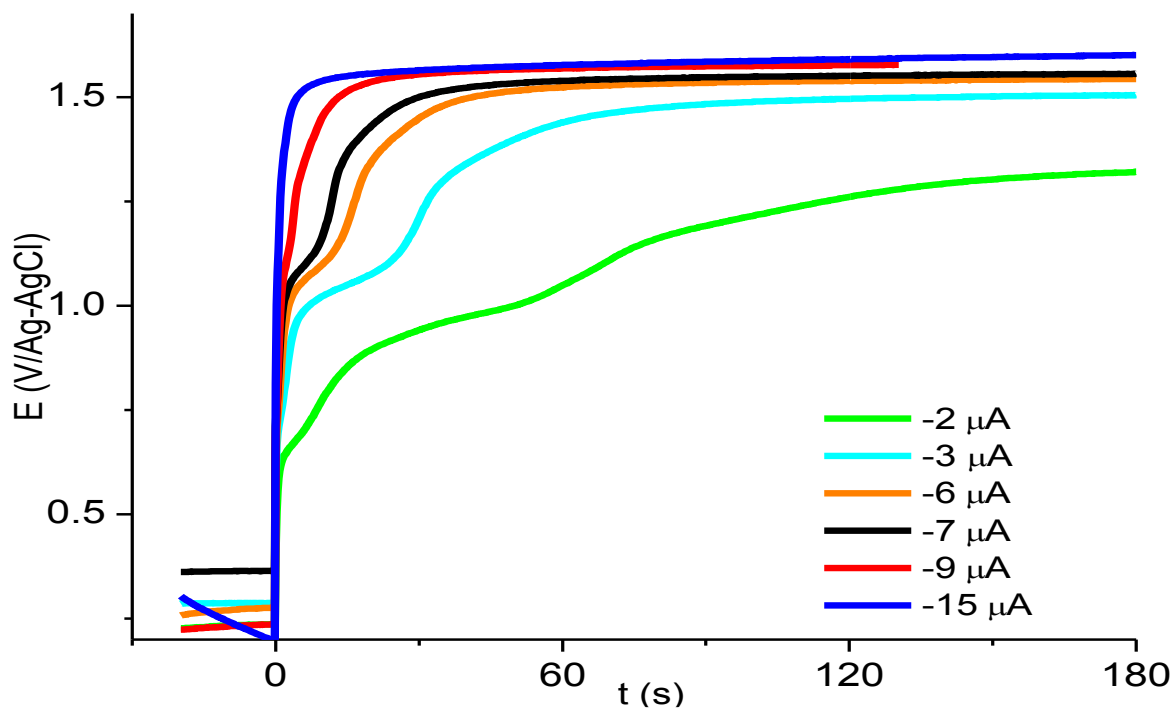


Figura 17. Cronopotenciogramas de pulso sencillo de la disolución de  $\text{ABTS}^{2-}$  1 mM en DMSO a diferentes perturbaciones de corriente utilizando un electrodo de carbono-vítreo ( $0.0706 \text{ cm}^2$ ).

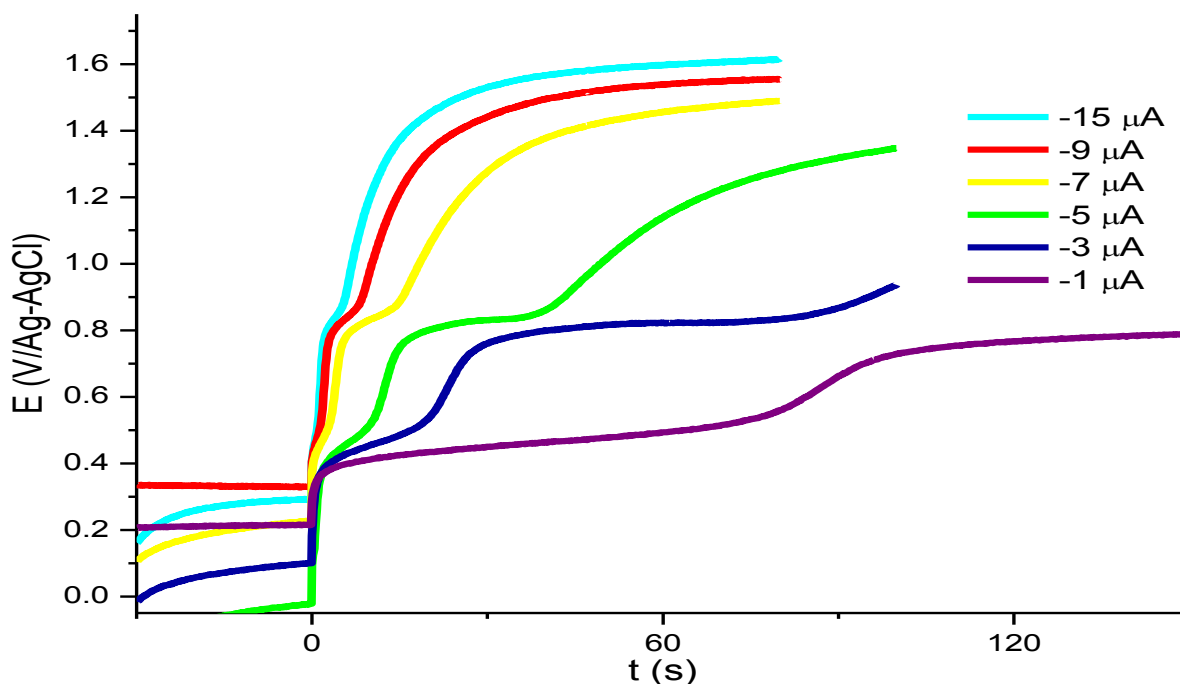


Figura 18. Cronopotenciogramas de pulso sencillo de la disolución de  $\text{ABTS}^{2-}$  1 mM en  $\text{H}_2\text{O}$  a diferentes perturbaciones de corriente utilizando un electrodo de carbono-vítreo ( $0.0706 \text{ cm}^2$ ).



Con base a los cronopotenciogramas de pulso sencillo del ABTS<sup>2-</sup> obtenidos en estos disolventes, se calculó el parámetro de  $\tau^{0.5}$  utilizando la ecuación de Sand que se muestra a continuación, el parámetro de  $\tau^{0.5}$  es el tiempo de transición (tiempo necesario para agotar la concentración de la interface).

$$\tau^{0.5} = \frac{\pi^{0.5} n F A C D^{0.5}}{2I}$$

Donde:

$\tau^{0.5}$  = Es el tiempo de transición (tiempo necesario para agotar la concentración de la interface).

$\pi$  = 3.1416

$n$  = número de electrones intercambiados.

$F$  = Constante de Faraday (96 485.34 C/mol).

$A$  = Área del electrodo de trabajo (0.0706 cm<sup>2</sup>).

$D$  = Coeficiente de difusión del ABTS<sup>2-</sup> calculado en el disolvente DMSO a 25°C (2.62 x10<sup>-6</sup> cm<sup>2</sup>/s) y en el disolvente H<sub>2</sub>O a 25°C (1.5735 x10<sup>-6</sup> cm<sup>2</sup>/s).

$C$  = Concentración de la especie electroactiva en el seno de la disolución

$I$  = Intensidad de la corriente eléctrica aplicada (-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10 y -15  $\mu$ A).

Sustituyendo los valores antes descritos en la ecuación de Sand se obtienen los siguientes valores de  $T^{0.5}$  para cada una de las intensidades de perturbación de corriente aplicadas (Tabla 3).

Tabla 3. Valores de  $T^{0.5}$  calculados para cada una de las intensidades de perturbación de corriente aplicadas para la disolución de  $ABTS^{2-}$  en DMSO y para la disolución de  $ABTS^{2-}$  en  $H_2O$ .

<b><i>I</i></b>	<b><math>T^{0.5}</math> (s) disolución de <math>ABTS^{2-}</math> en DMSO</b>	<b><math>T^{0.5}</math> (s) disolución de <math>ABTS^{2-}</math> en <math>H_2O</math></b>
<b>-1 <math>\mu A</math></b>	9.55	57.34
<b>-2 <math>\mu A</math></b>	3.8	2.2
<b>-3 <math>\mu A</math></b>	0.86	0.51
<b>-4 <math>\mu A</math></b>	0.15	0.091
<b>-5 <math>\mu A</math></b>	0.023	0.014
<b>-6 <math>\mu A</math></b>	$3.4 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^{-3}$
<b>-7 <math>\mu A</math></b>	$4.6 \times 10^{-4}$	$2.8 \times 10^{-4}$
<b>-8 <math>\mu A</math></b>	$6.1 \times 10^{-5}$	$3.6 \times 10^{-5}$
<b>-9 <math>\mu A</math></b>	$7.7 \times 10^{-6}$	$4.6 \times 10^{-6}$
<b>-10 <math>\mu A</math></b>	$9.5 \times 10^{-7}$	$5.7 \times 10^{-7}$
<b>-15 <math>\mu A</math></b>	$2.15 \times 10^{-8}$	$1.29 \times 10^{-8}$

Al observar los resultados de la Tabla 3 podemos afirmar que esta técnica también nos permitió observar los cambios en el tiempo de transición dependiendo de la perturbación de corriente. A mayor perturbación de corriente, menor es el tiempo que transcurre para observar la transición del potencial identificado como la primera oxidación o la segunda oxidación del  $ABTS^{2-}$ .

Este estudio permitió usar una alternativa para realizar la macroelectrólisis a corriente impuesta (electrólisis por cronopotenciometría de pulso sencillo).

### 4.3. Electrólisis exhaustivas de las disoluciones de ABTS<sup>2-</sup> utilizando dos electrodos distintos.

Con base en los resultados obtenidos de las voltamperometrías cíclicas y de las cronopotenciometrías de pulso sencillo, se pudieron fijar los parámetros para realizar las electrólisis exhaustivas (utilizando la técnica electroquímica de cronopotenciometría de pulso sencillo), con el objetivo de oxidar hasta el segundo estado de oxidación al ABTS<sup>2-</sup> y generar los productos electrooxidación, para posteriormente caracterizarlos por espectroscopía de RMN <sup>1</sup>H y espectrofotometría UV-Vis.

La magnitud de perturbación de corriente (*I*) utilizada en las electrólisis exhaustivas fue calculada utilizando las ecuaciones de la primera y segunda Ley de Faraday las cuales se muestran a continuación:

$$1^{\circ} \text{ Ley de Faraday} \quad m = \frac{Q}{ne \cdot F}$$

$$2^{\circ} \text{ Ley de Faraday} \quad Q = I t$$

Sustituyendo el valor de Q en la primera ley de Faraday tenemos que

$$I t = ne F m$$

Donde:

I= Intensidad de corriente eléctrica aplicada.

t= tiempo en segundos para el primer salto de potencial (1000 s).

ne= Número de electrones intercambiados (1e<sup>-</sup>).

F = Constante de Faraday, carga transportada por un mol de electrones: 96485.34 C/mol.

m = Masa de sustancia depositada o liberada en mol ([1 mM]=5x10<sup>-6</sup> mol; [5 mM]=2.5x10<sup>-5</sup> mol; [10 mM]=5x10<sup>-5</sup> mol).

Sustituyendo los valores se obtiene que la magnitud de perturbación de corriente utilizada (*I*) en las electrólisis exhaustivas es aproximadamente de 500 μA. Debido a que la disolución de ABTS<sup>2-</sup> en H<sub>2</sub>O presentó un

comportamiento más rápido se propuso bajar la intensidad de perturbación de corriente a 300  $\mu\text{A}$  y en su mayoría las electrólisis en este disolvente concluyeron en un tiempo aproximado de 3800 s.

Con la finalidad de hacer un análisis más claro se presenta en la Tabla 4, las claves utilizadas para nombrar las diferentes electrólisis exhaustivas, las condiciones que se utilizaron al realizarlas (disolventes, concentraciones, macroelectrodos, perturbación de corriente impuesta y tiempo de electrólisis), así mismo se describen las observaciones del producto final.

Tabla 4. Nombres empleados para las diferentes electrólisis exhaustivas del ABTS<sup>2-</sup>, las condiciones experimentales y observaciones del producto final.

Clave	[ABTS <sup>2-</sup> ]	E. trabajo	Disolvente	Condiciones	Observaciones del producto final
<b>ESPt<sub>1d</sub></b>	1 mM	Malla de Pt	DMSO	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s	Disolución morada Resultados no favorables en RMN <sup>1</sup> H.
<b>ESCV<sub>2d</sub></b>	5 mM	Barra de C	DMSO	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s	Disolución amarilla Resultados favorables en RMN <sup>1</sup> H
<b>ESPt<sub>2d</sub></b>	10 mM	Malla de Pt	DMSO	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s	Disolución naranja Resultados no favorables en RMN <sup>1</sup> H. Caracterización por espectrofotometría UV-Vis.
<b>ESPt<sub>1m</sub></b>	5 mM	Malla de Pt	MeOH	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s	Disolución transparente, formación de un precipitado color morado. Resultados no favorables en RMN <sup>1</sup> H
<b>ESCV<sub>1m</sub></b>	5 mM	Barra de C	MeOH	500 $\mu\text{A}$ en 7200 s	Disolución transparente, formación de un precipitado color morado. Resultados no favorables en RMN <sup>1</sup> H
<b>ESPt<sub>1a</sub></b>	1 mM	Malla de Pt	H <sub>2</sub> O	300 $\mu\text{A}$ en 3800 s	Disolución transparente, formación de un precipitado color morado. Resultados no favorables en RMN <sup>1</sup> H
<b>ESCV<sub>1a</sub></b>	1 mM	Barra de C	H <sub>2</sub> O	300 $\mu\text{A}$ en 3800 s	Disolución transparente, formación de un precipitado color morado. Resultados no favorables en RMN <sup>1</sup> H
<b>ESPt<sub>2a</sub></b>	5 mM	Malla de Pt	H <sub>2</sub> O	300 $\mu\text{A}$ en 3800 s	Disolución transparente, formación de un precipitado color morado. Resultados no favorables en RMN <sup>1</sup> H
<b>ESCV<sub>2a</sub></b>	5 mM	Barra de C	H <sub>2</sub> O	300 $\mu\text{A}$ en 3800 s	Disolución transparente, formación de un precipitado color morado. Resultados no favorables en RMN <sup>1</sup> H

**Resultados favorables en RMN <sup>1</sup>H** implica que se observaron señales diferentes a la materia prima y disolventes en el espectro de RMN <sup>1</sup>H.

**Resultados no favorables en RMN <sup>1</sup>H** implica que solo se observaron señales de la materia prima y disolventes en el espectro de RMN <sup>1</sup>H.

Al realizar las electrólisis exhaustivas del  $\text{ABTS}^{2-}$  cuando se detectó el primer salto de potencial en el cronopotenciograma de pulso sencillo correspondiente a la primera oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  a  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  se suspendió el experimento para realizar voltamperometrías cíclicas con la intención de observar si aún había en la disolución  $\text{ABTS}^{2-}$  sin oxidar, una vez obtenido el voltamperograma cíclico se siguió realizando la electrólisis de igual manera se hicieron voltamperometrías cíclicas después del segundo salto de potencial correspondiente a la segunda oxidación del  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  a  $\text{ABTS}^{\circ}$  y también se hicieron voltamperometrías cíclicas al terminar la electrólisis con la finalidad de determinar las características redox de la disolución final.

Los voltamperogramas cíclicos mostraron que aún estaba presente en la disolución  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  por lo que se realizaron cronopotenciogramas disminuyendo la perturbación de corriente de  $500 \mu\text{A}$  a  $100 \mu\text{A}$  para garantizar que todo el  $\text{ABTS}^{2-}$  se oxidara hasta  $\text{ABTS}^{\circ}$ , las electrólisis se finalizaron cuando la disolución presentó un cambio de color o se depositó un precipitado color morado en la superficie de la malla de platino o barra de carbono, el cual se atribuyó a la formación de un depósito de especies de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  que a través de interacciones moleculares se unen disminuyendo su solubilidad y por ello se depositan en las superficies del electrodo de trabajo.

#### **4.3.1. Electrólisis exhaustivas del $\text{ABTS}^{2-}$ en $\text{H}_2\text{O}$ y en $\text{MeOH}$**

Se realizaron electrólisis exhaustivas del  $\text{ABTS}^{2-}$  en  $\text{H}_2\text{O}$  a concentraciones  $1 \text{ mM}$  (**ESPt<sub>1a</sub>** y **ESCv<sub>1a</sub>**) y  $5 \text{ mM}$ , (**ESCv<sub>2a</sub>** y **ESPt<sub>2a</sub>**) y en  $\text{MeOH}$  a concentración de  $5 \text{ mM}$  (**ESPt<sub>1m</sub>** y **ESCv<sub>1m</sub>**).

La electrólisis de la disolución de  $\text{ABTS}^{2-}$   $5 \text{ mM}$  en  $\text{H}_2\text{O}$  utilizando una barra de carbono como  $E_t$  (**ESCv<sub>2a</sub>**) obtuvo el siguiente cronopotenciograma de

pulso sencillo (Figura 19) realizado con una perturbación de corriente de 300  $\mu\text{A}$  en un tiempo de electrólisis de 3 800 s.

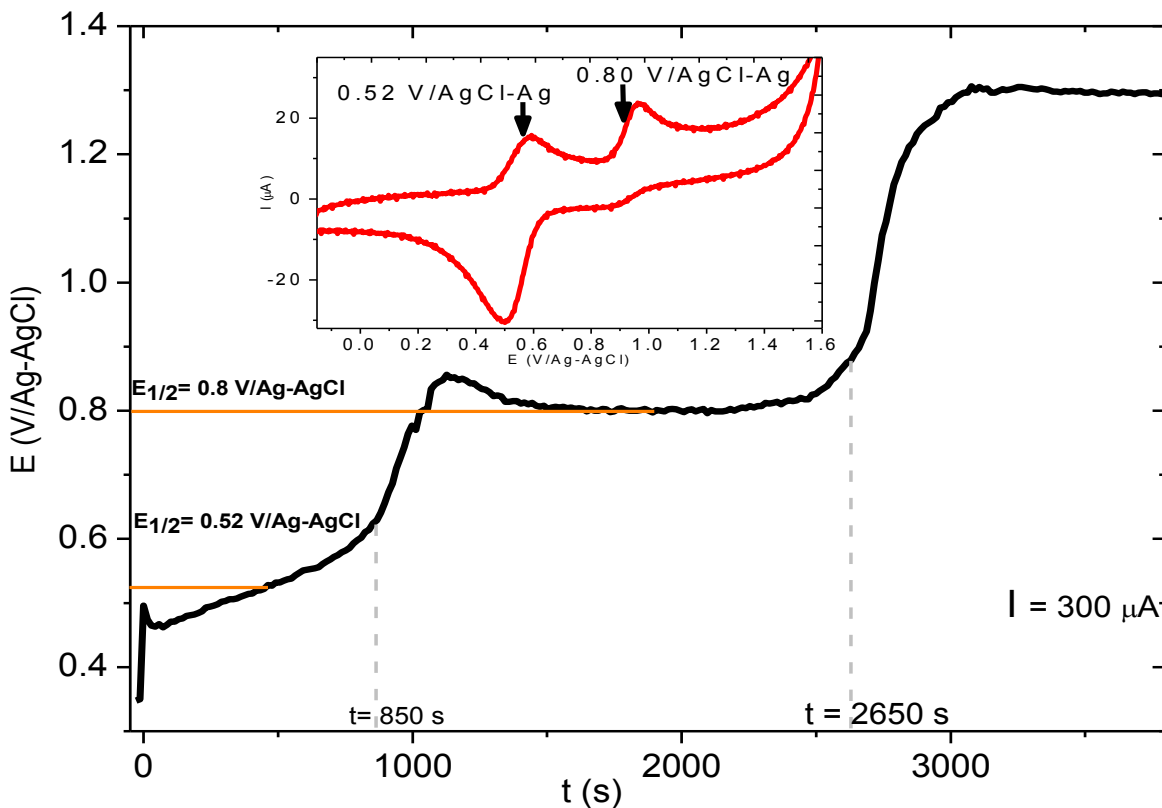


Figura 19. Cronopotenciograma de pulso sencillo de la disolución **ESCv<sub>2a</sub>** obtenido a una perturbación de corriente de 300  $\mu\text{A}$  en un tiempo de 3 800 s, en la gráfica se puede observar el primer y segundo salto de potencial correspondiente a la primera y segunda oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$ , la electrólisis se realizó en una celda electroquímica con una barra de carbono como electrodo de trabajo.

El cronopotenciograma de pulso sencillo de **ESCv<sub>2a</sub>** (Figura 19) muestra que la electrólisis inicia con un potencial de 0.35 V/Ag-AgCl correspondiente al potencial de  $\text{ABTS}^{2-}$  en este disolvente, conforme se inicia y continúa con la perturbación de corriente el valor de potencial va aumentando, porque el  $\text{ABTS}^{2-}$  se oxida a  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  el aumento del valor de potencial satisface a la ecuación:  $E_{\tau/4} = E^{\circ'} + RT/2nT * \ln[D_{\text{Ox}}/D_{\text{red}}]$ , donde un aumento de la concentración de la especie oxidada ( $[D_{\text{Ox}}]$ ) hace que haya un aumento en  $E_{\tau/4}$ .

La disolución tiene un primer salto de potencial de 0.35 V/Ag-AgCl a 0.52 V/Ag-AgCl que corresponde a la primera oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  a  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ , cuando ocurre el segundo salto de potencial de 0.52 V /Ag-AgCl a 0.8 V/Ag-AgCl en un tiempo aproximado de 850 s, este se asocia a la segunda oxidación del  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  a  $\text{ABTS}^{\circ}$ . Finalmente en un tiempo aproximado de 2650 s se observa un tercer salto de potencial probablemente porque al concentrarse todas las moléculas de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  en la superficie del electrodo, el sistema ya no detecta especies electroactivas en disolución, por lo que empieza a electrolizar el disolvente, este tiene un valor de potencial mayor que el de las especies de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ .

Las electrólisis de  $\text{ABTS}^{2-}$  en  $\text{H}_2\text{O}$  a concentraciones de 1 mM (**ESPt<sub>1a</sub>** y **ESCv<sub>1a</sub>**) y 5 mM (**ESPt<sub>2a</sub>**) tuvieron como resultado cronopotenciogramas de pulso sencillos parecidos al descrito anteriormente y como producto final la decoloración de la disolución, con la formación de un precipitado color morado en la malla de platino o barra de carbono (Figura 20), sin embargo, al caracterizar las disoluciones obtenidas al final de la electrólisis por espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$ , en los espectros no se encontraron señales propias del  $\text{ABTS}^{2-}$  o de sus dos estados de oxidación, esto puede ser debido a que tal vez todas las especies de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  se quedaron adheridas a la malla de platino y no en la disolución caracterizada, por otra parte al estudiar el precipitado color morado se encontró que se trataba de un depósito de especies de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  que a través de interacciones intermoleculares se unen disminuyendo su solubilidad, dado que se trataba del  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ , el producto no se estudió con detalle puesto que ya ha sido caracterizado previamente.

Lo descrito anteriormente también sucedió con las electrólisis del  $\text{ABTS}^{2-}$  5 mM en metanol realizadas con una malla de platino o barra de carbono como electrodo de trabajo (**ESCv<sub>1m</sub>** y **ESPt<sub>1m</sub>**).

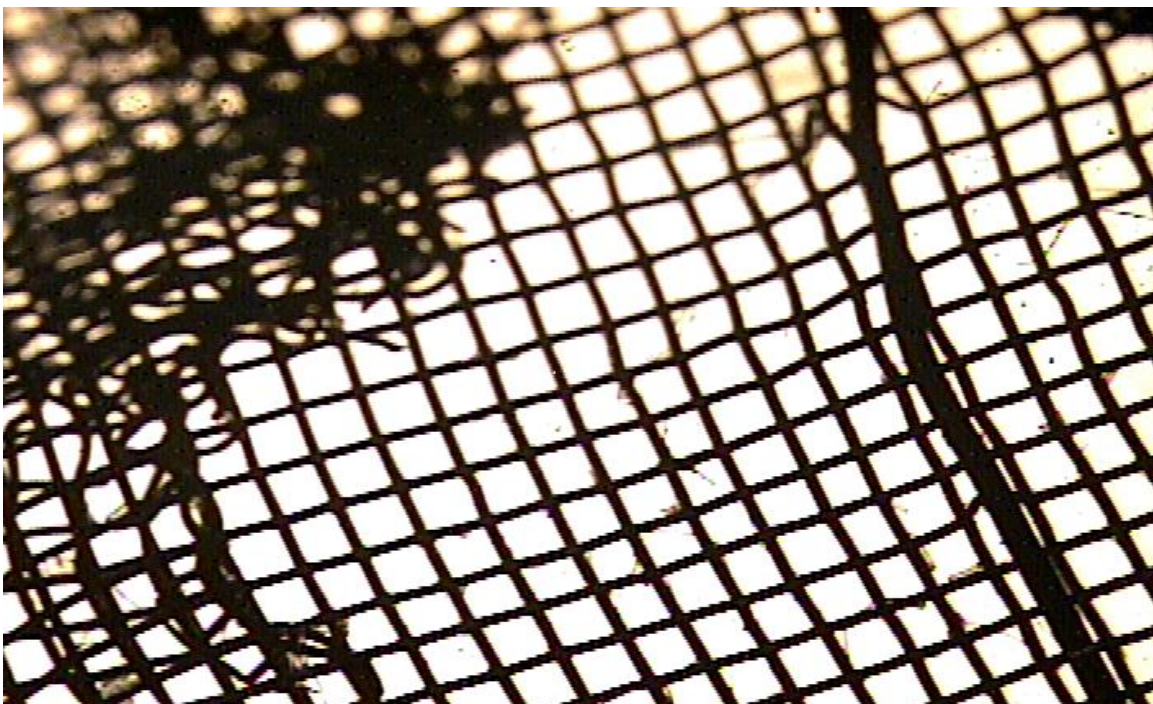


Figura 20. Fotografía del precipitado color morado adherido a la malla de platino ( $E_t$ ).

La Figura 20 muestra parte del producto que se formó durante la electrolisis exhaustiva del  $ABTS^{2-}$  en estos disolventes (MeOH o  $H_2O$ ) confirmando que el material se adsorbe en la superficie del electrodo, por lo que esta situación impide garantizar que la electrólisis realizada para formar el  $ABTS^{\circ}$  sea exitosa, pues el material adhiere y cubre al electrodo impidiendo la eficiente transformación del  $ABTS^{\bullet-}$  a  $ABTS^{\circ}$ , por lo que se deben descartar como opciones las electrólisis exhaustivas realizadas en  $H_2O$  y MeOH debido a que no llegaron al objetivo planteado de generar los subproductos del  $ABTS^{\circ}$  para posteriormente caracterizarlos por técnicas electroanalíticas y espectroscópicas.

En los resultados de las voltamperometrías cíclicas descritas en la secciones **4.1.3.** y **4.1.5.**, las disoluciones del  $ABTS^{2-}$  en MeOH y  $H_2O$  también presentaban un inusual comportamiento (procesos de adsorción, reacciones de comproporción, etcétera) lo que confirma que estos disolventes no son los adecuados para realizar electrólisis exhaustivas del  $ABTS^{2-}$  por lo que se utilizará como disolvente DMSO.



### 4.3.2. Electrólisis exhaustivas del $ABTS^{2-}$ en DMSO

La electrólisis de la disolución de  $ABTS^{2-}$  1 mM en DMSO utilizando una malla de platino como  $E_t$  (**ESPt<sub>1d</sub>**) obtuvo el siguiente cronopotenciograma de pulso sencillo, realizado a una perturbación de corriente de 500  $\mu A$  en un tiempo de electrólisis de 7 200 s (Figura 21).

El cronopotenciograma de pulso sencillo de la disolución 1 mM de  $ABTS^{2-}$  muestra que la electrólisis inicia con un potencial de 0.65 V/Ag-AgCl correspondiente al potencial de  $ABTS^{2-}$ , conforme se inicia y continúa con la perturbación de corriente, el valor de potencial va aumentando, porque el  $ABTS^{2-}$  se oxida a  $ABTS^{\bullet-}$ , el aumento del valor de potencial satisface a la ecuación:  $E_{\tau/4} = E^{\circ'} + RT/2nT * \ln[D_{ox}/D_{red}]$ , donde un aumento de la concentración de la especie oxidada ( $[D_{ox}]$ ) hace que haya un aumento en  $E_{\tau/4}$ .

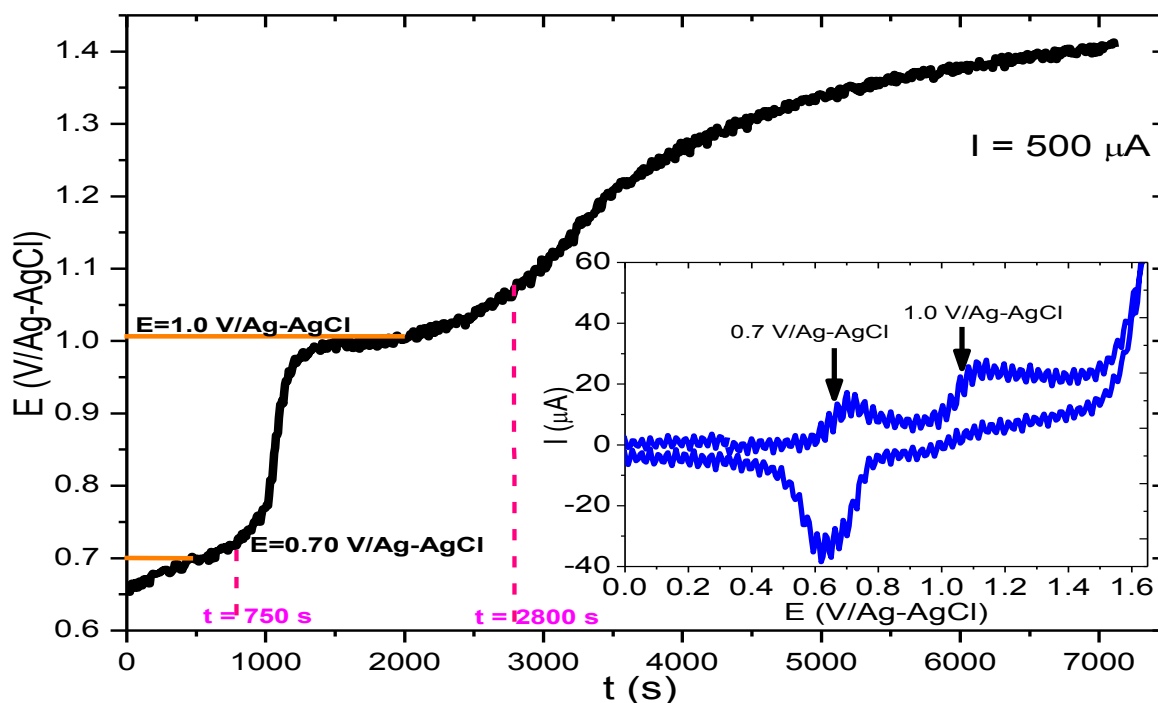


Figura 21. Cronopotenciograma de pulso sencillo de **ESPt<sub>1d</sub>**, en la gráfica se puede observar el primer y segundo salto de potencial correspondiente a la primera y segunda oxidación del  $ABTS^{2-}$ , la electrólisis se realizó en una celda electroquímica con una malla de platino como electrodo de trabajo.

La disolución tiene un primer salto de potencial en un tiempo aproximado de 750 s este salto es de 0.65 V/Ag-AgCl a 0.70 V/Ag-AgCl el cual corresponde a la primera oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  a  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ , después a un tiempo aproximado de 1000 s ocurre el segundo salto de potencial de 0.70 V/Ag-AgCl a 1.0 V/Ag-AgCl valor que corresponde a la segunda oxidación del  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  a  $\text{ABTS}^{\circ}$ , el cronopotenciograma de pulso sencillo continua con otro salto de potencial en un tiempo de 2800 s a valores de 1.0 V/Ag-AgCl a 1.40 V/Ag-AgCl, que corresponde probablemente a la electrólisis del disolvente, el cual se oxida a un valor de potencial mayor que el de las especies de  $\text{ABTS}^{\circ}$  por lo que se observa un tercer salto de potencial.

Así mismo fueron calculados los porcentajes de la concentración inicial (% Co) electrolizada al primer salto de potencial y al segundo salto de potencial mediante las fórmulas de la primera y segunda Ley de Faraday las cuales se muestran a continuación:

$$1^{\circ} \text{ Ley de Faraday} \quad m = \frac{Q}{ne * F}$$

$$2^{\circ} \text{ Ley de Faraday} \quad Q = I t$$

Sustituyendo el valor de Q en la primera ley de Faraday tenemos que

$$m = \frac{I t}{ne * F}$$

Donde  $m_{\text{exp}}$  a 750 s es de  $3.89 \times 10^{-6}$  mol y  $m_{\text{exp}}$  para 1000 s es de  $5.18 \times 10^{-6}$  mol.

Una vez calculado el valor de  $m_{\text{exp}}$  para 750 s y 1000 s se obtiene el porcentaje de la concentración inicial electrolizada, utilizando la siguiente formula:

$$\% \text{ Co electrolizado} = m_{\text{exp}} / m_{\text{Teo}} \times 100$$

Donde  $m_{\text{Teo}} = 5 \times 10^{-6}$  mol

El porcentaje de la concentración inicial electrolizada (% Co) al primer salto de potencial es de 77.8 %.

Y % Co electrolizado al segundo salto de potencial es de 103.64 %, un valor mayor al 100% podría deberse a la reacción de comproporción entre el  $\text{ABTS}^\circ$  generado en el electrodo con el  $\text{ABTS}^{2-}$  que aún no se electroliza y está en disolución, dicha reacción genera dos moléculas de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  por lo que se requerirá mayor tiempo para lograr electrolizar todo el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$ .

Esta electrólisis del  $\text{ABTS}^{2-}$  1 mM en DMSO utilizando una malla de platino como  $E_t$  (**ESPt<sub>1d</sub>**), dió como resultado una disolución morada, la que se caracterizó por espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$ , cuyos resultados sólo mostraron señales del  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  y  $\text{ABTS}^{2-}$ .

La electrólisis del  $\text{ABTS}^{2-}$  5 mM en DMSO utilizando una barra de carbono como  $E_t$  (**ESCv<sub>2d</sub>**), dió un cronopotenciograma de pulso sencillo parecido al de **ESPt<sub>1d</sub>**, la disolución resultante fue color amarilla y tuvo resultados favorables al caracterizarla por espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$ .

La electrólisis del  $\text{ABTS}^{2-}$  10 mM en DMSO utilizando una malla de platino como  $E_t$  (**ESPt<sub>2d</sub>**), dió un cronopotenciograma de pulso sencillo parecido al de **ESPt<sub>1d</sub>**, la disolución resultante fue de color naranja (Figura 22) con resultados favorables al caracterizarla por espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$  y Espectrofotometría UV-Vis.



Figura 22. Fotografía de la disolución final de la electrólisis **ESPt<sub>2d</sub>**.

#### 4.4. Caracterización por voltamperometría cíclica de las disoluciones de ABTS<sup>2-</sup> durante la electrólisis

Como parte de la caracterización y monitoreo de las disoluciones durante la electrólisis exhaustivas del ABTS<sup>2-</sup> en diferentes disolventes, se realizaron voltamperometrías cíclicas al inicio de la electrólisis, al 50% de la electrólisis y al 100% de la electrólisis, con la finalidad de comprobar si las oxidaciones del ABTS<sup>2-</sup> y de sus dos estados de oxidación se llevan a cabo y conocer así, si se forman nuevas especies electroactivas.

A continuación se muestra un ejemplo de las voltamperometrías cíclicas de la disolución de ABTS<sup>2-</sup> en H<sub>2</sub>O (**ESPt<sub>2a</sub>**) realizadas durante de la electrólisis:

En el voltamperograma cíclico de la Figura 23 (a) se observa el comportamiento que presenta la materia prima al inicio de la electrólisis (ABTS<sup>2-</sup> en H<sub>2</sub>O), este voltamperograma fue obtenido a una velocidad de barrido de 100 mV/s, iniciando el barrido de potencial en sentido anódico, en el intervalo de  $E_{i=0}$  a  $E_{+\lambda}$  se observan dos procesos de oxidación ( $I_{pa1}$  y  $I_{pa2}$ ), sus valores de potencial de pico anódico ( $E_{pa1}$  y  $E_{pa2}$ ) son 0.32 y 0.80 V/Ag-AgCl respectivamente. Cuando se invierte la dirección de barrido de potencial, se observan dos procesos de reducción en el intervalo  $E_{+\lambda}$  a  $E_{-\lambda}$  ( $I_{pc1}$ ,  $I_{pc2}$ ) a valores de potencial de pico catódico ( $E_{pc1}$  y  $E_{pc2}$ ) de 0.30 y 0.75 V/Ag-AgCl, estos potenciales de pico corresponden a la primera oxidación del ABTS<sup>2-</sup> a ABTS<sup>•-</sup> a  $E_{1/2} = 0.31$  V/Ag-AgCl y a la segunda oxidación de ABTS<sup>•-</sup> a ABTS<sup>°</sup> a  $E_{1/2} = 0.77$  V/Ag-AgCl y no se observan impurezas ni interferencias en la disolución que se va a electrolizar.

El voltamperograma cíclico de la Figura 23 (b) corresponde a la disolución de ABTS<sup>2-</sup> a la mitad de la electrólisis, se observa que el potencial a corriente nula ( $E_{i=0}$ ) se desplazó hacia la derecha lo que indica que el potencial de la disolución corresponde al potencial de ABTS<sup>•-</sup> porque fue

oxidado el  $\text{ABTS}^{2-}$  y el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  predomina en la disolución, el voltamperograma cíclico fue obtenido a una velocidad de barrido de 100 mV/s, iniciando el barrido de potencial en sentido anódico en el intervalo de  $E_{i=0}$  a  $E_{+\lambda}$  se observa un proceso de oxidación ( $I_{pa2}$ ) cuyo valor de potencial de pico anódico ( $E_{pa2}$ ) es 0.80 V/Ag-AgCl. Cuando se invierte la dirección de barrido de potencial, se observan tres procesos de reducción en el intervalo  $E_{+\lambda}$  a  $E_{-\lambda}$  ( $I_{pc1}$ ,  $I_{pc2}$  y  $I_{pc3}$ ) a valores de potencial de pico catódico ( $E_{pc1}$ ,  $E_{pc2}$  y  $E_{pc3}$ ) de 0.3, 0.75 y -1.00 V/Ag-AgCl estos potenciales corresponden a la reducción del  $\text{ABTS}^{\circ}$  a  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  ( $I_{pc2}$ ) y a la reducción de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  a  $\text{ABTS}^{2-}$  ( $I_{pc1}$ ) y el tercer valor a la reducción de un producto de la electrooxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$ . Cuando se llega a la barrera catódica, se hace una inversión de potencial y se barre ahora de  $E_{-\lambda}$  a  $E_{i=0}$ , se identifican los dos procesos de oxidación en ( $I_{pa3}$  y  $I_{pa1}$ ) a potenciales de pico  $E_{pa3}$  y  $E_{pa1}$  en 0.00 y 0.32 V/Ag-AgCl los cuales corresponden a la oxidación a un producto de la electrooxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  y a la primera oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  a  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  respectivamente.

Y por último, el voltamperograma cíclico de la Figura 23 (c) corresponde a la disolución de  $\text{ABTS}^{2-}$  al final de la electrólisis. Se observa que el potencial a corriente nula ( $E_{i=0}$ ) se desplazó hacia la izquierda y no se ubican potenciales de pico de oxidación o reducción correspondientes a alguna de las especie de  $\text{ABTS}^{2-}$ ,  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  o  $\text{ABTS}^{\circ}$ . El voltamperograma cíclico se realizó a una velocidad de barrido de 100 mV/s, iniciando el barrido de potencial en sentido anódico, en el intervalo de  $E_{i=0}$  a  $E_{+\lambda}$  no se observan procesos de oxidación, cuando se invierte la dirección de barrido de potencial, se observan un proceso de reducción en el intervalo  $E_{+\lambda}$  a  $E_{-\lambda}$  ( $I_{pc3}$ ) a valores de potencial de pico catódico ( $E_{pc3}$ ) de -1.00 V/Ag-AgCl perteneciente a la reducción de un producto de la electrooxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$ , cuando se llega a la barrera catódica se hace una inversión de potencial y se realiza el barrido de  $E_{-\lambda}$  a  $E_{i=0}$ , y se identifican los dos

procesos de oxidación en ( $I_{pa4}$  y  $I_{pa3}$ ) a potenciales de pico  $E_{pa2}$  y  $E_{pa3}$  en -0.75 y 0.00 V/Ag-AgCl los cuales corresponden a las oxidaciones de dos productos de la electrooxidación del  $ABTS^{2-}$ . En este voltamperograma cíclico ya no existen especies de  $ABTS^{2-}$ ,  $ABTS^{\bullet-}$  ni  $ABTS^{\circ}$  en disolución, lo que indica que después de la electrólisis, el  $ABTS^{\circ}$  formado es poco estable y se fragmenta para derivar en al menos dos especies electroactivas.

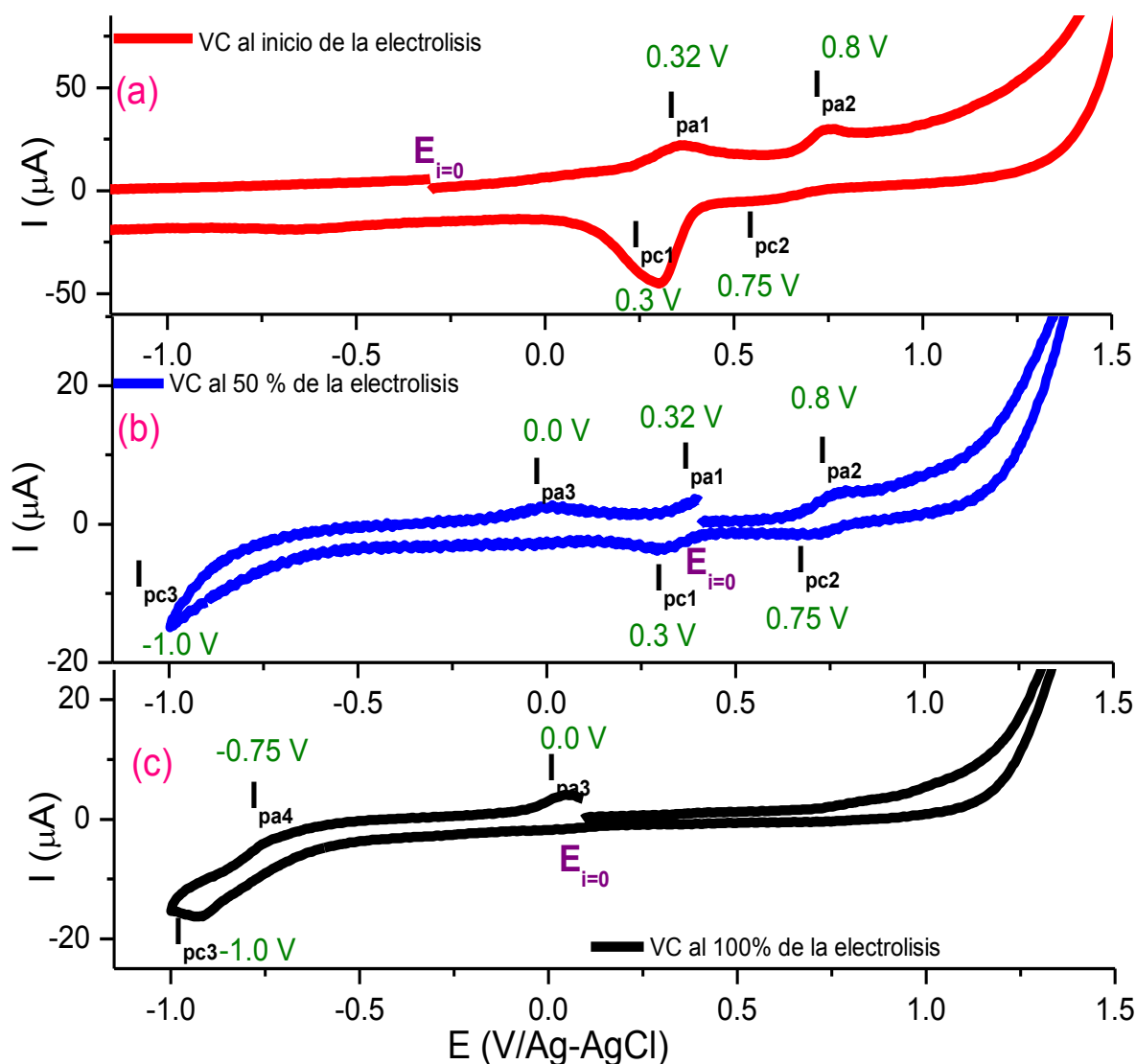


Figura 23. Voltamperogramas cíclicos de **ESPT<sub>2a</sub>** durante la electrólisis: (a) al inicio, (b) a la mitad de la electrólisis y (c) al finalizar la electrólisis. Se observa como el  $ABTS^{2-}$  y  $ABTS^{\bullet-}$  se van transformando en  $ABTS^{\circ}$  o en especies electroactivas cuyo potencial es de -0.75 y 0.0 V/Ag-AgCl.

Estos resultados confirman que el DMSO fue el mejor disolvente al compararlo con los resultados de las electrólisis del  $\text{ABTS}^{2-}$  en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{MeOH}$ . Las disoluciones resultantes **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** cumplieron con el objetivo planteado, el generar los productos de la electrooxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  para caracterizarlos por espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$  y espectrofotometría UV-Vis.

Para concluir con esta sección se encuentra que al analizar los voltamperogramas cíclicos durante la electrólisis exhaustiva el  $\text{ABTS}^\circ$  se absorbe en los electrodos de trabajo como es el caso de las disoluciones de  $\text{ABTS}^{2-}$  en  $\text{MeOH}$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , también se observa que el  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  forma un sólido poco soluble que se deposita en la superficie del electrodo de trabajo.

También se concluye que el  $\text{ABTS}^\circ$  es poco estable porque antes de terminar las electrólisis exhaustivas del  $\text{ABTS}^{2-}$  en DMSO los voltamperogramas cíclicos (no se muestran) sugieren la formación de varias especies electroactivas diferentes de las especies de  $\text{ABTS}^{2-}$ ,  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  o  $\text{ABTS}^\circ$ , por lo que se necesita hacer una caracterización de las disoluciones finales por técnicas como la espectrofotometría UV-Vis o por técnicas analíticas estructurales como la espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$  para saber qué es lo que le está sucediendo a la molécula y proponer un mecanismo de degradación del  $\text{ABTS}^\circ$  y en su caso proponer una forma de estabilizarlo.

#### **4.5. Caracterización espectrofotométrica de las muestras antes del 50 % de la electrólisis y antes del 100 % de la electrólisis de ESp<sub>t2d</sub>**

Se obtuvieron los espectros de absorción ultravioleta-visible en el intervalo de las longitudes de onda de 190 nm a 800 nm, de las muestras

al 50% de la electrólisis y al 100% de la electrólisis de **ESPt<sub>2d</sub>**, las cuales se diluyeron para obtener una concentración de 20  $\mu\text{M}$  y 200  $\mu\text{M}$  en DMSO, empleando el DMSO como blanco, las mediciones se hicieron en celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico, utilizando el espectrofotómetro de arreglo de diodos HP 8452.

En los espectros se determinaron las longitudes de onda ( $\lambda$ ) de máxima absorción, características de cada muestra, las cuales son descritas a continuación.

#### ***4.5.1. Espectro de absorción UV-Vis de la muestra antes del 50 % de la electrólisis de ESp<sub>t2d</sub>***

La Figura 24 presenta el espectro de absorción UV-Vis de la muestra antes del 50 % de la electrólisis de **ESPt<sub>2d</sub>**, la cual se diluyó para obtener una concentración de 20  $\mu\text{M}$  y 200  $\mu\text{M}$  en DMSO.

En el espectro de absorción UV-Vis se identificaron seis longitudes de onda de máxima absorción a 340 nm, 360 nm, 380 nm, 400 nm, 680 nm y 770 nm, sin embargo no se pueden calcular los coeficientes de absorción molar ( $\epsilon$ ) debido a que la disolución se trata de una mezcla y por lo tanto no se sabe la concentración de cada uno de sus componentes, ni cuantos se formaron.



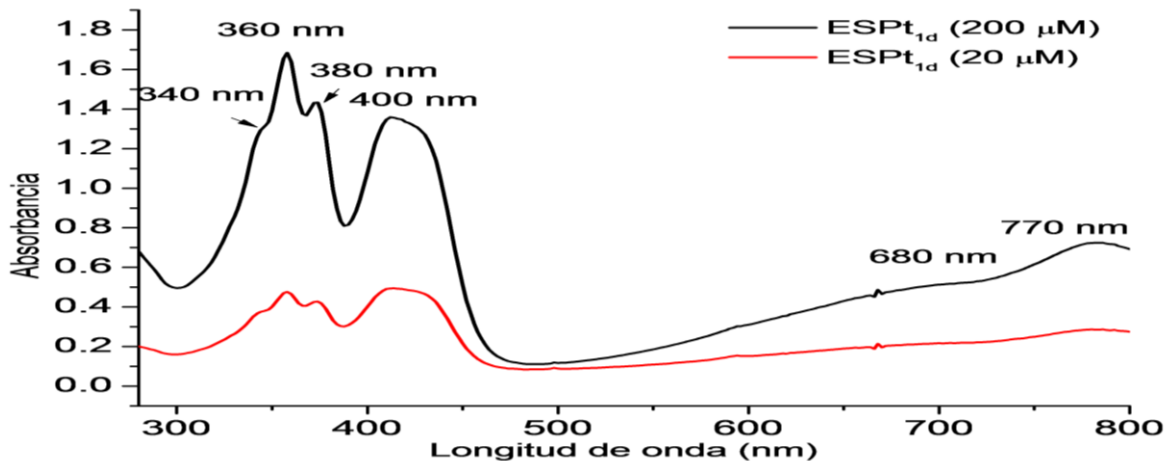


Figura 24. Espectro de absorción ultravioleta-visible de la muestra antes del 50 % de la electrólisis de **ESPT<sub>2d</sub>** en una disolución 20 μM (—) y 200 μM (—) en DMSO, utilizando DMSO como blanco, usando celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

El espectro de absorción UV-Vis corresponde a una mezcla de  $\text{ABTS}^{2-}$  y de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  ya que presenta señales características del  $\text{ABTS}^{2-}$  en 340 nm, 360 nm y 380 nm, reportadas previamente [34] y presenta también señales características del de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  en 400 nm, 660 nm y 750 nm las cuales fueron reportadas previamente para la especie  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  por Solís y *col.* [46]

#### **4.5.2. Espectro de absorción UV-Vis de la muestra antes del 100 % de la electrólisis de ESPT<sub>2d</sub>**

La Figura 25 presenta el espectro de absorción UV-Vis de la muestra antes del 100 % de la electrólisis de **ESPT<sub>2d</sub>**. En el espectro de absorción electrónica UV-Vis se identifican tres longitudes de onda de máxima absorción a 260 nm, 280 nm y 360 nm.

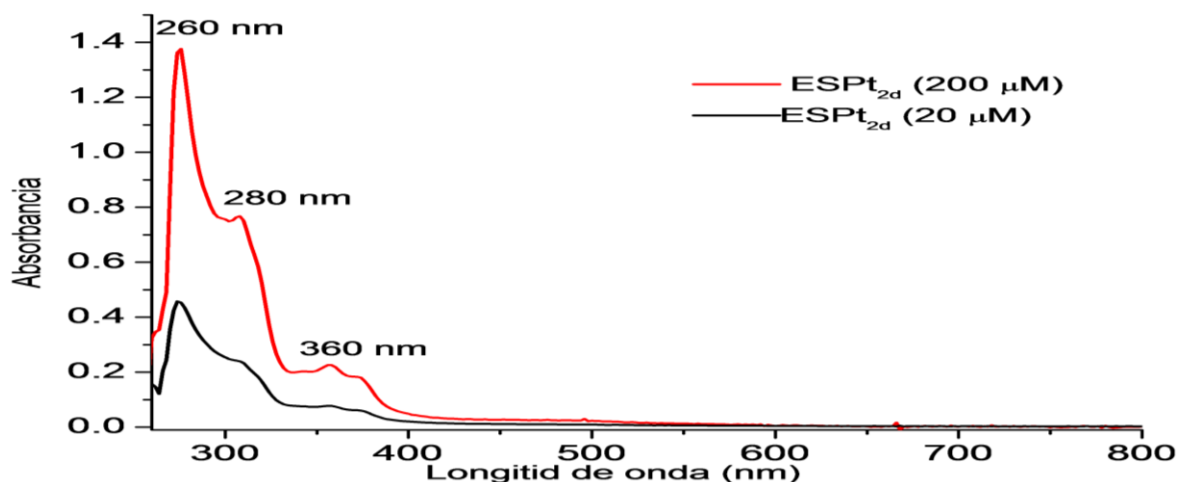


Figura 25. Espectro de absorción ultravioleta-visible de la muestra antes del 100 % de la electrólisis de **ESPT<sub>2d</sub>** en una disolución 20  $\mu\text{M}$  (—) y 200  $\mu\text{M}$  (—) en DMSO, utilizando DMSO como blanco, usando celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

Este espectro corresponde a una mezcla de  $\text{ABTS}^{2-}$  y subproductos de la electrólisis, ya que el espectro presenta señales características en 360 nm, reportadas previamente para el  $\text{ABTS}^{2-}$  [34] y también señales en 260 nm y 280 nm que podrían corresponder a los productos de la electrólisis, las cuales fueron reportadas previamente por J. González [43] y podrían corresponder a moléculas con anillos aromáticos sencillos por tratarse de señales que no absorben en el visible y el espectro también nos sugiere que estos productos están en mayor proporción porque dichas señales tienen mayor absorbancia con respecto a la señal del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

Como conclusión de esta sección tenemos que las disoluciones caracterizadas por espectrofotometría UV-Vis presentan todavía señales de  $\text{ABTS}^{2-}$  y  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  y también otras señales muy intensas que no absorben en el visible y que podrían corresponder a los productos de la electrólisis, las cuales podrían tratarse de moléculas con anillos aromáticos sencillos lo que sugiere que el segundo estado de oxidación ( $\text{ABTS}^{\circ}$ ) es inestable en disolución y se fragmenta en moléculas más sencillas con anillos aromáticos.

Para conocer las características de la estructura de estas moléculas, fue utilizada la técnica de resonancia magnética nuclear protónica la cual dió los resultados que se describen en la siguiente sección.

#### **4.6. Caracterización de los productos de la electrooxidación por RMN $^1\text{H}$**

Con base en los resultados obtenidos en el estudio electroquímico diagnóstico del  $\text{ABTS}^{2-}$  en diferentes disolventes, las voltamperometrías cíclicas realizadas durante y después de las electrolisis del  $\text{ABTS}^{2-}$  y la caracterización espectrofotométrica de la muestra de **ESPt<sub>2d</sub>** se puede afirmar que el  $\text{ABTS}^{\circ}$  da origen a nuevas especies con propiedades redox y espectrofotométricas diferentes. Para saber cuál es la estructura molecular de estas nuevas especies fue utilizada la espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$  porque es útil para la elucidación de estructuras moleculares.

Las muestras **ESCv<sub>2d</sub>** y **ESPt<sub>2d</sub>** fueron analizadas en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación de la Facultad de Química, las cuales tuvieron un tratamiento previo al análisis, donde a 4 mL de muestra se le agregaron 0.2 mL de TMS y 2 mL de  $\text{DMSO}_{d6}$ , se colocó este disolvente deuterado debido a que es necesaria la presencia del núcleo de deuterio en la muestra para controlar la estabilidad del campo magnético mediante el canal que fija la señal (canal de lock - canal de anclaje).

En los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de **ESCv<sub>2d</sub>** y **ESPt<sub>2d</sub>**, se observan distintos desplazamientos químicos diferentes del  $\text{ABTS}^{2-}$ , es importante mencionar que la disolución al final de la electrólisis es una mezcla conformada por el electrolito soporte, el disolvente y todos los subproductos de la electrólisis del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de **ESCv<sub>2d</sub>** y **ESPt<sub>2d</sub>** muestran en la zona de los alifáticos (1 a 5 ppm) cuatro señales con desplazamientos químicos en 0.9 ppm, 1.1 ppm, 2.3 ppm y 3.2 ppm (en la Figura 26: **1**, **2**, **3** y **4** respectivamente), que corresponden a los núcleos de los hidrógenos de los butilos del electrolito soporte ( $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$ ), así mismo los espectros presentan dos señales muy intensas en 2.4 y 4 ppm correspondientes a la señal del disolvente (DMSO) y al agua presente en la disolución de las muestras (Figura 26). La diferencia entre las intensidades de las señales de los subproductos de la electrólisis y las señales del electrolito soporte son debido a que el electrolito soporte  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  se encontraba a una concentración 100 veces mayor que la materia prima y el disolvente (DMSO) y el agua procedente del ambiente estaban a concentraciones mayores.

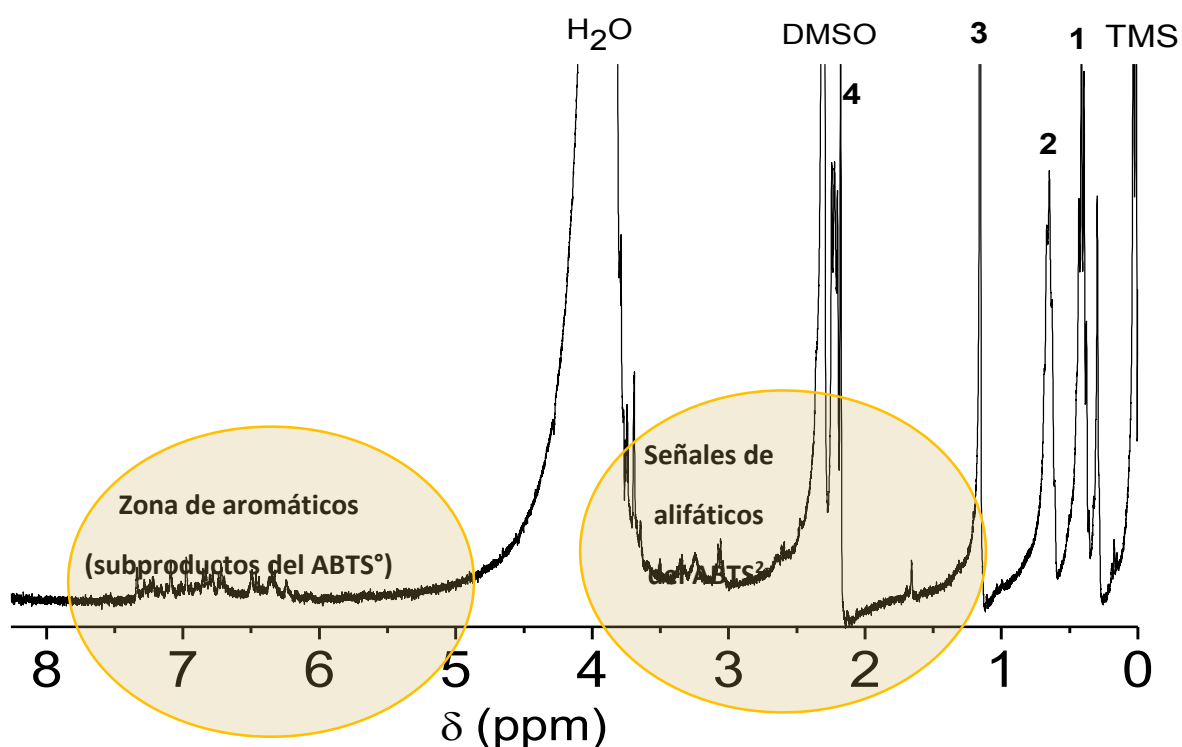


Figura 26. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **ESCv<sub>2d</sub>** obtenido a 400 MHz en  $\text{DMSO}_{d6}$  con referencia interna TMS, las señales más intensas corresponden al electrolito soporte  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  (**1**) 0.9, (**2**) 1.1, (**3**) 2.3 y (**4**) 3.2 ppm, el disolvente DMSO (2.4 ppm) y el  $\text{H}_2\text{O}$  presente en la disolución (4 ppm).

Los acoplamientos de las señales que corresponden a los núcleos de los hidrógenos de los butilos del electrolito soporte fueron comprobados realizando el espectro de RMN  $^1\text{H}$  COSY identificando los acoplamientos correspondientes donde un el triplete en 0.9 ppm esta acoplado con la señal de sextuplete en 1.1 ppm la cual a su vez también esta acoplada con un quintuplete en 2.3 ppm la cual está también acoplada con un triplete en 3.2 ppm (Figura 27).

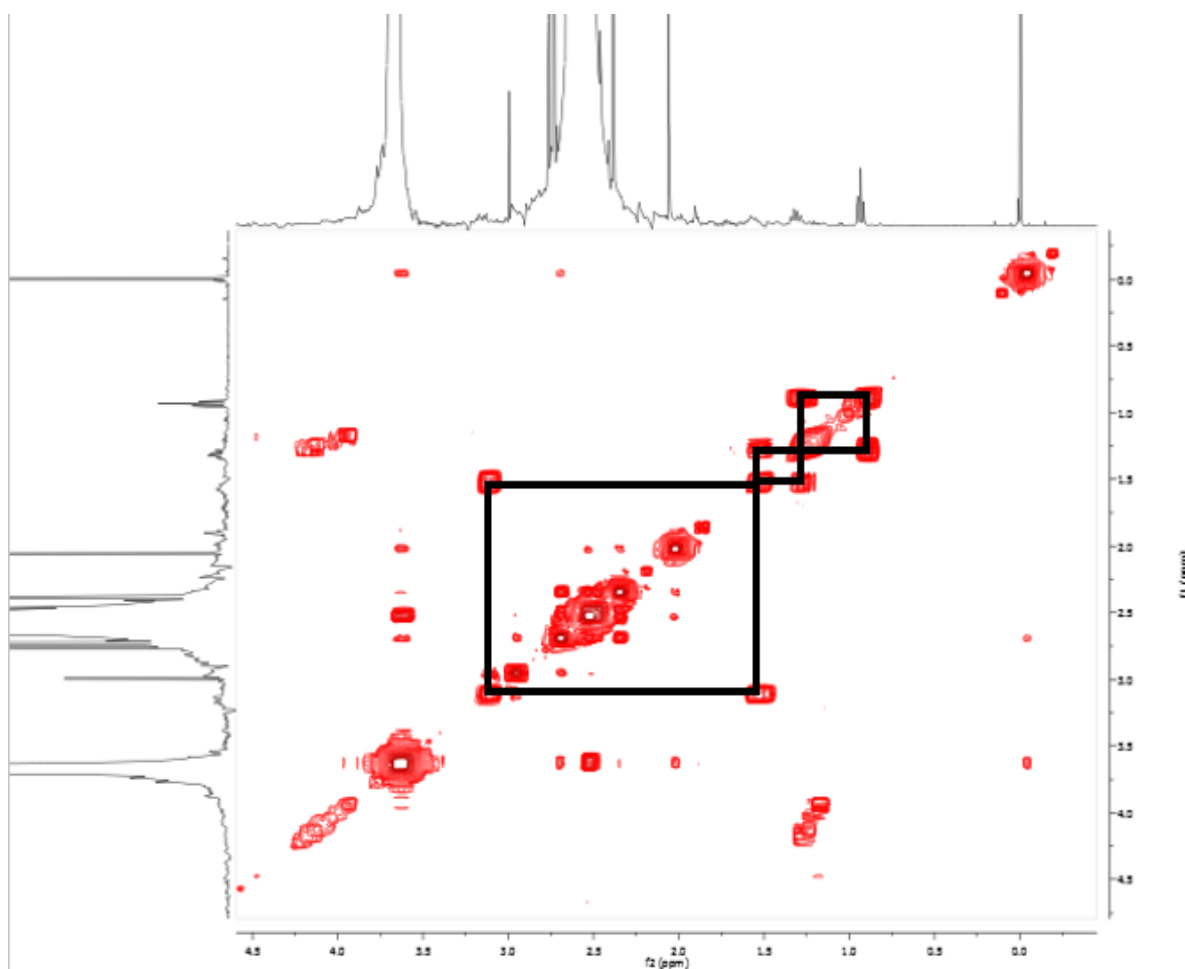


Figura 27. Espectros de correlación homonuclear (COSY) de la zona de alifáticos de **ESPT<sub>2d</sub>**, las líneas de color negro corresponden a las señales de correlación de los hidrógenos de los butilos del electrolito soporte  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  en 0.9 ppm, 1.1 ppm, 2.3 ppm y 3.2 ppm respectivamente.

Una vez identificadas las señales del disolvente DMSO, del H<sub>2</sub>O y del electrolito soporte, en los espectros de RMN <sup>1</sup>H de las muestras **ESCv<sub>2d</sub>** y **ESPt<sub>2d</sub>**, se observó que tanto en la zona de alifáticos como en la de aromáticos existe un mayor número de señales que las esperadas para el ABTS<sup>2-</sup>, debido a que los patrones de señales son muy complejos (Figura 28), los espectros fueron comparados con el espectro de RMN <sup>1</sup>H de la materia prima (ABTS<sup>2-</sup>).

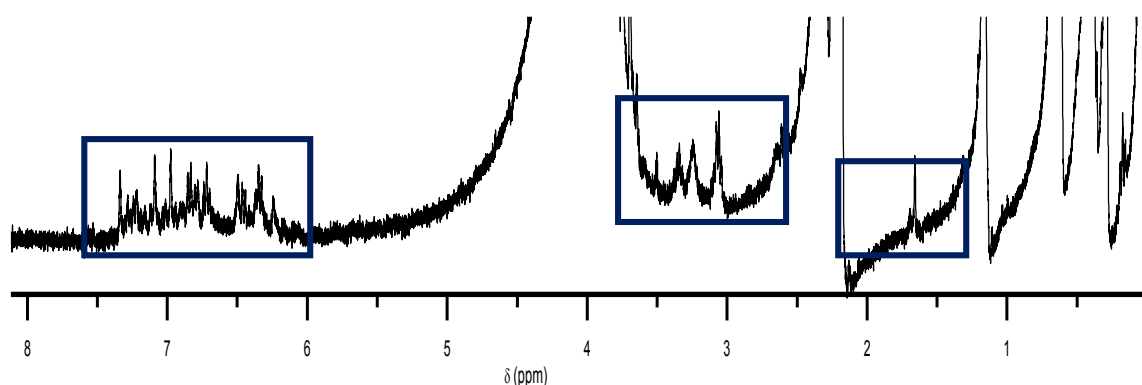


Figura 28. Asignación del espectro de RMN <sup>1</sup>H de **ESCv<sub>2d</sub>**, el cual muestra tanto en la zona de alifáticos como en la zona de aromáticos mayor número de señales a las esperadas para el ABTS<sup>2-</sup>. El espectro fue obtenido a 400 MHz en DMSO<sub>d6</sub> con referencia interna TMS.

El espectro con el cual fueron comparadas las muestras **ESCv<sub>2d</sub>** y **ESPt<sub>2d</sub>** fue obtenido utilizando ABTS<sup>2-</sup> estándar, empleando DMSO<sub>d6</sub> como disolvente a una frecuencia de 400 MHz con referencia interna TMS (Figura 30).

El espectro de RMN <sup>1</sup>H de la materia prima (ABTS<sup>2-</sup>) presenta los siguientes desplazamientos químicos correspondientes a los núcleos de los hidrógenos del ABTS<sup>2-</sup> (Figura 29) ver Tabla 5.

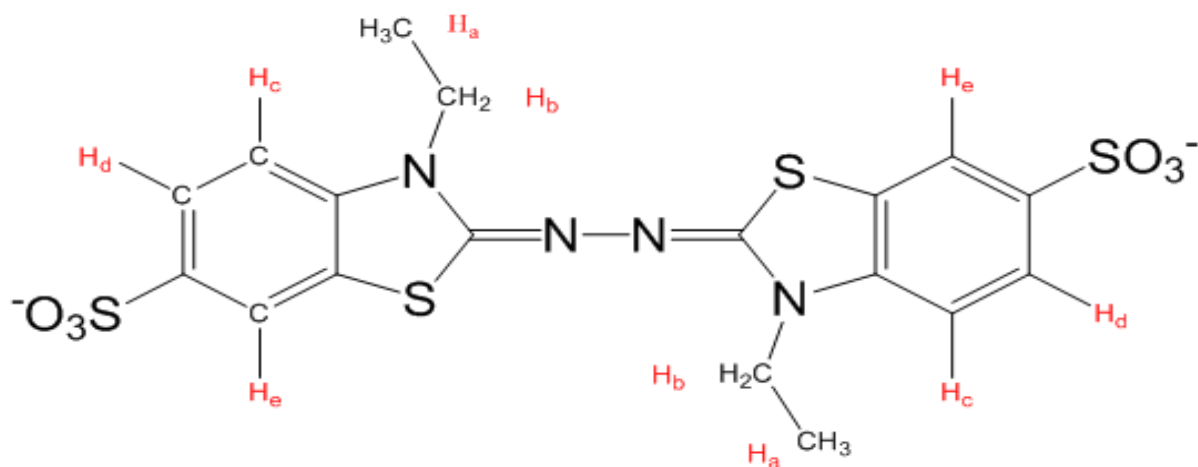


Figura 29. Asignación de los núcleos de los hidrógenos con diferente ambiente químico  $H_a$ ,  $H_b$ ,  $H_c$ ,  $H_d$  y  $H_e$  del  $ABTS^{2-}$ .

Tabla 5. Desplazamientos químicos y multiplicidad de los cinco hidrógenos con diferente ambiente químico de la molécula de  $ABTS^{2-}$ .

Núcleo de H	$\delta$ (ppm)	multiplicidad
<b>H<sub>a</sub></b>	1.27	Triplete
<b>H<sub>b</sub></b>	4.07	Cuarteto
<b>H<sub>c</sub></b>	7.12	Doblete
<b>H<sub>d</sub></b>	7.54	Doble de dobles
<b>H<sub>e</sub></b>	7.72	Doblete

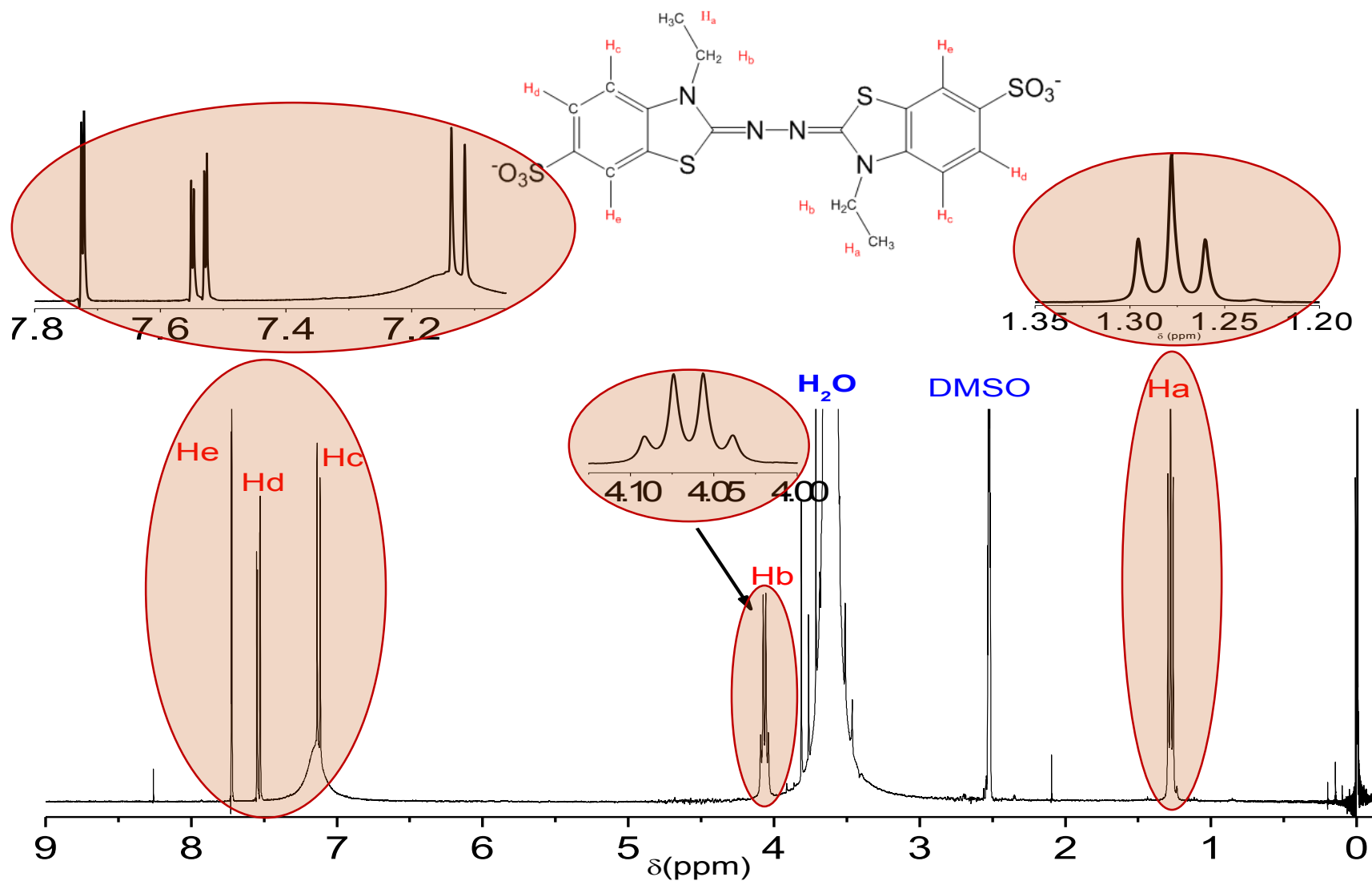


Figura 30. Espectro de RMN <sup>1</sup>H para el ABTS<sup>2-</sup>estandar. En la zona de alifáticos se encuentran dos señales pertenecientes a un triplete y un cuarteto a 1.27 y 4.07 ppm, en la zona de aromáticos se encuentran tres señales: un doblete, un doble de dobles y un doblete a 7.12, 7.54 y 7.72 ppm respectivamente, el espectro de RMN <sup>1</sup>H se obtuvo a 400 MHz en DMSO<sub>d6</sub> con referencia interna TMS.



Como se puede apreciar en la Tabla 5 y en la Figura 30, el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del  $\text{ABTS}^{2-}$  presenta cinco diferentes tipos de señales, dos correspondientes a hidrógenos alifáticos ( $\text{H}_a$  y  $\text{H}_b$ ) (tripleto en 1.27 ppm  $\text{H}_a$  que integra para 6 hidrógenos con una  $J_{\text{H-H}} = 7.2$  Hz y un cuarteto en 4.07 ppm  $\text{H}_b$  que integra para cuatro hidrógenos con una  $J_{\text{H-H}} = 7.2$  Hz) y tres que corresponden a los hidrógenos aromáticos (doblete en 7.12 ppm  $\text{H}_c$  que integra para dos hidrógenos con una  $J_{\text{H-H}} = 8.4$  Hz, un doble de dobles en 7.54 ppm  $\text{H}_d$  que integra para dos hidrógenos con una  $J_{\text{H-H}} = 8.4$  Hz y  $J_{\text{H-H}} = 1.06$  Hz, y un doblete en 7.72 ppm  $\text{H}_e$  que integra para dos hidrógenos con una  $J_{\text{H-H}} = 1.06$  Hz).

Para determinar si existe  $\text{ABTS}^{2-}$  en el producto de la electrólisis, se comparan las señales del espectro de RMN  $^1\text{H}$  del  $\text{ABTS}^{2-}$  con las señales de los espectros de **ESCv<sub>2d</sub>** y **ESPt<sub>2d</sub>**. En el espectro de **ESCv<sub>2d</sub>**, se encontró una gran coincidencia en las señales del  $\text{ABTS}^{2-}$  en 1.27 ppm, 4.07 ppm, 7.12 ppm, 7.54 ppm y 7.72 ppm, tal como se muestra en la Figura 31.

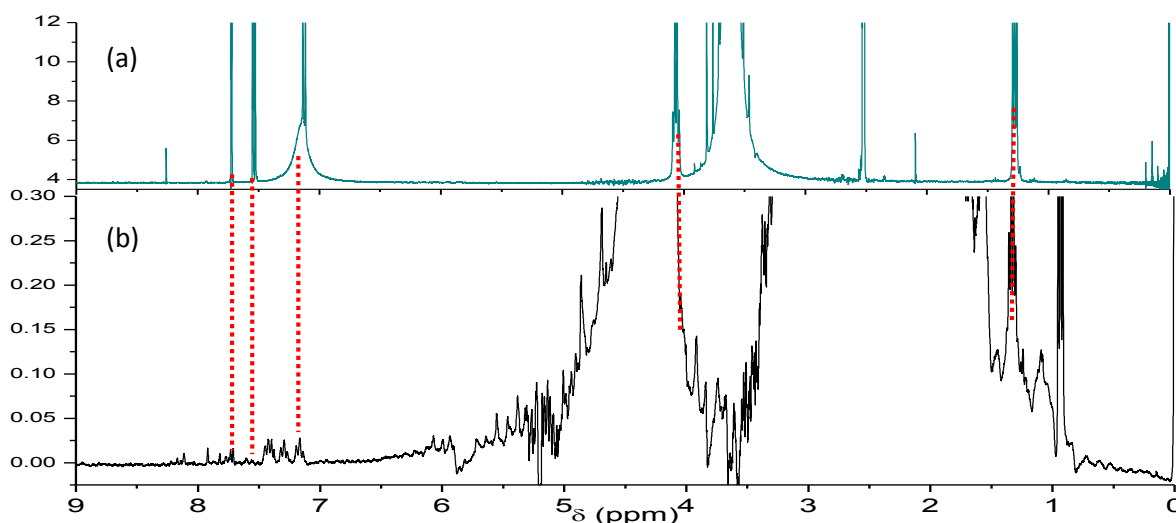


Figura 31. Comparación de las señales del espectro de RMN  $^1\text{H}$  del  $\text{ABTS}^{2-}$  estándar (a) con las señales del espectro de **ESCv<sub>2d</sub>** (b) Se observan coincidencias en las señales en 1.27, 4.07, 7.12, 7.54 y 7.72 ppm. Los espectros fueron obtenidos a una frecuencia de 400 MHz en  $\text{DMSO}_{d6}$  con referencia interna TMS.

Y por otra parte el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **ESPt<sub>2d</sub>** no presentó coincidencias en los desplazamientos químicos del espectro de RMN  $^1\text{H}$  del ABTS<sup>2-</sup> estándar.

Una vez asignadas las señales que corresponden a la materia prima aún presente en la disolución final de la electrólisis, se procede a analizar el espectro de RMN  $^1\text{H}$  para estudiar el resto de las señales. Sin embargo debido a los complicados patrones de acoplamiento que se presentan, se recurre al espectro de correlación homonuclear hidrógeno-hidrógeno (COSY).

Para ello es importante revisar el espectro de correlación homonuclear hidrógeno-hidrógeno COSY del ABTS<sup>2-</sup> estándar (Figura 32), el cual en la zona de alifáticos (1 a 5 ppm), muestra que la señal triple en 1.27 ppm se acopla con la señal en 4.07 ppm (cuarteto). En la zona de aromáticos (6 a 8 ppm) la primera señal en 7.12 ppm (doblete) se acopla con la señal en 7.54 ppm (doble de dobles), esta señal presenta además un acoplamiento con la señal en 7.72 ppm (doblete).

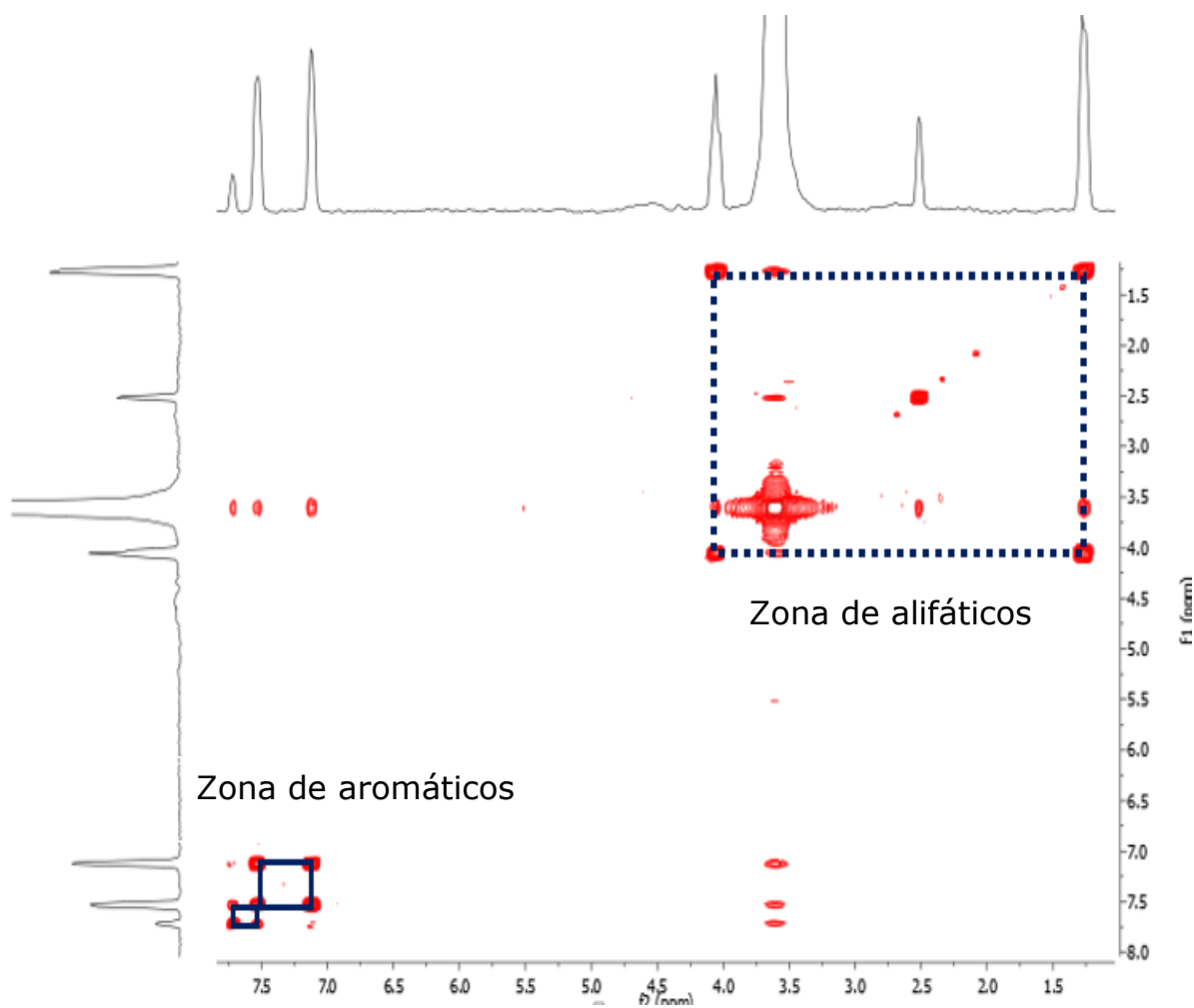


Figura 32. Espectro de correlación homonuclear (COSY) del ABTS<sup>2-</sup>, señales de correlación de los hidrógenos alifáticos del ABTS<sup>2-</sup> en 1.27 y 4.07 ppm respectivamente (-----) y señales de correlación de los hidrógenos aromáticos del ABTS<sup>2-</sup> en 7.12, 7.54 y 7.72 ppm respectivamente (—).

El espectro de correlación hidrógeno–hidrógeno COSY del ABTS<sup>2-</sup> se obtuvo para conocer los patrones de acoplamiento que presentan los núcleos de los hidrógenos de la molécula, una vez identificados los patrones de acoplamiento que presenta el ABTS<sup>2-</sup> se recurrió al espectro de correlación homonuclear hidrogeno-hidrógeno COSY de las muestras **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** ya que estas presentaban un complejo patrón de señales, el análisis del espectro COSY permitió saber que señales estaban

acopladas y podrían pertenecer a la misma molécula subproducto del  $\text{ABTS}^{2-}$  y conocer el número de moléculas distintas que están presentes en las disoluciones al final de las electrólisis.

Para facilitar el análisis y discusión de los datos, se presenta el espectro de correlación hidrógeno-hidrógeno COSY de las muestras **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** en dos partes: zona de alifáticos (1 ppm a 5 ppm) y zona de aromáticos (6 ppm a 8 ppm).

#### ***4.6.1. Espectros de RMN $^1\text{H}$ de los productos de la electrólisis en la zona de alifáticos***

Una vez analizado el patrón de acoplamiento que presenta la materia prima en la zona de alifáticos, ese patrón de acoplamiento de las señales fue utilizado como una estrategia para buscar las señales que se acoplan en el espectro COSY de las muestras y así identificar cuales señales presentes en la zona de alifáticos estaban acopladas con otras señales en la zona de alifáticos.

El espectro de correlación homonuclear hidrogeno-hidrogeno COSY de **ESPt<sub>2d</sub>** (Figura 33) presenta en la zona de alifáticos (1 a 5 ppm) una señal en 1.24 ppm que se asigna con la señal en 4.00 ppm (----), también presenta una señal en 1.30 ppm que se acopla con la señal en 4.10 ppm (.....).

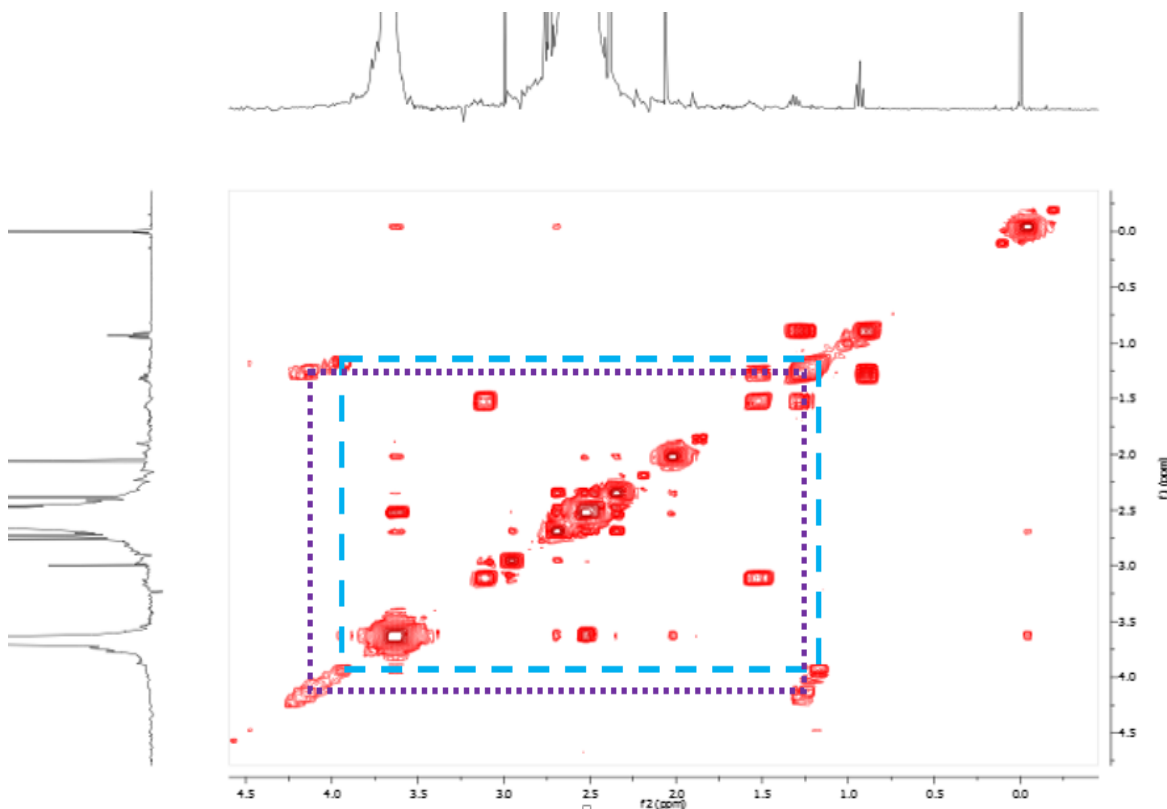


Figura 33. Espectro de correlación homonuclear (COSY) de la zona de alifáticos de **ESPt<sub>2d</sub>**, las líneas de color corresponden a las señales de correlación de los hidrógenos de los etilos de los etilbenzotiazoles, de los subproductos del ABTS<sup>o</sup> (1.24 ppm, 4.00 ppm (-----) y 1.30 ppm, 4.10 ppm (.....)).

El espectro de correlación homonuclear hidrógeno-hidrógeno COSY de **ESCv<sub>2d</sub>** (Figura 34) presenta en la zona de alifáticos (1 a 5 ppm) una señal en 1.10 ppm que se acopla con la señal en 3.95 ppm (-----) y también presenta una señal en 1.35 ppm que se acopla con la señal en 4.10 ppm (-●-●-●-), esta última señal corresponde a las señales de correlación de los hidrógenos de los etilos de los etilbenzotiazoles, del ABTS<sup>2-</sup> presente en la muestra el cual fue previamente descrito.

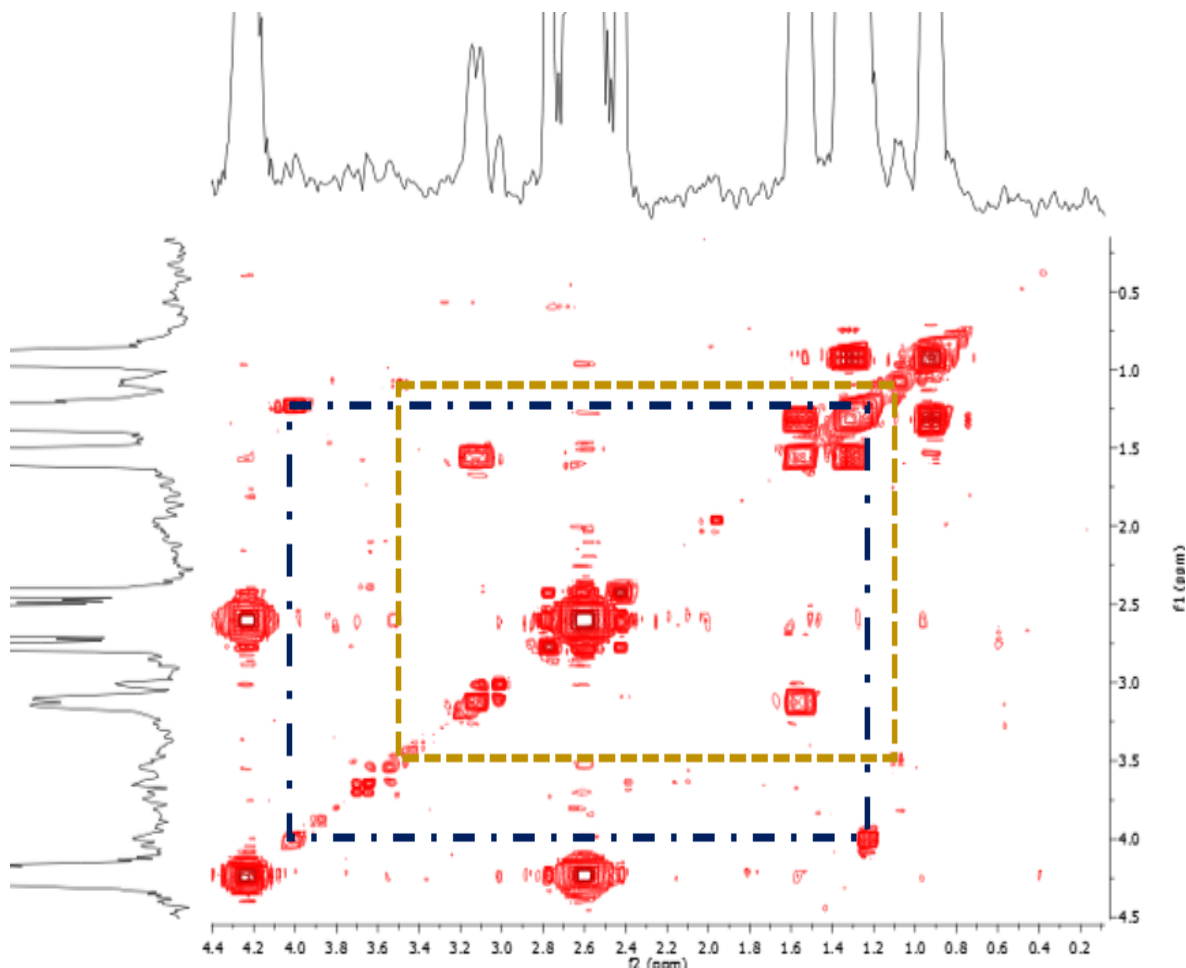


Figura 34. Espectro de correlación homonuclear (COSY) de la zona de alifáticos de **ESCv<sub>2d</sub>**, las líneas de color corresponden a las señales de correlación de los hidrógenos de los etilos de los etilbenzotiazoles, de los subproductos del ABTS<sup>o</sup> (1.10 ppm y 3.95 ppm (---)), 1.35 ppm y 4.10 ppm (-•-•-•-))

Al analizar los espectros de RMN <sup>1</sup>H COSY en la zona de los alifáticos se observó la presencia de dos diferentes patrones de acoplamiento, pertenecientes a grupos etilos de distintos subproductos de oxidación del ABTS<sup>2-</sup>, así mismo se identificó que las señales en 1.24 ppm y 4.0 ppm al parecer corresponden a un mismo subproducto que se forma en **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** pues ambos espectros presentan los mismos desplazamientos químicos (Figura 35).

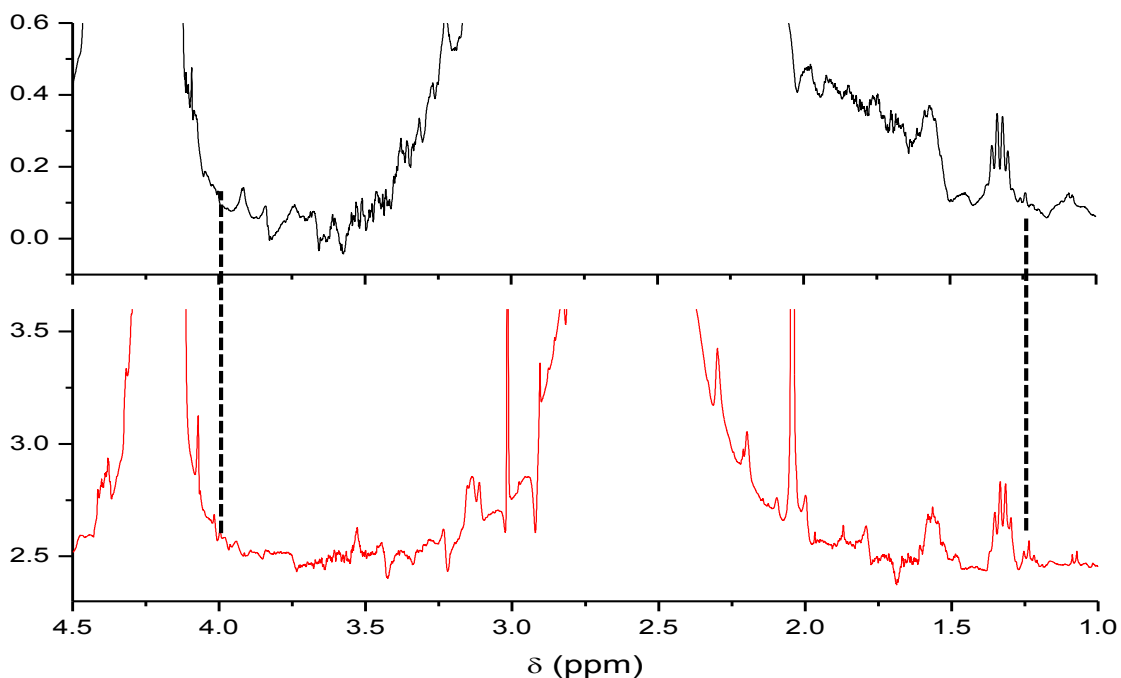


Figura 35. Espectros de RMN  $^1\text{H}$  de **ESCv<sub>2d</sub>** y **ESPt<sub>2d</sub>** en la zona de alifáticos, se identifica que las señales de 1.24 ppm y 4.0 ppm en ambos espectros, parecen pertenecer a un mismo subproducto de oxidación del ABTS $^{2-}$ . Los espectros fueron obtenidos a una frecuencia de 400 MHz en  $\text{DMSO}_{d6}$  con referencia interna TMS.

#### ***4.6.2. Espectros de RMN $^1\text{H}$ de los productos de la electrólisis en la zona de aromáticos.***

Por otra parte los espectros de los RMN  $^1\text{H}$  de las muestras **ESCv<sub>2d</sub>** y **ESPt<sub>2d</sub>**, presentan en la zona de los aromáticos (6 a 8 ppm) varias señales con diferentes desplazamientos químicos y multiplicidad, debido a los complejos patrones de señales se recurre al espectro de correlación homonuclear hidrógeno-hidrógeno para identificar los diferentes grupos de señales correspondientes a diferentes anillos aromáticos presentes en la mezcla.

A partir del espectro de COSY del ABTS $^{2-}$  fue posible conocer los patrones de acoplamiento en la zona de aromáticos de las moléculas de etilbenzotiazol, estas moléculas presentan un patrón de acoplamiento

donde la señal doble en 7.12 ppm ( $H_c$ ) se acopla con la señal doble de dobles en 7.54 ppm ( $H_d$ ), esta señal presenta además un acoplamiento con la señal del doblete en 7.72 ppm ( $H_e$ ) (Figura 36).

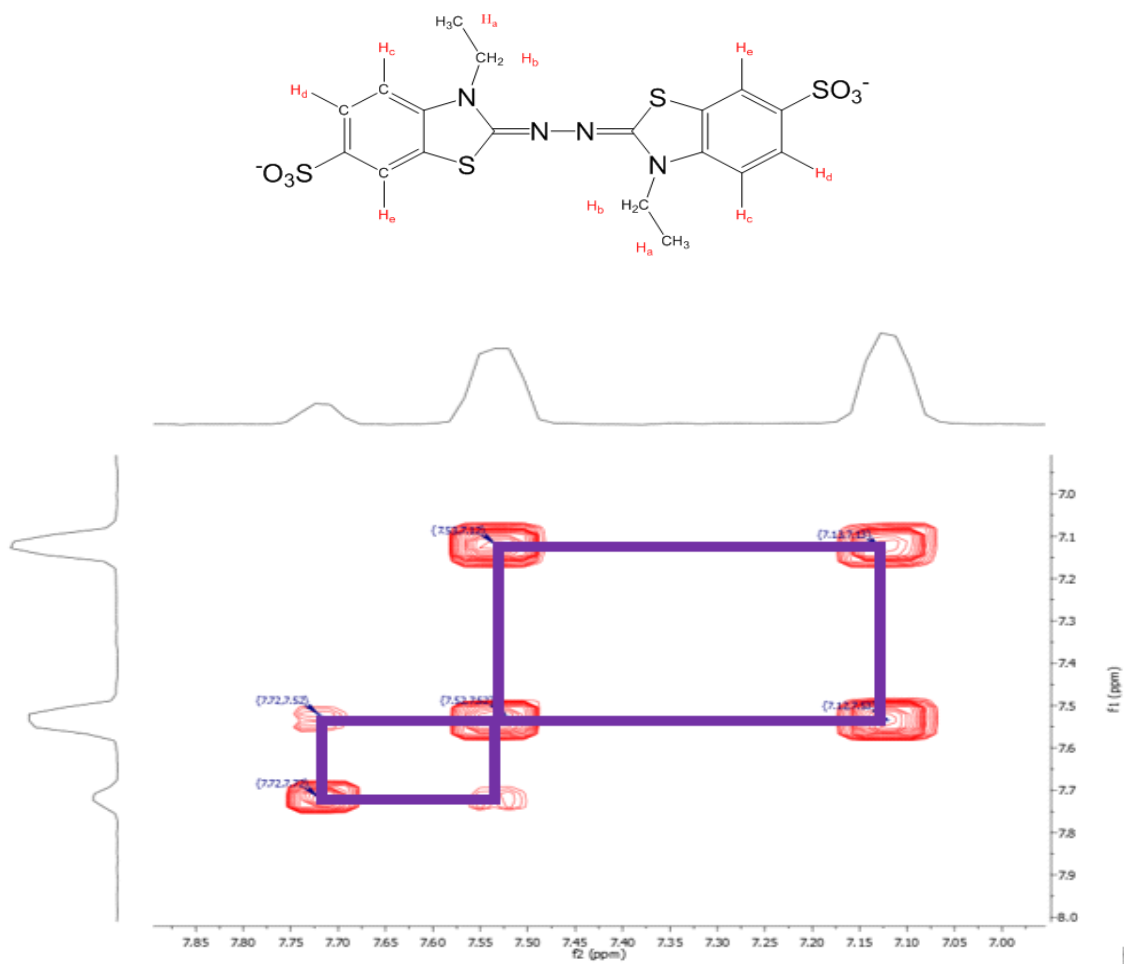


Figura 36. Espectro COSY de la zona de aromáticos del ABTS<sup>2-</sup> estándar se observa el patrón de acoplamiento donde la señal doble en 7.12 ppm se acopla con la señal doble de dobles en 7.54 ppm, esta señal presenta además un acoplamiento con la señal del doblete en 7.72 ppm.

Para saber cuáles señales estaban correlacionadas y pertenecían a la misma molécula, se revisaron las zonas de aromáticos de los espectros de RMN <sup>1</sup>H COSY de las muestras **ESCv<sub>2d</sub>** y **ESPt<sub>2d</sub>** (Figuras 37 y 38) los cuales al ser analizados dieron como resultado la presencia en promedio de tres pares de señales cuyos núcleos de hidrógeno se encuentran



acoplados entre sí, correspondientes a tres diferentes tipos de anillos aromáticos.

A continuación se describe un patrón de señales que presentaba el espectro de correlación homonuclear COSY de **ESPt<sub>2d</sub>** (Figura 37), donde se observa una señal en 7.38 ppm acoplada a otra señal en 7.71 ppm que a su vez esta acoplada a otra señal en 7.89 ppm (•••••). Este mismo patrón de señales se presentaba para las señales en 7.63, 8.02 y 8.15 ppm (----) y para las señales en 7.74, 8.11 y 8.22 ppm (•-•-•-).

Para el espectro de **ESCV<sub>2d</sub>** (Figura 38), se presenta el mismo patrón de señales antes descrito para las señales en 7.18 ppm, 7.61 ppm y 7.67 ppm (-•--•-), 7.38 ppm, 7.71 y 7.89 ppm (----) y para las señales en 7.75 ppm, 8.13 ppm y 8.17 ppm (\_\_\_\_\_).

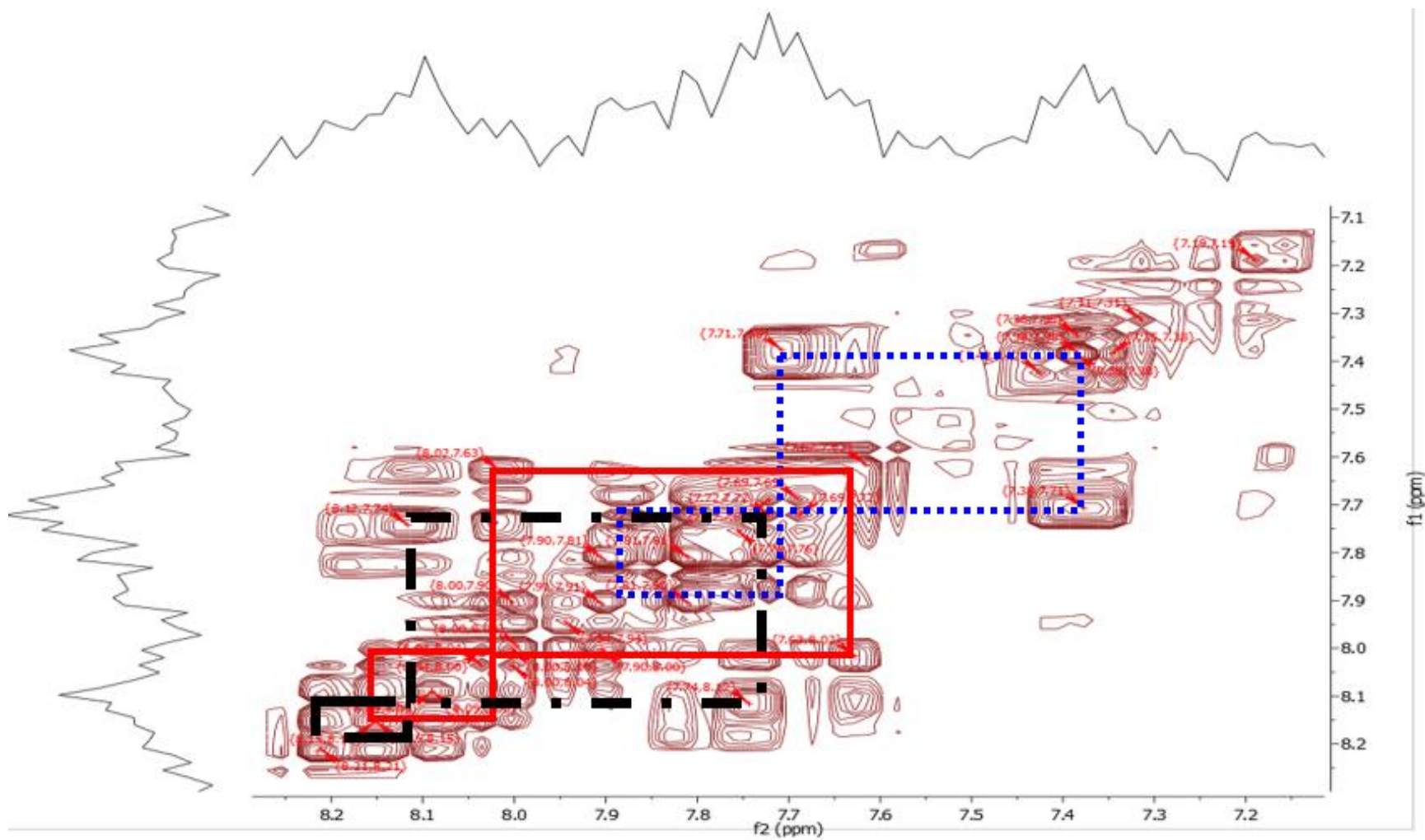


Figura 37. Espectro de correlación homonuclear (COSY) de la zona de aromáticos de **ESPT<sub>2d</sub>**, las líneas de color corresponden a las señales de correlación de los hidrógenos de los anillos aromáticos de los etilbenzotiazoles de las moléculas derivadas del ABTS°.

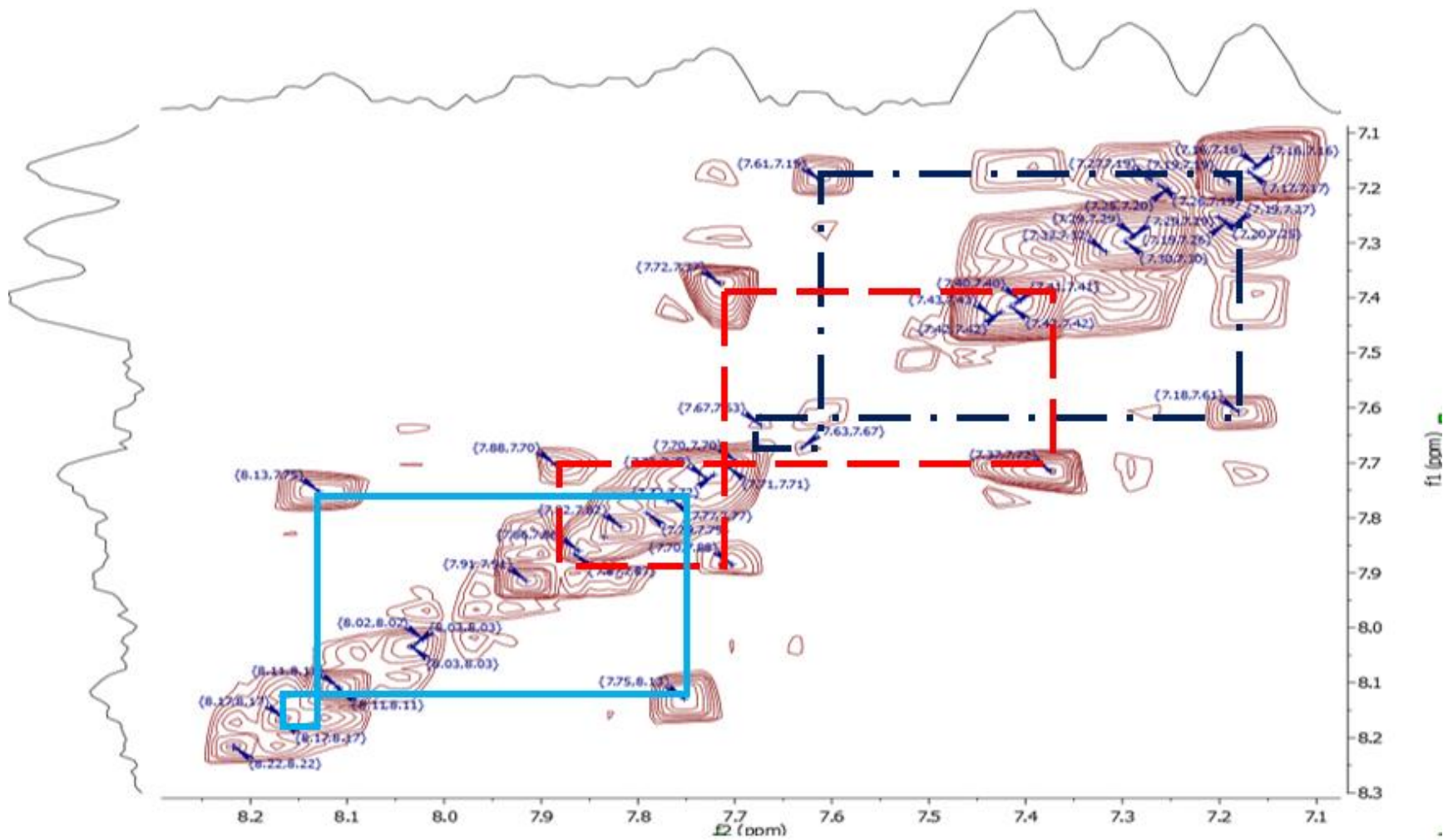


Figura 38. Espectro de correlación homonuclear (COSY) de la zona de aromáticos de **ESCV<sub>2d</sub>**, las líneas de color corresponden a las señales de correlación de los hidrógenos de los anillos aromáticos de los etilbenzotiazoles de las moléculas derivadas del ABTS°.

Con los resultados de los espectros COSY de las muestras de **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** es posible identificar la presencia de tres diferentes patrones de acoplamiento los cuales podrían pertenecer a distintos anillos aromáticos presentes en las disoluciones finales de la electrólisis del ABTS<sup>2-</sup>.

Al analizar los espectros COSY de las muestras **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** tanto en la zona de alifáticos como en la zona de aromáticos, se identificó que los espectros en la zona de alifáticos presentan dos diferentes señales correlacionadas que podrían tratarse de dos grupos etilos y en la zona de aromáticos se observaron tres diferentes señales correlacionadas que podrían tratarse de tres diferentes grupos aromáticos de los subproductos del ABTS<sup>o</sup>, esto es debido a que las moléculas derivadas del ABTS<sup>o</sup> podrían ser tres o más, pero los núcleos de los hidrógenos del grupos etilo presentan similar ambiente químico,

Por otra parte para poder designar en que moléculas se fragmenta el ABTS<sup>o</sup> durante las electrólisis exhaustivas, se compararon los desplazamientos químicos que presentaban los productos de la electrólisis **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** con los desplazamientos químicos de los espectros de RMN <sup>1</sup>H reportados por Osman <sup>[24]</sup> (Figura 39), el reporta que el ABTS<sup>2-</sup> se fragmenta en las siguientes moléculas: 3-etil 2-benzotiazolina-6-sulfonimina, 3-etil 2-benzotiazolina-6-sulfohidrazona.

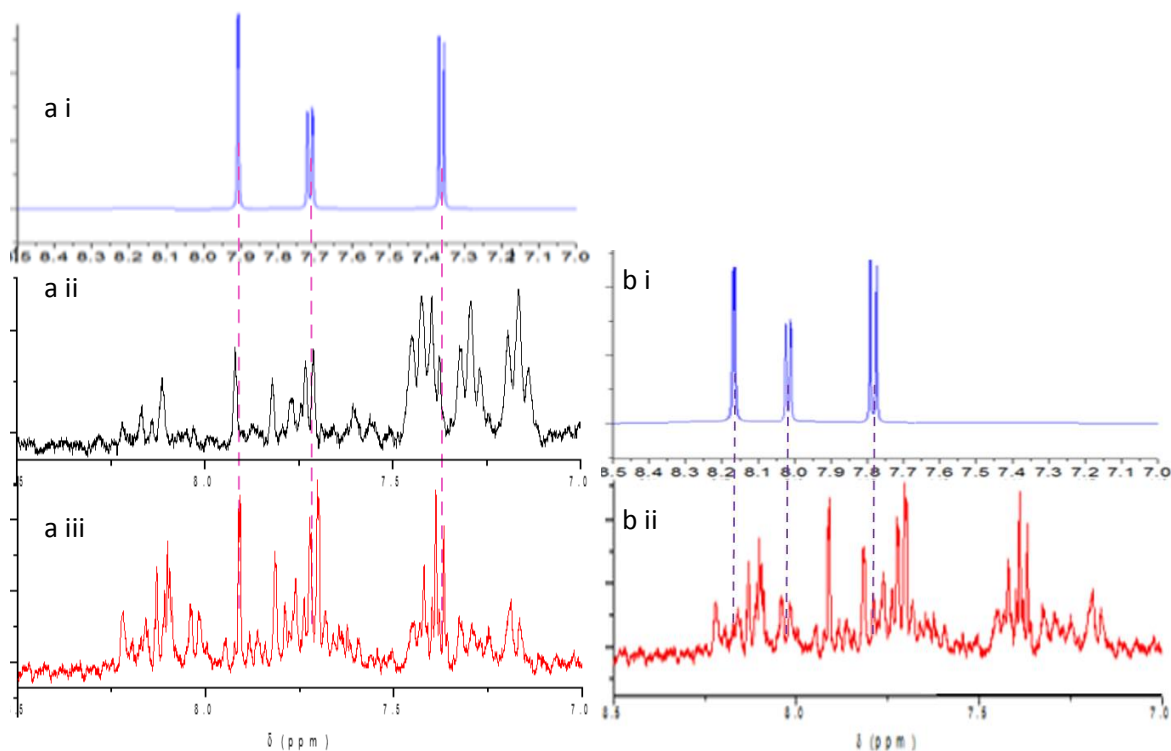


Figura 39. Comparación de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  reportados por Osman para: la 3-etil 2-benzotiazolina-6 sulfonimina (ai) con los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de las muestras **ESCv<sub>2d</sub>** (a ii) y **ESPT<sub>2d</sub>** (a iii) y para la 3-etil 2-benzotiazolina-6-sulfohidrazona (bi) con el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la muestra **ESPT<sub>2d</sub>** (b ii).

Al comparar los desplazamientos químicos de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  que reporta Osman para las moléculas 3-etil 2-benzotiazolina-6 sulfonimina y 3-etil 2-benzotiazolina-6-sulfohidrazona con los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de las muestras **ESPT<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** se encontraron similitud en algunos de los desplazamientos químicos (Figura 39) los cuales serán descritos a continuación:

Las señales en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  y en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  COSY de la 3-etil-6-sulfonato benzotiazolona presentan un desplazamiento químico en 7.38, 7.71 y 7.89 ppm y al comparar los desplazamientos químicos que reporta Osman para la 3-etil-6-sulfonato benzotiazolona con los desplazamientos químicos de las muestras **ESPT<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>**, las señales coinciden en ambos espectros, dichas señales integran para un

hidrógeno y tienen una constante de acoplamiento  $J_{H-H}$  de 8.25 Hz y 1.2 Hz respectivamente, estas señales presentan patrones de acoplamiento correspondientes a los hidrógenos *orto* y *meta* de la molécula 3-etil-6-sulfonato benzotiazolona (Figuras 40 y 41).

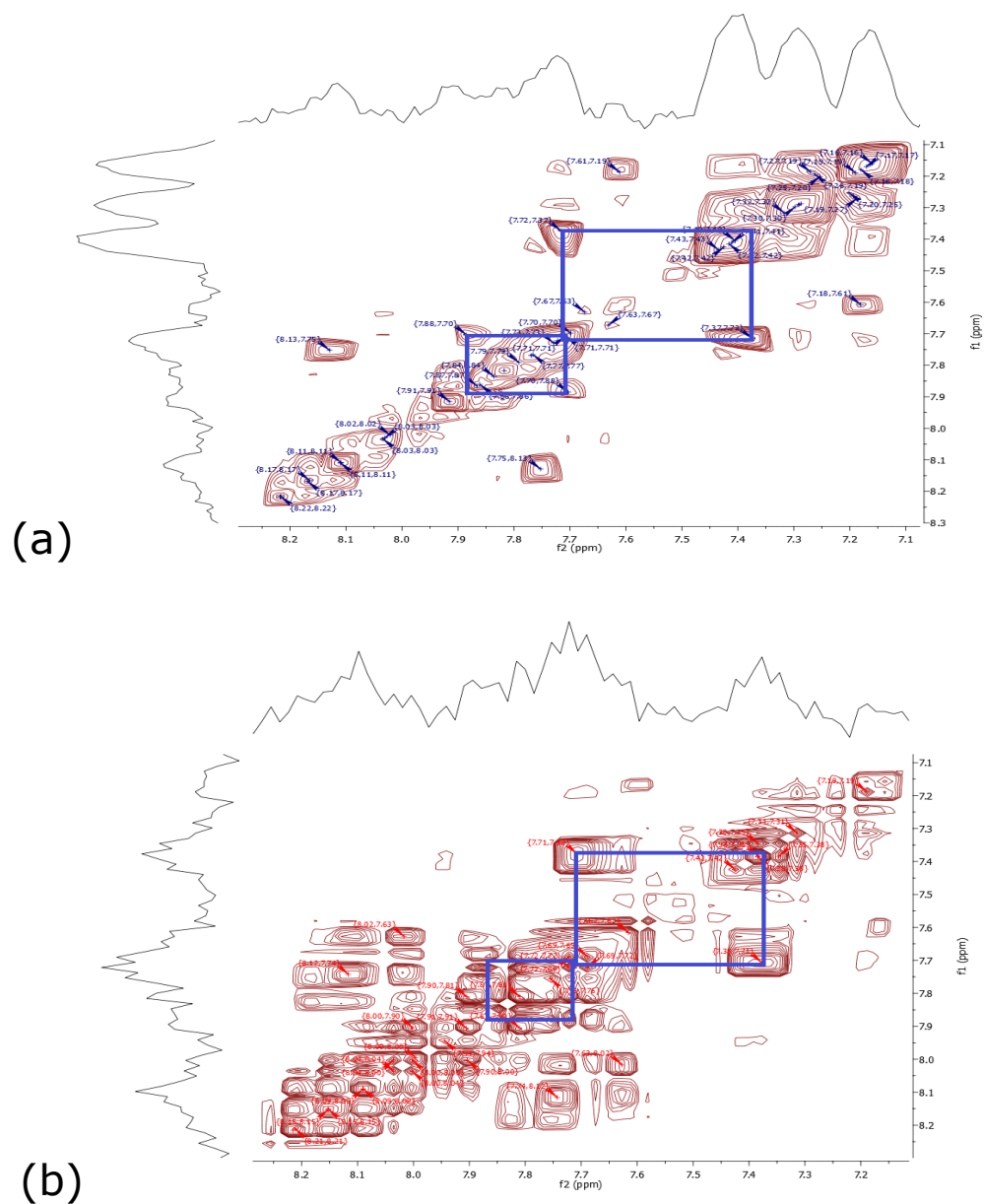


Figura 40. Espectros de correlación homonuclear COSY de **ESCv<sub>2d</sub>** (a) y **ESpt<sub>2d</sub>** (b) en los dos espectros se observa una señal en 7.38 ppm acoplada a otra señal en 7.71 ppm que a su vez está acoplada a otra señal en 7.89 ppm.

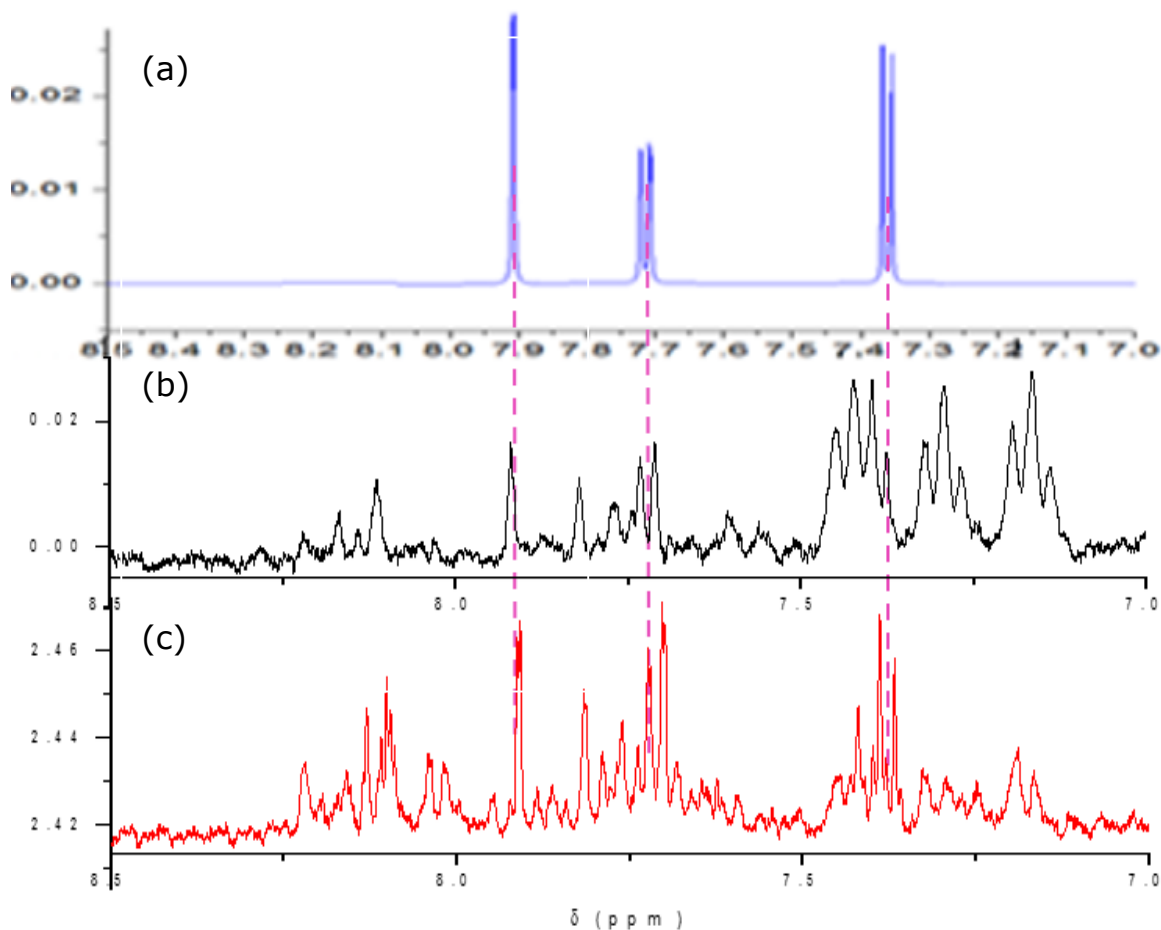


Figura 41. Comparación de los desplazamientos químicos de la 3-etil-6sulfonato benzotiazolona del espectro de RMN <sup>1</sup>H reportado por Osman (a), con los espectros de RMN <sup>1</sup>H de **ESCv<sub>2d</sub>** (b) y **ESPt<sub>2d</sub>** (c). Se observan similitudes en los desplazamientos químicos de **ESCv<sub>2d</sub>** en 7.38, 7.71 y 7.89 ppm y **ESPt<sub>2d</sub>** en 7.38, 7.71 y 7.88 ppm.

Las señales en el espectro de RMN <sup>1</sup>H y en el espectro de RMN <sup>1</sup>H COSY de la 3-etil-6-sulfonato benzotiazolinona imina presentan desplazamientos químicos en 7.63, 8.02 y 8.15 ppm y al compararlas con las muestras **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** estas señales coinciden en el espectro de RMN <sup>1</sup>H de **ESPt<sub>2d</sub>**, dichas señales integran para un hidrógeno y tienen una constante de acoplamiento J<sub>H-H</sub> de 8.5 Hz y 1.17 Hz respectivamente, estas señales presentan patrones de acoplamiento correspondientes a los

hidrógenos *orto* y *meta* de la molécula 3-etil-6-sulfonato benzotiazolinona imina (Figuras 42 y 43).

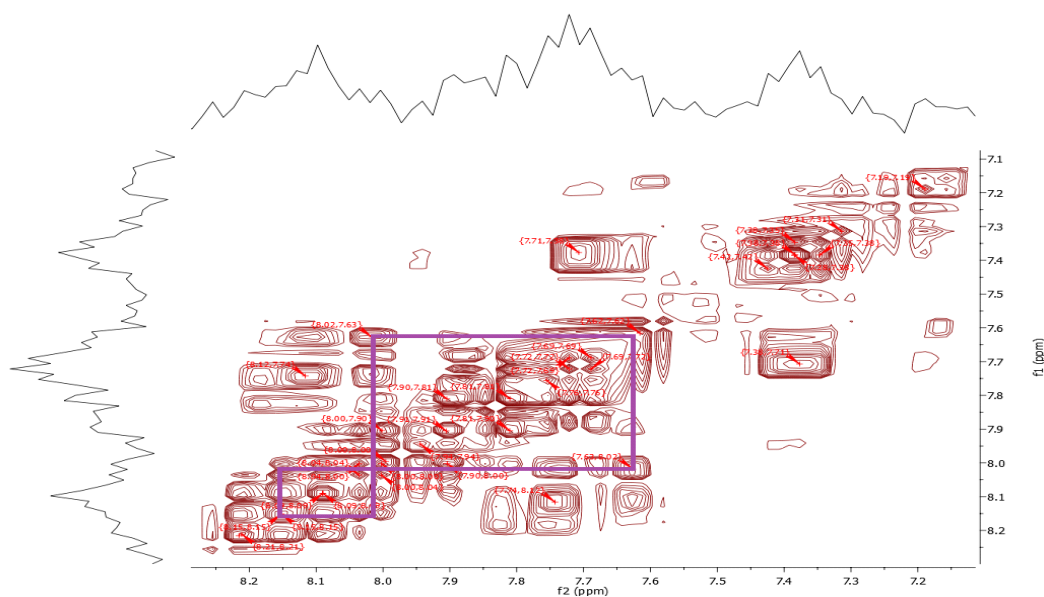


Figura 42. Espectro de correlación homonuclear COSY de **ESPt<sub>2d</sub>**, en el espectro se observa una señal en 7.63 ppm acoplada a otra señal en 8.02 ppm que a su vez está acoplada a otra señal en 8.15 ppm.

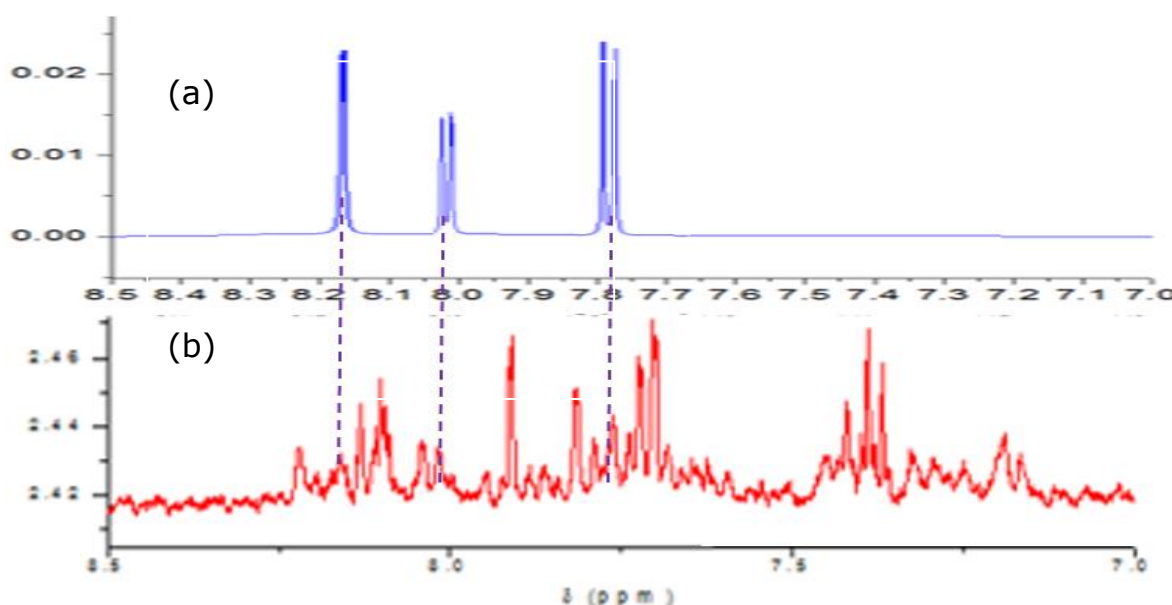
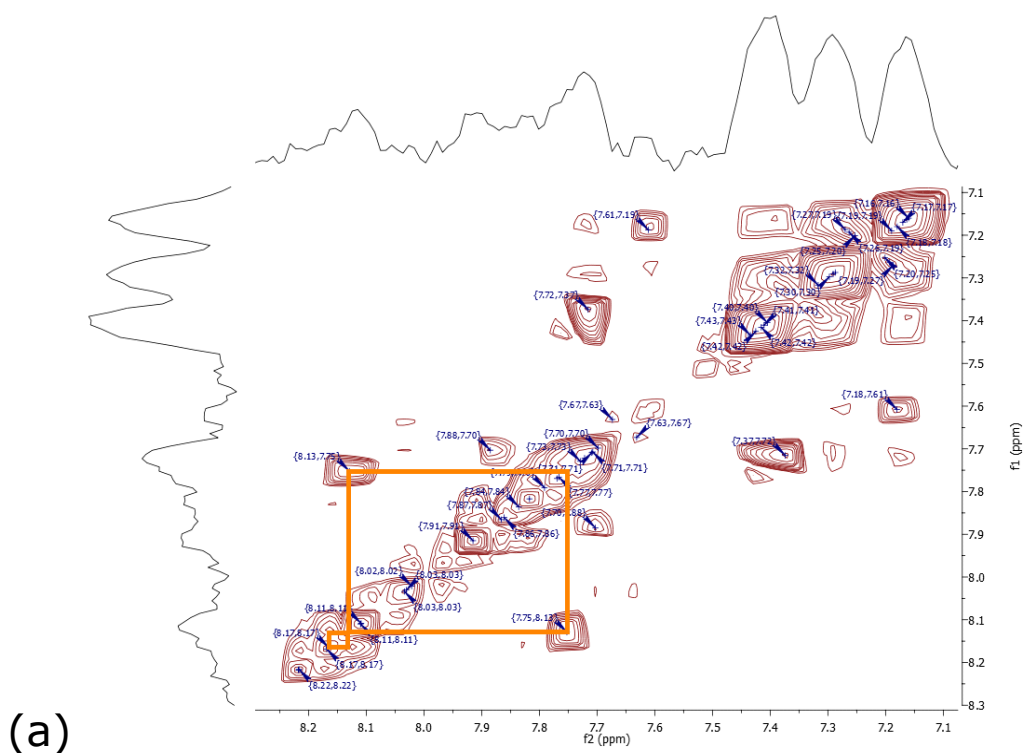


Figura 43. Comparación de los desplazamientos químicos de la 3-etil-6-sulfonato benzotiazolinona imina del espectro de RMN <sup>1</sup>H reportado por Osman (a), con los espectros de RMN <sup>1</sup>H de **ESPt<sub>2d</sub>** (b), se observan coincidencias en los desplazamientos en 7.63, 8.02 y 8.15 ppm.

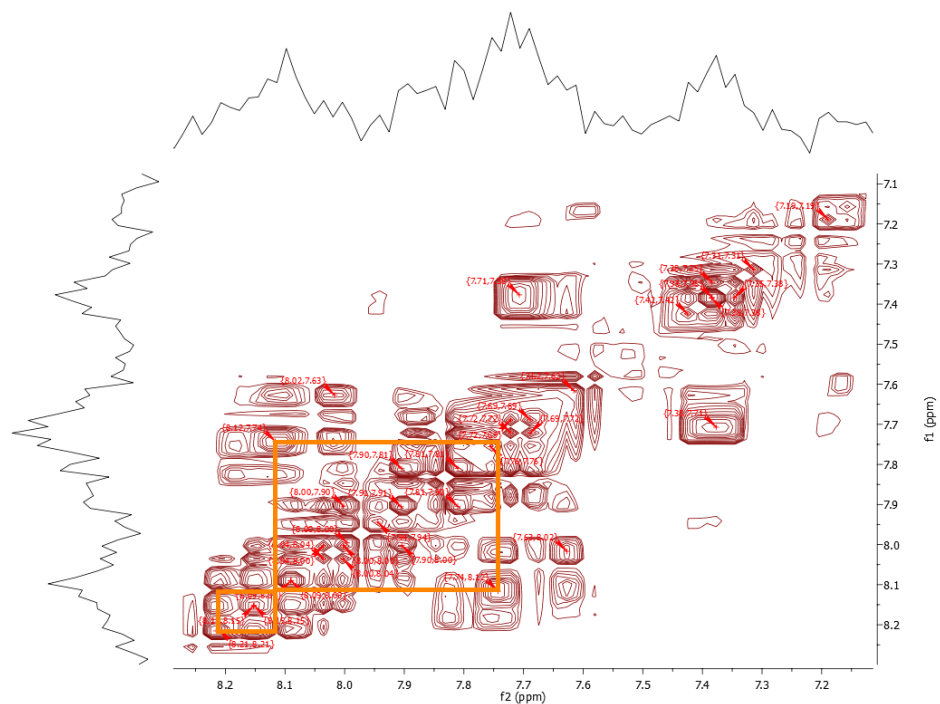


Por otra parte, dentro de los diferentes grupos de señales acopladas encontradas en los espectros de RMN  $^1\text{H}$  COSY de **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** hubo un grupo de señales que no coincide con los reportados por Osman, este grupo de señales está presente en las dos muestras con similares desplazamientos químicos, por lo que se proponen dos posibles moléculas, cuyos desplazamientos químicos están muy desplazados hacia la izquierda, estas moléculas podrían ser la 3-etil 2-nitrosobenzotiazolina-6-sulfonato o la 3-etil diazino 2-benzotiazolina-6-sulfonato, aunque no se puede afirmar.

Las señales en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  y en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  COSY de la 3-etil 2-nitrosobenzotiazolina-6-sulfonato o la 3-etil diazino 2-benzotiazolina-6-sulfonato presentan un desplazamiento químico en 7.74, 8.11 y 8.22 ppm y al compararlas con las muestras **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** estas señales coinciden en ambos espectros de RMN  $^1\text{H}$ , cada una de estas señales integran para un hidrógeno y tienen una constante de acoplamiento  $J_{\text{H-H}}$  de 8.75 Hz y 1.11 Hz, las señales presentan patrones de acoplamiento correspondientes a los hidrógenos *orto* y *meta* de las moléculas 3-etil 2-nitrosobenzotiazolina-6-sulfonato o la 3-etil diazino 2-benzotiazolina-6-sulfonato (Figuras 44 y 45).



(a)



(b)

Figura 44. Espectros de correlación homonuclear COSY de **ESCv<sub>2d</sub>** (a) y **ESpt<sub>2d</sub>** (b). En el espectro de **ESCv<sub>2d</sub>** se observa una señal en 7.74 ppm acoplada a otra señal en 8.13 ppm que a su vez está acoplada a otra señal en 8.147 ppm y para **ESpt<sub>2d</sub>** las señales acopladas son 7.74, 8.11 y 8.22 ppm.

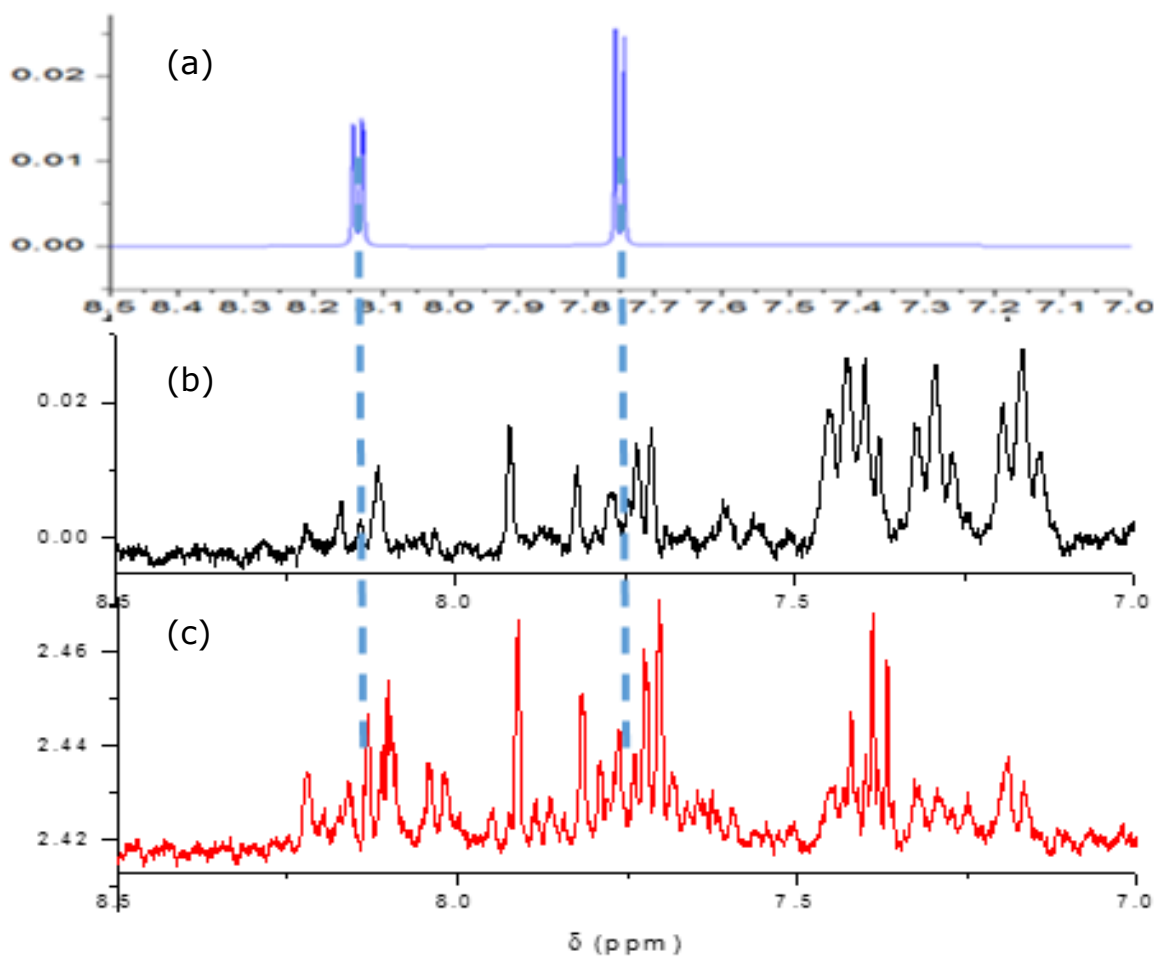


Figura 45. Comparación de los desplazamientos químicos de la 3-etil 2-nitrosobenzotiazolina-6-sulfonato o la 3-etil diazino 2-benzotiazolina-6-sulfonato (a) con las muestras de **ESCv<sub>2d</sub>** (b) y **ESPt<sub>2</sub>** (c), se observan coincidencias en los desplazamientos de **ESCv<sub>2d</sub>** en: 7.75, 8.13 y 8.17 ppm y **ESPt<sub>2d</sub>** en: 7.74, 8.11 y 8.22 ppm.

Para concluir esta sección, analizando detalladamente las moléculas que se generan de la ruptura del  $\text{ABTS}^{2-}$ , se puede observar que al parecer la parte más vulnerable cuando se realiza la segunda oxidación del ión molecular  $\text{ABTS}^{2-}$ , es el enlace  $\text{C}_2=\text{N}$  o  $\text{C}_{2'}=\text{N}$  y el enlace diazo (Figura 46).

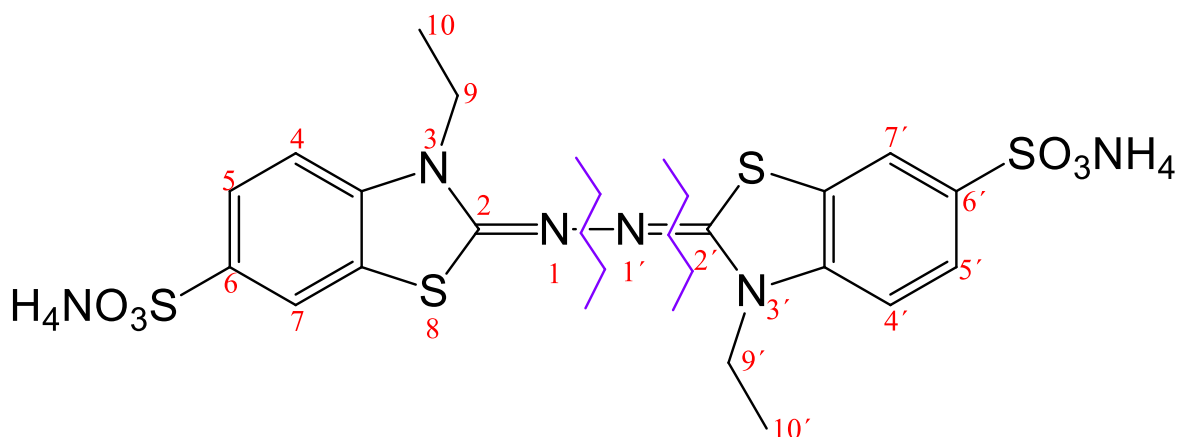


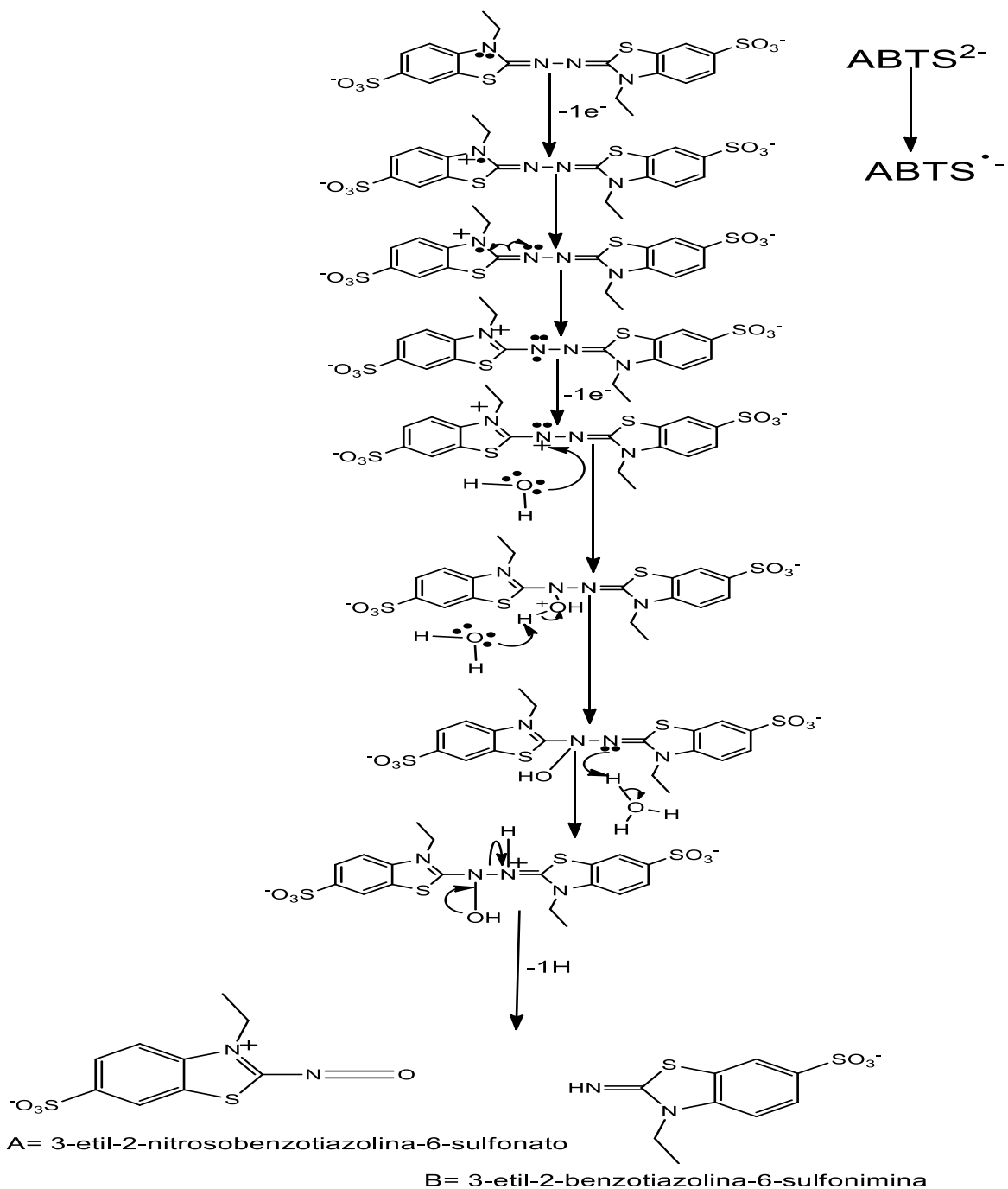
Figura 46. Estructura del  $\text{ABTS}^{2-}$ . Los resultados del análisis de RMN  $^1\text{H}$  concluyen que la parte de la molécula más vulnerable al rompimiento después de las electrólisis exhaustivas y al llegar al segundo estado de oxidación es el enlace  $\text{C}_2=\text{N}$  o  $\text{C}_{2'}=\text{N}$  y el enlace diazo.

Con base en los resultados del análisis de RMN  $^1\text{H}$  de las muestras **ESPt<sub>2d</sub>** y **ESCv<sub>2d</sub>** se propone el mecanismo que rige la degradación del segundo estado de oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

A continuación se describe el mecanismo de degradación del  $\text{ABTS}^{\circ}$  cabe señalar que la interacción del  $\text{H}_2\text{O}$  presente en el medio de disolución forma un papel clave:

El  $\text{ABTS}^{2-}$  disuelto en el DMSO se oxida a su primer estado de oxidación  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  por la acción de la perturbación de corriente, como dentro de la disolución también se encuentra agua procedente del ambiente, se propone un ataque nucleofílico al grupo diazo principalmente por las moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$  disueltas en el disolvente, el ataque produce dos tipos de reacciones hidrólisis y reducción las cuales derivan en rupturas

heterolíticas que forman las especies 3-etil 2-nitrosobenzotiazolina-6-sulfonato, 3-etil 2-benzotiazolina-6-sulfonimina, 3-etil diazino 2-benzotiazolina-6-sulfonato y 3-etil 2-benzotiazolina-6-sulfohidrazona como se observa en el siguiente esquema (Figura 47):



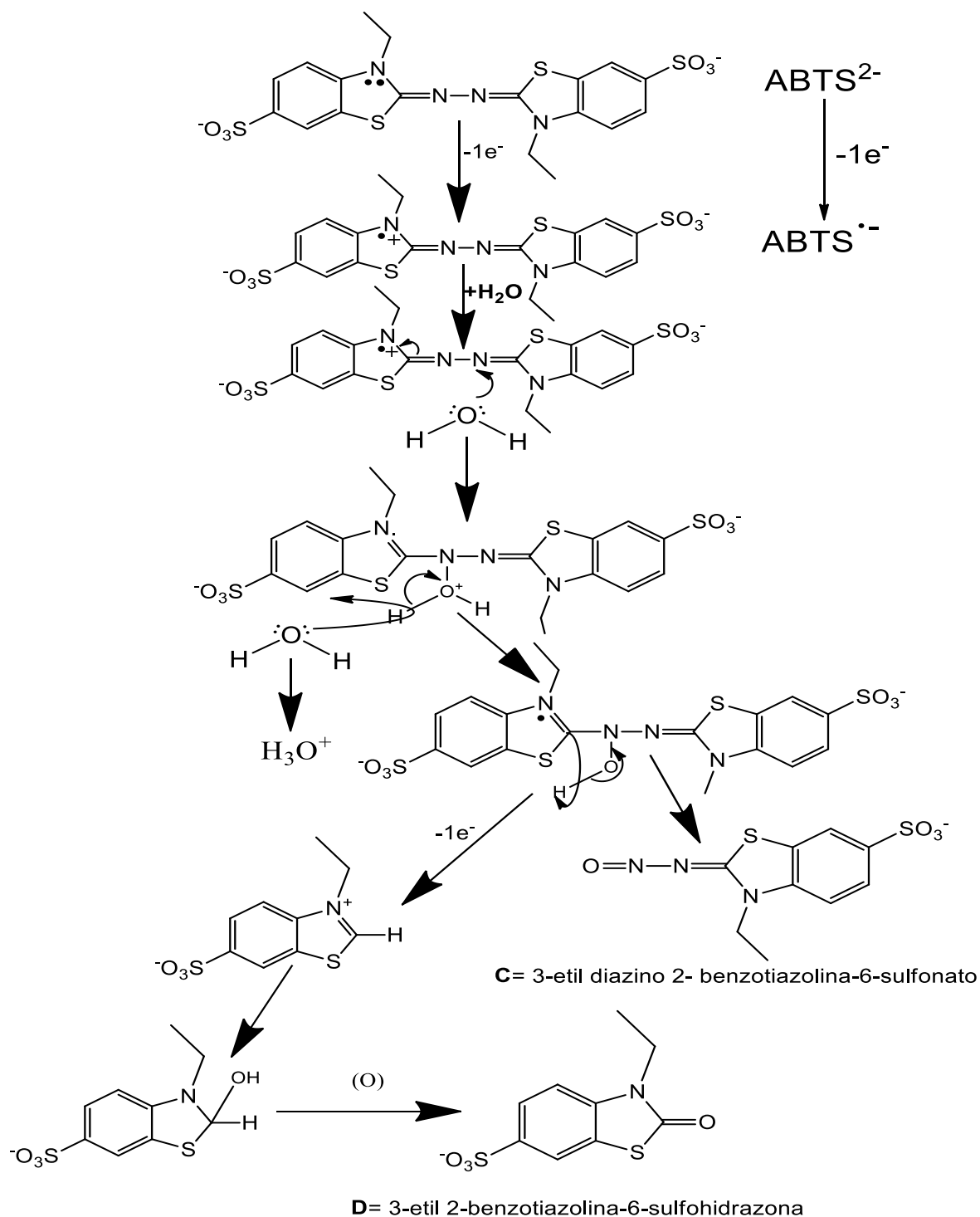


Figura 47. Mecanismos que rigen la degradación del  $ABTS^{\bullet+}$  hasta la formación de sus subproductos; **A**=3-etil 2-nitrosobenzotiazolina-6-sulfonato, **B**= 3-etil 2-benzotiazolina-6-sulfonimina, **C**= 3-etil diazino 2-benzotiazolina-6-sulfonato y **D**= 3-etil 2-benzotiazolina-6-sulfohidrazona

Considerando lo anterior se surge la idea de emplear una nueva estrategia de síntesis que permita hacer más estable al segundo estado de oxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$ , esto permitirá su empleo en procesos biotecnológicos de mayor duración y con mejor eficiencia (ver ANEXO 1).

#### **4.8. Estudio del compuesto $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$**

El compuesto diamoniohexaacuozinc(II) 2,2'-diazino bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato) o  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$ , fue sintetizado de acuerdo a la sección **3.7** de esta tesis y fue preparado con la finalidad de conocer si el  $\text{ABTS}^{2-}$  formaba un compuesto estable con el  $\text{Zn}^{2+}$  y de ser posible obtener una muestra para caracterizarla por cristalografía de rayos X, de igual forma esta estrategia podría emplearse para caracterizar también los derivados de la electrooxidación del  $\text{ABTS}^{2-}$  y obtener su estructura tridimensional con los resultados que aporta esta técnica.

El compuesto fue analizado en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación de la Facultad de Química, a continuación se muestran los resultados y la discusión de resultados del análisis elemental, cristalografía de rayos X y caracterización electroquímica de este compuesto.

##### **4.8.1. Análisis elemental**

En la Tabla 6 se presentan los porcentajes elementales de C, N, H, O y S para el análisis elemental teórico y experimental del compuesto sintetizado, con esto se puede proponer una fórmula mínima para este compuesto.

Tabla 6. Análisis elemental del compuesto sintetizado  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$ .

Compuesto	% C	% H	% N	% S	
Teórico	35.5	4.0	10.4	21.0	Fórmula mínima
1216.07g/mol Experimental	35.55	3.95	10.3	21.1	$(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6]\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{O}_{12}\text{S}_8$

Los resultados que se presentan muestran coincidencias con la fórmula mínima propuesta para el compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$ .

#### **4.8.2. Rayos X**

La estructura de rayos X del compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  se obtuvo a la temperatura de 130 K y el compuesto presenta un sistema cristalino triclinico a esta temperatura.

En el esquema de la estructura derivada del espectro de rayos X del compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  (Figura 48) se observa que en el compuesto sintetizado el  $\text{Zn}^{2+}$  no se coordinó con la molécula del  $\text{ABTS}^{2-}$  y solo se formó una sal de dos moléculas de  $\text{ABTS}^{2-}$  con el  $\text{Zn}^{2+}$  y dos contraiones  $\text{NH}_4^+$ , donde el  $\text{Zn}^{2+}$  se encuentra coordinado con 6 moléculas  $\text{H}_2\text{O}$ , sin embargo se pudo obtener una estructura cristalina cuyos resultados muestran la estructura de rayos X del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

Este estudio es el primero en obtener una estructura de rayos X del  $\text{ABTS}^{2-}$ .



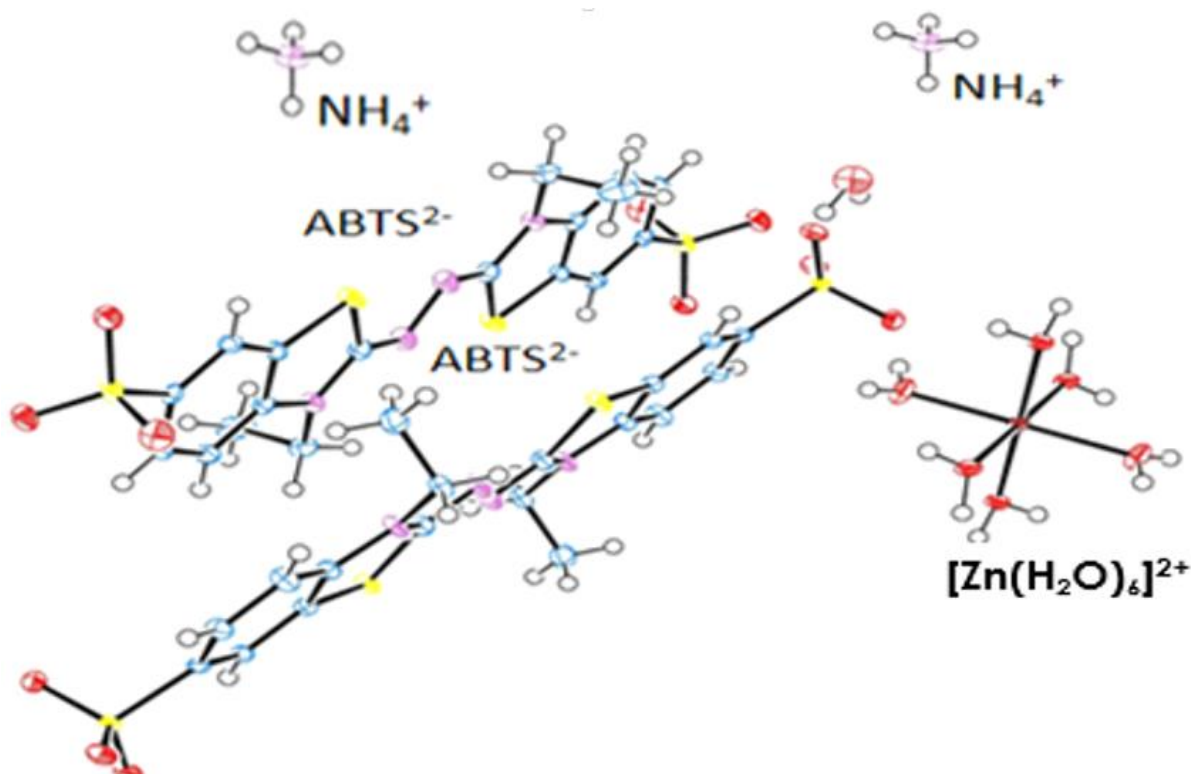


Figura 48. Esquema de la estructura derivada del espectro de rayos X del compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$ ; Rojo-O, Rosa-N, Blanco-H, Azul-C, Vino-Zn y Amarillo-S.

La información característica de la red cristalina y la celda se encuentra en la siguiente Tabla 7:

Tabla 7. Datos de cristalografía del compuesto sintetizado a 130 K

Datos/ compuesto	$(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$
masa molecular	1234.0685 g/mol
grupo espacial	P-1
a [Å]	8.3909
b [Å]	8.8817
c [Å]	17.7199
$\alpha$ [°]	94.615
$\beta$ [°]	93.319
$\gamma$ [°]	101.587
Z	1
T [K]	130
D calc. ( $\text{g cm}^{-3}$ )	1.641
$\mu$ ( $\text{mm}^{-1}$ )	0.887
tamaño de cristal	0.5205 X 0.4372 X 0.2717 $\text{mm}^{-1}$
$\theta$ intervalo (°)	3.45 a 26.05
reflexión total	8996
reflexión independiente	5073
Dato/ restricciones/ parámetro	5073/0/342
R1	0.0326
wR2	0.0894
$\Delta\rho$ max ( $\text{eÅ}^{-3}$ )	0.541
$\Delta\rho$ min ( $\text{eÅ}^{-3}$ )	-0.494

Por otra parte el análisis de las distancias entre los átomos de los dos iones moleculares del  $\text{ABTS}^{2-}$  no presenta diferencias importantes por lo que se sugiere que los dos iones moleculares del  $\text{ABTS}^{2-}$  son idénticos (ver Anexo 2).

Para comprobar que solo se formó la sal de  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{ABTS}^{2-}$  se procedió a la caracterización electroquímica de este compuesto.

#### **4.8.3. Estudio electroquímico del compuesto $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$**

##### *Voltamperometrías cíclicas de $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$ en DMSO*

Se preparó una disolución 1 mM disolviendo 6.1 mg de  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  en 5 mL de DMSO al cual se le adicionó previamente 0.1970 g de  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  (electrolito soporte). Se obtuvieron voltamperogramas cíclicos a una velocidad de barrido de 100 mV/s en una ventana de potencial de -0.25 a 1.25 V/Ag-AgCl.

Los voltamperogramas cíclicos de una disolución 1 mM de  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  en DMSO (Figura 49) obtenidos a 100 mV/s, presentan valores de potencial de media onda de 0.65 V/Ag-AgCl y 1.05 V/Ag-AgCl los cuales son muy similares al comportamiento electroquímico de la disolución de  $\text{ABTS}^{2-}$  en DMSO, en el voltamperograma cíclico en sentido catódico (●●●●●) se observa un pequeño pico cercano al potencial de corriente nula esto pudiese ser porque el compuesto caracterizado podría presentar algunas moléculas de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  por lo que al iniciar el barrido a direcciones positivas las especies de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  se reducen y por ello se presenta ese pico de reducción, este fenómeno también se comprobó cuando el compuesto fue caracterizado por espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$  (ver

Anexo 2) donde las especies radicales del  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  presentes en la muestra ampliaron las señales imposibilitando calcular las constantes de acoplamiento de las señales que presenta el  $\text{ABTS}^{2-}$ .

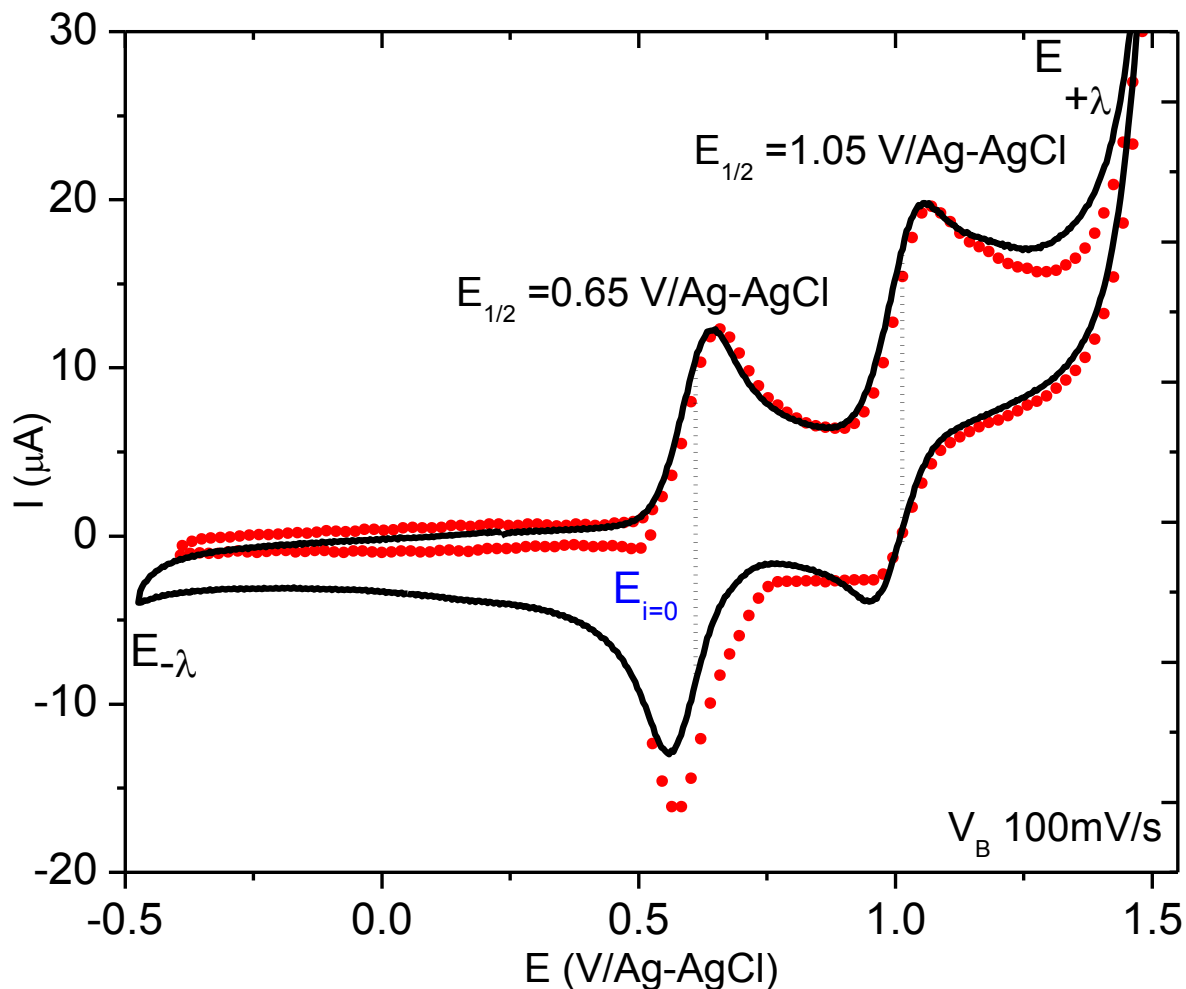


Figura 49. Voltamperogramas cíclicos de la disolución 1 mM de  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})$  en DMSO obtenida a 100 mV/s sobre un electrodo de carbón vítreo ( $0.0706\text{cm}^2$ ) empleando como electrolito soporte una disolución de  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  0.1 M. Iniciando el barrido de potencial en dirección positiva (---) y en dirección negativa (●●●●).

Así mismo se realizaron voltamperogramas cíclicos en sentido anódico de la disolución 1 mM de  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  en DMSO a distintas velocidades de barrido, utilizando un electrodo de carbón vítreo como electrodo de trabajo y una disolución 0.1 M de  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  o  $\text{Et}_4\text{NBF}_4$  como electrolito soporte (Figura 50).

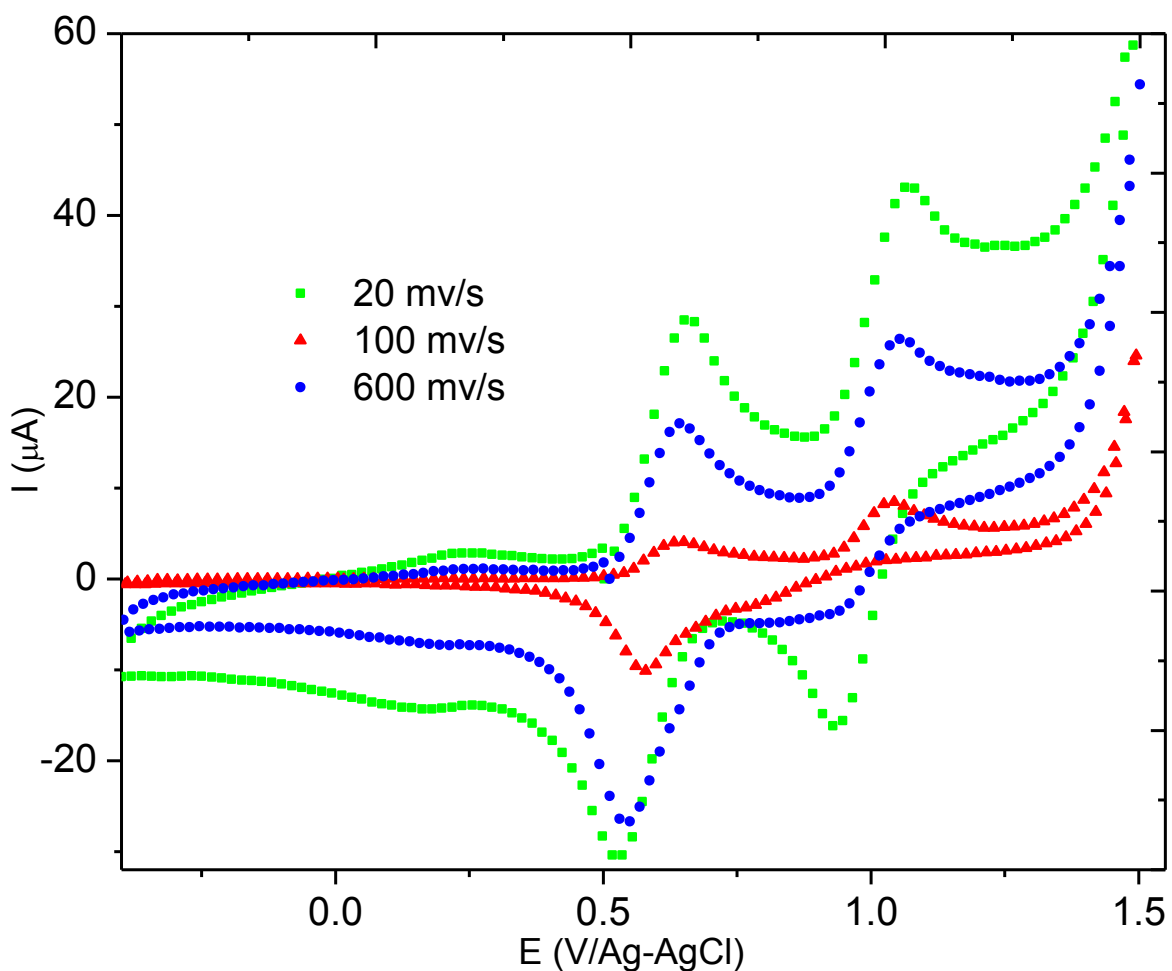


Figura 50. Voltamperogramas cíclicos en sentido anódico de la disolución 1 mM de  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  en DMSO obtenidos a diferentes velocidades de barrido (electrodo de carbón vítreo como  $\text{E}_t$  y una disolución 0.1 M de  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  como electrolito soporte).

Para concluir con esta sección el estudio electroquímico arrojó resultados que muestran que el compuesto obtenido es una sal de  $\text{ABTS}^{2-}$ ,  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{Zn}^{2+}$  ya que los voltamperogramas cíclicos presentan valores de potencial de media onda muy similares a la disolución de  $\text{ABTS}^{2-}$  en DMSO.

## CAPITULO 5.- CONCLUSIONES

- Los mejores resultados para la caracterización de los subproductos formados en la electrólisis del  $\text{ABTS}^{2-}$  se obtuvieron en DMSO empleando una malla de platino o una barra de carbón como electrodo de trabajo.
- Se identificaron cinco diferentes subproductos de la electrólisis del  $\text{ABTS}^{2-}$  en DMSO, generados de la descomposición del  $\text{ABTS}^{\circ}$ . Dos de estos se forman cuando se utiliza la barra de carbón como electrodo de trabajo y los otros tres se forman utilizando la malla de platino como electrodo de trabajo.
- Los subproductos identificados son:
  - A) 3-etil 2-benzotiazolina-6-sulfonimina
  - B) 3-etil-2-benzotiazolina-6-sulfohidrazona
  - C) 3-etil 2-nitrosobenzotiazolina-6-sulfonato
  - D) 3-etildiazino-2-benzotiazolina-6-sulfonato
  - E) una parte del  $\text{ABTS}^{2-}$  no se logró transformar y sigue en disolución.
- Se obtuvo un monocristal del compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  que permitió conocer por primera vez las características estructurales del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Boubonnais, R., Paice, M., Freiermuth, B., Bodie, E., Borneman, S. Reactivities of various mediators and laccases with kraft pulp and lignin model compounds. *Applied and Environmental Microbiology.*, (1997) **63** [12], 4627-4632.
- [2] Gouka, R., Van der Heiden, M., Swarthaff, T., Verrips, T. Cloning of a phenol oxidase gene from *Acremonium mororum* and its expression in *Aspergillus acuamori*. *Appl Environ Microbiol.*, (2001) **67** [6], 2610-2616.
- [3] Arana-Cuenca, A., Tellez, A., Yagüe, S., Fermiñan, E., Carbajo, J., Domínguez, A., Gonzalez, T., Villar, J., González, A. Deslignificación de pasta Kraft de *Pinus Radiata* con una levadura genéticamente modificada para producir lacasa. *Journal on Forest Science.*, (2010) **19** [2], 234-240.
- [4] Johnson, D., Thompson, J., Brinkmann, S., Schuller, K., Martin, L. Electrochemical characterization of purified *Rhus vernicifera* laccase: voltammetric evidence for a sequential four-electron transfer. *Biochemistry.*, (2003) **42** [34], 10229-10237.
- [5] D'Acunzo, F., Galli, C., Masci, B. Oxidation of phenols by laccase and laccase-mediator systems. Solubility and steric issues. *Eur J. Biochem.*, (2002) **269**, 5330-5335.
- [6] Ugalde, V., Gonzalez, I., Solis, M., Gonzalez, G. Estudio electroquímico-espectrofotométrico del ácido 2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6-sulfónico)(ABTS) y sus dos estados de oxidación ABTS<sup>•+</sup> Y ABTS<sup>++</sup>. Memorias del XIX Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Electroquímica. 2004, 1-11.
- [7] Bourbonnais, R. Paice, M.; Oxidation of non-phenolic substrates. An expanded role for laccase in lignin biodegradation; *FEBS Lett*; (1990) **267** [1], 99-102.

- [8] Bourbonnais, R., Leech, D., Paice, M. Electrochemical analysis of the interactions of laccase mediators with lignin model compounds. *Biochim Biophys Acta.*, (1998) **1379**, 381-390.
- [9] Solis, M., Barzana, E., Garcia, M., Vinegra, G. El ABTS<sup>•+</sup> agente oxidante de diversos compuestos químicos y su mecanismo de reciclado entre la lacasa y el sustrato. *Revista Mexicana de Ingeniería Química.*, (2007) **6** [3], 275-281.
- [10] Bourbonnais, R., Paice, M., Reid, I., Lanthier, P., Yaguchi, M. Lignin oxidation by isoenzymes from *Trametes versicolor* and role of the mediador 2,2'-Azinobis(3-etylbenzothiazoline-6-sulfonate) in kraft lignina *Appl Environ Microbiol.*, (1995) **61** [5], 1876-1880.
- [11] Torres, L.; Deslignificación de pulpa de papel mediante un sistema de reciclaje del mediador ABTS<sup>2-</sup> y un proceso organosolv acoplado; Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana (2005).
- [12] Akhtar, M., Blanchette, R., Kirk, K. Fungal Delignification and Biomechanical Pulping of wood. *Advances in Biochemical Engineering/biotechnology.*, (1997) **57**, 159-195.
- [13] Wong, X., Yu, J. Laccase-catalyzed decolorization of synthetic dyes, *Water Research.*, (1999) **33** [16], 3512-3520.
- [14] Tauber, M., Guebitz, G., Rehorek, A. Degradation Azo Dyes by laccase and ultrasound treatment. *Applied and Enviromental Microbiology.*, (2005) **71** [5], 2600-2607.
- [15] Baldrian, P. Purification and characterization of laccase from the white-rot fungus *Daedalea quercina* decolorization of synthetic dyes by the enzyme. *Appl microbiol biotechnol.*, (2004) **63**, 560-563.
- [16] Camarero, S., Ibarra, D., Martinez, M., Martinez, A. Lignin-Derived Compounds as Efficient laccase mediators for decolorization of different

types of recalcitrant dyes. *Applied and environmental microbiology*, (2005) **71** [4], 1775-1784.

[17] Janata, J., Williams, M. Oxidation pathways of 2,2'-Benzothiazolinone Azines. I. Electrochemistry. *J. Phys Chem.*, (1972) **76** [8], 1178-1183.

[18] Rodríguez, E., Pickard, M., Vazquez-Duhalt, R. Industrial Dye Decolorization by Laccases from Ligninolytic Fungi. *Current Microbiology*, (1999) **38** [6], 27-32.

[19] Kibena, E., Mäeorg, U., Matisen, L., Tammeveski, K. Electrochemical behaviour of ABTS on aryl-modified glassy carbon electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, (2011) **661**, 343-350.

[20] Fei, J., Basu, A., Xue, F., Palmore, G. Two polymerizable derivatives of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid). *Organic letters*, (2006) **8** [1], 3-6.

[21] Astolfi, P., Brandi, P., Galli, C., Gemtilli, P., Greci, L., Lanzuluga, O. New mediator for the enzyme laccase: mechanistic features and selectivity in the oxidation of non-phenolic substrate. *New J. Chem.*, (2005) **29**, 1308-1317.

[22] Blanford, C., Foster, C., Heath, R., Armstrong, F. Efficient electrocatalytic oxygen reduction by the 'blue' copper oxidase, laccase, directly attached to chemically modified carbons. *Faraday Discussions*, (2008) **140**, 319-335.

[23] Castro, M. Oxidación enzimática de sustratos utilizando diversos mediadores, Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. (2005).

[24] Osman, A., Wong, K., Hill, S., Fernyhough, A. Isolation and the characterization of the degradation products of the mediator ABTS-



derived radicals formed upon reaction with polyphenols. *Biochem Biophys Res Commun.*, (2006) **340**, 597-603.

[25] Branchi, B., Galli, C., Gentili, P. Kinetics of oxidation of benzyl alcohols by the dication and radical cation of ABTS. Comparison with laccase-ABTS oxidations: an apparent paradox. *Org Biomol Chem*, (2005) **3** [14], 2604-2614.

[26] Osman, A., Wong, K., Fernyhough, A. ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: isolation and structural elucidation of covalent adducts; *Biochem Biophys Res Commun*; (2006) **346**, 321-329.

[27] Yan-Ru, L., Wei-Guang, L., Li-Fang, C., Jian-Yun, Y., Liu, Y., Cheng-Gang, Z., Rong-Qing, H., Jun-Xing, D. ABTS<sup>+</sup> scavenging potency of selected flavonols from *Hypericum perforatum* L. by HPLC-ESI/MS QQQ: Reaction observation, adduct characterization and scavenging activity determination. *Food Research International.*, (2014) **58**, 47–58.

[28] Thomas, J., Drake, M., Paddock, J., Conklin, S., Johnson, J., Seliskar, C., Halsall, H., Heineman, W. Characterization of ABTS at a polymer-modified electrode. *Electroanalysis.*, (2004) **16** [7], 547–555.

[29] Rhodes, C. Electron spin resonance *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. C: Phys. Chem.*, (2011) **107**, 47- 87.

[30] Childs, R., Bardsley, W. The steady-state kinetics of peroxidase with 2,2'-azino-di-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) as chromogen. *Biochem J.*, (1975) **145**, 93-103.

[31] Than, N., Fotso, S., Poeggeler B., Hardeland, R., Laatsch, H. Niruriflavone, a New Antioxidant Flavone Sulfonic Acid from *Phyllanthus niruri*. *Z. Naturforsch.*, (2006) **61b**, 57–60.

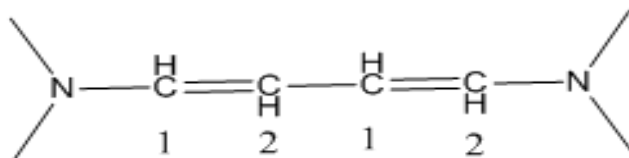
[32] Lee, J., Kang, N., Ha, T., Ko, J., Han, W., Suh, D., Park, K., Baek, I. Antioxidant Activities and Determination of Phenolic Acids from Leaves of *Perilla frutescens*. *Agric. Chem. Biotechnol.*, (2006) **49** [1], 11-15.

- [33] Lee, B., Lee, J., Gal, S., Moon, Y., Park, K. Selective ABTS radical-scavenging activity of prenylated flavonoids from *Cudrania tricuspidata*. *Biosci Biotechnol Biochem.*, (2006) **70** [2], 427-432.
- [34] Kim, Y., Cho, N., Eom, T., Shin, W. Purification and Characterization of a Laccase from *Cerrena unicolor* and Its Reactivity in Lignin Degradation. *Bull. Korean Chem. Soc.*, (2002) **23** [7], 985-989.
- [35] Marzorati, M., Danieli, B., Riva S. Selective laccase-mediated oxidation of sugars derivatives. *Green Chemistry.*, (2005) **7**, 310-315.
- [36] Brogioni, B., Biglino, D., Sinicropi, A., Reijerse E., Giardina, P., Sanna, G., Lubitz, W., Basosi, R., Pogni, R. Characterization of radical intermediates in laccase-mediator systems. A multifrequency EPR, ENDOR and DFT/PCM investigation. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, (2008) **10**, 7284-7292.
- [37] Petre, I. An enhanced colorimetric chemosensor for the detection of various nitroexplosives. *Tetrahedron letters.*, (2012) **53**, 7143-7146.
- [38] Ficha de datos de seguridad del 2,2'-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) de diamonio; Sigma Alrich; 2014.
- [39] Lee, C. Yoon, J. UV direct photolysis of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) in aqueous solution: Kinetics and mechanism. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.*, (2008) **197**, 232-238.
- [40] Majcherczyk, A., Johannes, C., Hüttermann, A. Oxidation of aromatic alcohols by laccase from *Trametes versicolor* mediated by the 2,2' azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6 sulfonic acid) cation radical and dication. *Appl Microbiol Biotechnol.*, (1999) **51**, 267-276.
- [41] Johannes, C., Majcherczyk, A. Laccase activity tests and laccase inhibitors. *Journal of Biotechnology.*, (2000) **78**, 193-199.

- [42] Scott, S., Chen, W., Bakac, A., Espenson, J. Spectroscopic parameters, electrode potentials, acid ionization constants, and electron exchange rates of the 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radicals and ions. *J. Phys. Chem.*, (1993) **97** [25], 6710–6714.
- [43] Gonzalez, J.; Caracterización electroquímica y espectrofotométrica del ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)(ABTS) y sus dos estados de oxidación, empleando DMSO; Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México (2009).
- [44] Baeza, A.; Tácticas y Estrategias en Electroquímica Orgánica; Licenciatura en Química; Facultad de Química. U.N.A.M.; México (2002).
- [45] Gonzalez, I. Frontana, C. Ugalde V.; Curso de técnicas electroquímicas (Cronoamperometría); Posgrado de Ciencias Químicas, Facultad de Química. U.N.A.M.; México (2005).
- [46] Solis, M., Ugalde, V., González, I., Viniegra, G. An electrochemical-spectrophotometrical study of the oxidized forms of the mediator 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) produced by immobilized laccase. *J. Electroanal. Chem.*, (2005) **579**, 59-66.
- [47] Hünig, S., Balli, H., Conrad, H., Schott, H. Über zweistufige Redoxsysteme, II. 2.2'-Azine aromatischer Heterocyclen und ihre höheren Oxydationsstufen. *Annalen der Chemie und Pharmacie.*, (1964) **676**[1], 36-51.

## ANEXO 1. Síntesis del ABTS<sup>2-</sup> según Hünig, S. y Col. [47] 1964.

De los compuestos vinílicos como la molécula I los carbonos 1 y 2 pueden ser sustituidos por nitrógeno para derivar en moléculas como las benzotiazolinas, quinolonas, benzimidazolonas o pirodonas.



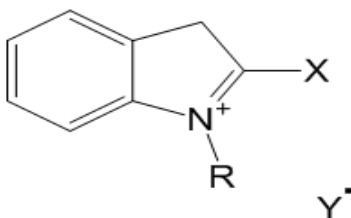
MOLÉCULA I

### Presentación de azinas heterocíclicas

La molécula II es útil para la síntesis de azinas heterocíclicas

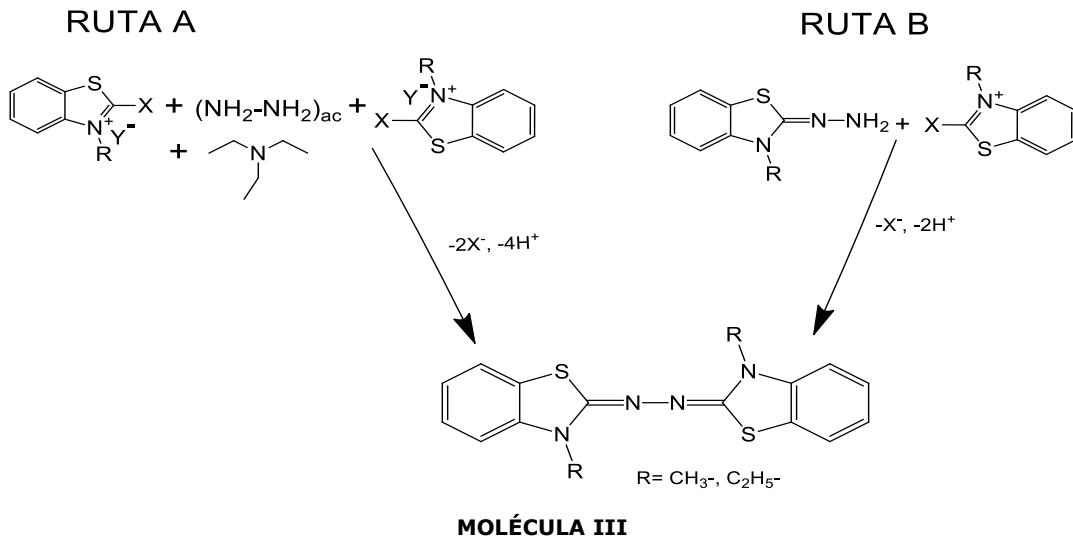
X= halógenos, OH o SR

e Y= BF<sub>4</sub>, RO-SO<sub>3</sub> o halógenos.

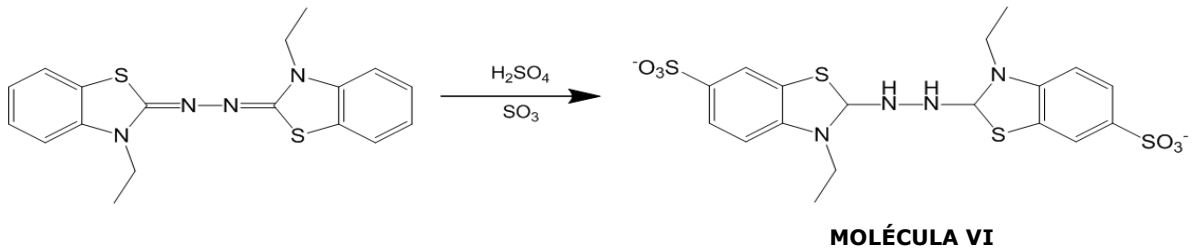


MOLÉCULA II

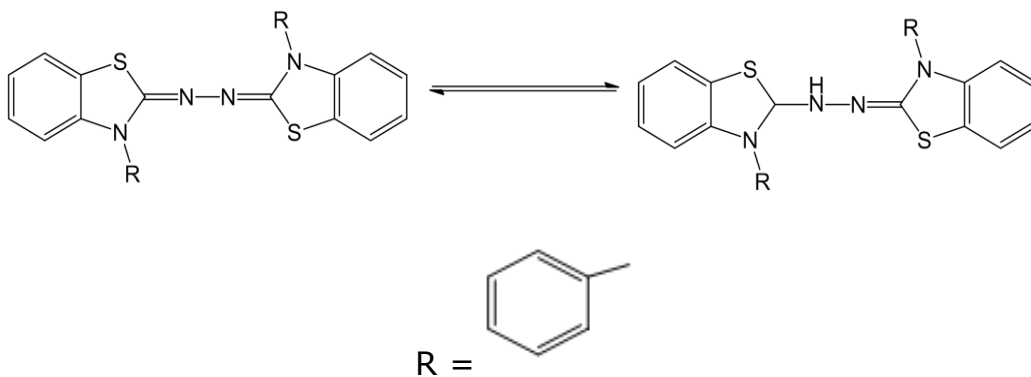
La síntesis da buenos rendimientos si la sal cuaternaria disuelta en metanol reacciona con cantidades estequiométricas de hidrato de hidrasina y trietilamina (el bajo punto de fusión en moléculas III con R=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>- la hacen más soluble).



### Sulfonación de la molécula III



Las investigaciones acerca de la molécula IV proponen que R- podría ser un anillo benzóico, de tal forma que este retire la densidad electrónica para que el enlace diazo no se rompa y de esta forma el mediador presente su segundo estado de oxidación sin fragmentarse, para que pueda ser reciclado durante los procesos biotecnológicos como el blanqueo de pulpa de papel o blanqueamiento de los efluentes generados en la industria textil.



## ANEXO 2. Resultados de la caracterización del compuesto $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$

Resultados de los datos cristalográficos del compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$

En la tabla A1 se muestran las distancias y ángulos de enlace del compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$  donde se observa que ambas moléculas de  $\text{ABTS}^{2-}$  presentan las mismas distancias y ángulos de enlace por lo que se sugiere que las moléculas son similares.

Tabla A1.- Longitudes de enlace [ $\text{\AA}$ ] y ángulos [ $^\circ$ ] del  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$

### Enlace distancia de enlace $\text{ABTS}^{2-}$ (1) distancia de enlace $\text{ABTS}^{2-}$ (2)

ENLACE	DISTANCIA DE ENLACE $\text{ABTS}^{2-}$ (1)	DISTANCIA DE ENLACE $\text{ABTS}^{2-}$ (2)
S(1)-C(6)	1.754(2)	1.754(2)
S(1)-C(7)	1.767(2)	1.767(2)
S(2)-O(1)	1.4541(14)	1.4541(14)
S(2)-O(2)	1.4590(14)	1.4590(14)
S(2)-O(3)	1.4672(15)	1.4672(15)
S(2)-C(4)	1.7653(19)	1.7653(19)
N(1)-C(7)	1.376(3)	1.376(3)
N(1)-C(1)	1.380(2)	1.380(2)
N(1)-C(8)	1.466(3)	1.466(3)
N(2)-C(7)	1.285(3)	1.285(3)
N(2)-N(2)#1	1.403(3)	1.403(3)
C(1)-C(2)	1.386(3)	1.386(3)
C(1)-C(6)	1.401(3)	1.401(3)
C(2)-C(3)	1.384(3)	1.384(3)
C(2)-H(2)	0.9300	0.9300
C(3)-C(4)	1.386(3)	1.386(3)
C(3)-H(3)	0.9300	0.9300
C(4)-C(5)	1.388(3)	1.388(3)

<b>C(5)-C(6)</b>	1.380(3)	1.380(3)
<b>C(5)-H(5)</b>	0.9300	0.9300
<b>C(8)-C(9)</b>	1.505(3)	1.505(3)
<b>C(8)-H(8A)</b>	0.9700	0.9700
<b>C(8)-H(8B)</b>	0.9700	0.9700
<b>C(9)-H(9A)</b>	0.9600	0.9600
<b>C(9)-H(9B)</b>	0.9600	0.9600
<b>C(9)-H(9C)</b>	0.9600	0.9600
<b>S(3)-C(15)</b>	1.756(2)	1.756(2)
<b>S(3)-C(16)</b>	1.772(2)	1.772(2)
<b>S(4)-O(5)</b>	1.4552(16)	1.4552(16)
<b>S(4)-O(6)</b>	1.4622(15)	1.4622(15)
<b>S(4)-O(4)</b>	1.4653(15)	1.4653(15)
<b>S(4)-C(13)</b>	1.763(2)	1.763(2)
<b>N(3)-C(16)</b>	1.375(3)	1.375(3)
<b>N(3)-C(10)</b>	1.389(2)	1.389(2)
<b>N(3)-C(17)</b>	1.459(3)	1.459(3)
<b>N(4)-C(16)</b>	1.282(3)	1.282(3)
<b>N(4)-N(4)#2</b>	1.408(3)	1.408(3)
<b>C(10)-C(11)</b>	1.391(3)	1.391(3)
<b>C(10)-C(15)</b>	1.395(3)	1.395(3)
<b>C(11)-C(12)</b>	1.384(3)	1.384(3)
<b>C(11)-H(11)</b>	0.9300	0.9300
<b>C(12)-C(13)</b>	1.394(3)	1.394(3)
<b>C(12)-H(12)</b>	0.9300	0.9300
<b>C(13)-C(14)</b>	1.389(3)	1.389(3)
<b>C(14)-C(15)</b>	1.386(3)	1.386(3)
<b>C(14)-H(14)</b>	0.9300	0.9300
<b>C(17)-C(18)</b>	1.517(3)	1.517(3)
<b>C(17)-H(17A)</b>	0.9700	0.9700
<b>C(17)-H(17B)</b>	0.9700	0.9700
<b>C(18)-H(18A)</b>	0.9600	0.9600
<b>C(18)-H(18B)</b>	0.9600	0.9600
<b>C(18)-H(18C)</b>	0.9600	0.9600
<b>Zn(1A)-O(5W)#3</b>	2.0788(14)	2.0788(14)
<b>Zn(1A)-O(5W)</b>	2.0788(14)	2.0788(14)

<b>Zn(1A)-O(2W)</b>	2.0797(13)	2.0797(13)
<b>Zn(1A)-O(2W)#3</b>	2.0797(13)	2.0797(13)
<b>Zn(1A)-O(1W)</b>	2.0940(13)	2.0940(13)
<b>Zn(1A)-O(1W)#3</b>	2.0941(13)	2.0941(13)
<b>O(1W)-H(1W2)</b>	0.8459	0.8459
<b>O(1W)-H(1W1)</b>	0.8099	0.8099
<b>O(2W)-H(2W1)</b>	0.9073	0.9073
<b>O(2W)-H(2W2)</b>	0.7542	0.7542
<b>O(5W)-H(5W2)</b>	0.7167	0.7167
<b>O(5W)-H(5W1)</b>	0.7540	0.7540
<b>N(5)-H(01)</b>	0.8604	0.8604
<b>N(5)-H(04)</b>	0.8951	0.8951
<b>N(5)-H(02)</b>	0.8131	0.8131
<b>N(5)-H(03)</b>	0.8491	0.8491
<b>O(3W)-H(3W2)</b>	0.8993	0.8993
<b>O(3W)-H(3W1)</b>	0.7352	0.7352
<b>C(6)-S(1)-C(7)</b>	90.16(9)	90.16(9)
<b>O(1)-S(2)-O(2)</b>	112.96(8)	112.96(8)
<b>O(1)-S(2)-O(3)</b>	111.60(9)	111.60(9)
<b>O(2)-S(2)-O(3)</b>	111.67(9)	111.67(9)
<b>O(1)-S(2)-C(4)</b>	106.69(9)	106.69(9)
<b>O(2)-S(2)-C(4)</b>	107.30(9)	107.30(9)
<b>O(3)-S(2)-C(4)</b>	106.15(9)	106.15(9)
<b>C(7)-N(1)-C(1)</b>	114.31(17)	114.31(17)
<b>C(7)-N(1)-C(8)</b>	122.07(16)	122.07(16)
<b>C(1)-N(1)-C(8)</b>	123.52(17)	123.52(17)
<b>C(7)-N(2)-N(2)#1</b>	110.4(2)	110.4(2)
<b>N(1)-C(1)-C(2)</b>	126.71(18)	126.71(18)
<b>N(1)-C(1)-C(6)</b>	112.88(17)	112.88(17)
<b>C(2)-C(1)-C(6)</b>	120.41(18)	120.41(18)
<b>C(3)-C(2)-C(1)</b>	118.87(18)	118.87(18)
<b>C(3)-C(2)-H(2)</b>	120.6	120.6
<b>C(1)-C(2)-H(2)</b>	120.6	120.6
<b>C(2)-C(3)-C(4)</b>	120.14(19)	120.14(19)
<b>C(2)-C(3)-H(3)</b>	119.9	119.9
<b>C(4)-C(3)-H(3)</b>	119.9	119.9



<b>C(3)-C(4)-C(5)</b>	121.77(17)	121.77(17)
<b>C(3)-C(4)-S(2)</b>	118.97(15)	118.97(15)
<b>C(5)-C(4)-S(2)</b>	119.11(15)	119.11(15)
<b>C(6)-C(5)-C(4)</b>	117.86(18)	117.86(18)
<b>C(6)-C(5)-H(5)</b>	121.1	121.1
<b>C(4)-C(5)-H(5)</b>	121.1	121.1
<b>C(5)-C(6)-C(1)</b>	120.92(18)	120.92(18)
<b>C(5)-C(6)-S(1)</b>	127.72(15)	127.72(15)
<b>C(1)-C(6)-S(1)</b>	111.36(14)	111.36(14)
<b>N(2)-C(7)-N(1)</b>	123.35(18)	123.35(18)
<b>N(2)-C(7)-S(1)</b>	125.50(16)	125.50(16)
<b>N(1)-C(7)-S(1)</b>	111.14(14)	111.14(14)
<b>N(1)-C(8)-C(9)</b>	112.97(18)	112.97(18)
<b>N(1)-C(8)-H(8A)</b>	109.0	109.0
<b>C(9)-C(8)-H(8A)</b>	109.0	109.0
<b>N(1)-C(8)-H(8B)</b>	109.0	109.0
<b>C(9)-C(8)-H(8B)</b>	109.0	109.0
<b>H(8A)-C(8)-H(8B)</b>	107.8	107.8
<b>C(8)-C(9)-H(9A)</b>	109.5	109.5
<b>C(8)-C(9)-H(9B)</b>	109.5	109.5
<b>H(9A)-C(9)-H(9B)</b>	109.5	109.5
<b>C(8)-C(9)-H(9C)</b>	109.5	109.5
<b>H(9A)-C(9)-H(9C)</b>	109.5	109.5
<b>H(9B)-C(9)-H(9C)</b>	109.5	109.5
<b>C(15)-S(3)-C(16)</b>	90.33(10)	90.33(10)
<b>O(5)-S(4)-O(6)</b>	111.55(10)	111.55(10)
<b>O(5)-S(4)-O(4)</b>	112.31(9)	112.31(9)
<b>O(6)-S(4)-O(4)</b>	112.00(9)	112.00(9)
<b>O(5)-S(4)-C(13)</b>	107.46(9)	107.46(9)
<b>O(6)-S(4)-C(13)</b>	107.71(9)	107.71(9)
<b>O(4)-S(4)-C(13)</b>	105.41(9)	105.41(9)
<b>C(16)-N(3)-C(10)</b>	114.38(17)	114.38(17)
<b>C(16)-N(3)-C(17)</b>	121.38(17)	121.38(17)
<b>C(10)-N(3)-C(17)</b>	123.48(16)	123.48(16)
<b>C(16)-N(4)-N(4)#2</b>	111.1(2)	111.1(2)
<b>N(3)-C(10)-C(11)</b>	126.31(18)	126.31(18)

<b>N(3)-C(10)-C(15)</b>	112.98(17)	112.98(17)
<b>C(11)-C(10)-C(15)</b>	120.70(18)	120.70(18)
<b>C(12)-C(11)-C(10)</b>	118.52(18)	118.52(18)
<b>C(12)-C(11)-H(11)</b>	120.7	120.7
<b>C(10)-C(11)-H(11)</b>	120.7	120.7
<b>C(11)-C(12)-C(13)</b>	120.64(18)	120.64(18)
<b>C(11)-C(12)-H(12)</b>	119.7	119.7
<b>C(13)-C(12)-H(12)</b>	119.7	119.7
<b>C(14)-C(13)-C(12)</b>	121.07(19)	121.07(19)
<b>C(14)-C(13)-S(4)</b>	120.51(15)	120.51(15)
<b>C(12)-C(13)-S(4)</b>	118.36(15)	118.36(15)
<b>C(15)-C(14)-C(13)</b>	118.21(18)	118.21(18)
<b>C(15)-C(14)-H(14)</b>	120.9	120.9
<b>C(13)-C(14)-H(14)</b>	120.9	120.9
<b>C(14)-C(15)-C(10)</b>	120.84(17)	120.84(17)
<b>C(14)-C(15)-S(3)</b>	127.83(16)	127.83(16)
<b>C(10)-C(15)-S(3)</b>	111.34(15)	111.34(15)
<b>N(4)-C(16)-N(3)</b>	123.28(19)	123.28(19)
<b>N(4)-C(16)-S(3)</b>	125.85(16)	125.85(16)
<b>N(3)-C(16)-S(3)</b>	110.87(15)	110.87(15)
<b>N(3)-C(17)-C(18)</b>	111.62(17)	111.62(17)
<b>N(3)-C(17)-H(17A)</b>	109.3	109.3
<b>C(18)-C(17)-H(17A)</b>	109.3	109.3
<b>N(3)-C(17)-H(17B)</b>	109.3	109.3
<b>C(18)-C(17)-H(17B)</b>	109.3	109.3
<b>H(17A)-C(17)-H(17B)</b>	108.0	108.0
<b>C(17)-C(18)-H(18A)</b>	109.5	109.5
<b>C(17)-C(18)-H(18B)</b>	109.5	109.5
<b>H(18A)-C(18)-H(18B)</b>	109.5	109.5
<b>C(17)-C(18)-H(18C)</b>	109.5	109.5
<b>H(18A)-C(18)-H(18C)</b>	109.5	109.5
<b>H(18B)-C(18)-H(18C)</b>	109.5	109.5
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-O(5W)</b>	180.000(1)	180.000(1)
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-O(2W)</b>	91.58(6)	91.58(6)
<b>O(5W)-Zn(1A)-O(2W)</b>	88.42(6)	88.42(6)
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-</b>	88.42(6)	88.42(6)

<b>O(2W)#3</b>		
<b>O(5W)-Zn(1A)-O(2W)#3</b>	91.58(6)	91.58(6)
<b>O(2W)-Zn(1A)-O(2W)#3</b>	180.0	180.0
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-O(1W)</b>	92.06(6)	92.06(6)
<b>O(5W)-Zn(1A)-O(1W)</b>	87.94(6)	87.94(6)
<b>O(2W)-Zn(1A)-O(1W)</b>	94.93(5)	94.93(5)
<b>O(2W)#3-Zn(1A)-O(1W)</b>	85.07(5)	85.07(5)
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-</b>	87.94(6)	87.94(6)
<b>O(1W)#3</b>		
<b>O(5W)-Zn(1A)-O(1W)#3</b>	92.06(6)	92.06(6)
<b>O(2W)-Zn(1A)-O(1W)#3</b>	85.07(5)	85.07(5)
<b>O(2W)#3-Zn(1A)-</b>	94.93(5)	94.93(5)
<b>O(1W)#3</b>		
<b>O(1W)-Zn(1A)-O(1W)#3</b>	180.00(7)	180.00(7)
<b>Zn(1A)-O(1W)-H(1W2)</b>	122.3	122.3
<b>Zn(1A)-O(1W)-H(1W1)</b>	113.5	113.5
<b>H(1W2)-O(1W)-H(1W1)</b>	99.7	99.7
<b>Zn(1A)-O(2W)-H(2W1)</b>	125.1	125.1
<b>Zn(1A)-O(2W)-H(2W2)</b>	112.3	112.3
<b>H(2W1)-O(2W)-H(2W2)</b>	108.4	108.4
<b>Zn(1A)-O(5W)-H(5W2)</b>	123.4	123.4
<b>Zn(1A)-O(5W)-H(5W1)</b>	117.5	117.5
<b>H(5W2)-O(5W)-H(5W1)</b>	112.9	112.9
<b>H(01)-N(5)-H(04)</b>	102.9	102.9
<b>H(01)-N(5)-H(02)</b>	107.5	107.5
<b>H(04)-N(5)-H(02)</b>	124.1	124.1
<b>H(01)-N(5)-H(03)</b>	112.1	112.1
<b>H(04)-N(5)-H(03)</b>	102.4	102.4
<b>H(02)-N(5)-H(03)</b>	107.8	107.8
<b>H(3W2)-O(3W)-H(3W1)</b>	100.1	100.1
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-O(5W)</b>	180.000(1)	180.000(1)
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-O(2W)</b>	91.58(6)	91.58(6)
<b>O(5W)-Zn(1A)-O(2W)</b>	88.42(6)	88.42(6)
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-</b>	88.42(6)	88.42(6)
<b>O(2W)#3</b>		
<b>O(5W)-Zn(1A)-O(2W)#3</b>	91.58(6)	91.58(6)

<b>O(2W)-Zn(1A)-O(2W)#3</b>	180.0	180.0
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-O(1W)</b>	92.06(6)	92.06(6)
<b>O(5W)-Zn(1A)-O(1W)</b>	87.94(6)	87.94(6)
<b>O(2W)-Zn(1A)-O(1W)</b>	94.93(5)	94.93(5)
<b>O(2W)#3-Zn(1A)-O(1W)</b>	85.07(5)	85.07(5)
<b>O(5W)#3-Zn(1A)-</b>	87.94(6)	87.94(6)
<b>O(1W)#3</b>		
<b>O(5W)-Zn(1A)-O(1W)#3</b>	92.06(6)	92.06(6)
<b>O(2W)-Zn(1A)-O(1W)#3</b>	85.07(5)	85.07(5)
<b>O(2W)#3-Zn(1A)-</b>	94.93(5)	94.93(5)
<b>O(1W)#3</b>		
<b>O(1W)-Zn(1A)-O(1W)#3</b>	180.00(7)	180.00(7)
<b>Zn(1A)-O(1W)-H(1W2)</b>	122.3	122.3
<b>Zn(1A)-O(1W)-H(1W1)</b>	113.5	113.5
<b>H(1W2)-O(1W)-H(1W1)</b>	99.7	99.7
<b>Zn(1A)-O(2W)-H(2W1)</b>	125.1	125.1
<b>Zn(1A)-O(2W)-H(2W2)</b>	112.3	112.3
<b>H(2W1)-O(2W)-H(2W2)</b>	108.4	108.4
<b>Zn(1A)-O(5W)-H(5W2)</b>	123.4	123.4
<b>Zn(1A)-O(5W)-H(5W1)</b>	117.5	117.5
<b>H(5W2)-O(5W)-H(5W1)</b>	112.9	112.9
<b>H(01)-N(5)-H(04)</b>	102.9	102.9
<b>H(01)-N(5)-H(02)</b>	107.5	107.5
<b>H(04)-N(5)-H(02)</b>	124.1	124.1
<b>H(01)-N(5)-H(03)</b>	112.1	112.1
<b>H(04)-N(5)-H(03)</b>	102.4	102.4
<b>H(02)-N(5)-H(03)</b>	107.8	107.8
<b>H(3W2)-O(3W)-H(3W1)</b>	100.1	100.1

*Resultados de la caracterización por espectroscopía de RMN  $^1\text{H}$  del compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$*

En la Figura A1 se muestra el espectro de resonancia magnética nuclear protónica del compuesto  $(\text{NH}_4)_2[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{ABTS})_2$ , el cual se obtuvo en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear marca VARIAN, con la frecuencia para hidrógeno de 400 MHz, utilizando  $\text{MeOH}_{\text{d}4}$  como disolvente.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  se observa señales en 1.25 ppm, 3.25 ppm, 7.4 ppm, 7.75 ppm y 7.9 ppm correspondientes a los núcleos de los hidrógenos del  $\text{ABTS}^{2-}$ .

El compuesto caracterizado podría presentar algunas moléculas de  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  ya que las especies radicales del  $\text{ABTS}^{\bullet-}$  presentes en la muestra ampliaron las señales imposibilitando calcular las constantes de acoplamiento de las señales que presenta el  $\text{ABTS}^{2-}$ .

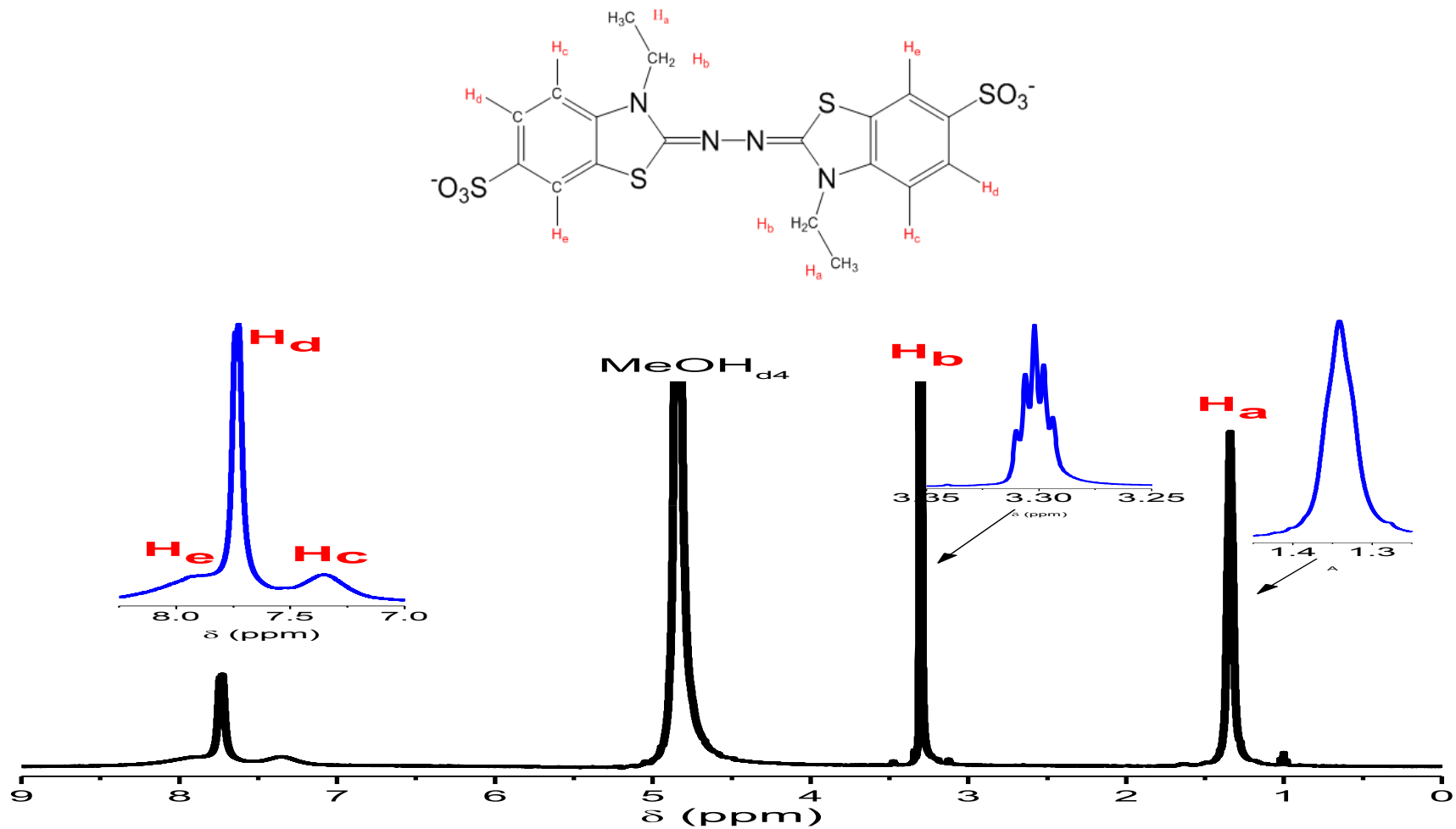


Figura A1. Espectro de RMN <sup>1</sup>H del compuesto (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>[Zn(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>](ABTS)<sub>2</sub>, se identifican cinco diferentes señales en 1.25 ppm, 3.25 ppm, 7.4 ppm, 7.75 ppm y 7.9 ppm, el compuesto caracterizado podría presentar algunas moléculas de ABTS<sup>•+</sup> ya que las especies radicales del ABTS<sup>•+</sup> presentes en la muestra ampliaron las señales imposibilitando calcular las constantes de acoplamiento de las señales que presenta el ABTS<sup>2-</sup>. Los espectros fueron obtenidos a una frecuencia de 400 MHz en MeOH<sub>d4</sub>.

