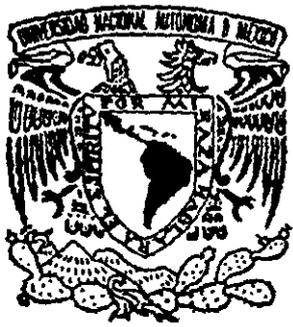


10561

7
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

ESTUDIO FISICOQUIMICO DEL SISTEMA CUATERNARIO
AGUA/1, 10-FENANTROLINA/CISTEINA/COBRE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
FISICOQUIMICA

PRESENTA:
JULIO ARTURO SOTO GUERRERO

ASESOR: DR. ALBERTO ROJAS HERNANDEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

27 47 26



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

0005

A ti, Imelda

A papá y mamá, Arturo y Adela. A mis hermanos, Miguel, Daniel y Nantli, gracias por todo su apoyo.

Agradezco a los sinodales Dr. Rafael Moreno, Dr. Jesús Martín Polo, M. en C. Ricardo Baltazar, Dra. Ma. Teresa Ramírez y Dra. Adriana Morales todas sus ideas para mejorar este trabajo así como su gentileza y buena voluntad.

Agradezco con cariño la guía del Dr. Alberto Rojas.

Trabajo realizado en el laboratorio de investigación de la sección de química analítica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

Índice

Parte I. Antecedentes

1. Introducción	1
2. Objetivos	3
3. La 1,10-fenantrolina en disolución acuosa	4
3.1. Estudios espectrofotométricos	6
3.2. Descubrimiento de los dímeros de 1,10-fenantrolina en disoluciones ácidas	9
3.3. Tabla de valores de pK_a publicados	11
Bibliografía	11
4. La cisteína en disolución acuosa	12
4.1. Introducción	13
4.2. Micro y macroespecies	13
4.3. Realidad de la disociación de la cisteína	14
4.4. Relación entre las micro y macroconstantes	15
4.5. Comparaciones y asociaciones con derivados de la cisteína	16
4.6. Estudios espectrofotométricos	17
4.6.1. Espectrofotometría del grupo tiolato, 17	
4.6.1. Espectrofotometría de la cisteína en agua, 21	
4.7. Empleo de la espectropolarimetría al estudio de los procesos microscópicos de protonación	22

4.8. Determinación de las microconstantes de la cisteína a partir de datos calorimétricos	26
4.9. Estudios con espectroscopía Raman	29
4.10. Tablas	31
Bibliografía	32
5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa	33
5.0. Introducción	34
5.1. Estudios espectrofotométricos	34
5.1.1. Los espectros visibles de absorción, 34	
5.2. Estudios potenciométricos	39
5.3. Estudios calorimétricos	41
5.3. Tablas de constantes de formación publicadas	42
Bibliografía	43
6. El cobre(II) y la cisteína en disolución acuosa	44
6.1. Investigación polarográfica de las reacciones entre cobre y cisteína en soluciones acuosas	45
6.2.1. Cobre(I) y cisteína en medio amoniacal, 45	
6.2.2. Reacciones en medio amoniacal entre cisteína y cobre(II), 47	
6.2. La 2-mercaptoetilamina y el cobre en disolución acuosa	49
6.2.1. Espectrofotometría de la mercaptoetilamina en disolución, 49	
6.2.2. Un complejo violeta de valencia mixta entre cobre y mercaptoetilamina, 50	
6.2.3. Electroquímica, 51	
6.2.4. Caracterización del complejo, 51	
Bibliografía	53
7. Método de variación continua	55

Parte II. Desarrollo experimental

8. Metodología experimental	59
8.1. Equipo y material, 60	
8.2. Reactivos, 60	
8.3 Descripción de la celda, 60	
8.4. El pH, 61	
8.5. Trabajo con el sistema binario 1,10-fenantrolina, 61	
8.6. Trabajo con el sistema binario cisteína, 62	
8.7. Trabajo con el sistema ternario Cu(II) / 1,10-fenantrolina / H ₂ O, 62	
8.8. Trabajo con el sistema ternario Cu / cisteína / H ₂ O, 62	
8.9. Trabajo con el sistema ternario Cu / 1,10-fenantrolina / cisteína / H ₂ O, 63	
8.10 Descripción de las herramientas computacionales, 63	
Bibliografía, 64	
	65
<i>Sistemas binarios</i>	
9. Resultados y discusión: Sistema: 1,10-fenantrolina/H ₂ O	66
Bibliografía	68
10. Resultados y discusión: Sistema: cisteína/H ₂ O	69
10.1. Estudio potenciométrico de la disociación ácida de la cisteína en agua	70
10.2. Estudio espectrofotométrico de la disociación ácida de la cisteína en agua	74
Bibliografía	84
<i>Sistemas ternarios</i>	
11. Resultados y discusión: Sistema: H ₂ O/ 1,10-fenantrolina / Cu(II)	85
Bibliografía	101
12. Resultados y discusión: Sistema H ₂ O / cisteína / Cu(II)	103
12.1. Resultados	104

12.2. Variaciones continuas	105
12.3. Discusión	108
Bibliografía	112
<i>Sistema cuaternario</i>	
13. Resultados y discusión: Sistema : H ₂ O/ 1,10-fenantrolina / cisteína /Cu	113
13.1. Detección espectrofotométrica en función del pH	114
13.2. Variaciones continuas	120
Bibliografía	124
12. Conclusiones	125

Antecedentes

1. Introducción

1. Introducción.

En este trabajo se estudian sistemas acuosos en los que se hayan disueltos uno o más de los siguientes componentes: 1,10-fenantrolina, cisteína y cobre(II). La intención es realizar un trabajo de especiación. Este estudio indica la estequiometría de los compuestos de coordinación y su estabilidad, además de determinar constantes de disociación ácida de los ligantes.

Se presenta una pequeña revisión de lo que ya se ha hecho al trabajar con estos ligantes en disolución acuosa, así como los estudios realizados en presencia de cobre. Es evidente que la presencia de complejos mixtos (complejos ternarios) es posible, pero hasta donde se sabe, ningún estudio se ha realizado con el fin de saber que es lo que ocurre en esta mezcla cuaternaria particular.

Enseguida se pasa al desarrollo experimental basado fundamentalmente en medidas espectrofotométricas. Con el empleo de SQUAD (*Stability Quotients from Absorbance Data*) como herramienta principal, se desarrollan los modelos que mejor interpretan la información experimental. El programa aquí empleado ha formado parte del conjunto de herramientas de análisis de los grupos de investigación de la UAM-Iztapalapa y la FES-Cuautitlán-UNAM en México. El programa puede tratar con complejos mixtos por lo que se presenta como una herramienta potencialmente utilizable para un trabajo de esta naturaleza.

2. Objetivos

2. Objetivos.

El objetivo principal es describir el equilibrio químico en disoluciones acuosas en cinco mezclas: (1) 1,10-fenantrolina/agua; (2) cisteína/agua; (3) cobre(II)/1,10-fenantrolina/agua; (4) cobre(II)/cisteína/agua y (5) cobre(II)/1,10-fenantrolina/ cisteína/agua en medios ácidos, básicos y en diferentes proporciones metal/ligando(s). Este estudio se realiza mediante el tratamiento de información espectrofotométrica de absorción del ultravioleta.

El alcance de esta descripción queda inscrito en los siguientes objetivos particulares:

- i) Obtener las constantes de disociación ácida (pK_a) de la 1,10-fenantrolina y la cisteína.
- ii) Los equilibrios ácido-base de la cisteína involucran la presencia de tautómeros y se quiere determinar la razón tautomérica que describe este proceso.
- iii) Refinar¹ a través del programa SQUAD las constantes de los equilibrios de formación (entendiéndose por tales los cocientes de reacción o concentración en el equilibrio, expresado éste como la formación del compuesto) de cada una de las especies (compuestos de coordinación) halladas procesando las absorbancias medidas.
- iv) Determinar los espectros de absorción de cada una de las especies absorbentes que se forman en los sistemas. Esto se refiere a las absorptividades molares (ϵ) que necesariamente se calculan junto con el refinamiento de las constantes de equilibrio de SQUAD.
- v) Establecer los modelos químicos (conjunto de constantes de equilibrio) que mejor interpreten la información experimental. Los elementos de juicio para discriminar y elegir son: aspectos estadísticos y espectrofotométricos, la literatura científica previa y el conocimiento químico general. Mencionar las semejanzas y diferencias con los resultados previamente publicados, cuando sea posible.

¹ Por *refinar* se entiende modificar el valor inicial de una magnitud fisicoquímica hasta el punto en que mejore la interpretación/predicción de la información experimental basada en dicha cantidad. El *refinamiento* generalmente es un proceso en el que se maximizan o minimizan uno o varios parámetros estadísticos. El valor inicial se toma de la literatura antecedente o a partir de una propuesta razonable.

3. La 1,10-fenantrolina en disolución acuosa

3. La 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

Aunque la molécula de 1,10-fenantrolina (*fen*) posee dos átomos de nitrógeno básico, ésta sólo se combina con un segundo protón en condiciones extremas. La razón de ello es que los átomos de nitrógeno están separados por una distancia de tan sólo 2.5 \AA [1]. Ocupan una posición en la molécula tal que las fuerzas electrostáticas o estéricas (o ambas) impiden que dos protones se combinen fácilmente con la 1,10-fenantrolina.

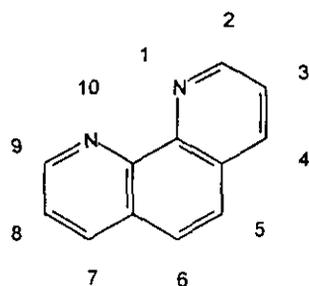


FIG. 3.1. Estructura de la 1,10-fenantrolina

3.1. Estudios espectrofotométricos.

LINNELL y KACZMARCZYK [2] realizaron uno de los trabajos espectrofotométricos más completos que se le hayan hecho a la 1,10-fenantrolina disuelta en agua. Ellos emplearon celdas de sílice, los espectros se registraron a $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Excepto en medios ácidos concentrados, la fuerza iónica se mantuvo en 0.02 M con HCl , NaOH-HOAc , NH_4OAc y Na_2HPO_4 , dependiendo del amortiguador. Todas las disoluciones dan espectros estables con el tiempo durante un período de varias semanas. Los espectros de absorción ultravioleta (UV) de cada una de las especies se muestra en las figuras 3.2.

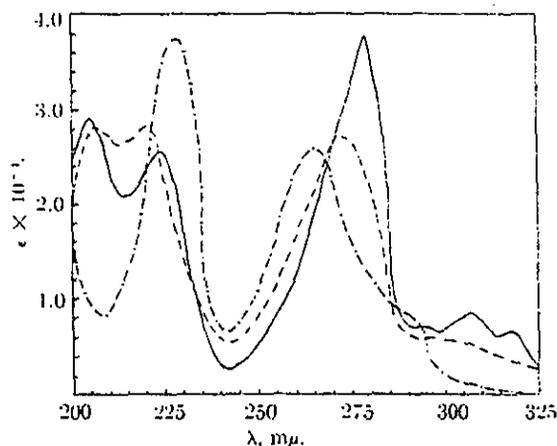


FIG. 3.2. 1,10-fenantrolina : —•—•— forma *fen* ;
 - - - forma *fenH*⁺ ; — forma *fenH*₂²⁺ [2]

3. La 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

La base libre (fen) está caracterizada por una longitud de máxima absorción, λ_{\max} , a 265 y 229 nm [2-3]. En disolución acuosa diluida (10^{-4} mol dm^{-3}) el espectro ultravioleta (UV) de la 1,10-fenantrolina es 229 ($\epsilon = 43100$), 264 (29460), 309 (970) y 324 nm ($700 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [4]. Un hombro pequeño a 290 nm se ve en soluciones acuosas de alto pH. Ver Fig. 3.2.

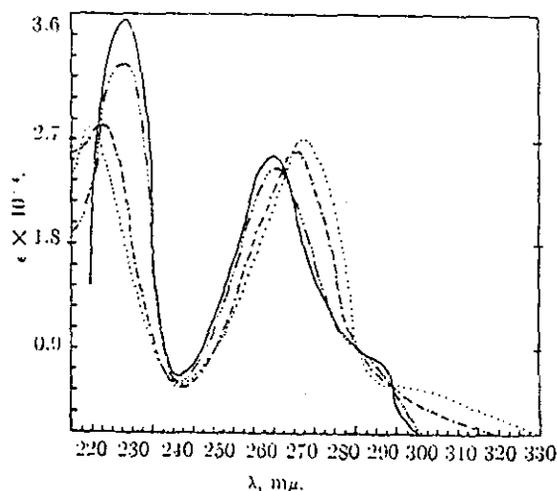


FIG. 3.3. 1,10-fenantrolina : $\text{fenH}^+ = \text{fen} + \text{H}^+$, $\text{pH}=14$; \cdots , $\text{pH}=8.90$; $-\cdot-\cdot-$, $\text{pH}=4.00$; $\cdots\cdots$, $\text{pH}=1.66$ [2]

En la Fig. 3.3 se muestra el desplazamiento de la forma fen a fenH^+ (ion fenantrolinio), caracterizado por la desaparición del hombro a 290 nm, desplazamiento de λ_{\max} de 265 nm a 272 nm, y desplazamiento de λ_{\max} de 229 a 220 nm con una nueva banda a 206 nm (la rendija se encontraba abierta casi al máximo y los autores dudan de la certidumbre de esta banda) [2]. Los espectros presentan puntos isobésticos en 269, 286 y 294 nm [5].

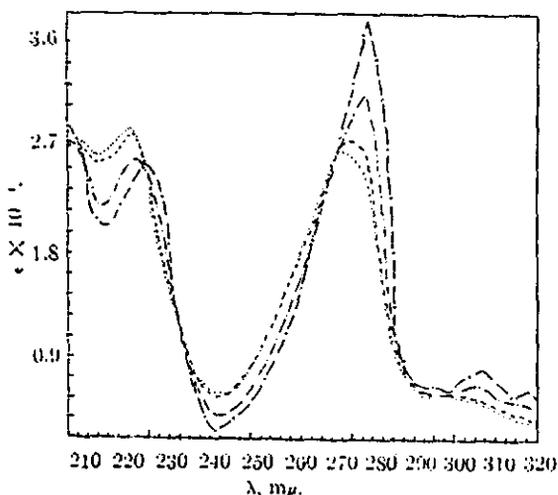


FIG. 3.4. 1,10-fenantrolina : $\text{fenH}_2^{2+} = \text{fenH}^+ + \text{H}^+$: \cdots , $\text{pH} = 0.14$, H_2SO_4 ; $\cdots\cdots$, 18% H_2SO_4 ; $-\cdot-\cdot-$, 31% H_2SO_4 ; $-\cdot-\cdot-$, 68% H_2SO_4 [2]

3. La 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

En soluciones de ácido sulfúrico, figura 3.4, la banda de longitud de onda larga se desplaza a 224 nm con una nueva banda a 205 nm y dos nuevas bandas débiles a 307 y 318 nm [2].

Para establecer las constantes de acidez se traza la absorptividad molar del máximo para cada banda de absorción vs. el pH. La estimación se obtiene al leer el pH en el punto de inflexión donde $[\text{fen}]/[\text{fenH}^+]$ (o $[\text{fenH}^+]/[\text{fenH}_2^{2+}]$) es igual a uno. La escala de pH usada en medios concentrados de ácido sulfúrico se puede obtener mediante la técnica de Hammett y colaboradores [6].

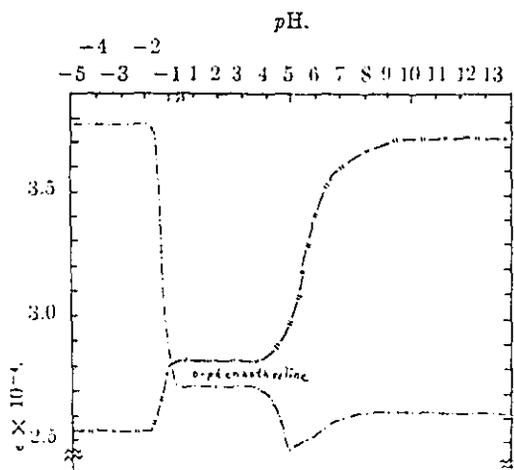
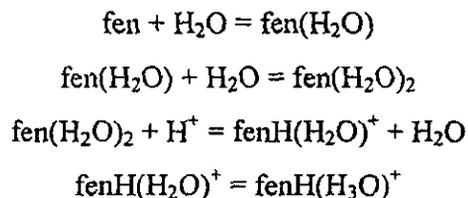


FIG. 3.5. 1,10-fenantrolina : —||—, 229-220-224 nm ;
—•—, 265-272-279 nm [2]

La gráfica de absorbancia a $\lambda_{265-272-279}$ vs. pH (ver figura 3.5) muestra un comportamiento anómalo: en la vecindad alrededor de pH = 5.0 la curva no es derivable. La gráfica de $\lambda_{229-220-224}$ vs. pH, figura 3.5, da un valor de $pK(\text{fenH}^+) = 5.46$ y ambas gráficas de λ vs. pH dan un $pK(\text{fenH}_2^{2+}) = -1.6$ [2].

Se observa un comportamiento anómalo en la 1,10-fenantrolina en la banda de longitud de onda larga (λ 260-272 nm) cuando se grafican los valores de ϵ_{max} vs. pH (ver figura 3.5) aunque sólo para el equilibrio $\text{fenH}^+ = \text{fen} + \text{H}^+$; tentativamente se ha sugerido que la 1,10-fenantrolina se hidrata en disolución acuosa y que existen varios equilibrios [2]:



donde los valores de ϵ_{max} a 265-272 nm varían de acuerdo a la desigualdad $\epsilon_{\text{fenH}(\text{H}_2\text{O})^+} < \epsilon_{\text{fen}(\text{H}_2\text{O})_2} < \epsilon_{\text{fenH}(\text{H}_3\text{O})^+}$.

3.2. Descubrimiento de los dímeros de 1,10-fenantrolina en disoluciones ácidas.

Al añadir perclorato de sodio acuoso a una disolución de 1,10-fenantrolina e ion hidrógeno en razón 2:1 se provoca la precipitación de un compuesto de composición empírica $(fen)_2HClO_4$. La espectroscopia infrarroja y datos de rayos X muestran que este material no es una mezcla de 1,10-fenantrolina y perclorato de 1,10-fenantrolina [7]. Se trata de un compuesto de composición constante y definida. También se han aislado sales de fen_2H^+ de disoluciones de ácido clorhídrico 10 M [7]. Esto sugiere la posible existencia de la especie $H(fen)_2^+$ en disolución en ciertas condiciones.

No fue sino hasta el trabajo de FAHSEL y BANKS [8] en 1966 que se probó experimentalmente la existencia de especies protonadas en las que la razón H^+ :1,10-fenantrolina es 1:1 y 1:2, dando valores incluso para la constante de formación de una especie 1:3. Se ha encontrado que las especies $Hfen^+$ y $H(fen)_2^+$ se forman en el intervalo de $-\log [H^+] = 2 - 7$ y que la especie H_2fen^{2+} también se encuentra en soluciones de $[H^+] > 1 \text{ mol dm}^{-3}$ dando evidencia espectrofotométrica de su existencia[2,3].

ISHIGURO ET AL. [9] presentaron un estudio termoquímico y una investigación potenciométrica cuidadosa para estudiar a la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

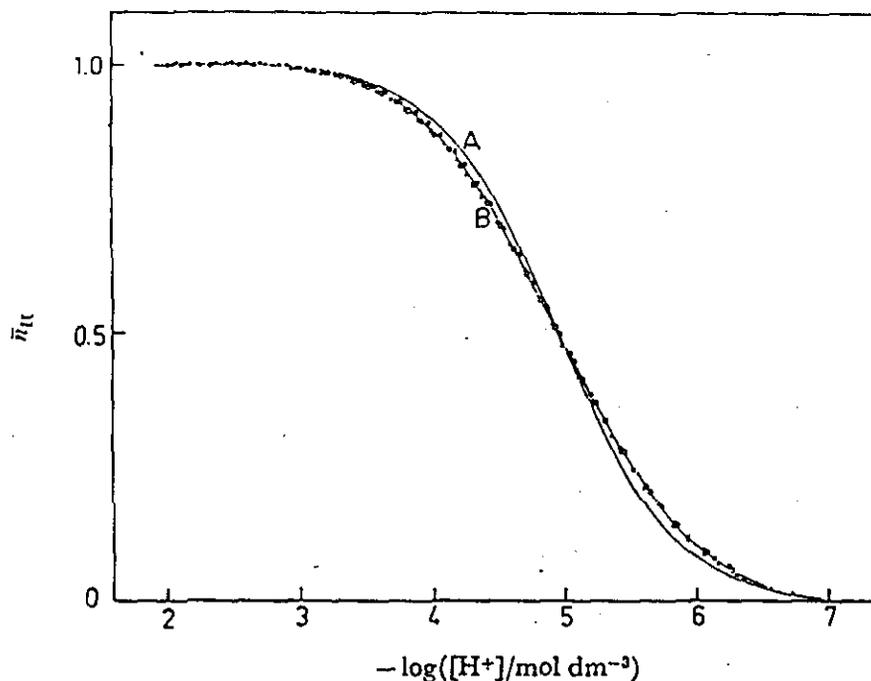


FIG. 3.6. Curvas de formación de las especies protonadas de la 1,10-fenantrolina (fen) en disolución acuosa [9]. $C_L(fen) / \text{mmol dm}^{-3} = 7.215$ (○), 10.84 (Δ), y 13.00 (⊙). Las líneas sólidas A y B fueron calculadas en el caso 1 ($Hfen^+$ únicamente) y en el caso 2 ($Hfen^+$ y $H(fen)_2^+$), respectivamente.

3. La 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

Las curvas de formación [$n_{H,obs} \equiv (C_H - [H^+]) / C_L = f(-\log([H^+]/\text{mol dm}^{-3}))$], llamado el número promedio de protones, donde C_H y C_L denotan la concentración total de protón y 1,10-fenantrolina, respectivamente], obtenidas experimentalmente por ellos, están representadas en la figura 3.6. Se encontró que los puntos experimentales se desvían sistemáticamente de la curva teórica (curva A en la figura 3.6) calculada al asumir solo la formación de $H(fen)^+$. Si se supone la formación de otras especies tales como $H(fen)_2^+$ y $H(fen)_3^+$ que pudiera esperarse se forman a $4 \leq -\log [H^+] \leq 6$. Como se muestra en la tabla 3.1, la introducción de $H(fen)_2^+$ (caso 2) mejora la suma de los cuadrados de los errores, $U = \sum \{(C_{H,obs} - C_{H,calc})^2 + (C_{L,obs} - C_{L,calc})^2\}$, mientras que la posterior introducción de $H(fen)_3^+$ (caso 3) ya no mejora más el resultado. De hecho se observa que la desviación estándar de $\log \beta_2$ aumenta significativamente al ir del caso 2 al 3 (Tabla 3.1). Los puntos experimentales cayeron bien sobre la curva (curva B en la figura 3.6) calculada al suponer la formación de $H(fen)^+$ y $H(fen)_2^+$. Por lo tanto es posible afirmar que sólo se tiene prueba de la formación de las especies $H(fen)^+$ y $H(fen)_2^+$ en las disoluciones bajo las condiciones experimentales citadas.

TABLA 3.1
Refinamiento por mínimos cuadrados de las constantes de formación de $H(fen)_n^+$
en disolución acuosa. $\mu = 0.3 \text{ mol dm}^{-3}$ (NaCl). $T = 25^\circ\text{C}$. [9]

Especies	$\log \beta_n$		
	Caso 1	Caso 2	Caso 3
$H(fen)^+$	4.97(0.006)	4.96(0.003)	4.97(0.002)
$H(fen)_2^+$		6.65(0.02)	6.6(0.1)
$H(fen)_3^+$			7.90(0.04)
U	8.3×10^{-7}	9.2×10^{-8}	9.1×10^{-8}

Los valores en paréntesis se refieren a las desviaciones estándar.

Aunado a esto se cuentan con estudios calorimétricos [9, 10] y de RMN [4, 7, 11] que estudian en detalle este proceso. Dado que en los sistemas experimentales de este trabajo las concentraciones de 1,10-fenantrolina se encuentran del orden de 10^{-5} M , estas especies no aparecerán en disolución. Sin embargo, una discusión más amplia de este fenómeno es posible hallarla en un trabajo de tesis de licenciatura [12].

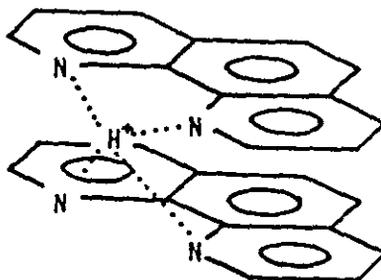


FIG. 3.7. La estructura sugerida de las especies $H(fen)_2^+$ [8]

3.3. Tabla de valores de pKa publicados.

TABLA. 3.2.
Valores para pK_{a2} obtenidos por diferentes métodos y autores.
 $K_{a2} = [H^+][fen]/[Hfen^+]$

pK_{a2}	μ / M	$T / ^\circ C$	Método	Referencia
5.11	0.1	25±0.05	Potenciometría-Ag	[8]
5.31(0.02)	1.0	25	Espectrofotometría	[5]
5.03	0.5	25	Potenciometría-pH	[13]
4.96(0.006)	0.3	25	Potenciometría-pH	[9]
5.46	0.02	23 ± 2	Espectrofotometría	[2]
4.83	0.5	25	Calorimetría	[10]
4.96(0.01)	0.3	25	Calorimetría	[9]
4.97(0.03)	0.10	25	Potenciometría	[14]

Entre paréntesis se halla la desviación estándar de la constante. Donde se encuentre ausente es porque no se cita en la referencia.

Bibliografía.

- [1] T. S. Lee, I. M. Kolthoff and D. L. Leussing, *J. Amer. Chem. Soc.*, **70**, 2348 (1948).
 [2] R. H. Linnell and A. Kaczmarczyk, *J. Phys. Chem.*, **65**, 1196 (1961).
 [3] D. W. Margerum, R. Bystroff and C. V. Banks, *J. Amer. Chem. Soc.*, **78**, 4211 (1956).
 [4] P. R. Mitchell, *J. Chem. Soc. Dalton*, **1980**, 1079.
 [5] S. Yamada, K. Ohsuni, and M. Tanaka, *Inorg. Chem.*, **17**, 2790 (1978).
 [6] L. Hammet and A. J. Deyrup, *J. Am. Chem. Soc.*, **54**, 2721 (1932); L. Hammet and M. A. Paul, *ibid.*, **56**, 827 (1934); L. A. Flexser L. P. Hammet and A. Dingwall, *ibid.*, **57**, 2103 (1935).
 [7] J. V. Rund and P. C. Keller, *J. Chem. Soc. (A)*, **1970**, 2827.
 [8] M. J. Fahsel and C. V. Banks, *J. Amer. Chem. Soc.*, **88**, 878 (1966).
 [9] S. Ishiguro, H. Wada and H. Ohtaki, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **58**, 932 (1985).
 [10] P. Paoletti, A. Dei and A. Vacca, *J. Chem. Soc. (A)*, **1971**, 2656.
 [11] P. R. Mitchell, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 1180 (1980).
 [12] Soto, J. *Estudio espectrofotométrico de los equilibrios de formación del sistema cobre(II)/1,10-fenantrolina en solución acuosa*. Tesis de licenciatura, FES-Cuautitlán UNAM, 1997.
 [13] J. P. Scharff et M. R. Pâris, *Bull. Soc. Chim. France*, 1967(1967).
 [14] P. G. Daniele, C. Rigano & S. Sammartano, *Talanta*, **32**, 78 (1985).

4. La cisteína en disolución acuosa

4. La cisteína en disolución acuosa

4.1. Introducción

La cisteína es uno de los veinte aminoácidos naturales comúnmente encontrados en las proteínas. Su función en las proteínas es proveer un grupo SH libre potencialmente reactivo o bien un puente disulfuro. En ciertas enzimas, el grupo SH es un componente importante del sitio activo. Dos cisteínas en una proteína pueden combinarse (en una oxidación) para formar un puente disulfuro. Estos puentes disulfuro afectan la estructura primaria de las proteínas al enlazar dos cadenas peptídicas separadas, como en la insulina, o bien uniendo porciones diferentes de la secuencia de aminoácidos de una misma cadena proteica como en la ribonucleasa. Ya que la cisteína es uno de los aminoácidos más importantes, un conocimiento de sus propiedades químicas y físicas es necesario para una mayor comprensión de su papel en los procesos bioquímicos. Una propiedad fundamental de la cisteína que se relaciona mucho con su reactividad química es la acidez de sus grupos funcionales.

La cisteína es un aminoácido trifuncional que contiene tres grupos ionizables: un ácido carboxílico, un grupo amino y uno tiol. Sin hacer mención de la estereoquímica, un modelo simple de la estructura de la cisteína se muestra en la Fig. 4.1 en medio acuoso a $\text{pH} < 2$. Conforme el medio se neutraliza es claro que se pueden presentar una serie de equilibrios ácido-base que involucran la pérdida sucesiva de cada uno de los tres hidrógenos ácidos.

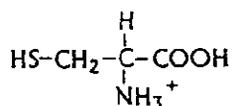


Fig.4.1 Cisteína.

4.2. Micro y macrospecies

Designemos la estructura de la Fig. 4.1 como $L(111)$. El uno, 1, indica que el grupo funcional está en la forma ácida. Un cero, 0, indica que el grupo funcional está en la forma básica. Por ejemplo, en un medio suficientemente básico, la cisteína pierde sus tres protones para ser $L(000)$. Sea el primer número natural para el grupo carboxílico, el segundo para el tiol y el tercero para el amonio. Es claro que podemos hacer esto porque los tres hidrógenos en cuestión son distinguibles.

La cuestión ahora es hallar el mecanismo, esto es la ruta, por el cual este aminoácido pasa de $L(111)$ a $L(000)$. Un diagrama de árbol puede decirnos que, desde el punto de vista puramente probabilístico, existen $(3)(2)(1)=3!=6$ rutas posibles. En la Fig. 4.2 se muestran las diferentes rutas posibles. En dicha figura aparecen ocho diferentes estructuras, cada una de ellas definiendo una microespecie. Una microespecie queda definida cuando se conoce la conectividad entre los átomos de cierta molécula. El equilibrio químico entre microespecies queda descrito por una constante de equilibrio llamada microconstante.

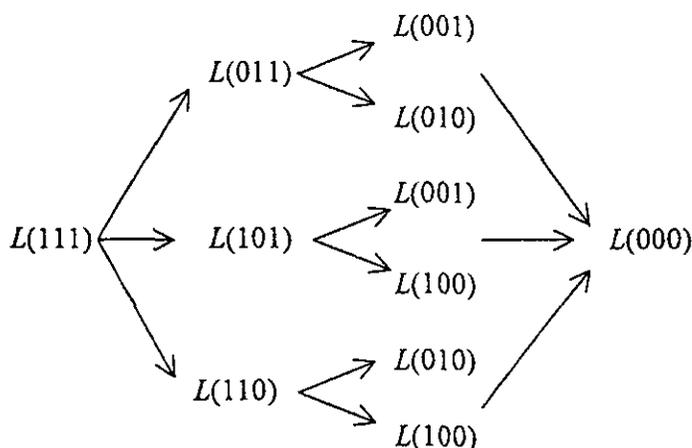


Fig. 4.2. Diagrama de árbol para la disociación de un tridonador.

Observéese que en la disociación de la cisteína participan isómeros, por ejemplo: $L(010)$ y $L(001)$. Estos isómeros se llaman **tautómeros**. Estos isómeros son de la misma fórmula molecular, o sea, mantienen una misma composición estequiométrica. Una **macroespecie** queda definida tan sólo por la composición estequiométrica de un mismo ácido o base (obviamente es posible generalizarla a compuestos de coordinación). Este concepto es una abstracción pues una macroespecie puede estar representando varias microespecies a la vez. Por ejemplo, $L(100)$, $L(010)$ y $L(001)$ son microespecies que corresponde a la misma fórmula estequiométrica del *mismo* ácido. Las tres quedan representadas por una sólo macroespecie. Los equilibrios entre macroespecies quedan caracterizados por **macroconstantes**.

Sea $CYS(1)H(j)$ una macroespecie para las diferentes formas de la cisteína. En este caso $j = 0, 1, 2$ ó 3 . Es posible aproximarse a este concepto mediante la teoría de los conjuntos. Por ejemplo, sea A el conjunto de moléculas de cisteína de la forma $L(100)$ distinguibles entre sí por su posición en un sistema dado. Sea B el correspondiente a las de la forma $L(010)$ y C a los de la forma $L(001)$. Sea M el conjunto cuyos elementos se encuentran en dicho sistema con fórmula macroscópica $CYS(1)H(1)$ distinguibles por su posición. Entonces $M = A \cup B \cup C$. La cardinalidad del conjunto M entre la constante de Avogadro da la cantidad de sustancia de la macroespecie $CYS(1)H(1)$.

4.3. Realidad de la disociación de la cisteína

No todas las estructuras que aparecen en la Fig. 4.2 existen físicamente. Ya se ha negado la existencia de $L(101)$ y $L(110)$: En 1927 Cannan y Knight sugirieron que la primer constante de disociación ácida de la cisteína es *definitivamente* la del grupo carboxilo [1]. Esto quiere decir que la cisteína no pierde el hidrógeno ácido del tiol ni del amonio sin antes perder el del grupo carboxílico.

Entonces el primer paso de la disociación es $L(111) \rightarrow L(011)$. Después la disociación completa de la cisteína queda descrita por el esquema de la Fig. 4.3. Ahí se adopta la notación común para abreviar cisteína (Cys) y se maneja la escritura convencional que escribe el número de hidrógenos ácidos como un subíndice de H. Además se indica la carga y un esquema de la estructura de la especie representada. Creemos que el lector

está más familiarizado con esta notación y que para la discusión posterior ésta es suficiente y clara.

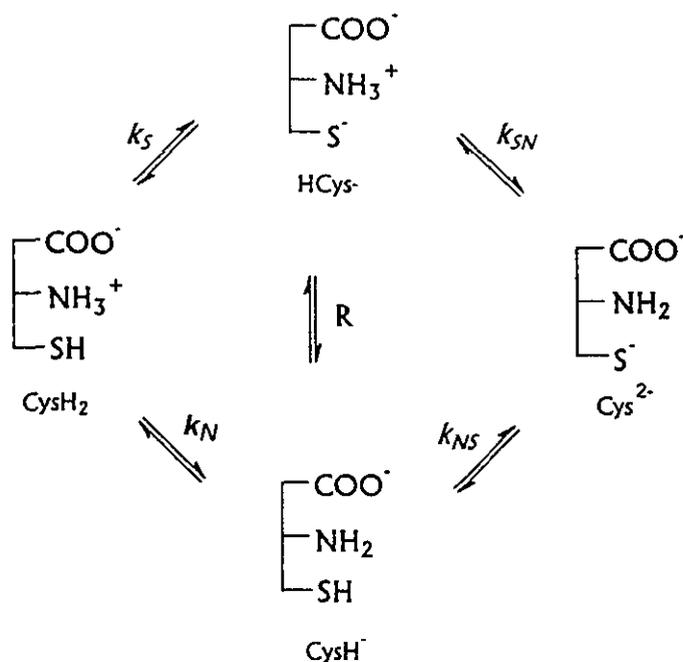


Fig. 4.3. Esquema de disociación para la cisteína en donde se definen las microconstantes y el equilibrio de tautomerización.

Cada uno de los cuatro equilibrios representados en la Fig. 4.3 queda caracterizado por una de las microconstantes k_S , k_N , k_{SN} , k_{NS} . Éstas se definen de la siguiente forma:

$$k_S = [\text{HCys}^-][\text{H}^+] / [\text{CysH}_2] \quad (4.1a)$$

$$k_N = [\text{CysH}^-][\text{H}^+] / [\text{CysH}_2] \quad (4.1b)$$

$$k_{SN} = [\text{Cys}^{2-}][\text{H}^+] / [\text{HCys}^-] \quad (4.1c)$$

$$k_{NS} = [\text{Cys}^{2-}][\text{H}^+] / [\text{CysH}^-] \quad (4.1d)$$

La *constante tautomérica*, R , describe el equilibrio entre las dos microespecies posibles que comprende la macroespecie CYS(1)H(1):

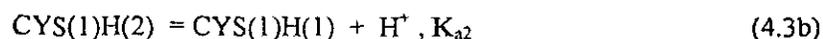
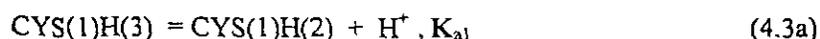
$$R = [\text{HCys}^-] / [\text{CysH}^-] \quad (4.2)$$

4.4. Relación entre las micro y macroconstantes

Un método frecuente para determinar las constantes de disociación ácida consiste en el análisis de datos originados en valoraciones potenciométricas (pH). El método-pH determina constantes de equilibrio entre especies de diferente estequiometría en el esquema donador/receptor/partícula. Esta metodología no distingue entre tautómeros, es decir microespecies. Por lo tanto, las constantes relativas a la cisteína determinadas por

este método son las macroconstantes. Como ocurre cuando se relaciona la temperatura de un cuerpo con el movimiento de las moléculas, las macroconstantes están relacionadas con las microconstantes. El precio de ser más precisos es el aumento de los grados de libertad.

Escribamos los equilibrios asociados a las macroconstantes:



donde se ha usado el signo = para designar equilibrio químico. Las micro y macroconstantes están relacionadas entre si por las expresiones:

$$K_{a2} = k_s + k_N \quad (4.4)$$

$$1 / K_{a3} = 1 / k_{SN} + 1 / k_{NS} \quad (4.5)$$

$$K_{a2}K_{a3} = k_s k_{SN} = k_N k_{NS} \quad (4.6)$$

Este sistema de ecuaciones muestra que el conocimiento de las microconstantes determina el de las macroconstantes pero no a la inversa. Con el valor conocido de las macroconstantes K_{a2} y K_{a3} se tiene un sistema de tres ecuaciones y cuatro incógnitas. Se necesita además determinar una microconstante para resolver completamente el sistema.

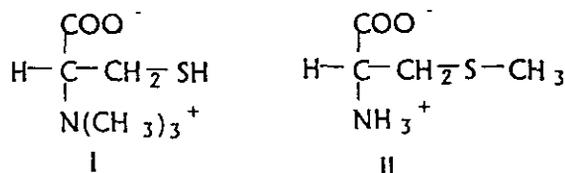
Es conveniente remarcar que el caso límite correspondiente a un valor nulo para una de estas microconstantes (k_s por ejemplo) implica necesariamente un esquema de disociación según los equilibrios (4.3a-c) donde no intervendrían más que las macroconstantes. Esto equivale a decir, según la Fig. 4.3, que uno de los caminos ($\text{CysH}_2 \rightarrow \text{HCys}^- \rightarrow \text{Cys}^{2-}$, en el caso elegido si $k_s = 0$) no existe y que la disociación se lleva a cabo por la otra vía.

4.5. Comparaciones y asociaciones con derivados de la cisteína.

Se han sintetizado "análogos" de la cisteína para identificar la vía precisa de disociación ácida de esta sustancia. El problema es la determinación de las microconstantes. Los análogos son estructuralmente semejantes a la cisteína. Se distinguen porque alguno de los grupos se forma un enlace covalente extra con un pequeño radical alquilo (metilo o etilo) que modifica su química ácido-base al grado de hacerla desaparecer.

Ejemplo, RYKLAN Y SCHMIDT [4]: Se emplea el pK_a del grupo amonio de la S-etilcisteína, $pK_{H^+}^{R-NH_3^+} = 8.60$ [5], como pK_N . A partir de los valores determinados experimentalmente de K_{a2} y K_{a3} para la cisteína se resuelve para las constantes faltantes. Así: $pK_s = 8.66$, $pK_{NS} = 10.45$ y $pK_{SN} = 10.51$.

GRAFIUS Y NEILANDS [6] estudiaron otra sustancia modelo alternativa: la cisteína betaina (I). Este compuesto contiene un grupo positivo permanente, $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$, y puede esperarse que la influencia de este grupo en la ionización del grupo $-\text{SH}$ sea comparable a la del grupo $-\text{NH}_3^+$ en la cisteína. Para una estimación de k_N prepararon y titularon S-metilcisteína (II), un derivado semejante a la S-etilcisteína.



Los valores de las constantes de disociación ácida macroscópicas para cisteína, cisteína betaina y S-metilcisteína se muestran en la Tabla 4.1.

TABLA 4.1
Constantes macroscópicas de disociación ácida de cisteína, cisteína betaina y S-metilcisteína. $\mu = 0.15 \text{ M} (\text{NaCl})$, $T = 25^\circ\text{C}$

	pK_{a2}	pK_{a3}
Cisteína	8.30	10.40
Cisteína betaina	8.65
S-metilcisteína	8.75

Sustituyendo los valores $pk_S \approx 8.65$ y $pk_N \approx 8.75$ (valores tomados del pK_{a2} para la cisteína betaina y la S-metilcisteína, respectivamente) en la relación $K_{a2} = k_S + k_N$, se obtiene 8.39 como el pK_{a2} de la cisteína. Esto parece adecuado según el valor experimental de 8.30 en las mismas condiciones (Tabla 4.1). De $k_{SN} = K_{a2}K_{a3} / k_S$ se encontró $pk_{SN} = 10.05$; y de $k_{NS} = K_{a2}K_{a3} / k_N$ la cifra para pk_{NS} es de 9.95. Aparentemente los valores algo pequeños de k_{SN} y k_{NS} informados por Rykjan y Schmidt son una consecuencia del alto valor seleccionado para el pK_{a3} de la cisteína, 10.78 a fuerza iónica cero. En cualquier caso, cabría esperar que k_{SN} y k_{NS} fueran pequeñas a causa del efecto debilitante provocado por la carga neta negativa de las especies iónicas intermedias.

Estos resultados favorecen el concepto de que las fuerzas de acidez de los grupos $-\text{SH}$ y $-\text{NH}_3^+$ de la cisteína son similares. Estos datos están de acuerdo con el esquema de ionización propuesto por Edsall.

4.6. Estudios espectrofotométricos.

4.6.1. Espectrofotometría del grupo tiolato.

El hallazgo realizado por NODA, *ET AL.* [7] de que el *n*-butilmercaptano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{SH}$) absorbe luz ultravioleta en soluciones alcalinas pero no en las ácidas, sugiere que las técnicas espectrofotométricas son capaces de medir la concentración de la forma RS^- (mercapturo).

Con el objetivo de estudiar este fenómeno, GORIN [8] realizó un estudio con ácido tioglicólico. La curva de titulación (Fig.4.4), indica que este ácido es dibásico; las

4. La cisteína en disolución acuosa

regiones buffer están ampliamente separadas, y es de esperar, por tanto, que en la primera exista principalmente H_2Tgl y $HTgl^-$, y en la segunda solamente $HTgl^-$ y Tgl^{2-} .

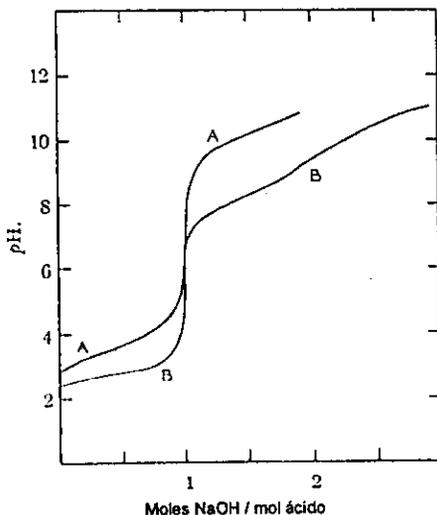
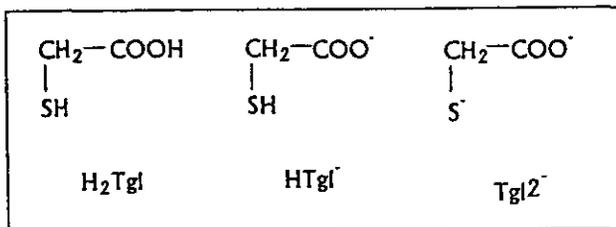


FIG. 4.4. Curvas de titulación: (A) ácido tioglicólico; (B) clorhidrato de cisteína; soluciones 0.01 M en cloruro de potasio 0.10 M. [8]

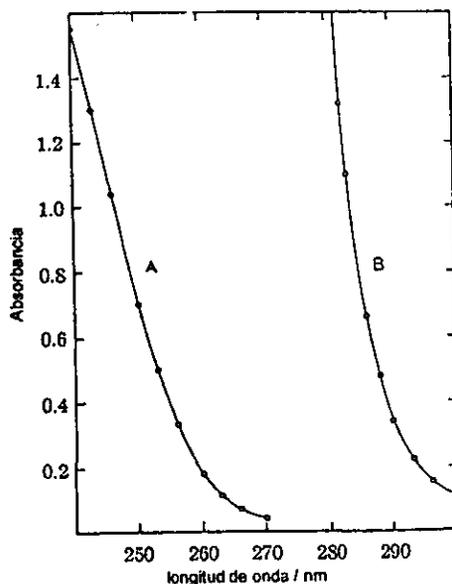


FIG. 4.5. Espectros del ácido tioglicólico: (A) 0.01 M en 0.10 M de cloruro de potasio (B) 0.01 M en hidróxido de sodio inicialmente 0.10 M. [8]

4. La cisteína en disolución acuosa

En la Fig. 4.5 la curva A es el espectro de una solución 0.01 M del ácido tioglicólico en cloruro de potasio 0.10 M, y el espectro de una solución a la cual se le ha añadido una media mol [con respecto al ácido] es prácticamente idéntico; por lo tanto pareciese que la absorción de H_2Tgl es similar a la de $HTgl^-$ [8]. La curva B es el espectro del ácido tioglicólico 0.01 M en una solución de hidróxido de sodio inicialmente 0.10 M, donde el ácido está convertido a Tgl^{2-} .

Una titulación espectrofotométrica de ácido tioglicólico 0.01 M a 283 nm, indica que la absorbancia es proporcional a la cantidad de base añadida después del primer punto de equivalencia (Fig. 4.6) [8].

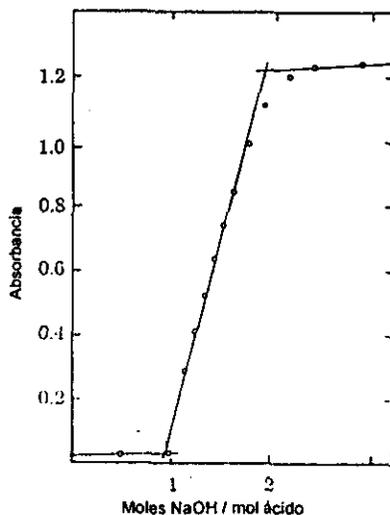


FIG. 4.6. Curva de titulación espectrofotométrica de ácido tioglicólico a 283 nm; punto final en 1.96 moles de NaOH / mol de ácido [8].

En la Fig. 4.4 también se observa la curva de titulación de clorhidrato de cisteína en KCl 0.10 M. El segundo y tercer punto final ("pasos" o "saltos") son los que conciernen al estudio del grupo tiol.

La Fig. 4.7 muestra el espectro de una solución 0.01 M de clorhidrato de cisteína (Curva A). La adición de medio mol de base con respecto al aminoácido no cambia apreciablemente la curva [8]. Entonces los espectros de H_3Cys^+ y H_2Cys deben similares en la región investigada. La curva B es aquella producida al agregar uno y medio mol de base (con respecto al ácido). La curva C es el espectro de clorhidrato de cisteína 0.01 M en hidróxido de sodio 0.10 M. Se ve que la titulación del segundo hidrógeno va acompañada por un gran aumento y un cambio en la absorbancia completamente similar a la que se observó cuando se remueve el hidrógeno en el tiol del ácido tioglicólico. La eliminación del tercer hidrógeno causa un adicional, pero menor, cambio. Cabe añadir el siguiente hecho: el espectro de la cistina en ácido clorhídrico 0.10 M y en hidróxido de sodio 0.10 M no difieren prácticamente, [8-9]. Se concluye que el desplazamiento y aumento en la absorbancia al ir de clorhidrato de cisteína a la mitad de la segunda región buffer (esto es, de la curva A a B en la Fig. 4.6.) se explica por la formación del ion $HCys^-$ ($^-SR(NH_3^+)COO^-$)

4. La cisteína en disolución acuosa

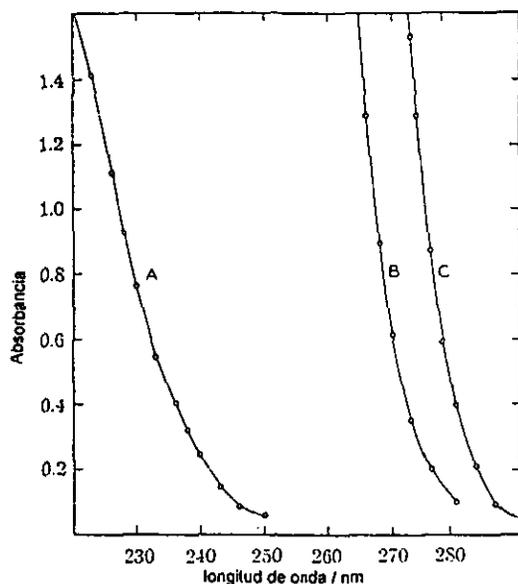


FIG. 4.7. Espectros de cisteína: (A) 0.01 M de $(\text{H}_3\text{Cys})^+\text{Cl}^-$ en 0.10 M de cloruro de potasio. (B) 0.01 M de $(\text{H}_3\text{Cys})^+\text{Cl}^-$ más 1.5 moles NaOH por mol de ácido. (C) 0.01 M de $(\text{H}_3\text{Cys})^+\text{Cl}^-$ en NaOH 0.10 M. [8]

En la Fig. 4.8 aparece la titulación espectrofotométrica de cisteína 0.01 M a 274nm [8]. Consiste de tres segmentos. El primero, correspondiente a la formación de H_2Cys a partir de H_3Cys^+ , tiene una absorbancia muy pequeña, como era de esperarse de la curva A en la Fig. 4.4. El segundo segmento tiene una pendiente de 0.330, y esto corresponde a una absortividad de 33 para las especies que están siendo formadas, ya sea HCys^- o una mezcla de HCys^- y CysH^- . La intersección entre el segundo y tercer segmento concuerda con lo esperado estequiométricamente. La línea punteada corresponde idealmente a la absorbancia debida exclusivamente a la presencia creciente de la especie Cys^{2-} . La pendiente de este segmento es de 1.3, y la absortividad correspondiente de 130 [8].

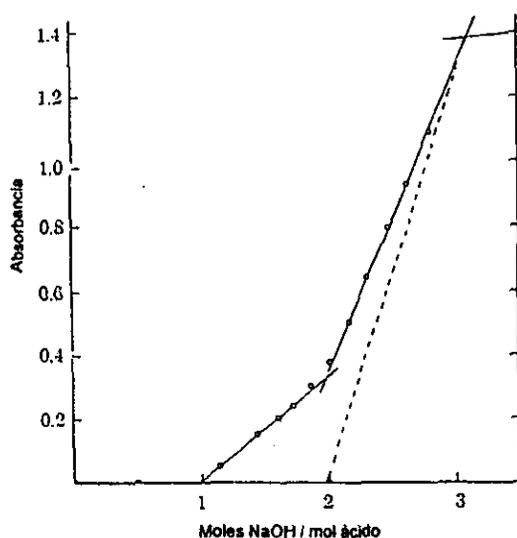


FIG. 4.8. Curva de titulación espectrofotométrica de clorhidrato de cisteína a 274 nm; puntos finales en 0.98, 2.00 y 3.10 moles de NaOH / mol de cisteína [8].

4.6.2. Espectrofotometría de la cisteína en agua.

La espectrofotometría es diferente en soluciones dos órdenes de magnitud más diluidas (Fig. 4.9). Una familia de espectros en función del pH en concentración del orden 10^{-4} demuestra la existencia de máximos de absorción cuya posición se desplaza de 236-238 nm a 230-233 nm al disminuir el pH [10]. El hecho queda explicado si la forma $S^-R\text{NH}_3^+$ tuviera un máximo de absorción a una longitud de onda menor a la de forma $S^-HR\text{NH}_2$. La hipótesis queda confirmada por las observaciones siguientes:

- (1) No se observa desplazamiento en el caso del ácido tioglicólico [10].
- (2) A pH constante la posición del máximo es independiente de la concentración del aminotiol [10].
- (3) El desplazamiento está relacionado con el cambio en la razón de las dos formas RS^- con el pH. En el caso de la β -mercaptoetilamina, por ejemplo, el desplazamiento en el máximo de absorción (de 236 a 232 nm) ocurre entre pH 12 y 9.9. Esta es la región donde prácticamente todo el cambio de la forma $S^-HR\text{NH}_2$ a $S^-R\text{NH}_3^+$ toma lugar [10].

Para estudiar la absorción debida al par tiol / tiolato, BENESCH *ET AL.* [10] midieron la absorbancia de la cisteína en solución ácida. Esta medida fue luego sustraída de la absorbancia a pH mayor para obtener el "espectro RS^- ". La fracción de la forma RS^- a cada pH fue determinada a partir del máximo de absorción del correspondiente "espectro RS^- " dividido por el máximo de absorción del "espectro RS^- " en el estado completamente dissociado (pH 12 o 13). Esto requiere, por lógica, que las absorptividades molares de $S^-R\text{NH}_3^+$ y $S^-HR\text{NH}_2$ sean idénticas, a pesar de la diferencia en la posición del máximo de absorción. Esta suposición se basa por el hecho de que ningún cambio significativo ocurre en la absorptividad molar de la β -mercaptoetilamina entre pH 9.9 y 12. Puede añadirse que la alanina muestra una absorción muy pequeña tanto a pH 7 como a pH 12.

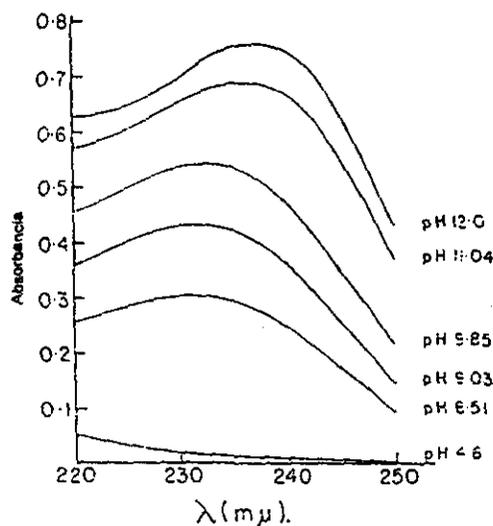


Fig. 4.9. Espectros de absorción de cisteína en concentración 1.70×10^{-4} M [10].

La curva que muestra %RS⁻ (el porcentaje de las "formas RS⁻" respecto el total) en función del pH para la cisteína se muestra en la Fig. 4.10. En el pH correspondiente al segundo punto de equivalencia (el primero no se observa) se encuentra que aproximadamente 2 / 3 del grupo -RS se ha ionizado como resultado de la pérdida del protón. De aquí que sólo 1 / 3 del grupo amonio pudiera haber perdido su protón. De aquí se infiere que, a las condiciones del experimento, la fuerza de acidez del grupo -RSH es aproximadamente 2 veces mayor a la del grupo -NH₃⁺.

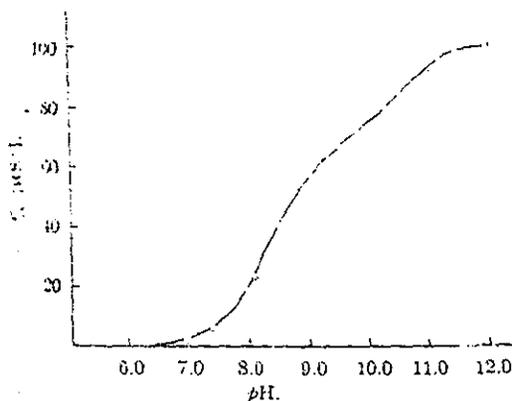


Fig. 4.10. Curva de titulación espectrofotométrica de la cisteína. [Cys] = 1.70×10^{-4} M [10]. Los puntos son experimentales; la línea se calcula a partir de las constantes de la Tabla 4.2 [10].

Para el cálculo de las constantes de disociación se puede usar la siguiente ecuación

$$\frac{[\text{RS}^-]}{[\text{RS}^-]_{\text{max}}} = \frac{[\text{HCys}^-] + [\text{Cys}^{2-}]}{[\text{CysH}_2] + [\text{HCys}^-] + [\text{CysH}^-] + [\text{Cys}^{2-}]} = \frac{k_s/k_N + k_{NS}/[\text{H}^+]}{[\text{H}^+]/k_N + k_s/k_N + k_{NS}/[\text{H}^+] + 1} \quad (4.7)$$

El modo más simple para obtener las microconstantes es sustituir tres puntos experimentales en tres ecuaciones simultáneas. Las constantes así obtenidas aparecen en la Tabla 4.2 (Benesch *et al.* [10]).

4.7. Empleo de la espectropolarimetría al estudio de los procesos microscópicos de protonación

Como se ha visto, la espectrofotometría ha sido el método más comúnmente empleado para seguir selectivamente la disociación del grupo tiol en la vecindad de los 300 nm. BENHALLAM *ET AL.* [11]. emplearon, al parecer originalmente, la técnica polarimétrica para seguir selectiva y cuantitativamente la disociación de un grupo ácido situado en la vecindad inmediata de un carbono asimétrico. El empleo de espectrofotometría queda limitado a los compuestos que presentan un grupo fenol o tiol. La polarimetría, por el contrario, parece más general. Sin embargo, ésta no se aplica más que a compuestos dotados de poder rotatorio.

En el caso de la cisteína se puede verificar que el poder rotatorio se ve afectado, en medio ácido, en el curso de formación del grupo carboxílico y, en medio básico, en el

4. La cisteína en disolución acuosa

transcurso de formación del grupo amonio; la "protonación" del grupo tiol; más alejado del carbono asimétrico, se queda sin influencia sobre el poder rotatorio. Hay aquí un medio para distinguir estas dos últimas equilibrios que pueden ser simultáneos.

Del mismo modo que la espectrofotometría de absorción UV a 230-238 nm permite seguir exclusivamente la disociación del grupo tiol, la polarimetría permite seguir aquélla del grupo amonio. Las dos técnicas se revelan aquí como complementarias en este caso particular.

Se definirá para cada una de las cuatro especies, definidas en el esquema 4.3, un poder rotatorio molecular (m). La hipótesis según la cual sólo el protón del grupo amonio influye en el poder rotatorio se traduce a las relaciones siguientes:

$$m_{\text{Cys}^{2-}} = m_{\text{HCys}^-} = m_{\text{max}} \quad (4.8a)$$

$$m_{\text{CysH}^-} = m_{\text{CysH}_2} = m_0 \quad (4.8b)$$

En el curso de una neutralización por una base la variación del poder rotatorio en función del pH se puede seguir definiendo el poder rotatorio medio por

$$\bar{m} = \frac{\sum m_i C_i}{C_T} = \frac{\alpha}{C_T} \quad (4.9)$$

donde α es el ángulo de rotación experimental y C_T es la concentración total del poliácido, corregida de la dilución. En cada punto de la neutralización se puede calcular el número de protones fijados por el sitio ópticamente activo:

$$q_H = \frac{[\text{CysH}^-] + [\text{CysH}_2]}{C_T} \quad (4.10)$$

Teniendo en mente las expresiones (4.8) y (4.9), la ecuación (4.10) puede escribirse

$$q_H = \frac{m_{\text{max}} - m}{m_{\text{max}} - m_0} \quad (4.11)$$

Por otro lado, las ecuaciones (4.1) y (4.3) permiten calcular

$$q_H = \frac{(K_{a3}K_{a2} / k_{SN} + [\text{H}^+])[\text{H}^+]}{K_{a3}K_{a2} + K_{a2}[\text{H}^+] + [\text{H}^+]^2} \quad (4.12)$$

Las relaciones (4.11) y (4.12) conducen al valor k_{SN} a partir de la cual se obtienen las otras microconstantes según las ecuaciones (4.4) a (4.6). El problema se limita aquí al cálculo de la constante k_{SN} . Para hacer esto, los autores emplearon la técnica del *pit mapping* de Sillen [12] aplicada a la función $q_H = f(k_{SN}, m_0, m_{\text{max}})$ ayudándose con un proceso de refinamiento inspirado en el programa Acref [13].

En principio se pueden obtener experimentalmente m_0 y m_{max} de manera directa seleccionando las condiciones (pH) adecuadas. Sin embargo, la experiencia demuestra

que estas magnitudes raramente alcanzan la precisión requerida (más aún si por ejemplo una especie se encuentra en el límite de solubilidad). De aquí que será siempre preferible refinar también los dos parámetros polarimétricos m_0 y m_{\max} . El cálculo, que parte con el valor experimental aproximado de m_{\max} , consiste en la búsqueda, para el valor experimental aproximado de m_0 , del valor de k_{SN} correspondiente al mínimo de la suma de los cuadrados de los errores $U = (q_{\text{Hexp}} - q_{\text{Hcalc}})^2$, calculados para todos los pares de puntos experimentales m , pH. Esta búsqueda se efectúa incrementando regularmente la constante k_{SN} , tomada al principio igual a K_{a2} , por ejemplo. Este valor de k_{SN} es enseguida fijado y devuelto a un cálculo análogo con m_0 variable, y que en un nuevo ciclo conduce a una nueva estimación de k_{SN} . El cálculo se efectúa hasta la convergencia de los valores k_{SN} y m_0 . La siguiente etapa consiste en repetir el mismo tipo de cálculo, pero con el valor de m_0 determinado anteriormente y con m_{\max} variable. Se tiene luego una pareja de valores m_{\max} , k_{SN} : se repite un nuevo ciclo de cálculo de k_{SN} , m_0 y después de k_{SN} y m_{\max} y así hasta que se alcanza una convergencia total de los parámetros k_{SN} , m_0 , y m_{\max} .

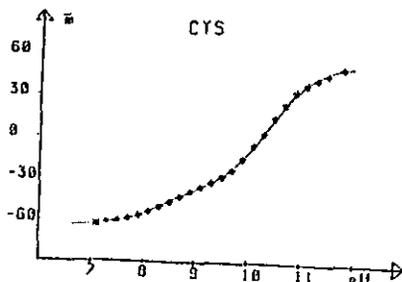


FIG. 4.11. Variación del poder rotatorio promedio m en función del pH.
* Puntos experimentales; la curva en trazo continuo es la curva recalculada. [11]

La Fig. 4.11 muestra las medidas polarimétricas experimentales así como la curva calculada después del refinamiento. Se observa una buena concordancia entre los puntos experimentales y los recalculados. Los datos convergieron con $pK_{SN} = 10.28 \pm 0.01$ [11].

Determinación espectrofotométrica de las microconstantes.

Las mismas ecuaciones desarrolladas para la polarimetría pueden ser transpasadas a fácilmente al caso de la espectrofotometría. En este caso

$$\epsilon_{\text{HCys}^-} = \epsilon_{\text{Cys}^{2-}} = \epsilon_{\max} \quad (4.13)$$

$$\epsilon_{\text{CysH}} = \epsilon_{\text{CysH}_2} = \epsilon_0 \quad (4.14)$$

donde los términos ϵ corresponden a las absorptividades molares para las diversas especies presentes.

Al igual que la relación que define el poder rotatorio promedio, aquí se definirá una absorptividad molar mediante una relación análoga:

$$\varepsilon = \frac{\sum \varepsilon_i C_i}{C_T} = \frac{A}{C_T} \quad (4.15)$$

donde A simboliza la absorbancia de una solución dentro de 1 cm de espesor.

Las expresiones (4.10), (4.11) y (4.12) se vuelven respectivamente

$$q_H = \frac{[\text{HCys}^-] + [\text{CysH}_2]}{C_T} \quad (4.16)$$

$$q_H = \frac{\varepsilon_{\max} - \varepsilon}{\varepsilon_{\max} - \varepsilon_0} \quad (4.17)$$

$$q_H^* = \frac{(K_{a3}K_{a2}/k_{NS} + [\text{H}^+])[\text{H}^+]}{K_{a3}K_{a2} + K_{a2}[\text{H}^+] + [\text{H}^+]^2} \quad (4.18)$$

Se calcula de aquí k_{NS} siguiendo el mismo modo de tratamiento de datos experimentales que aquél descrito arriba.

En la Fig. 4.12 Aparecen cuatro curvas q_H^* , q_H , q_1 y q_2 . Las curvas q_H^* y q_H corresponden respectivamente a los números promedio de protones fijos sobre la función amino (contigua al carbono asimétrico) y sobre la función tiol; las curvas q_1 y q_2 son las "curvas límite", que corresponden al número promedio de protones fijos sobre estos mismos grupos bajo la hipótesis de que no hay microconstantes; esta hipótesis se traduce por el reemplazo respectivo de k_{SN} y k_{NS} en las ecuaciones (4.12) y (4.18) por las macroconstantes: K_{a2} y K_{a3} .

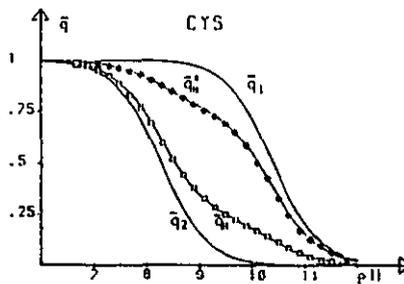


FIG. 4.12. Curvas de protonación de los diferentes sitios ácidos de la cisteína (q_H^* y q_H).

*Puntos experimentales polarimétricos; □ Puntos experimentales espectrofotométricos; las curvas en trazo continuo son las curvas calculadas. [11]

Esta representación (Fig. 4.12) ilustra perfectamente el fenómeno de la disociación ácida. Las curvas relativas a cada sitio, q_H^* y q_H , están colocadas entre las curvas límites q_1 y q_2 . El trazo de tales curvas constituye el medio más directo para demostrar la existencia o no de las microconstantes de equilibrios ácido-base.

4.8. Determinación de las microconstantes de la cisteína a partir de datos calorimétricos

Wrathall *et al.* [14] desarrollaron un método calorimétrico para determinar las concentraciones relativas de HCys^- y CysH^- , si bien es cierto que se ha cuestionado la confiabilidad de los resultados calorimétricos surgidos al trabajar con este problema [15].

El trabajo de Wrathall está basado en el hecho de que los valores de ΔH para la disociación del protón del grupo $-\text{NH}_3^+$ de la S-metil-L-cisteína (SMC) y del grupo $-\text{SH}$ del ácido mercaptoacético (MAA) difieren por aproximadamente 4 kcal/mol. Esto haría posible estudiar caloriméricamente el proceso de tautomerización y la determinación de R (el cociente de los tautómeros). Esto si dicha diferencia en valores de ΔH es mantenida por los grupos correspondientes en las especies de la cisteína.

Las microconstantes para la ionización del protón de los grupos sulfidrido y amonio fueron calculadas de los datos de pK_a y ΔH de la siguiente forma:

Quede α definida como sigue

$$\alpha = [\text{HCys}^-] / \{ [\text{HCys}^-] + [\text{HCys}^-] \} \quad (4.19)$$

por lo tanto

$$(1 - \alpha) = [\text{HCys}^-] / \{ [\text{HCys}^-] + [\text{HCys}^-] \} \quad (4.20)$$

De aquí se sigue que

$$R = \alpha / (1 - \alpha) \quad (4.21)$$

Sea ΔH_2 la entalpía medida a una solución de cisteína en el proceso de la segunda disociación macroscópica. Es decir

$$\Delta H_2 = \alpha \Delta H_S + (1 - \alpha) \Delta H_N \quad (4.22)$$

para un estado final e inicial con $\text{pK}_{a2} - 1 \leq \text{pH} \leq \text{pK}_{a2} + 1$.

Similarmente, se define ΔH_3 para la energía involucrada en el tercer paso macroscópico. Ésta quedaría entonces expresada:

$$\Delta H_3 = \alpha \Delta H_{SN} + (1 - \alpha) \Delta H_{NS} \quad (4.23)$$

para un estado final e inicial con $\text{pK}_{a3} - 1 \leq \text{pH} \leq \text{pK}_{a3} + 1$.

Experimentalmente no se pueden medir directamente ΔH_S , ΔH_N , ΔH_{SN} , ni ΔH_{NS} . Se procede entonces por comparación con otras sustancias equivalentes. La hipótesis de trabajo, a semejanza de la determinación de las microconstantes a partir de pK_a 's de derivados, es:

El calor involucrado a presión constante (la entalpía, ΔH) en los procesos de disociación (o formación) ácida de la cisteína es comparable al que ocurre en moléculas con algún grupo funcional idéntico y "estructura semejante". Es posible aún aplicar el signo de igualdad entre los valores correspondientes.

Esta hipótesis es empírica y de un espíritu marcadamente pragmático. Es un caso particular de otra idea más general. En esta última aparecen nuevos sujetos (diferentes sustancias) y otras características (propiedades físicas y químicas). En la literatura revisada se emplea frecuentemente.

Aplicada por Wrathall *et al.*, significó que se puede escribir lo siguiente:

$$\Delta H_S = \Delta H_{SN} = \Delta H_I \quad (4.24)$$

$$\Delta H_N = \Delta H_{NS} = \Delta H_a \quad (4.25)$$

donde ΔH_I es el calor de disociación del grupo tiol del ácido mercaptoacético (MAA). De manera similar ΔH_a es la magnitud correspondiente del grupo amonio de la S-metilcisteína (SMC). Es posible despejar para R

$$R = \frac{\alpha}{1-\alpha} = \frac{(\Delta H_2 - \Delta H_3) + (\Delta H_I - \Delta H_a)}{(\Delta H_3 - \Delta H_2) + (\Delta H_I - \Delta H_a)} \quad (4.26)$$

En la Fig. 4.13 se dan los valores de ΔH como una función de $\mu^{1/2}$ para la ionización de protón de CYS, MAA y SMC.

Las entalpías de disociación de los tioles ($-\text{SH}$) son de una magnitud tal que claramente contradicen la suposición, atribuida a Cohn [16], de que son despreciables.

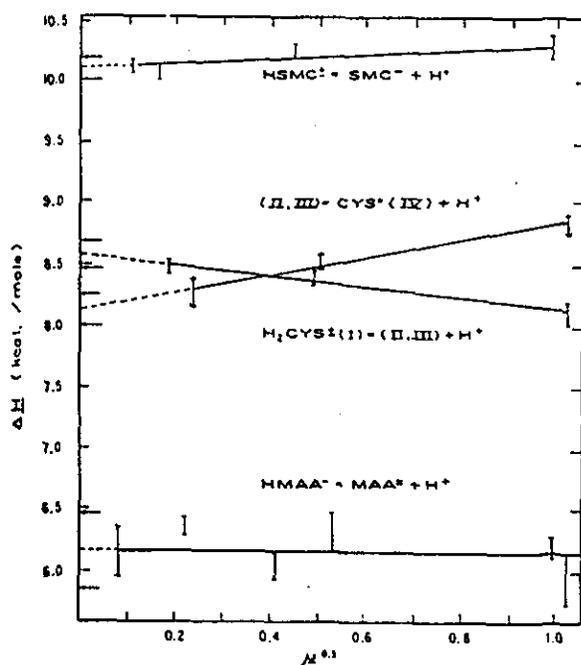


FIG. 4.13. Curvas de ΔH (kcal / mol) vs. $\mu^{1/2}$ para la disociación ácida de SMC, CYS y MAA. La incertidumbre estimada se indica por las barras. T = 25 °C. [14]

En la Fig. 4.14 es graficado R vs $\mu^{1/2}$. Los valores previamente reportados también se muestran en dicha figura.

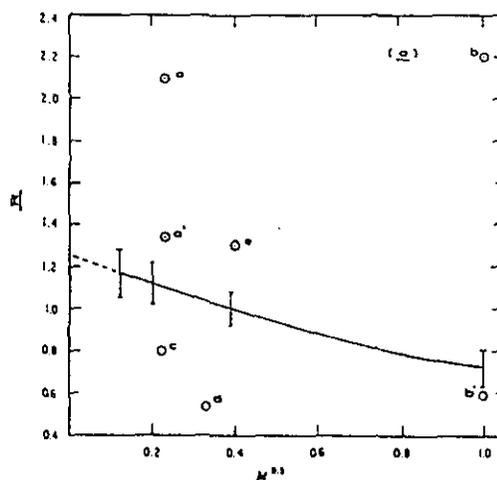


Fig. 4.14. Gráficas de R vs. $\mu^{1/2}$ para la disociación ácida de la cisteína. La incertidumbre estimada se indica por las barras. $T = 25^\circ\text{C}$. [14]
 (a) Benesch R.; Benesch, R. E. *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77, 5877.
 (b) Elson, E.; Edsall, E. *Biochemistry*, 1962, 1, 1.
 (c) y (d) Rykkan, R. L.; Schmidt, C.L.C. *Arch. Biochem.* 1944, 5, 89.
 (e) Grafius, M.A.; Neilands, J.B. *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77, 3389.

Se presentan en la Tabla 4.2 los valores de ΔS como una función de μ para la ionización del protón de la cisteína.

TABLA 4.2.
 Valores de ΔS (u.e.) como una función de μ para la disociación ácida de la cisteína. $T = 25^\circ\text{C}$. [14]

Equilibrio	$\mu=0.0$	$\mu=0.04$	$\mu=0.16$	$\mu=1.0$
$\text{CysH}_2 = (\text{HCys}^-, \text{CysH}^+) + \text{H}^+$	-9.5	-9.2	-9.1	-9.6
$(\text{HCys}^-, \text{CysH}^+) = \text{Cys}^{2-} + \text{H}^+$	-7.2	-6.4	-5.8	-5.0

Un análisis *a posteriori*, no riguroso, de la hipótesis de trabajo puede realizarse verificando la igualdad $\Delta H_a + \Delta H_1 = \Delta H_2 + \Delta H_3$ (Ley de Hess). A $\mu = 0$, la diferencia entre estas dos sumas (Fig. 4.13) es 0.45 kcal/mol, indicando la validez de la hipótesis.

En la Fig. 4.15a se muestra sendas curvas de titulación termométrica típicas para CYS, MAA, y SMC. Es significativo que la curva de CYS se encuentre en el centro entre las otras dos. Los datos de la Fig. 4.15a proveen evidencias positivas para la protonación simultánea de los grupos $-\text{S}^-$ y $-\text{NH}_2$ del anión Cys^{2-} . Si tal protonación simultánea no ocurriese, los calores de formación ácida para los dos grupos aparecerían consecutivamente con una pendiente característica en la curva de titulación de este tipo. Los datos obtenidos en este estudio (Fig. 4.14) muestran a R variando regularmente con μ .

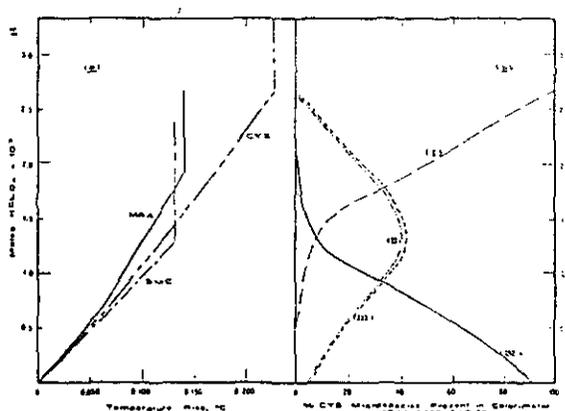


Fig. 4.15. Correlación de (a) el incremento en la temperatura con (b) el porcentaje de las especies Cys presentes en el calorímetro durante la titulación de Cys^{2-} con HClO_4 . También se dan las curvas de titulación correspondientes para la protonación de los grupos $-\text{S}^-$ y $-\text{NH}_2$ del MAA y SMC, respectivamente. Datos válidos a $\mu = 0.24$, $R = 0.96$ y temperatura de 25°C . [14]

4.9. Estudios con Espectroscopía Raman.

En la espectroscopía Raman las vibraciones que se originan en enlaces relativamente no polares con una distribución simétrica de cargas y que son simétricas en su naturaleza producen los mayores cambios en la polarizabilidad y son los más intensos del del espectro. Las vibraciones de los grupos $-\text{C}=\text{C}-$, $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $-\text{C}\equiv\text{N}$, $-\text{C}=\text{S}$, $-\text{C}-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{N}=\text{N}-$ y $-\text{S}-\text{H}$ se observan fácilmente [17]. Las líneas de Raman son más características que las bandas de absorción de infrarrojo para las vibraciones esqueléticas de cadenas finitas y de anillos de hidrocarburos saturados e insaturados. La banda Raman intensa cerca de 500 cm^{-1} es característica del enlace $-\text{S}-\text{S}-$, y la banda cercana a 650 cm^{-1} se deriva del alargamiento longitudinal del grupo $-\text{C}-\text{S}-$. También la banda de alargamiento longitudinal del grupo $-\text{S}-\text{H}$ que aparece cerca de 2500 cm^{-1} , la cual es normalmente débil en el infrarrojo, presenta una gran intensidad en los espectros Raman [17].

La espectroscopía Raman se ha aplicado al análisis de ácidos fuertes y otras soluciones acuosas, y a la determinación del grado de disociación de electrolitos fuertes, así como a la determinación de sus coeficientes de actividad correspondientes [17].

La espectroscopía Raman tiene la ventaja de que un número de bandas en el espectro Raman pueden ser claramente correlacionadas con las vibraciones de grupos particulares, de tal manera que grupos ionizables pueden ser frecuentemente discriminados uno del otro más inequívocamente que en espectroscopía del ultravioleta. Los espectros Raman requieren concentraciones mucho más altas que espectros infrarrojos para mediciones precisas; por otro lado, los espectros Raman se adaptan muy bien para soluciones acuosas, ya que las bandas Raman del agua aparecen en sólo dos regiones limitadas, y las bandas debidas al soluto aparecen claramente en cualquier otro

lado. El grupo sulfhidrilo es particularmente adecuado para este estudio, ya que en la frecuencia de estiramiento a 2580 cm^{-1} se erige un línea muy fuerte en el espectro Raman, aunque relativamente débil en el infrarrojo [18].

Edsall *et al.*[18] examinaron el efecto de ionización del grupo sulfhidrilo sobre los espectros Raman. Los cambios con el pH en la intensidad de la frecuencia de estiramiento de $-\text{SH}$ cerca de los 2580 cm^{-1} permitió el cálculo de la macroconstante del grupo sulfhidrilo. Esta información, permitió además el cálculo de las cuatro microconstantes de disociación ácida. La relativa tenuidad de los espectros Raman hace necesario trabajar en medios relativamente concentrados. La precisión cuantitativa de la espectroscopía Raman es aún inferior a la de los espectros ultravioleta [18]. Aunque en principio el uso de la frecuencia de estiramiento en la espectroscopía Raman tiene ciertas ventajas, ya que corresponde claramente a un modo vibracional específico de un grupo ionizable, mientras que la interpretación de la absorción ultravioleta del grupo $-\text{S}^-$ cerca de los 230 nm es por mucho más compleja.

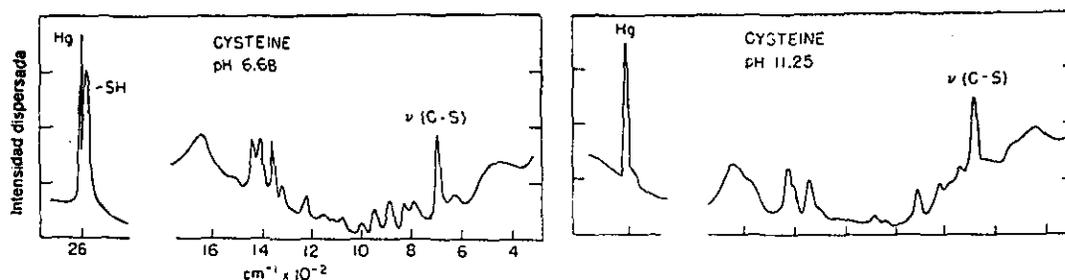


Fig. 4.16. Espectros Raman de la cisteína como un ion dipolar (izquierda) y como anion doblemente cargado (derecha). Note que la frecuencia de estiramiento S-H no ha desaparecido completamente a pH 11.25. [18]

La Fig. 4.16, con espectros a pH 6.7 y 11.25, muestra los anchos relativos y las intensidades de los picos mayores; a "pH bajo" los grupo $-\text{SH}$ y $-\text{NH}_3^+$ están parcialmente ionizados, mientras que a pH's mayores ambos grupos han perdido sus protones. En los espectros se observa que hay un marda desplazamiento de las frecuencias de estiramiento de C-H cerca de 2900 cm^{-1} , cuando los grupos amino y silfidrilo han perdido sus protones ácidos [18]. Para el estudio de ionización del grupo sulfhidrilo, se consideraron dos bandas fuertes en particular: la banda de estiramiento a 2580 y a 680 la cual se interpreta usualmente como una frecuencia de estiramiento C-S. La intensidad de la última se muestra independiente del pH, aunque su factor de despolarización aparentemente varía, y por lo tanto sirve convenientemente como un patrón interno para determinar la intensidad relativa de la banda en 2580 mientras disminuye al aumentar el pH. A valores de pH entre 6 y 7, donde se puede suponer que el grupo sulfhidrilo no esta ionizado, la razón de alturas, I_{2580} / I_{680} , es 1.66 ± 0.01 . Se denota este cociente como A. Entonces la fracción ionizada del grupo $-\text{SH}$, α_{SH} , puede tomarse como:

$$\alpha_{\text{SH}} = 1 - (A/A_0) \quad (4.27)$$

Se define luego pM_{SH} por la ecuación

4. La cisteína en disolución acuosa

$$\text{pH} = \text{pM}_{\text{SH}} + \log \frac{\alpha_{\text{SH}}}{1 - \alpha_{\text{SH}}} \quad (4.28)$$

Es posible demostrar que

$$\text{pM}_{\text{SH}} = -\log \frac{k_s[\text{H}^+] + k_n k_{ns}}{[\text{H}^+] + k_n} \quad (4.29)$$

En la Fig. 4.17 se muestra una gráfica de pM_{SH} como función de α_{SH} . Los valores resultantes fueron, para el grupo $-\text{SH}$, $\text{p}k_s = 8.50$, $\text{p}k_{\text{SN}} = 10.00$; para el grupo $-\text{NH}_3^+$, $\text{p}k_N = 8.85$, $\text{p}k_{\text{NS}} = 10.35$, con error probable estimado de ± 0.05 .

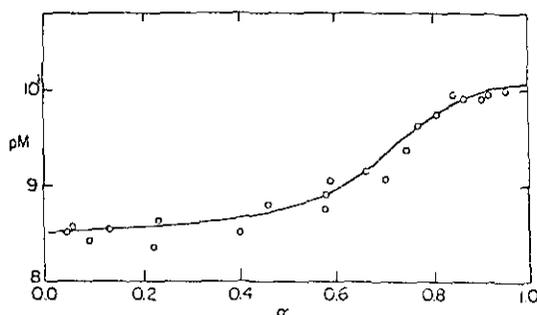


Fig. 4.17. La función pM_{SH} en función de α_{SH} para la cisteína. [18]

4.10. Tablas

Tabla 4.3. Microconstantes de la cisteína.

Las microconstantes se hallan definidas en la Fig. 4.3.

$\text{p}k_s$	$\text{p}k_N$	$\text{p}k_{\text{SN}}$	$\text{p}k_{\text{NS}}$	R	μ / M	$T / ^\circ\text{C}$	Método	Referencia
8.66	8.60 S-etilcisteína	10.45	10.51	0.9	—	—	Derivados de la cisteína	[4]
8.65 cisteína betaina	8.75 S-metilcisteína	10.05	9.95	1.3	0.15 NaCl	25	Derivados de la cisteína	[6]
8.53	8.86	10.36	10.03	2.1	—	23	Espectrofotometría	[10]
8.45	8.58	10.00	10.15	1.3	—	—	Espectrofotometría	[20]
8.40	8.91	10.29	9.780 (0.005)	3.2	—	25	Espectrofotometría	[11]
8.41	8.88	10.28 (0.01)	9.81	3.0	0.5 NaClO ₄	25	Polarimetría	[11]
8.50 (0.05)	8.85 (0.05)	10.35 (0.05)	10.00 (0.05)	2.2	≈ 1	25	Espectroscopia Raman	[19]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

Tabla 4.2. Macroconstantes de la cisteína.
Las macroconstantes se hallan definidas por los equilibrios (4.3).

pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	μ / M	T / °C	Método	Referencia
	8.33	10.78			Potenciometría	[4]
	8.30	10.40	0.15 NaCl	25	Potenciometría	[6]
	8.27	10.42	0.10 KCl	25 ± 0.1	Potenciometría	[8]
	8.36	10.66	0.0	25	Potenciometría	[8]
	8.39 (0.006)	10.76 (0.01)	0.0	25 ± 0.1	Potenciometría	[14]
1.71	8.33	10.78	0.0		Potenciometría	[21]
2.12	8.21	10.38	0.0		Potenciometría	[20]
	8.36	10.52		23	Potenciometría	[10]
	8.286 (0.004)	10.407 (0.008)	0.5 NaClO ₄	25	Potenciometría	[11]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

Bibliografía

- [1] Cannan, R. K.; Knight, B.C.J.G. *Biochem. J.* 1927, 21, 1384.
 [2] Cohn, E. J.; Edsall, J.T. *Proteins, Amino Acids and Peptides*, Reinhold Publ. Corp., New York, N.Y., 1943.
 [3] Calvin, M. *Glutathione*. Academic Press: New York, 1954, p.9. Edsall mismo lo publicaría posteriormente: Edsall, J.T.; Wyman, J. *Biophysical Chemistry*, Academic Press: New York, 1958; Vol. I, p. 496.
 [4] Ryklan, L. R.; Schmidt, C.L.A. *Arch. Biochem.* 1944, 5, 89.
 [5] Ratner, S.; Clarke, H.T. *J. Am. Chem. Soc.* 1937, 59, 200.
 [6] Grafius, M.A.; Neilands, J.B. *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77, 3389.
 [7] Noda, L.H.; Kuby, S.A.; Lardy, H.A. *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77, 3389.
 [8] Gorin, G. *J. Am. Chem. Soc.* 1956, 78, 767.
 [9] Beaven, G. H. Holyday, E.R. *Advances in Protein Chem.* 1952, 7, 319.
 [10] Benesch, R.E.; Benesch, R. *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77, 5877.
 [11] Benhallam, R.; Collange, E.; Pâris, M.R. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1985, 6, 1159.
 [12] Dyrssen, D.; Ingri N.; Sillen, L.G. *Acta Chem. Scand.*, 1961, 15, 694.
 [13] Morin, M.; Sharff, J.P.; Martin, R.P. *Analisis*, 1982, 10, 92.
 [14] Wrathall, D. P.; Izatt, R. M.; Christensen, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1964, 86, 4779.
 [15] Coates, E.; Marsden, C.G.; Rigg, B. *Trans. Faraday Soc.* 1969, 65, 3032.
 [16] Cohn, E.J. *Ergeb. Physiol.* 1931, 33, 781.
 [17] Willard, H.H.; Merritt, L.L.; Dean, J.A.; Settle, F.A. *Métodos Instrumentales de Análisis*; Grupo Editorial Iberoamérica: México, 1991; pp 321-324.
 [18] Elson, E.L.; Edsall, J.T.; *Biochem.*; 1962, 1, 1.
 [19] Clement, G.E.; Hartz, T.P. *J. Chem. Educ.* 1971, 48, 395.
 [20] Edsall, J.T.; Wyman, J. *Biophysical Chemistry*; Academic Press: New York, 1958; Vol I.

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

5.0. Introducción.

Los compuestos de coordinación de cobre(II) y 1,10-fenantrolina que se forman en solución acuosa han sido estudiados por diversos métodos. El método tradicional de mezclar al ion metálico y el ligante para después ir añadiendo un ácido o una base para provocar la hidrólisis de los complejos mientras se mide el pH no ha proveído resultados confiables debido a la gran estabilidad de los complejos que se forman. Sin embargo, se cuenta con información obtenida por estudios calorimétricos y otros métodos ingeniosos como el de estudiar la reacción en un medio donde la 1,10-fenantrolina puede ser extraída a un solvente orgánico inmiscible y hasta un electrodo indicador de 1,10-fenantrolina. La mayoría de los resultados obtenidos con estas herramientas son coherentes.

Los estudios de especiación han manejado complejos de estequiometría 1:1, 1:2 y 1:3. Se ha propuesto la formación de un dímero, $(\text{Cu}(\text{OH})\text{fen})_2^{2+}$, y de diferentes quelatos hidroxilados.

5.1. Estudios espectrofotométricos.

5.1.1. Los espectros visibles de absorción [1].

Soluciones acuosas con cobre en concentración 10^{-3} M son azul claro y en presencia de 1,10-fenantrolina ese color se intensifica perceptiblemente, llegando a tomar diferentes tonos dependiendo del pH.

En las Fig. 5.1 a 5.3 se muestran diferentes perspectivas de los espectros de una mezcla equimolar de Cu(II) (sulfato cúprico pentahidratado) y monohidrato de 1,10-fenantrolina en concentración 1.0 mM. Los espectros se encuentran en la región del visible y aparecen en una representación tridimensional en función del pH. Éste se hacía variar con soluciones de NaOH(ac) o HCl(ac). $T = 25^\circ\text{C}$, $0.1 < \mu / M < 0.2$.

La aparición de puntos isobésticos es prueba de la formación de diferentes especies. En este caso, además de $\text{Cu}(\text{OH})\text{fen}^{2+}$, también están presentes especies de la forma $\text{Cu}(\text{OH})\text{fen}^+$ y $\text{Cu}(\text{OH})_2\text{fen}$ en medios básicos [1]. Además, para $320 \leq \lambda / \text{nm} \leq 340$ el aumento en la absorbancia entre $\text{pH}=6.0$ y $\text{pH}=11.0$ (ver figura 5.1) coincide con la región de predominio de $\text{Cu}(\text{OH})\text{fen}^+$ y la presencia del dímero $[\text{Cu}(\text{OH})\text{fen}]_2$ bajo estas condiciones [1]. De hecho, estudios de variación continua (concentraciones 0.010M) demuestran que en solución ácida ($\text{pH}=4$), el cobre aparece coordinándose con dos moléculas de 1,10-fenantrolina [2]. En solución básica ($\text{pH}=12$) los complejos de 1,10-fenantrolina pierden todas excepto una molécula de ligando [2]. Esto queda claramente explicado con la introducción de los hidroxocomplejos con sólo una molécula de 1,10-fenantrolina.

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

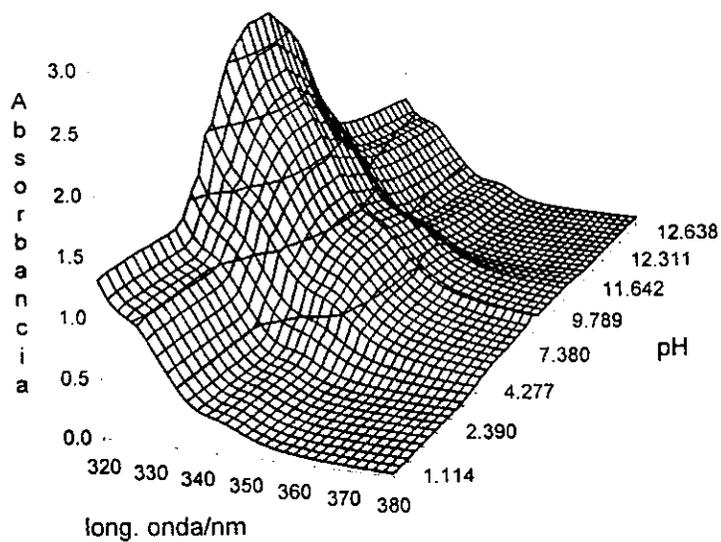


Fig. 5.1. Estereoespectrograma entre los 320 y 380 nm en función del pH.
Solución con Cu(II)/fen = 1:1 [Cu(II)]=1.0 mM. [1]

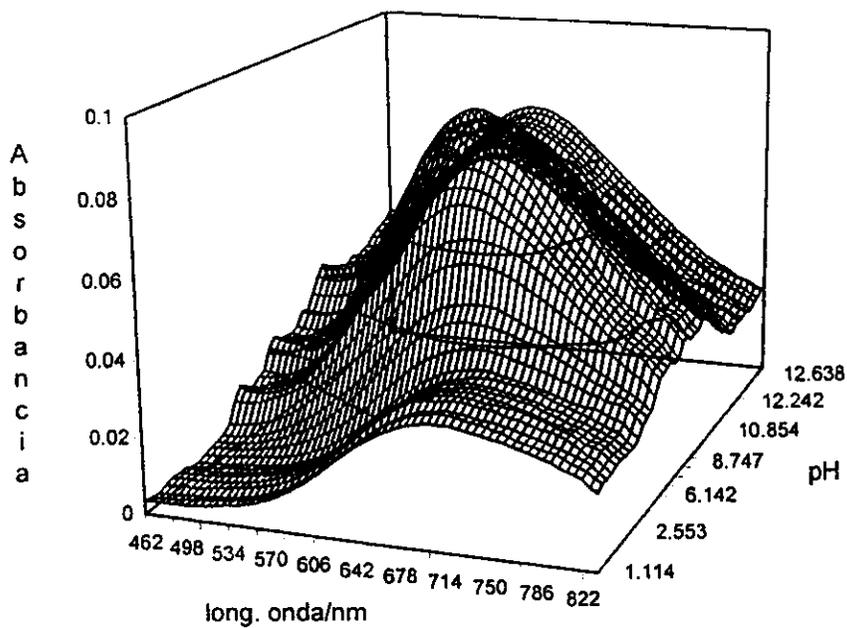


Fig. 5.2. Estereoespectrograma entre los 460 y 820 nm en función del pH.
Solución con Cu(II)/fen = 1:1 [Cu(II)]=1.0 mM. [1]

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

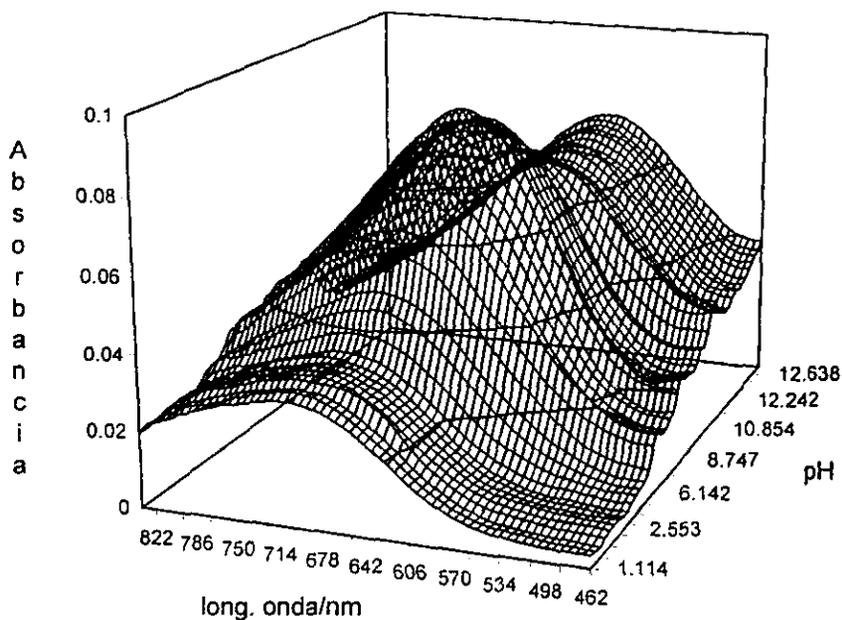


Fig. 5.3. Estereoespectrograma entre los 320 y 380 nm en función del pH. Solución con Cu(II)/fen = 1:1 [Cu(II)]=1.0 mM. En esta gráfica se muestra a la escala de las longitudes de onda en orden inverso a la de la gráfica anterior. [1]

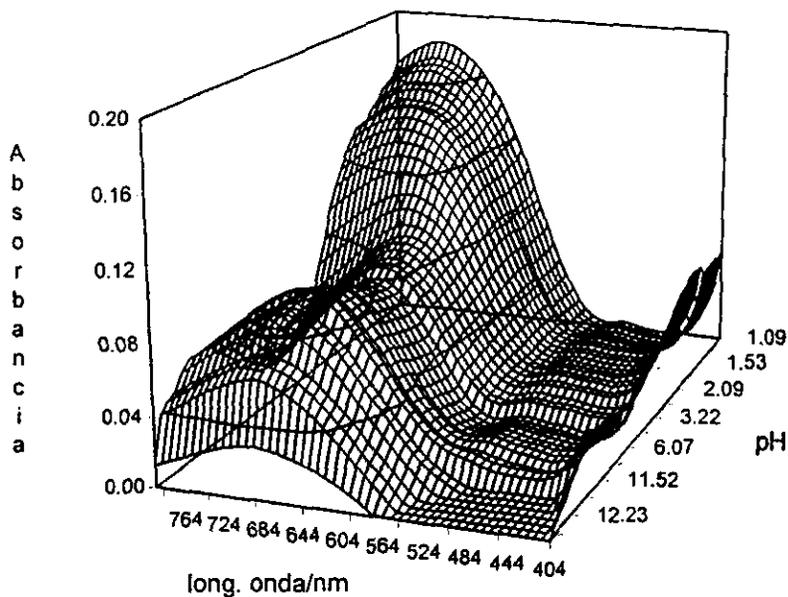


Fig. 5.4. Estereoespectrograma de absorción para [Cu]=1.0 mM y [fen]= 10.0 mM. En medios básicos la solución es de un color verde agua y en medios ácidos de color azul-violeta [1].

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

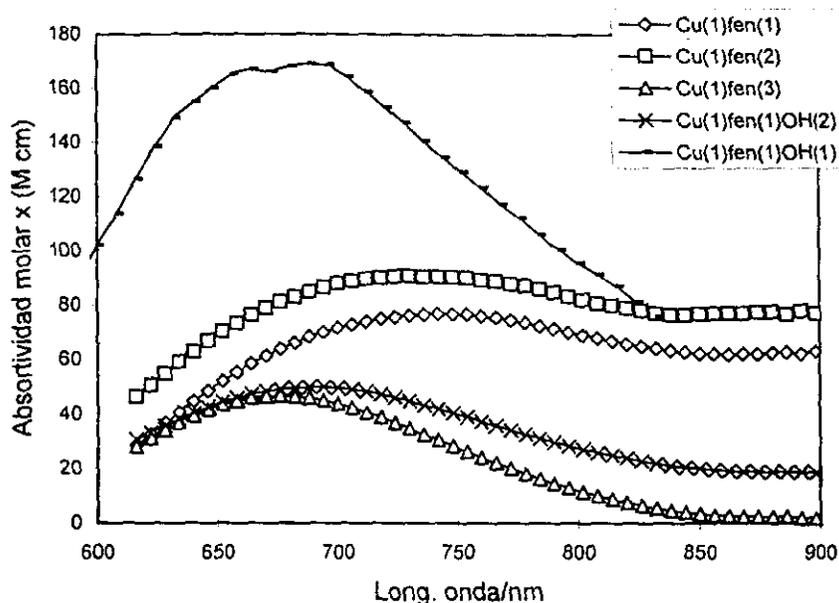


Fig. 5.5. Absortividades molares (600 a 900 nm) calculadas en base a datos experimentales para el sistema Cu(II) / 1,10-fenantrolina en solución acuosa.

En la figura 5.5 se muestran las absortividades molares de los diversos compuestos de coordinación incluyendo el dímero. Estas magnitudes las calcula el programa SQUAD durante el proceso de refinamiento de las constantes.

El uso de SQUAD permitió redeterminar las constantes de estabilidad de cada una de las especies formadas. El conjunto de constantes de equilibrio (entendiéndose por tales a los cocientes de concentración en el equilibrio) refinadas mediante el análisis de esos datos experimentales ($T=25^{\circ}\text{C}$) se presenta en las tablas siguientes.

TABLA 5.1.
Valor refinado para la constante del primer equilibrio de formación
 $\beta_1 = [\text{Cufen}^{2+}] / [\text{Cu}^{2+}][\text{fen}]$

$\log \beta_1$	μ	$T / ^{\circ}\text{C}$	Método	Autores
8.6(0.2)	$0.1 < \mu < 0.2$	$25 \pm (0.5)$	Espectrofotométrico(Vis)	SOTO ET AL.[1]
9.25	0.1	20	Varios	ANDEREGG [6]
9.14(0.06)	0	25.0	Termoquímico	EATOUGH [8]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

La constante refinada para el primer equilibrio de formación, β_1 , es pequeña comparada con los valores publicados de la tabla 5.1. El problema radica en que se trataron absorbancias de soluciones en las que el cobre(II) no se encontraba en exceso (a lo más 1:1). Dado que se trata de un equilibrio muy desplazado hacia la derecha, son claras las limitaciones de la información experimental administrada. Es recomendable, añadir información relativa a

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

soluciones con cobre en exceso con respecto al ligante. Esto en medio ácido, ya que aún en medios ligeramente básicos las especies hidroxio de cobre precipitan.

TABLA .5.2.
Valor refinado para la constante del segundo equilibrio de formación global
 $\beta_2 = [\text{Cu}(\text{fen})_2^{2+}] / [\text{Cu}^{2+}][\text{fen}]^2$

log β_2	μ	T / °C	Método	Autores
14.44(0.07)	0.1 < μ < 0.2	25±(0.5)	Espectrofotométrico(Vis)	SOTO ET AL.[1]
16.00	0.1	20	Varios	ANDEREGG [6]
16.0(0.1)	0	25.0	Termoquímico	EATOUGH [8]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

TABLA 5.3.
Valor refinado para la constante del tercer equilibrio de formación global
obtenidos por diferentes métodos y autores.
 $\beta_3 = [\text{Cu}(\text{fen})_3^{2+}] / [\text{Cu}^{2+}][\text{fen}]^3$

log β_3	μ	T / °C	Método	Autores
20.78(0.03)	0.1 < μ < 0.2	25±(0.5)	Espectrofotométrico(Vis)	SOTO ET AL.[1]
21.35	0.1	20	Varios	ANDEREGG [6]
21.43±0.1	0	25.0	Termoquímico	EATOUGH [8]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

Las constantes β_2 y β_3 son pequeñas comparadas con las publicadas. Ambas se refinaron a partir de absorbancias de soluciones con cobre 1.0 mM y 1,10-fenantrolina 1.0 mM o 10.0 mM (con 2 < pH < 12). Es clara la falta de evidencia espectrofotométrica de la especie 1:2 (Cu/fen). Se esperaría que al trabajar con mezclas alrededor de las relaciones 1:2 y 1:3, entonces será posible obtener un valor más confiable. β_3 no padece tanto de este problema. Sin embargo, es claro que ayudaría mucho para la refinación de las tres constantes el contar con mezclas intermedias en las que estén presentes dos o más complejos diferentes.

TABLA .5.4.
Valor refinado para la constante del equilibrio de formación de $\text{Cu}(\text{OH})\text{fen}^+$.
 $K = [\text{Cu}(\text{OH})\text{fen}^+][\text{H}^+] / [\text{Cu}^{2+}][\text{fen}]$

log K	μ	T / °C	Método	Autores
1.49(0.07)	0.1 < μ < 0.2	25±(0.5)	Espectrofotométrico(Vis)	SOTO ET AL.[1]
2.48	0.1	25	Potenciométrico	MARTELL [4]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

TABLA .5.5.
Valor refinado para la constante del equilibrio de formación de $\text{Cu}(\text{OH})\text{fen}^+$.
 $K = \frac{[\text{Cu}(\text{OH})_2\text{fen}][\text{H}^+]^2}{[\text{Cu}^{2+}][\text{fen}]}$

log K	μ	T / °C	Método	Autores
-8.17(0.03)	0.1 < μ < 0.2	25±(0.5)	Espectrofotométrico(Vis)	SOTO ET AL.[1]
-8.22	0.1	25	Potenciométrico	MARTELL [4]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

TABLA .5.6.
Valor refinado para la constante del equilibrio de formación de $(\text{Cu}(\text{OH})\text{fen})_2$.
 $K = \frac{[(\text{Cu}(\text{OH})\text{fen})_2][\text{H}^+]^2}{[\text{Cu}^{2+}]^2[\text{fen}]^2}$

log K	μ	T / °C	Método	Autores
5.0(0.2)	0.1 < μ < 0.2	25±(0.5)	Espectrofotométrico(Vis)	SOTO ET AL.[1]
7.49	0.1	25	Potenciométrico	MARTELL [4]

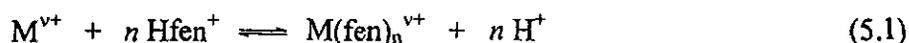
Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

Los hidroxocomplejos requieren de un valor preciso de β_1 . Existe una incertidumbre importante respecto a estos valores porque en el trabajo de MARTELL $\log\beta_1 = 7.4$ [4]. Por lo tanto el punto de comparación no es decisivo.

No se halló trabajo espectrofotométrico moderno publicado al respecto. El desarrollo de los métodos modernos de espectrofotometría fue demorado y en la literatura no aparecían sino hasta hace poco sólo estudios cualitativos. Una excepción parece ser el trabajo IRVING & MELLOR [3] donde se determinaron las constantes de formación para diferentes complejos de iones metálicos con 1,10-fenantrolina mediante el método de las soluciones correspondientes. Sin embargo, las constantes que estos autores finalmente reportaron corresponden a un método basado en el reparto del ligando entre fases líquidas inmiscibles.

5.2. Estudios potenciométricos

ANDEREGG también se interesó en los complejos de la 1,10-fenantrolina y los metales de transición [5]. El señala que el investigar los complejos con 1,10-fenantrolina por medio del 'método-pH' (como llamó el autor al método conocido también como potenciométrico) no muy adecuado ya que la 1,10-fenantrolina es poco básica y que por lo tanto forma complejos muy estables con los cationes metálicos. Esto es, el equilibrio (5.1) se encuentra muy desplazado hacia la derecha para la mayoría de los cationes metálicos M^{v+} :



Esta dificultad mencionada por numerosos autores explica los resultados contradictorios concernientes a la estabilidad de los complejos de 1,10-fenantrolina. La alternativa que este investigador propone es emplear el 'método-pHg', el cual explica y desarrolla en varios

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

artículos [5-7]: La 1,10-fenantrolina (fen) forma un precipitado con Hg(I). En una solución de nitrato el compuesto insoluble tiene la composición $\text{Hg}_2\text{fen}_2(\text{NO}_3)_2$. El producto de solubilidad de éste es $\text{p}K_s=24.70$ (20°C , $\mu=0.1$). En una suspensión de este precipitado, un electrodo de mercurio responde a la concentración de 1,10-fenantrolina libre, [fen], de manera similar como un electrodo de calomel responde a la concentración de cloruros $[\text{Cl}^-]$. Esta respuesta fue usada para la investigación de la formación de complejos de 1,10-fenantrolina con los cationes Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} [5].

Con este método, ANDEREGG obtuvo únicamente para el níquel las tres constantes (β_1 , β_2 , y β_3). Y ANDEREGG comenta: "También para el cobre se halla una molécula de tres 1,10-fenantrolinas frágilmente unida, pero con el método-pHg el grado de formación de complejos (n) apenas si sube por arriba de 2" [5].

G. ANDEREGG trabajó con diferentes métodos en la investigación de los equilibrios entre el ion metálico (metales de transición) y el ligando (1,10-fenantrolinas y 2,2'-bipiridina, principalmente) entre los que se encuentran

1. Método del intercambio de ligando.
2. Método del intercambio del ion metálico.
3. Empleo del electrodo de mercurio.

En la tabla 5.7 se encuentran resumidos sus resultados.

TABLA 5.7

Las constantes de estabilidad de los complejos metálicos con 1,10-fenantrolina a 20°C y una fuerza iónica de 0.1 (NaNO_3) [6]. Anderegg no proporciona la desviación estándar de los valores determinados.

Ion	$\log K_1$	$\log K_2$	$\log K_3$	$\log \beta_3$
H^+	4.95			
Cu^{2+}	9.25	6.75	5.35	21.35

Hidrólisis de los quelatos.

La hidrólisis del monofenantrolincobre(II) (que incluye la formación del dímero) fue estudiada por MARTELL ET AL. [4] que trata sistemáticamente este sistema por el método-pH pero que ignora las limitaciones del mismo para complejos tan estables como los que se forman entre $\text{Cu}(\text{II})$ y 1,10-fenantrolina y por lo tanto merece una revisión. Su mérito fue abrir el camino a la hidrólisis de los compuestos de coordinación.

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

Tabla 5.8. Constantes de equilibrio de quelatos de Cobre(II) de 1,10-fenantrolina [4].

T / °C	Log K_{ML}	p $K_{M[OH]L}$	p $K_{M[OH]_2L}$	p $K_{(M[OH]L)_2}$	log K_d
0.3		8.3	*	11.65	4.9
25.0	7.4	>7.8	17.3	10.67	>5.0
42.5		>7.3	17.13	10.32	>4.3

* Precipitación de presumiblemente especies quelato neutras, $Cu[OH]_2L$.
 Los equilibrios se encuentran definidos como sigue :

$$Cu(H_2O)_4^{2+} + L \rightleftharpoons CuL(H_2O)_2^{2+} + 2 H_2O \quad K_{ML} = [CuL] / [Cu] [L]$$

$$CuL(H_2O)_2^{2+} \rightleftharpoons Cu[OH]L(H_2O)^{1+} + H^+ \quad K_{M[OH]L} = [Cu[OH]L] [H^+] / [CuL]$$

$$CuL(H_2O)_2^{2+} \rightleftharpoons Cu[OH]_2L + 2 H^+ \quad K_{M[OH]_2L} = [Cu[OH]_2L] [H^+]^2 / [CuL]$$

$$2 CuL(H_2O)_2^{2+} \rightleftharpoons (Cu[OH]L)_2^{2+} + 2 H^+ + 2 H_2O \quad K_{(M[OH]L)_2} = [(Cu[OH]L)_2] [H^+]^2 / [CuL]^2$$

$$2 Cu[OH]L(H_2O)^{1+} \rightleftharpoons (Cu[OH]L)_2^{2+} + 2 H_2O \quad K_d = [(Cu[OH]L)_2] / [CuL]^2$$

5.3. Estudios calorimétricos.

Usando técnicas de titulación calorimétrica EATOUGH [8] determinó constantes de equilibrio sucesivas, valores para los cambios de entalpía y entropía para la interacción del Cu^{2+} (entre otros) con 1,10-fenantrolina (entre otros), *fen*, para formar $Mfen^{2+}$, $Mfen_2^{2+}$ y $Mfen_3^{2+}$.

El acuerdo entre los resultados presentados por EATOUGH (tabla 5.2) y las constantes de equilibrio determinadas previamente es en general muy bueno. mplejos metal-ligando muy estables.

TABLA 5.9.
 Valores válidos a 25°C en solución acuosa para log K, ΔH° , y ΔS° [8]

Reacción	log K	ΔH° (kcal/mol)	ΔS° (gibbs/mol)	μ
$H^+ + fen = H fen^+$	(4.857)	-3.6 (0.02)	10.1 (0.1)	0
$Cu^{2+} + fen = Cufen^{2+}$	9.14 (0.06)	-11.03 (0.1)	4.8 (0.3)	0
$Cufen^{2+} + fen = Cufen_2^{2+}$	6.87 (0.08)	-5.42 (0.1)	13.2 (0.3)	0
$Cufen_2^{2+} + fen = Cufen_3^{2+}$	5.42 (0.1)	-5.1 (0.3)	1.1 (0.9)	0

5. El cobre(II) y la 1,10-fenantrolina en disolución acuosa.

5.4. Tablas de constantes de formación publicadas.

TABLA 5.10.
Selección de valores para la constante del primer equilibrio de formación
obtenidos por diferentes métodos y autores.
 $K_1 = [\text{Cufen}^{2+}] / [\text{Cu}^{2+}][\text{fen}]$

log K_1	μ	T / °C	Método	Referencia
9.1	0.0132	25	partición	[9]
9.30	0.1	20	electrodo Hg Hg ₂ (fen) ₂ (NO ₃) ₂	[5]
9.25	0.1	20	Varios	[6]
9.16	0.5	25	Electrodo Hg Hg ₂ (fen) ₂ (NO ₃) ₂	[10]
8.82	0.1	25	Partición	[11]
9.14 (0.06)	0	25.0	Termoquímico	[8]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

TABLA 5.11.
Selección de valores para la constante del segundo equilibrio de formación global
obtenidos por diferentes métodos y autores.
 $\beta_2 = [\text{Cufen}_2^{2+}] / [\text{Cu}^{2+}][\text{fen}]^2$

log β_2	μ	T / °C	Método	Referencia
15.8	0.1	25	partición y pot.-pH	[9]
16.14	0.1	20	electrodo Hg Hg ₂ (fen) ₂ (NO ₃) ₂	[5]
16.00	0.1	20	varios	[6]
16.12	0.1	20	electrodo Hg Hg ₂ (fen) ₂ (NO ₃) ₂	[10]
15.39	0.1	25	partición	[11]
16.01(0.1)	0	25.0	termoquímico	[8]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

TABLA 5.12.
Valores para la constante del tercer equilibrio de formación global
obtenidos por diferentes métodos y autores.
 $\beta_3 = [\text{Cufen}_3^{2+}] / [\text{Cu}^{2+}][\text{fen}]^3$

log β_3	μ	T / °C	Método	Referencia
21.0	0.1	25	Potenciometría-pH	[9]
21.37	0.1	20	potenciometría-pH (intercambio ligando)	[6]
21.35	0.1	20	varios	[6]
20.41	0.1	25	partición	[11]
21.43(0.1)	0	25.0	termoquímico	[8]

Entre paréntesis se indica la desviación estándar. Donde no aparece es porque la publicación no la cita.

Bibliografía.

- [1] Soto, J. *Estudio espectrofotométrico de los equilibrios de formación del sistema cobre(II)/1,10-fenantrolina en solución acuosa*. Tesis de licenciatura, FES-Cuautitlán UNAM, 1997.
- [2] R. T. Pflaum & W.W. Brandt, *J. Amer. Chem. Soc.*, **76**, 6215 (1955).
- [3] H. Irving & D. H. Mellor, *J. Chem. Soc.*, **1955**, 3457.
- [4] R. L. Gustafson & A. E. Martell, *J. Amer. Chem. Soc.*, **81**, 525 (1959).
- [5] G. Anderegg, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 3444 (1959).
- [6] G. Anderegg, *Helv. Chim. Acta*, **46**, 2397 (1963).
- [7] G. Anderegg, *Helv. Chim. Acta*, **46**, 2813 (1963).
- [8] D. J. Eatough, *Anal. Chem.*, **42**, 635 (1970).
- [9] C. V. Banks & R. I. Bystroff, *J. Amer. Chem. Soc.*, **81**, 6153 (1959).
- [10] J. P. Scharff & M. R. Pâris, *Bull. Soc. Chim. France*, **1962**, 1782.
- [11] H. Irving & D. H. Mellor, *J. Chem. Soc.*, **1962**, 5222.

6. La cisteína y el cobre en disolución acuosa

6. La cisteína y el cobre en solución acuosa

Aunque se han informado constantes de estabilidad para los complejos de cobre(II) con penicilamina y cisteína [1], esos experimentos no se han podido repetir [2]. En soluciones de penicilamina y cobre(II), libres de aire, se observa un color púrpura que se desvanece a los pocos segundos a un verde pálido. Se ha propuesto la oxidación del grupo tiol por el cobre(II). Similarmente, se observa un color púrpura oscuro, aún en ausencia de aire y en condiciones ácidas, cuando soluciones de cobre (II) y cisteína se mezclan. El color se desvanece y aparece un precipitado [2].

6.1. Investigación polarográfica de las reacciones entre cobre y cisteína en soluciones acuosas.

6.1.1. Cobre (I) y cisteína en medio amoniacal.

Con anterioridad se ha estudiado al sistema cobre(I) /cisteína en agua. El ion cobre(I), Cu^+ , hidratado es inestable en solución. Por tanto, existe una limitación severa en los métodos que pueden ser usados para estudiar la formación de compuestos de coordinación con este ion metálico. Este ion rápidamente dismuta en Cu^{2+} y cobre metálico libre, con una constante de equilibrio a 25°C de $[\text{Cu}^{2+}]/[\text{Cu}^+] = 1 \times 10^6$, de tal manera que las pocas sales de cobre(I) conocidas deben su estabilidad a la formación de complejos [3].

Ciertos hechos hallados en polarografía clásica se han explicado argumentando la existencia del cisteinato cuproso [4]. Si se valora una solución de cisteína con cobre(I) (en un buffer amonio/amoniaco) es posible observar, además de las curvas anódica de la cisteína y catódica del cobre (I), una onda de reducción que se presenta a potenciales más bajos y atribuible a un compuesto de fórmula RSCu , donde RS^- representa a la cisteína con el grupo tiol disociado (Fig.6.1).

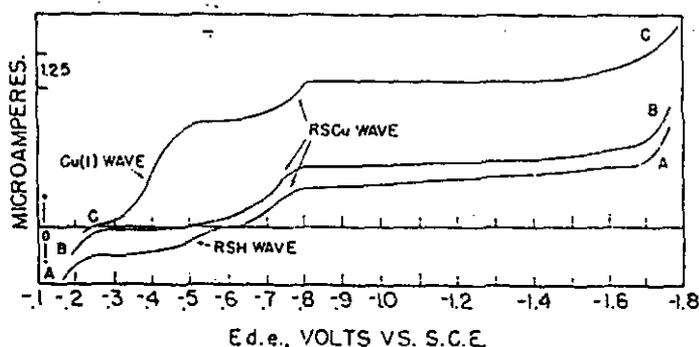


Fig. 6.1 Polarogramas tomados durante una titulación de 50 mL de cisteína 1.0 mM (0.1 M NH_3 , 0.1 M NH_4Cl , 0.005 % de gelatina) con una solución de cobre (I) 10.0 mM. Después de la adición de (A) 3 mL, (B) 5 mL y (C) 11 mL [4].

6. La cisteína y el cobre en solución acuosa

El Cu(I) *no* fue preparado *in situ*. En el experimento de STRICKS Y KOLTHOFF, las soluciones de cobre(I) fueron preparadas en dos formas distintas [4]:

- (1) Se preparó una mezcla acuosa de cobre(II) 10^{-2} M, glucosa 2×10^{-2} M y amoníaco 1 M. Ésta se calentó hasta ebullición. La solución se volvía incolora en un minuto.
- (2) Se mezcló un volumen dado de solución estándar de cobre(II) con una solución 1M de sulfito de sodio. Ésta última fue añadida hasta que el precipitado formado al principio se disolvía en el exceso de sulfito de sodio. La solución resultante era 0.01 M en cobre(I) y 0.2 M en sulfito de sodio. La solución fue verde claro inmediatamente después de mezclar y se volvía incolora a los pocos minutos de permanecer en reposo.

En la Fig. 6.2 se presentan las corrientes de difusión de todos los constituyentes durante la titulación.

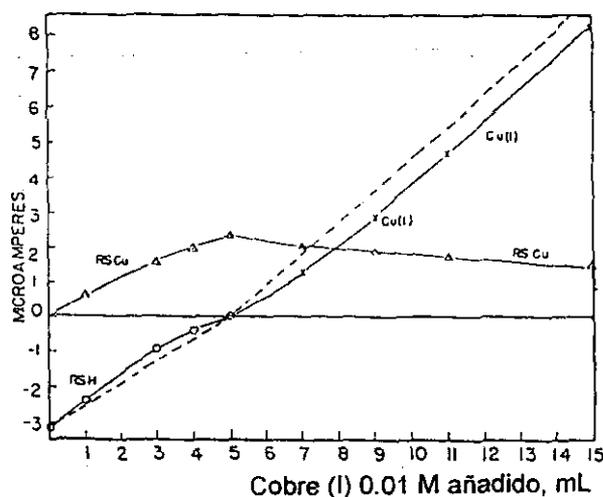
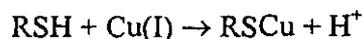


Fig. 6.2 Titulación lenta (entre cada adición hay un espacio de 20 minutos por lo menos) de 50 mL de cisteína 1.0 mM (0.1 M NH_3 , 0.1 M NH_4Cl , 0.005 % de gelatina) con una solución de cobre (I) 10.0 mM. Gráfica de las corrientes de difusión *versus* los mililitros de cobre(I) añadidos a la solución [5].-----es la curva de titulación al suponer que RSCu es el único producto de reacción.

Entonces, al añadir cobre(I) a la cisteína, en medio doblemente amortiguado (pH y pNH_3' constantes), la reacción que ocurre es



El polarograma A en la Fig. 6.1 se obtuvo al añadir el 60% de la cantidad equivalente de cobre a la solución de cisteína. La onda anódica se debe al exceso de cisteína. La onda catódica que comienza alrededor de los 0.6 voltios corresponde a la reducción de RSCu sobre la amalgama de cobre. Cuando las cantidades de RSH y Cu(I) son equivalentes, sólo se halla la onda de RSCu. Con un exceso de cobre(I) la primera onda catódica corresponde a la reducción del ion amino cuproso (denotado aquí como Cu(I)) sobre la amalgama de

cobre mientras que la segunda onda es aquella de RSCu (Fig. 6.1C). Evidentemente RSCu se reduce a un potencial mucho más negativo que aquél del ion amino cuproso.

La adición de un exceso de cobre(I) a una solución de cisteinato cuproso resulta en una marcada disminución de las corrientes de difusión de las dos ondas catódicas (del cobre (I) y el RSCu) y en un desplazamiento del potencial de media onda de la onda de RSCu a potenciales más negativos. Este fenómeno indica que el amino cobre(I) reacciona con el cisteinato cuproso en medio amoniacal para formar complejos de la forma $\text{Cu}^+ + x\text{RSCu} = \text{Cu}(\text{RSCu})_x^+$ [4].

La onda de RSCu que se observó con una solución conteniendo cantidades equimolares de cisteína y cobre (I) no es idealmente reversible. En la presencia de un exceso de cisteína, la onda asociada a RSCu se vuelve reversible. No se obtuvo ninguna indicación de la formación de complejos entre RSCu y cisteína. De los datos polarográficos se calculó la constante de formación de RSCu ($\text{RS}^- + \text{Cu}^+ = \text{RSCu}$) obteniéndose un valor de 6.5×10^{20} ($\log \beta_1 = 20.8$) a 25°C y una energía de Gibbs de formación de -26.2 kcal [4].

6.1.2. Reacciones en medio amoniacal entre cisteína y cobre (II).

El color azul del ion cúprico en medio amoniacal desaparece inmediatamente después de la adición de cisteína para obtenerse una solución amarillenta. Este cambio en el color indica que el cobre(II) es reducido por la cisteína a cobre univalente. Esta suposición queda sustentada por algunos estudios polarográficos hechos [5]. La adición de cantidades crecientes de cobre(II) a una solución de cisteína en medio amoniacal resulta en una disminución de la altura de la onda anódica de la cisteína (luego la cisteína disminuye su concentración, por lo tanto reacciona). Al mismo tiempo, aparecen dos ondas: Una onda perteneciente a la reducción del cisteinato cuproso (identificada por el estudio polarográfico previo de este compuesto [4]) y otra correspondiente a la cistina (estos hechos identifican a ambas sustancias como los productos de reacción). A la vez ambas ondas aumentan en altura mientras se añade más cobre(II).

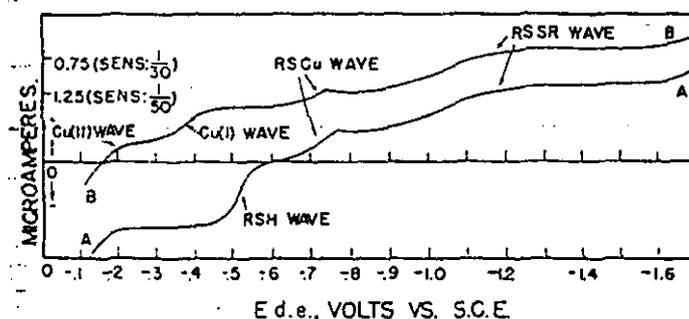


Fig. 6.3 Polarogramas registrados durante una titulación de 50 mL de cisteína 1.0 mM (0.1 M NH_3 , 0.1 M NH_4Cl , 0.005 % de gelatina) con una solución de cobre (II) 10.0 mM. Después de la adición de (A) 1.0 mL (Cys/Cu(II) = 5:1) y (B) 3.5 mL (Cys/Cu(II) = 5:3.5) [5].

6. La cisteína y el cobre en solución acuosa

En la Fig. 6.3 se presentan los polarogramas de mezclas de 50 mL de cisteína 1.0 mM en medio amoniacal con 1 y 3.5 mL de una solución de cobre (II) 10.0 mM. La Fig. 6.4 da las corrientes límites de difusión para el ion cúprico, el ion cuproso, RSH, RSCu y RSSR durante la titulación.

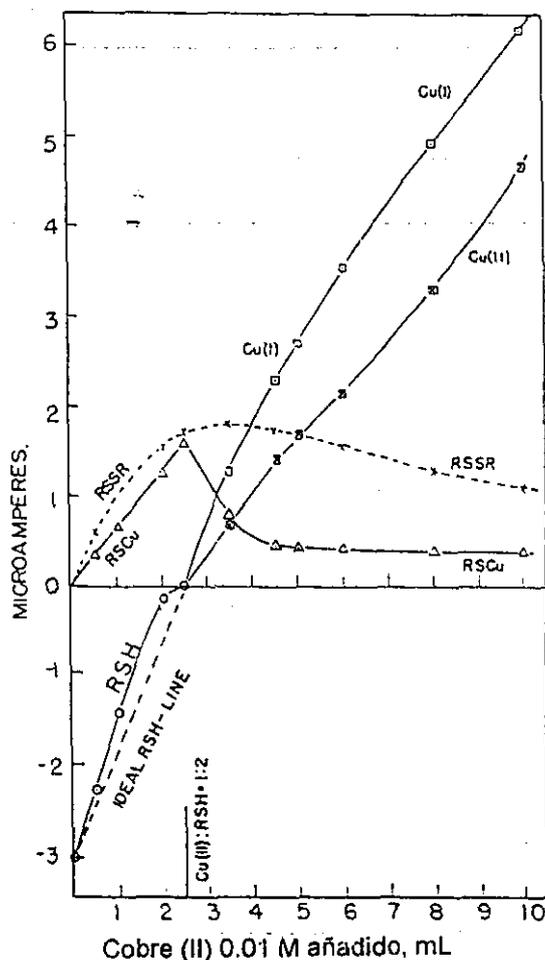


Fig. 6.4 Titulación de 50 mL de cisteína 1.0 mM (0.1 M NH_3 , 0.1 M NH_4Cl , 0.005 % de gelatina) con una solución de cobre (II) 10.0 mM. Gráfica de las corrientes de difusión versus los mililitros de cobre(II) añadidos a la solución [5].

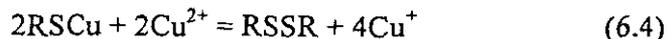
A una razón molar de RSH a Cu (II) de 2:1, la onda de cisteína anódica desaparece completamente. Hasta este punto la reacción está dada por:



Al continuar la adición de cobre (II) aparecen las ondas catódicas de cobre (II) (amino) y cobre (I) (amino). La onda de RSCu disminuye con un exceso creciente de cobre (II). Esta

6. La cisteína y el cobre en solución acuosa

disminución es mucho mayor de la que pudiera esperarse por el efecto del cobre (I) sobre la onda de RSCu y es parcialmente debida a una oxidación de RSCu por el cobre (II) a RSSR



Esta interpretación es sostenida por el hecho de que la onda del ion aminocuproso se incrementa a un mayor grado que la onda del ion cúprico bajo la adición de un exceso creciente de cobre(II).

Cuando se hacen polarogramas de mezclas de cobre (I) y cistina en medio amoniacoal, entonces se encuentran curvas intensidad potencial similares a las que se muestran en la Fig. 6.3.B. esto demuestra que la ecuación (6.4) es reversible. De acuerdo al equilibrio (6.4) la onda de RSSR debió incrementarse con un exceso creciente de cobre (II). En realidad, la onda de RSSR se incrementa solo muy ligeramente y luego disminuye con un creciente exceso de cobre (II) (Fig. 6.4). Esto puede ser debido en parte a la formación de un complejo entre cobre (II) y RSSR. Estudios polarográficos de cobre (II) y cistina en medio amoniacoal demuestran que reacciones complicadas ocurren en la superficie del electrodo goteante, haciendo luego imposible interpretar cuantitativamente las corrientes de difusión aparentes (en la Fig. 6.4) en la presencia de un exceso de cobre (II).

El cobre (II) en medio amoniacoal da una onda de reducción de dos pasos ($\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$ y $\text{Cu(I)} \rightarrow \text{Cu(O)}$) ambas de la misma altura. Al añadir un exceso de cistina sobre cobre, entonces la onda de cobre (I) (amino) ($\text{Cu(I)} \rightarrow \text{Cu(O)}$) disminuye marcadamente en altura llegando incluso a desaparecer.

6.2. La 2-mercaptoetilamina y el cobre en solución acuosa

La 2-mercaptoetilamina (MEA) es una molécula de interés para el estudio del sistema cobre/cisteína dada la semejanza estructural entre ambos ligandos. En las últimas secciones de este capítulo se discute las reacciones redox y de coordinación que ocurren entre el cobre y MEA.

6.2.1. Espectrofotometría de la mercaptoetilamina en solución.

No existe absorción UV-Vis en longitudes de onda mayores a los 232 nm para una solución acuosa de MEA a $\text{pH} < 4$. Cuando El pH se incrementa, un pico aparece en los 232 nm. El pico de absorción a esta longitud de onda se debe al ion mercapturo, $\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}^-$ (ac). Al elevar el pH aún más, el máximo de la banda se ve desplazado de los 232 a los 236 nm. Estas características se encuentran igualmente en los espectros de absorción UV la cisteína. De la misma forma que en ese caso, el desplazamiento se debe a la conversión de $\text{NH}_3^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}^-$ a $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}^-$. Esta última especie tiene un máximo de absorción a una longitud de onda un tanto mayor que la del zwitterion [6].

6.2.2. Un complejo violeta de valencia mixta entre cobre y mercaptoetilamina.

Se tiene el conocimiento de la formación de un compuesto entre 2-mercaptoetilamina (MEA) y cobre en solución (complejo I). El producto se sintetiza en una solución amoniacal libre de aire (O_2) de pH 8 en donde se encuentra inicialmente MEA (10 mmol /10 mL). La adición de cobre(II) (10 mmol /10 mL) se realiza lentamente hasta alcanzar la relación 1 a 1 (metal / ligando). Se reporta que esta sustancia es soluble en agua pero es posible separarla de ella por centrifugación obteniéndose un sólido blanco que al ser expuesto al aire se vuelve violeta hasta llegar a un blanco verdoso. El complejo es insoluble en todos los solventes comunes, excepto en agua [7]. Bajo condiciones estrictamente anaeróbicas la solubilidad en agua es aproximadamente 5×10^{-3} M y la solución acuosa muestra una banda de absorción en la región de los 330 nm ($\lambda=330\text{nm}$, $\epsilon=600$) igual que ocurre en espectros del estado sólido.

El complejo I, en estado sólido y en solución, interacciona con el oxígeno del aire y su color se vuelve violeta oscuro. A la par de que el violeta aparece, una nueva banda ancha en el visible crece en los 500 nm ($\epsilon \geq 300 \text{ dm}^{-3} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, Fig. 1) y la banda de los 330 nm pierde intensidad. El color violeta se desvanece al pasar el tiempo (desapareciendo ambas bandas a 500 y 330 nm), generando un precipitado blanco verdoso [7].

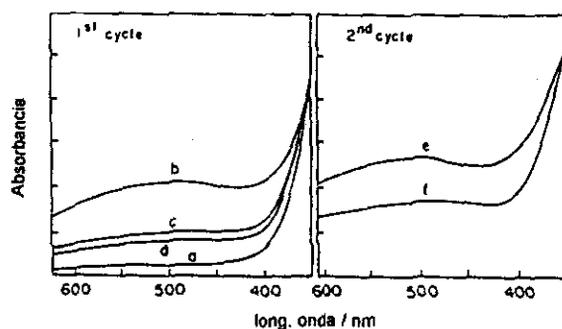


Fig. 6.5. Comportamiento reversible del complejo I hacia el oxígeno. Primer ciclo (1st cycle): (a) Espectro de absorción UV-Vis de la solución desoxigenada $\sim 1.5 \times 10^{-3}$ M del complejo I; (b) solución a saturada de oxígeno; (c) solución b después 15 min de burbujeo con N_2 ; (d) solución b después 2 h de burbujeo con N_2 . Segundo ciclo (2nd cycle): (e) solución d saturada de oxígeno; (f) solución e después de 15 min de burbujear N_2 . [7]

El compuesto I muestra reversibilidad, hasta cierto punto, con el oxígeno, como puede verse en la Fig. 6.5, en la que la curva a representa el espectro en una atmósfera inerte. Al oxigenar con aire se obtiene el espectro b que cambia a c después de ≈ 15 min de burbujear con nitrógeno, y d después de ≈ 2 h. El ciclo puede ser repetido (e y f), pero la reversibilidad disminuye después de cada ciclo. Es interesante notar que los mayores cambios espectrales se observan durante los primeros minutos del burbujeo (expulsión de O_2). Por medio de un sensor de oxígeno se observa que la desaparición de oxígeno de la solución (*i.e.* su captura por la muestra) ocurre muy rápidamente (unos cuantos segundos), mientras la solución

6. La cisteína y el cobre en solución acuosa

permane incolora y consecuentemente sin absorción en la región de los 500 nm. La aparición de un complejo violeta ocurre *después* de que el sensor indicara que todo el oxígeno ha sido capturado por el complejo. Cuando los experimentos se llevan a cabo a bajas concentraciones de oxígeno (*i.e.* con $O_2/I < 0.25$) la solución se vuelve violeta y, en la ausencia de oxígeno, permanece estable por varios días. Al incrementar la razón O_2/I , aumentan la velocidad de captura de oxígeno y la intensidad del color violeta, pero al mismo tiempo la solución se vuelve turbia indicando la descomposición de las especies de valencia mixta [7].

6.2.3. Electroquímica.

Cuando se hace electrólisis a potencial controlado (EPC) para el complejo de Cu(I), I, se observa la transferencia de un electrón por átomo de cobre durante el proceso de reducción y se verifica la deposición de cobre sobre el electrodo de platino. Después de la electrólisis completa la solución no muestra ninguna banda de absorción electrónica asignable a un complejo de cobre, y su voltamperograma muestra las mismas características que las del ligante libre [7].

La EPC a 350 mV primero resulta en la aparición de un complejo violeta, caracterizado por una banda electrónica a 500 nm, idéntica a la banda obtenida al exponer una solución acuosa de I al oxígeno del aire (*vide supra*). Sin embargo, durante el curso de la electrólisis, el color de la solución se desvanece, desapareciendo completamente al final. La coulombimetría indica la transferencia de un electrón por átomo de cobre, y la solución final es de un color azul tenue [7].

Como se mencionó en la sección previa, el complejo I en la solución se vuelve violeta en la presencia de oxígeno (aire). Sorprendentemente, el voltamperograma de esta solución colorida es muy similar a aquélla del complejo I en la ausencia de oxígeno, con algunas diferencias: el potencial de equilibrio se desplaza hacia potenciales más positivos, el pico de oxidación a 320 mV reduce su intensidad, y el pico de -400 mV es más ancho y menos definido [7].

6.2.4. Caracterización del complejo

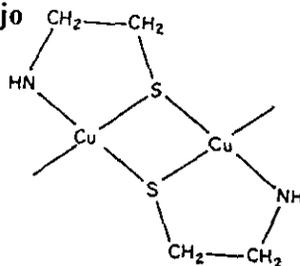


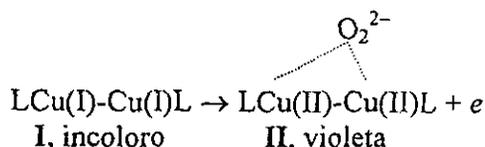
FIG. 6.6. Proposición de la estructura para el complejo I.

El color del complejo I, sus características espectroscópicas y el diamagnetismo son clara evidencia de un complejo de Cu(I) como se esperaba, ya que el grupo SH del ligando es un buen reductor para Cu(II) [8]. La banda electrónica UV observada puede ser asignada a una transición de transferencia de carga Cu(I)-S [13], dando evidencia para la coordinación del Cu al átomo S. Los resultados de análisis elemental, el ensanchamiento de las bandas IR, y

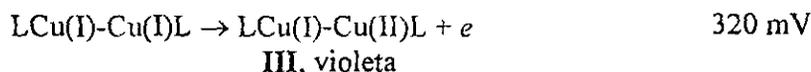
de la baja solubilidad sugieren que el sólido es un polímero, con una unidad básica posible mostrada esquemáticamente en la Fig. 6.6.

Comportamiento hacia el oxígeno.

El interesante comportamiento del complejo frente al oxígeno se puede interpretar de acuerdo al modelo de KARLIN [9a,b]. Ya que, (i) la presencia de oxígeno parece ser esencial para generar las especies violetas, y (ii) el proceso muestra reversibilidad (hasta cierto punto), se puede sugerir el siguiente fenómeno:



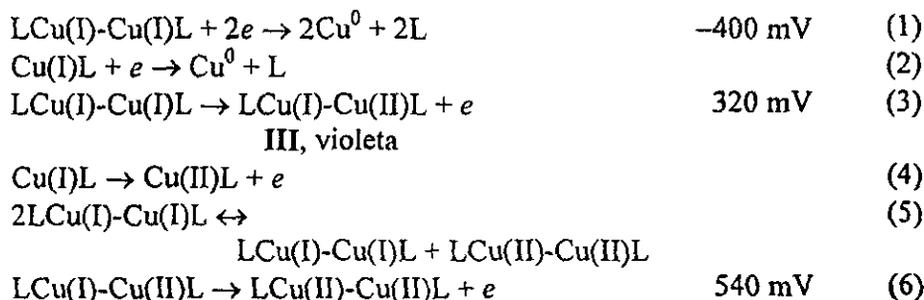
con L = MEA. Sin embargo, la generación electrolítica de un cromóforo violeta, III, en completa ausencia de oxígeno, con características espectroscópicas idénticas a las especie II, claramente demuestra que el oxígeno no está inequívocamente relacionada con las especies coloreadas. Las características espectroscópicas, EPR y electroquímicas, además de la experiencia previa con compuestos binucleares de Cu(II) y sus derivados de valencia mixta, sugiere que se puede obtener I ya sea electroquímicamente:



o con interacción con oxígeno.

Electroquímica.

Algunos de los resultados electroquímicos se resumirán en seguida (los potenciales son aquéllos en los que ocurre el proceso sobre un electrodo de platino y referidos a un ECS en una solución equimolar de MEA y CuCl₂, 0.5 M y en amoníaco 1M):



El proceso (5) puede explicar el decaimiento no exponencial de la intensidad de corriente durante la electrólisis anódica a 320 mV y también el hecho de que la electrólisis a 320 y 540 mV muestre el mismo comportamiento experimental, con los mismos resultados finales.

El compuesto LCu(II)-Cu(II)L obtenido por la reacción (6) muestra sólo una banda de absorción ancha a 810 nm y es inestable en solución; después de 10-15 minutos la solución se vuelve turbia y se forma un precipitado verde azulado. El espectro IR para este precipitado revela que el ligando MEA no está presente, de acuerdo con la inestabilidad reportada de los enlaces Cu(II) en solución.

Finalmente hay que mencionar las semejanzas probadas y posibles entre MEA y la cisteína. De lo visto arriba se puede argumentar que ambos ligantes absorben similarmente. Esto es debido al parecido estructural (obvio) y principalmente a que ambos son mercaptanos con la amina en la misma posición relativa. De los resultados de KOLTHOFF se sabe que la cisteína reduce al cobre para formar un complejo cuproso [1]. De los resultados de LOEB se sabe que pasa lo mismo con MEA [7]. El primer estudio fue polarográfico y el segundo se basa en coulombimetría y voltamperometría. Se asocia el color morado a la presencia de un complejo entre MEA y Cu(II). Éste puede ser un dímero y puede ser de valencia mixta. El equipo de LOEB incluso ofrece una propuesta de estructura. Existe entonces la posibilidad de que ocurra algo equivalente en el sistema Cu/cisteína. De hecho, es conocida la presencia del color púrpura en mezclas Cu/cisteína. Luego desaparece el color y se forma un precipitado [2]. Esto puede ser explicado en términos, efectivamente, de un polímero de cobre(I) y cistina. (También se conoce la formación de dímeros con un elemento de la misma familia: el oro [10]).

Bibliografía

- [1] Knoblock, E.C.; Purdy, W.C. *J. Electroanalyt. Chem.* 1961, 2, 493.
- [2] Perrin, D.D., Sayce, I.G. *J. Chem. Soc. (A)*, 1968, 53-57.
- [3] Hawkins, C.J.; Perrin, D.D. *J. Chem. Soc.*, 1962, 1351.
- [4] Stricks, W.; Kolthoff, I.M. *J. Am. Chem. Soc.* 1951, 73, 1723.
- [5] Kolthoff, I.M.; Stricks, W. *J. Am. Chem. Soc.* 1951, 73, 1728.
- [6] Li, Y.; Martell, A.E. *Inorg. Chim. Acta*, 1995, 231, 159.
- [7] Loeb, B.; Crivelli, I.; Andrade, C. *Inorg. Chim. Acta*, 1995, 231, 21.
- [8] Hemmerich, P. en Aisin, P.; Blumberg, W.; Peisach, J. (eds.), *The biochemistry of Copper*, Academic Press, New York, 1966, p.15.
- [9] (a) Karlin, K.D.; Gultneh, Y. *Prog. Inorg. Chem.*, 1987, 35, 219. (b) Tyeklar, Z.; Karlin, K.D. *Acc. Chem. Res.*, 1989, 22, 241.
- [10] Wazeer et al. *J. of Inorg. Biochem.*, 1996, 64, 37.

7. Método de variación continua

7. Método de variación continua

El método de Job de las variaciones continuas es un procedimiento comúnmente empleado para la determinación de la composición de los complejos en solución. El principio de variaciones continuas fue empleado por Ostromisslensky en 1911 para establecer la estequiometría del aducto formado entre nitrobenzeno y anilina. El principio fue empleado por Denison en 1912 en un estudio de varias mezclas líquidas. Sin embargo, el método de variaciones continuas generalmente se asocia con el nombre de Job quien en 1928 publicó una aplicación detallada del método al estudio de una amplia gama de compuestos de coordinación. [1]

Teoría

Se pueden transformar datos de una titulación espectrofotométrica en una curva de Job [1]. Se parte de los siguientes supuestos:

- 1) En el sistema una o varias concentraciones de ciertas especies (buffers por ejemplo) se mantienen constantes durante el proceso. Esto produce un amortiguamiento del pH, fuerza iónica, etc. En el caso más sencillo (que se supondrá aquí) las especies generalizadas a orden τ están en un equilibrio modelado por un solo equilibrio químico del tipo donador/receptor/partícula:



(Nótese que *no* es el caso general) donde $M^{(\tau)}$, $L^{(\tau)}$ y $ML_n^{(\tau)}$ son las especies generalizadas.

- 2) Las absorbancias del sistema se reproducen con la ley de Beer.
- 3) La concentración total del metal (C_M) más la del ligando (C_L), en la mezcla, es constante ($C_M + C_L = k$).

Para satisfacer el punto (3) las concentraciones de la solución valorada y la del titulante serán equimolares. Explicación: Supóngase, a partir de este momento, que se valora un volumen v_0 de una solución de $L^{(\tau)}$ de concentración C_L^0 mediante la adición y mezcla de un volumen v de una solución de $L^{(\tau)}$ de concentración C_M^0 . Si $C_L^0 = C_M^0 = C$, entonces

$$C_M + C_L = \frac{vC_M^0 + v_0C_L^0}{v + v_0} = C \quad (7.2)$$

Definiciones

La función de **absorbancia corregida**, Y , se define como

$$Y = A - (\epsilon_M C_M + \epsilon_L C_L)b \quad (7.3)$$

$$Y = A - L \quad (7.4)$$

7. Método de variación continua

Donde ϵ_M y ϵ_L son las absorptividades de $M^{(\tau)}$ y $L^{(\tau)}$; b es la longitud del paso óptico. En una **curva de Job** esta se pone y traza en función de la fracción mol de $M^{(\tau)}$ o $L^{(\tau)}$. La fracción mol para $M^{(\tau)}$, χ_M , entre estas *dos* sustancias queda definida por

$$\chi_M = \frac{C_M}{C_M + C_L} \quad (7.5)$$

habiendo una ecuación semejante para $L^{(\tau)}$.

El sustraendo en la ecuación (7.3), que se denota por L (Ec. 7.4), es la absorbancia hipotética de una mezcla no reaccionante con la misma composición inicial a la solución/sistema de estudio.

Dada la equimolaridad de las soluciones a mezclar, $C_L^0 = C_M^0 = C$, se encuentra que

$$\chi_M = \frac{v}{v + v_0} \quad (7.7)$$

A continuación se quiere exponer lo que se espera de una gráfica de Job y porqué se supone que debe informar sobre la estequiometría de la reacción (n). Primero se demostrará, bajo los supuestos dados, que $Y \propto [ML_n^{(\tau)}]$. Por último se hallará que la función Y tiene un máximo (o un mínimo) en $\chi_M = 1/(1 + n)$. Para hacer esto último se construirá la tabla de variación de cantidades molares correspondiente.

$$Y \propto [ML_n^{(\tau)}]$$

$$Y = A - (\epsilon_M C_M + \epsilon_L C_L) b \quad \text{Definición}$$

$$= (\epsilon_M [M^{(\tau)}] + \epsilon_L [L^{(\tau)}] + \epsilon_{ML_n} [ML_n^{(\tau)}]) b - (\epsilon_M C_M + \epsilon_L C_L) b \quad \text{Ley de Beer/ Aditividad}$$

$$= (\epsilon_M \{ [M^{(\tau)}] - C_M \} + \epsilon_L \{ [L^{(\tau)}] - C_L \} + \epsilon_{ML_n} [ML_n^{(\tau)}]) b$$

$$= (\epsilon_M \{ - [ML_n^{(\tau)}] \} + \epsilon_L \{ - n [ML_n^{(\tau)}] \} + \epsilon_{ML_n} [ML_n^{(\tau)}]) b \quad \text{Balances de masa}$$

$$= (\epsilon_{ML_n} - \epsilon_M - n\epsilon_L) [ML_n^{(\tau)}] b \quad (7.8)$$

Definamos $m = f(\lambda, b)$

$$m = (\epsilon_{ML_n} - \epsilon_M - n\epsilon_L) b \quad (7.9)$$

m es un real (positivo, negativo o cero). Por lo tanto

$$Y = m [ML_n^{(\tau)}] \quad (7.10)$$

Tabla de variación de cantidades molares

Tener presente que si C es la concentración molar, entonces el producto Cv es la cantidad de sustancia dado que v es el volumen. Recordar que $C_L^0 = C_M^0 = C$ y que por tanto el volumen de punto de equivalencia viene dado por $v_{pe} = v_0/n$

	$M^{(t)}$	+	$L^{(t)}$	\rightleftharpoons	$ML_n^{(t)}$
<i>Inicio</i>			$C_L^0 v_0 = Cv_0$		
<i>Se agrega</i>	$C_M^0 v = Cv$				
$v \leq v_0/n$	$\epsilon v_0 C$		$v_0 C(1 + n\epsilon - nv/v_0)$		$v_0 C(v/v_0 - \epsilon)$
$v \geq v_0/n$	$v_0 C(v/v_0 - 1/n + \epsilon)$		$n\epsilon v_0 C$		$v_0 C(1/n - \epsilon)$

Y es máxima (o mínima) en $\chi_M = 1/(1+n)$

En la ecuación (7.10), m es una constante para una longitud de onda dada. De esto se sigue que Y (en función de χ_M) tiene sus puntos críticos donde los tenga $[ML_n^{(t)}]$. Primero se concluirá una relación útil:

$$\chi_M = \frac{v}{v+v_0} = \frac{v/v_0}{1+v/v_0}, \text{ de donde } v/v_0 = \chi_M / (1-\chi_M) = \chi_M / \chi_L. \quad (7.11)$$

Si $v \leq v_0/n$, o sea $\chi_M \leq 1/(1+n)$, entonces:

$$\begin{aligned} [ML_n^{(t)}] &= \begin{pmatrix} v_0 C \\ v_0 + v \end{pmatrix} \begin{pmatrix} v \\ v_0 \end{pmatrix} - \epsilon \\ &= \chi_L C \begin{pmatrix} \chi_M \\ \chi_L \end{pmatrix} - \epsilon \\ &= C [(1+\epsilon)\chi_M - \epsilon] \end{aligned} \quad (7.13)$$

Si $\epsilon \ll 0$ (esto es $0 \leq \epsilon \leq 10^{-3}$, por ejemplo; lo que comúnmente se expresa diciendo que la reacción es "cuantitativa"), entonces en el dominio de la función ($\chi_M \leq 1/(1+n)$) el valor máximo (o mínimo, dependiendo del signo de m) se alcanza en $\chi_M = 1/(1+n)$, si $m > 0$.

Similarmente se demuestra para $1/(1+n) \leq \chi_M \leq 1$:

$$[ML_n^{(t)}] = C \left[\left(-\frac{1}{n} + \epsilon \right) \chi_M + \frac{1}{n} - \epsilon \right] \quad (7.14)$$

Si $m > 0$ y la reacción es cuantitativa, entonces Y tiene un máximo en $\chi_M = 1/(1+n)$ porque la función tendería a ser una recta de pendiente $-1/n$ con n entero positivo. (Si $m < 0$, entonces Y tendría un mínimo en el mismo punto)

7. Método de variación continua

En la Fig. 7.1 se muestra un ejemplo hallado en la literatura.

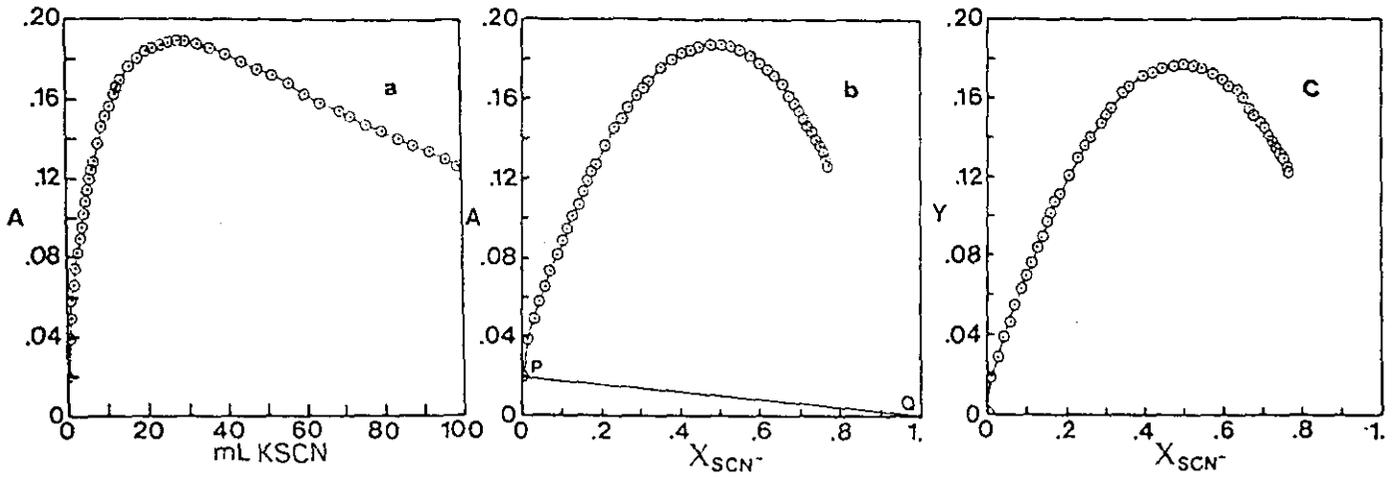


FIG. 7.1. (a) Titulación espectrofotométrica (a 395 nm) de 30 mL de $Fe(NO_3)_3$ 1.0 mM / HNO_3 0.01 M con KSCN 1.0 mM/ HCl 0.15M. Nótese la equimolaridad de analito y titulante [1]. (b) Curva a transformada de acuerdo a la ecuación (7) [1]. (c) Gráfica de Job obtenida al sustraer PQ de la curva b [1]. PQ es L y es posible expresarla como $L = bC[\epsilon_M\chi_M + \epsilon_L(1-\chi_M)]$

Bibliografía

[1] Hill, Z.D.; MacCarthy, P. J Chem. Educ., 1986, 63, 162.

Parte Experimental

8. Metodología experimental

8. Metodología experimental

8.1. Equipo y material

- a) Espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 18 (registra hasta cinco decimales de unidad de absorbancia). Celdas espectrofotométricas de cuarzo de 1.0 cm.
- b) pH/potenciómetro digital Mettler Toledo MA235 pH/Ion Analyzer. La fem se midió con una precisión de 0.1 mV y el pH con una de 0.001.
- c) Se emplearon electrodos combinados de vidrio y plata/cloruro de plata (Radiometer).
- d) Balanza Analítica Metler H 72 (con precisión de hasta décimas de mg).
- e) Baño termostataado MGW Lauda C 12 T1 ($\pm 0.5^\circ\text{C}$)
- f) Micropipetas Finnepipete de 10, 20, 50 , 100 μL y una graduable de 5 a 40 $\pm 0.5 \mu\text{L}$.

8.2. Reactivos

El agua destilada fue desionizada y hervida.

NaOH, 98.5%. Monterrey.

HCl, 37.2%. Monterrey

HClO₄ , 70.5%. Baker

NaCl, 99.5%. Monterrey.

KCl, 99.5%. Monterrey.

Monohidrato de 1,10-fenantrolina, 99.5%. Monterrey.

Cisteína, pureza mayor al 99% determinada potenciométricamente.

CuSO₄ 5H₂O, 99.5%. Baker.

Buffers de pH=7.00; 4.01 y 10.00, Sigma.

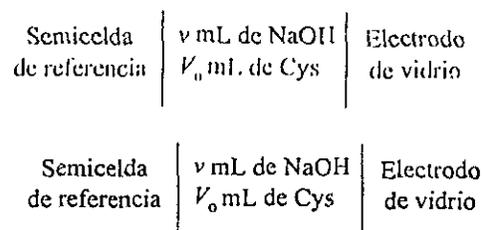
Las soluciones de NaOH, HCl y HClO₄ se emplearon estandarizadas [1]

8.3. Descripción de la celda.

Las titulaciones potenciométricas se llevaron a cabo en una vasija de vidrio por cuyas paredes huecas se hacía fluir agua sola proveniente de un baño mantenido a una temperatura de $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$. El envase se cubría con una tapadera de goma con cuatro orificios de tamaño adecuado por los que atravesaban: un electrodo de vidrio, un termómetro, una bureta y un tubo de vidrio en el que gas nitrógeno era conducido hacia la

solución con el fin de expulsar dióxido de carbono y oxígeno. Cuando no se empleaba una bureta, se empleaban micropipetas que dispensaban volúmenes de entre 5 y 100 μL .

Para el sistema cisteína/ H_2O la celda empleada se puede escribir como



donde ν es el volumen del titulante añadido y V_0 el volumen inicial de la solución en el vaso. Cys simboliza a la cisteína. Es el mismo en el caso de los otros sistemas estudiados.

8.4. El pH

El pH fue calculado de la siguiente ecuación

$$pH = pH_1 + j \left(\frac{pH_0 - pH_1}{pH_0} \right) pH_1$$

donde pH_1 es el pH leído directamente en la pantalla (experimental); pH_0 es el pH del buffer de calibración (se calibraba a tres puntos con buffers de $pH=7.00$; 4.01 y 10.00, pero en el cálculo se elegía el más adecuado al intervalo experimental, por lo general 7.00) y j es la eficiencia. La eficiencia era obtenida de tal forma que la pendiente de la relación $\varepsilon = f(pH)$ fuera igual a -59.16 mV (donde ε es la fem). Este proceso involucra la regresión lineal común pero no es todo. Para obtener los valores adecuados es necesario que la pendiente sea igual a -59.16 mV variando j . Esto se puede hacer con un programa que resuelva ecuaciones por iteración¹.

8.5. Trabajo con el sistema binario 1,10-fenantrolina/ H_2O

Se preparón soluciones de 1,10-fenantrolina 0.01 M a partir de las cuales se tomaba el volumen adecuado y se realizaban diluciones para obtener la concentración deseada. Para establecer la pureza con precisión, se valoró con $\text{HCl} (ac)$ 0.20 M en un medio con $\mu = 0.10 \text{ M}$ (KCl) y $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Seguido de cada adición se midió el pH. El punto de equivalencia fue determinado con la ayuda de una gráfica de Gran ($V_H 10^{pH}$ vs. V_H) y mediante el método de la segunda derivada aproximada ($\Delta^2 pH / \Delta V_H^2$). La discrepancia entre ambos resultados fue menor al 1%.

En los estudios espectrofotométricos una solución patrón de 1,10-fenantrolina fue diluida hasta obtener una solución $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ (este orden de concentración es adecuado para llevar

¹ Se empleó la macro *Solver* de MS Excel.

a cabo estudios cuando la longitud de onda (λ) del haz incidente se encuentra en el intervalo $200 \leq \lambda/\text{nm} \leq 380$). Ésta solución fue valorada en forma similar con HCl o NaOH. $\mu = 0.10$ M (KCl) y $T = 25$ °C. La titulación fue seguida potenciométrica y espectrofotométricamente (longitud del trayecto óptico $b = 1.0$ cm). Este experimento se repitió tres veces. La información obtenida se empleó para determinar el pK_a del ion fenantrolinio (fenH^+).

8.6. Trabajo con el sistema binario cisteína/H₂O

Se preparón soluciones de cisteína 0.01 M a partir de las cuales se tomaba el volumen adecuado y se realizaban diluciones para obtener la concentración deseada. La pureza se determinó mediante una valoración ácido-base, siendo mayor al 99%.

Las soluciones fueron valoradas espectrofotométricamente de la misma forma en que se llevaron a cabo las valoraciones potenciométricas. El pH fue registrado idénticamente. Se empleó un espectrofotómetro *Perkin Elmer* Lambda 18. Las celdas fueron de cuarzo y de espesor de 10.0 mm. La temperatura fue de 25 °C. Se registró información experimental de soluciones de cisteína entre 8.0 y 0.1 mM, y con $6 \leq \text{pH} \leq 12$.

8.7. Trabajo con el sistema ternario Cu(II)/1,10-fenantrolina / H₂O

La solución patrón de Cu(II) fue preparada a partir de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y establecida la concentración con precisión a partir de electrogravimetría [1]. Se prepararon soluciones de 1,10-fenantrolina 5.0×10^{-5} M (para el estudio del ultravioleta) junto con Cu(II) en relaciones Cu(II) : fen, 2.0 : 1.0; 1.5 : 1.0; 1.0:1.0; 1.0:2.0 y 1.0:3.0.

A estas mezclas se les varió el pH con $\text{HCl}(ac)$ o $\text{NaOH}(ac)$. $\mu = 0.10$ M (KCl) y $T = 25$ °C. La titulación fue seguida potenciométrica y espectrofotométricamente (longitud del trayecto óptico $b = 1.0$ cm). De esta forma se obtuvieron una serie de espectros $A = f(\text{pH}, C_{\text{Cu}}, C_{\text{fen}}, \lambda)$.

8.8. Trabajo con el sistema ternario Cu(II)/cisteína / H₂O

Se realizaron tres tipos de experimentos para estudiar el sistema Cu(II)/Cys. Primero, se monitoreó espectrofotométricamente el comportamiento de diferentes mezclas Cu(II)/Cys en función del pH de la solución. Segundo, se realizaron estudios de variación continua. Tercero, se continuó con la exploración del sistema valorando cisteína con cobre imponiendo o no el pH.

Detección espectrofotométrica en función del pH. Se preparon mezclas de Cu(II) y cisteína en diferentes razones metal/aminoácido. En ciertos casos la mezcla se disolvía en agua pura, de tal forma que el pH inicial era el de equilibrio del sistema mismo. En otros casos la mezcla se preparaba inicialmente en un medio ácido o básico. El pH era impuesto por un ácido o base fuerte, $\text{HCl}(ac)$ o $\text{NaOH}(ac)$ respectivamente. Ninguna sal fue empleada para imponer la fuerza iónica pero esta se mantuvo entre 0.1 y 0.2 M. La solución fresca era

entonces colocada en una celda a temperatura controlada (25°C). Durante el transcurso total de cada experimento, se burbujeaba nitrógeno para minimizar en lo posible la presencia de ciertos gases (CO₂ y O₂) que pudieran interferir de algún modo con el sistema

Se empleó un espectrofotómetro *Perkin Elmer* Lambda 18. Las celdas fueron de cuarzo y de espesor de 1.0 cm. El pH fue registrado y corregido como se indica más arriba.

8.9. Trabajo con el sistema cuaternario Cu / 1,10-fenantrolina / cisteína / H₂O

Igual que en el sistema Cu/Cys, aquí se trabajó básicamente con la misma metodología experimental. Se realizaron dos tipos de experimentos para estudiar el sistema Cu(II)/*o*-fen/Cys. Primero, se monitoreó espectrofotométricamente el comportamiento de diferentes mezclas Cu(II)/*o*-fen/Cys en función del pH de la solución. Segundo, se realizaron estudios de variación continua. En la mayoría de estos experimentos se partía de una razón Cu:fen = 1:1; de tal manera que se estaba estudiando la interacción del complejo Cufen²⁺ con la cisteína.

8.10. Descripción de las herramientas computacionales

8.10.1. TRIANG

TRIANG [2-3] es un programa computacional escrito en lenguaje FORTRAN. El listado de este programa ha sido reportado en el libro "Solution Equilibria" [3].

TRIANG estima el número de especies que absorben radiación electromagnética en el sistema, a partir de los valores de absorbancia a diferentes longitudes de onda para distintas soluciones, y considerando el error en las lecturas de transmitancia (ΔT).

La forma de establecer si una especie química absorbe radiación electromagnética involucra una comparación entre valores de absorbancia y los errores asociados a las mismas, suponiendo el cumplimiento de la ley de Beer y de aditividades.

TRIANG calcula los elementos de una matriz de error, considerando el valor de ΔT , la ecuación de error en absorbancia y la teoría de propagación del error.

8.10.2 SQUAD

SQUAD [2] es un programa computacional creado por LEGGET [4-5] escrito en lenguaje FORTRAN. Está diseñado para refinar constantes de equilibrio de un modelo químico propuesto, a partir de datos de absorbancia obtenidos a diferentes longitudes de onda y a diferente composición química del sistema.

El modelo químico propuesto puede tener especies del tipo:

$$M_m M'_i H_j L_i L'_q$$

$$m, l, j, i, q \geq 0$$

El refinamiento de las constantes se realiza por medio de una minimización de la suma de los residuos de absorbancia cuadráticos –por mínimos cuadrados no lineales–, U , empleando el algoritmo de Gauss-Newton.

La resolución de la minimización requiere del cálculo de las absorbancias para cada longitud de onda y disolución.

Para conocer los valores de absorbancia se necesita resolver la ecuación de Beer; SQUAD propone los coeficientes de absortividad molar por especie, y determina la concentración de cada una empleando el algoritmo de Newton-Raphson.

Entre los parámetros estadísticos calculados por SQUAD, se eligieron algunos por su importancia para determinar si el modelo químico propuesto explica la información experimental alimentada. Ellos son, a parte de U :

- 1) La desviación estándar sobre los datos de absorbancia (σ_{datos}), y de las constantes (σ_{ctes}).
 σ_{datos} es un indicador de la validez del modelo químico propuesto.
- 2) La desviación estándar sobre los coeficientes de absortividad molar (σ_{coef}).

Bibliografía

- [1] Harris, D.C., *Análisis Químico Cuantitativo*, Grupo Editorial Iberoamérica, México, 1992.
- [2] Morales Pérez, A., *Estudio de sistemas químicos multirreaccionantes en soluciones acuosas por métodos espectrofotométricos con el programa SQUAD y otros métodos computacionales*. Tesis de maestría. F.E.S. - Cuautitlán, U.N.A.M. 1993.
- [3] F. R. Hartley et al., *Solution Equilibria*, Chichester : Ellis Horwood, 1980.
- [4] D.J. Legget and W.A. McBryde, *Anal. Chem.*, **47** (1975) 1065.
- [5] D.J. Legget, *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*, Plenum Press, New York, 1985.

Sistemas binarios

9. Resultados y discusión: Sistema 1,10-fenantrolina / H₂O

9. Resultados y discusión: Sistema 1,10-fenantrolina / H₂O

La pureza de la 1,10-fenantrolina fue verificada quedando igual a la del marbete (99.5%). En la Fig. 9.1 se muestra una curva típica de valoración.

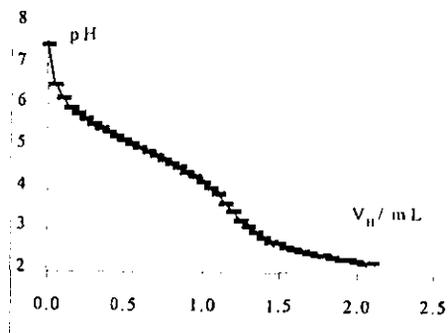


Fig. 9.1. Curva de titulación (pH vs. V_H) de o-fen 0.01 M por HCl 0.20 M.

9.1. Determinación del pK_a del ion fenantrolinio (Hfen⁺)

En la Fig. 9.2 se muestra una selección de espectros de un experimento en el que se hizo variar el pH a una solución inicialmente 5.0×10^{-5} M de 1,10-fenantrolina.

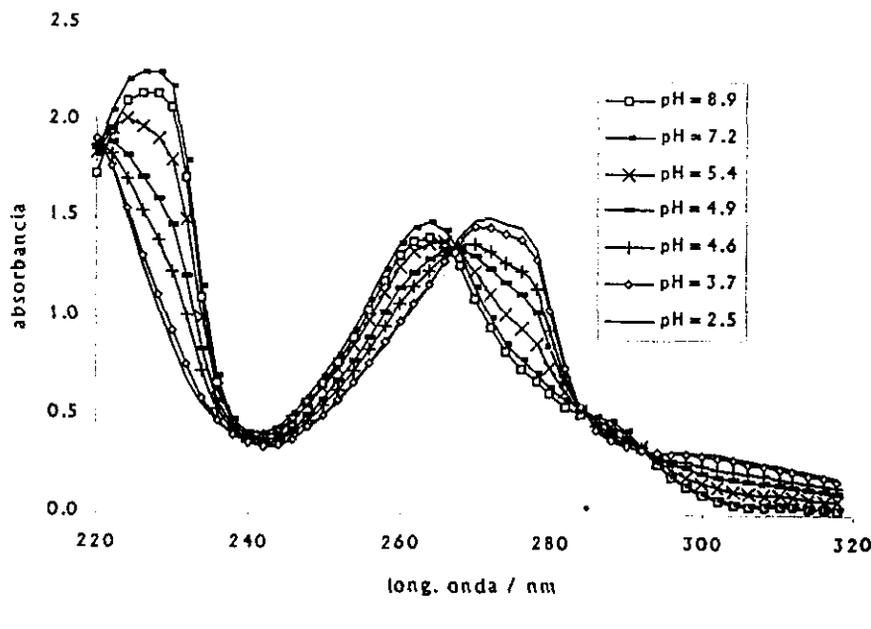


Fig. 9.2. Serie de espectros de absorción a soluciones acuosas de 1,10-fenantrolina, 5.0×10^{-5} M, de diferente pH. $\mu=0.10$ (KCl), $T=25^\circ\text{C}$.

Mediante el uso TRIANG queda establecido que absorben dos especies diferentes en la serie de espectros: el par ácido base de la 1,10-fenantrolina.

9. Resultados y discusión: Sistema 1,10-fenantrolina / H₂O

TABLA 9.1. Resultados de TRIANG para el experimento de la Fig. 9.2.

ΔT	Número de especies
0.0001	2
0.001	2
0.003	2
0.005	2
0.007	2
0.008	0

Los resultados aparecen en este trabajo en tablas donde se indica el modelo con los valores de las constantes administradas (de entrada) y las refinadas (modelo refinado). En la Tabla 9.2 aparece el resultado de determinación del pK_a. La información administrada corresponde a las absorbancias de la gráfica 9.2, 50 absorbancias por solución (220, 222, ..., 319 nm), 2 < pH < 9.

Tabla 9.2. pK_a del ion fenantrolinio. T=25°C. $\mu=0.1$ (KCl)

Modelo de entrada				Modelo refinado	
ESPECIE	log β	F o V	ϵ	log β	σ
FEN(1)H(1)	4.97	Var	Sí	4.93	0.005
				0.162	0.014

Notas:

ESPECIE indica la especie a la que hace referencia el logaritmo de la constante de formación global, tanto en el modelo de entrada como en el refinado. ESPECIE se dará en la forma M(a)L(b)X(c), e indica que se está manejando la constante del equilibrio $aM + bL + cX = M_aL_bX_c$. En la casilla marcada con F o V se indicará si la constante se deja fija (*Fija*) o no (*Var*) para el refinamiento. En ϵ se mencionará si la especie se considera absorbente (*Sí*) o no (*No*). σ es la desviación estándar de la constante refinada. U es la suma de los cuadrados residuales y el parámetro que SQUAD minimiza. σ_{DATA} es la desviación estándar de los datos con respecto al modelo.

En la Fig. 9.3 se grafican las absorptividades molares de la forma Hfen⁺ y fen. Estas magnitudes las calculó SQUAD al resolver la ecuación de Beer y son necesarias para que el programa calcule las concentraciones de cada especie y de ahí las constantes de equilibrio.

9. Resultados y discusión: Sistema 1,10-fenantrolina / H₂O

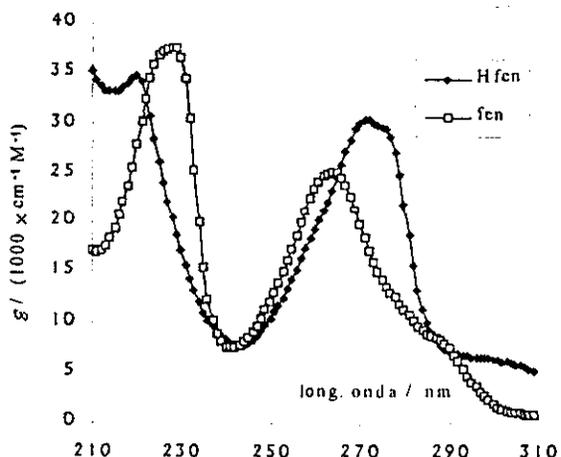


Fig. 9.3. Absortividades molares (ϵ) calculadas por SQUAD para la fenantrolina (fen) y el ion fenantrolinio (Hfen).

En las dos repeticiones de este experimento se obtuvieron pK_a 's más pequeños pero con una desviación estándar mayor: 4.88(0.01) y 4.72 (0.02). Cabe decir que en unos casos se seleccionaron las longitudes pares y en otros impares, siendo los resultados prácticamente los mismos.

Tabla 9.3. Resultados finales.

$Hfen^+ = fen + H^+$				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	logK=
N.V.	25	0.1	EF	4.93(0.005)
[1]	20	0.1	Cal	4.96(0.01)
[2]	25.0	0.10	Pot	4.97(0.03)

EF: espectrofotométrico; Pot: potenciometría con electrodo de vidrio. Cal.: calorimetría.

La relación del valor refinado es buena con los valores publicados. El valor, sin embargo, lleva el problema de que la repetibilidad no es del todo satisfactoria. Este valor puede mejorarse si se manejan diferentes concentraciones de 1,10-fenantrolina (en el mismo orden de concentración) manteniendo unas absorbancias menores a 1. De esta forma SQUAD calcularía mejor el pK_a pues la aumentaría la calidad de las absorptividades molares calculadas y con ello las concentraciones del equilibrio.

Bibliografía.

- [1] S. Ishiguro, H. Wada and H. Ohtaki, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **58**, 932 (1985).
 [2] P. G. Daniele, C. Rigano & S. Sammartano, *Talanta*, **32**, 78 (1985).

10. Resultados y discusión: Sistema cisteína / H₂O

10. Resultados y discusión: Sistema cisteína / H₂O

10.1. Estudio de la curva de valoración ácido-base potenciométrica de la cisteína.

En la Fig. 10.1 se muestra una curva de titulación de cisteína con KOH(ac). Ahí mismo se observa la curva simulada con $pK_{a1}=1.90$; $pK_{a2}=8.4$ y $pK_{a3}=10.4$. La hoja de cálculo con la que se hizo estas curvas permitía variar los pK_a y de manera automática construir la simulación sobre una gráfica que contenía los puntos experimentales. Hacer algo así da una idea directa de lo que va ocurriendo durante el proceso de ajuste. Los valores que se dan arriba y que corresponden a la curva simulada, fueron determinados en base a este proceso de juicio visual.

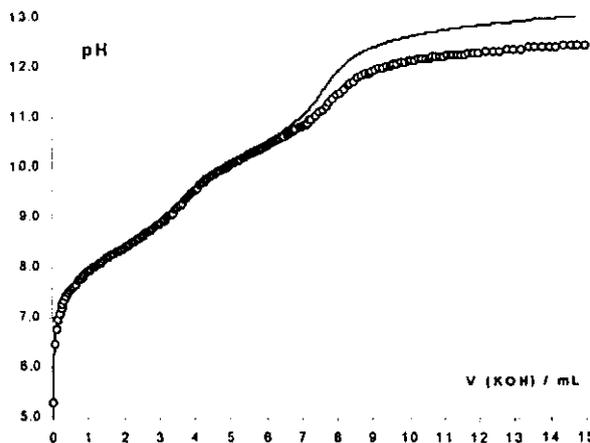


Fig. 10.1. Titulación de 20 mL de [Cys] = 0.106 M por [KOH] = 0.550 M. $\mu_{inicial} = 0.5$ M (KCl). La línea continua es calculada y los círculos son puntos experimentales

Por otra parte, un juego de curvas de esta naturaleza sirve para determinar los pK_a o la concentración de la cisteína. Si los pK_a fueran otros, la curva calculada variaría y pudiera parecerse más o menos a la curva experimental. En términos estadísticos se habla del problema de hallar el mejor ajuste. Para lograrlo se han diseñado una gran variedad de algoritmos para el procesamiento de datos; muchos de ellos se basan en la minimización de la suma de los cuadrados de los errores:

$$U = \sum_1^{Np} (\chi_{calc} - \chi_{exp})^2$$

donde Np es el número de puntos experimentales disponibles y χ_{calc} es el valor calculado de alguna propiedad medible del sistema por medio de algún modelo y un cierto procedimiento. χ_{exp} , por otro lado, es esa magnitud física que se observa en el laboratorio. En lo que respecta problemas tratados en la química analítica, χ puede ser el pH, la absorbancia (como en este trabajo) o una diferencia de entalpía, ΔH , calculada indirectamente con medidas de temperatura.

10. Resultados y discusión: Sistema cisteína / H₂O

A partir de la curva de titulación queda claro que de los tres protones de la cisteína, uno de ellos, el del ácido carboxílico, se encuentra ya solvatado por el agua desde un inicio. Esto es así ya que a la mitad del primer punto de equivalencia observable el pH es aproximadamente igual al segundo pK_a (recordar la ecuación de Henderson-Hasselbalch).

Por otro lado, en la Fig. 10.1 se observa una diferencia notable un poco antes del segundo punto de equivalencia; lo cual indica que algo falla en el modelo o falló en el momento de la valoración. El modelo químico es satisfactorio ya que ha sido probado en muchas ocasiones por diversos investigadores, además de que la estructura sencilla de la cisteína permite dejar fuera muchas objeciones. La única falta en el cálculo yace en la ausencia del manejo de los coeficientes de actividad.

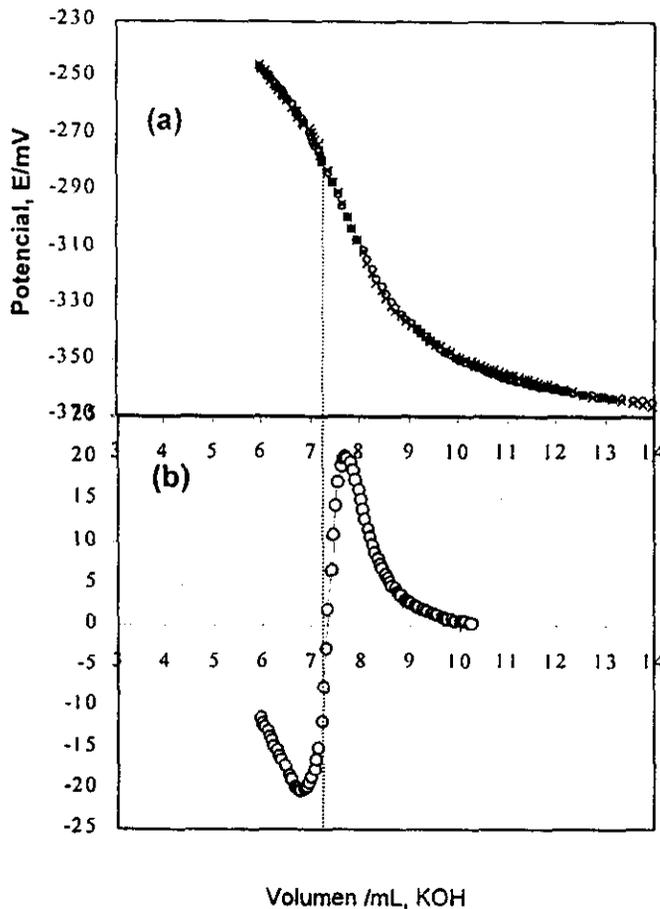


Fig. 10.2. Determinación del segundo punto de equivalencia de una titulación de Cys por KOH. Datos experimentales correspondientes a los de la Fig. 10.1. (a) Selección de puntos alrededor al segundo punto de equivalencia. Las cruces son los puntos originales y los círculos son los puntos del ajuste, Ec. 10.2. (b) Curva de la segunda derivada de la curva de titulación. Ya que el potencial se modela con una función analítica (Ec. 10.3), la segunda derivada es una curva suave. Punto final de 7.69 mL. La recta horizontal es un trazo que aproximadamente corresponde al punto final.

10. Resultados y discusión: Sistema cisteína / H₂O

El punto de equivalencia también se determinó usando una técnica de ajuste a la curva. El modelo surge al reconocer el parecido en la forma de una curva de titulación de un monodonador con una función arco tangente [1]. La función es:

$$y = a + b \tan^{-1}[c(x - d)] \quad 10.1$$

Entonces el ajuste se lleva a cabo con el modelo

$$\mathcal{E} = a + b \tan^{-1}[c(V - d)] \quad 10.2$$

donde \mathcal{E} y V son el potencial medido y el volumen de titulante, respectivamente. El ajuste se hizo en una hoja de cálculo, primero visualmente con ayuda del trazo de ambas curvas y después mediante la minimización de U , la suma de cuadrados de los errores. Los parámetros que se varían son obviamente a , b , c y d . Luego, la segunda derivada es

$$\frac{d^2 \mathcal{E}}{dV^2} = \frac{-2bc^3(V - d)}{(1 + [c(V - d)]^2)^2} \quad 10.3$$

La segunda derivada es cero si, y sólo si, $V = d$. Entonces $(d, \mathcal{E}(d))$ es el punto que se reconoce como el punto de equivalencia. En la Fig. 10.3 se aprecia este ajuste para el segundo punto de equivalencia de la curva experimental. La línea horizontal corresponde aproximadamente al punto final. La resolución del software no permitió solocarla en una posición más adecuada.

Esto no se puede hacer para el primer punto final pues el modelo resulta entonces demasiado simple.

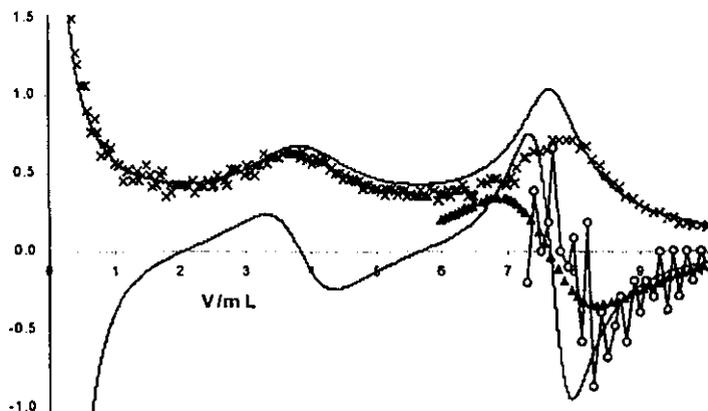


Fig. 10.3. Titulación de Cys por KOH(ac). Datos de la Fig. 10.1.

(a) La curva de titulación es una función monótonamente creciente. La curva continua superior es la primera derivada calculada. Ahí mismo se observan los puntos experimentales. (b) La curva de titulación tiene puntos de inflexión en donde su segunda derivada es cero. La curva continua de abajo es la curva calculada. Únicamente se observan los puntos experimentales alrededor del segundo punto de equivalencia porque el resto carecía de una tendencia. Los marcadores en forma de triángulo son los puntos que corresponden al modelo simple de la función arco tangente.

En la Fig. 10.3 se muestran las dos curvas calculadas de la primera y segunda derivadas. Obsérvese la falta clara de un ajuste satisfactorio con los puntos experimentales. Es interesante observar, en lo que respecta a la primera derivada, que el primer máximo calculado se presenta más adelante del que se observa experimentalmente pero es a la inversa en el segundo máximo: el calculado antecede al experimental. La segunda derivada experimental carecía de sentido. Esto es así porque en ella se ve reflejado el "ruido". La parte más clara es la que se muestra en la Fig. 10.3. Ahí mismo se observa una curva modelo marcada por triángulos, resultado de modelar la segunda parte de la curva con una función arco tangente. Esos puntos nos dan idea de lo que sería la curva experimental sin el "ruido". Obsérvese que la curva calculada y el modelo simple (\tan^{-1}) coinciden en el punto de equivalencia. Esto es así porque es ese punto el que se seleccionó como punto final para la curva calculada.

En la Fig. 10.4, finalmente, se expone el recíproco de la primera derivada, calculada y experimental. Los mínimos corresponden a los puntos de equivalencia. Obsérvese la demora del mínimo calculado con respecto al experimental en el primer punto de equivalencia. Por el contrario, se nota una ligera anticipación en el segundo mínimo entre la curva suave y la curva sugerida por los puntos experimentales. Precediendo inmediatamente a esta parte de la curva, también se observa como los puntos crecen más rápidos que la línea. Esto significa que la curva calculada crece más rápido que la experimental, como efectivamente se nota en la Fig. 10.1

Esta representación es una de las que se encontró más satisfactorias para determinar los puntos de equivalencia.

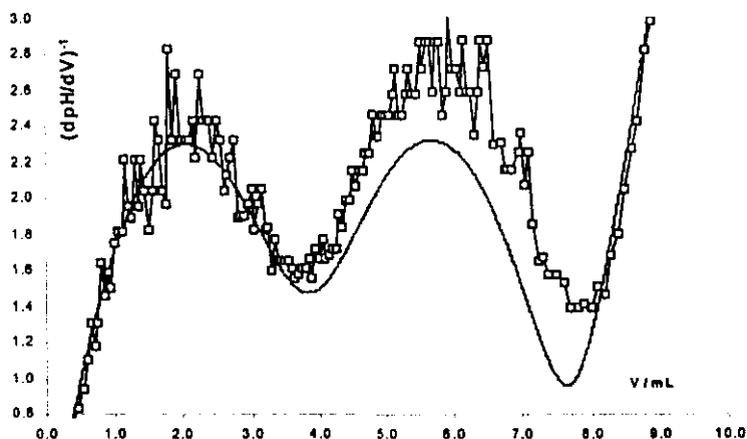


Fig. 10.4. Titulación de Cys por KOH. Datos de la Fig. 1.
Aquí se muestra el recíproco de la primera derivada.

Como conclusión se puede decir que la curva experimental y la simulada no coinciden para el tercer pK_a . Esto se observa en la curva de titulación y en todas las transformaciones posteriores. Lamentablemente no se pudo lograr un mejor ajuste.

El empleo de la función arcotangente (Ec. 10.2) resultó muy conveniente para la determinación del punto final alrededor del tercer pK_a .

10.2. Estudio espectrofotométrico de la disociación ácida de la cisteína en agua

En la Fig. 10.5 se muestra una parte de los espectros de obtenidos con una solución 0.8 mM.

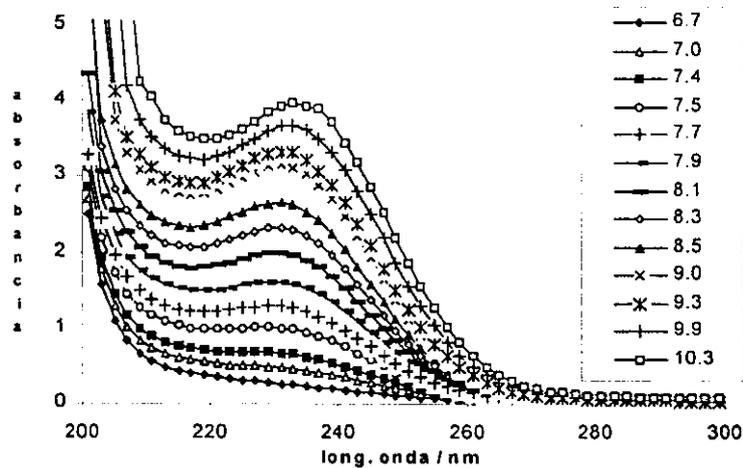


FIG. 10.5. Espectros de absorción de una solución 0.8 mM de cisteína en función del pH. La solución inicial (20 mL) fue de pH 6.7 y se fue adicionando NaOH (0.2 M). El recuadro a la derecha indica el pH que corresponde a cada espectro.

La cisteína disuelta en agua absorbe muy poca radiación (de una longitud de onda $200 \leq \lambda/\text{nm} \leq 300$) en medios ácidos. De esto se infiere que la forma $\text{HSCH}_2(\text{NH}_3^+)\text{CHCOO}^-$ (CysH_2) de la cisteína es una especie que comparativamente absorbe poca radiación electromagnética de la región del UV. La absorbancia es una función monótonamente decreciente de la longitud de onda, si $\text{pH} \leq 7.0$. A partir de $\text{pH} = 7.5$ se registra un máximo en 229 nm que se va desplazando sensiblemente a longitudes mayores conforme el medio se vuelve más básico, llegando a 233 para $\text{pH} = 10.3$ y a 235 nm para $\text{pH} = 10.8$. Como ya se ha mencionado (ver sección 4.3), se sabe que es la forma tiolato la que provoca la absorción de la radiación UV. Sin embargo, el hecho de que el máximo se desplace se interpreta dando diferente absortividad a $^-\text{SCH}_2(\text{NH}_3^+)\text{CHCOO}^-$ (HCys^-) y a $^-\text{SCH}_2(\text{NH}_2)\text{CHCOO}^-$ (CysH^-). En principio, estos tautómeros absorben similarmente y ambos se encuentran simultáneamente en proporción importante.

En la Fig. 10.6 se muestran los espectros de absorción de una solución acuosa de cisteína 0.2 mM en función del pH. Cabe observar que dichas curvas han perdido su máximo. Esto a diferencia de las soluciones más concentradas, como en la Fig. 10.5. Sin embargo, como era de esperarse, la forma de los espectros son semejantes. Es necesario decir que las líneas que aparecen junto con los marcadores en las figuras 10.5 y 10.6 son líneas rectas que unen un punto con el siguiente.

10. Resultados y discusión: Sistema cisteína / H₂O

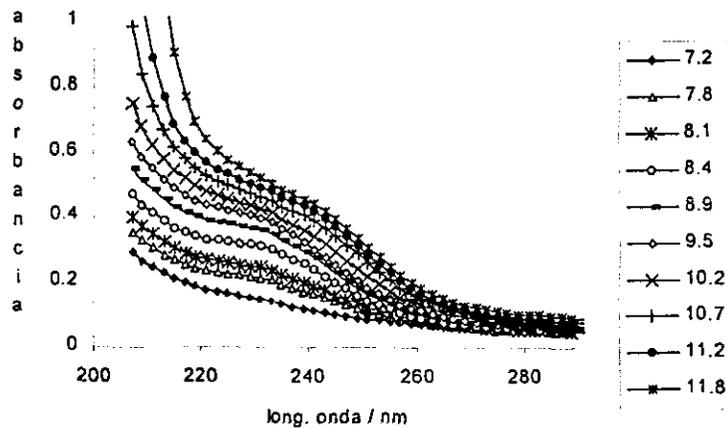


FIG. 10.6. Espectros de absorción de soluciones de cisteína 0.2 mM a diversos pH. La solución inicial (20 mL) fue de pH 7.2 y se fue adicionando NaOH (0.1 M). El recuadro a la derecha indica el pH que corresponde a cada espectro.

Análisis de datos por medio de SQUAD (*Stability Quotients from Absorbance Data*)

Para el análisis de datos se optó por trabajar con los datos surgidos de medir absorbancias a soluciones de concentración 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 6.0 mM. Esto porque al trazar una curva de absorbancia en función de la concentración para varias longitudes de onda a un pH dado, estas ofrecían una relación lineal interpretada como el cumplimiento de la ley de Beer. En cada archivo de SQUAD se colocaron 24 subarchivos, es decir 24 espectros UV correspondientes a 24 soluciones. Cada espectro tenía 40 datos, haciendo un total de 960 datos. Las longitudes de onda empleadas fueron 221, 223, ..., 299 nm. Se ignoraron las absorbancias a longitudes más cortas porque éstas crecían mucho más rápido que el resto del espectro conforme el pH aumentaba. Cabe decir que la solución de NaOH empleada absorbía en esa región.

En la Tabla 10.1 aparecen los resultados al manejar información experimental en un intervalo de pH en donde se hallan todas las especies a excepción de CysH₃⁺.

Tabla 10.1. Refinamiento en el intervalo $7 \leq \text{pH} \leq 13$.

Modelo de entrada				Modelo refinado	
ESPECIE	log β	F o V	ϵ	log β	s
CYS(1)H(1)	10.20	Var	Sí	10.69	0.05
CYS(1)H(2)	18.33	Var	Sí	18.88	0.07
CYS(1)H(3)	20.23	Fija	No	-	-
				1.853	0.047

De ese análisis se halla que $\text{p}K_{a3} = 10.69$ y $\text{p}K_{a2} = \log\beta_2 - \log\beta_1 = 18.88 - 10.69 = 8.19$. Las absorptividades molares que SQUAD calculó para el modelo se muestra en la Fig. 10.7.

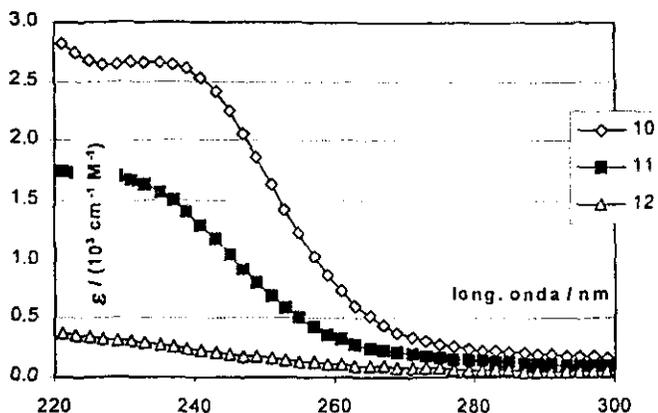


FIG. 10.7. Absorptividades molares obtenidas en el refinamiento correspondiente a la Tabla 10.1. 10 se refiere a CYS(1)H(0); 11 a CYS(1)H(1) y 12 a CYS(1)H(2).

Por otro lado, si se hace a un lado la información registrada en medio básico y se concentra en el intervalo $7 \leq \text{pH} \leq 9$ se obtienen los resultados de la Tabla 10.2. Aquí sólo se buscó refinar $\log\beta_2 = \text{p}K_{a1} + \text{p}K_{a2}$. De ese análisis se halla que $\text{p}K_{a2} = \log\beta_2 - \log\beta_1 = 18.16 - 10.20 = 7.96$. Las absorptividades molares resultantes aparecen en la Fig. 10.8.

Tabla 10.2. Refinamiento en el intervalo $7 \leq \text{pH} \leq 9$.

Modelo de entrada				Modelo refinado	
ESPECIE	$\log\beta$	F o V	ϵ	$\log\beta$	σ
CYS(1)H(1)	10.20	Fija	Sí	—	—
CYS(1)H(2)	18.33	Var	Sí	18.16	0.03
CYS(1)H(3)	20.23	Fija	No	—	—
				U	
				1.164	0.040

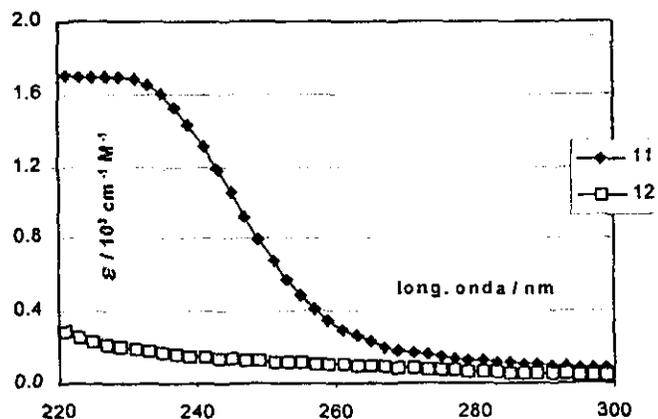


FIG. 10.8. Absorptividades molares obtenidas en el refinamiento correspondiente a la Tabla 10.2. 11 a CYS(1)H(1) y 12 a CYS(1)H(2).

De manera equivalente se presentan los resultados al aumentar la información en el intervalo $9 \leq \text{pH} \leq 13$, retirando los datos de un medio menos alcalino. Esta es otra manera de obtener $\log\beta_1 = \text{pK}_{a3}$. Los resultados aparecen en la Tabla 10.3 y las absorptividades molares que se pueden calcular con la información administrada aparecen en la Fig. 10.9. De ese análisis se halla que $\text{pK}_{a3}=10.49$.

Tabla 10.3. Refinamiento en el intervalo $9 \leq \text{pH} \leq 13$.

Modelo de entrada				Modelo refinado	
ESPECIE	$\log\beta$	F o V	ϵ	$\log\beta$	σ
CYS(1)H(1)	10.20	V	Si	10.49	0.04
CYS(1)H(2)	18.33	Fija	Si	—	—
CYS(1)H(3)	20.23	Fija	No	—	—
				σ_{total}	
				3.824	0.066

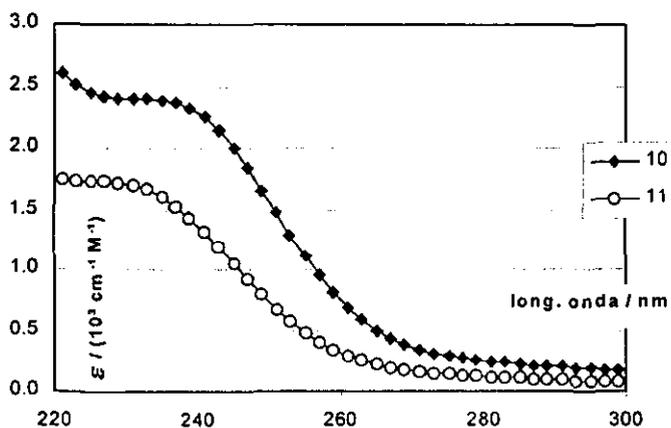


Fig. 10.9. Absorptividades molares obtenidas en el refinamiento correspondiente a la Tabla 10.3. 10 se refiere a CYS(1)H(0); 11 a CYS(1)H(1)

Discusión

El modelo químico necesario para reproducir datos potenciométricos (pH) no requiere precisar de la estructura de la cisteína. Es suficiente con saber que de ella provienen tres protones (ver capítulo 4). Por tanto, sólo se necesitarían de tres equilibrios de disociación ácida relativos a este aminoácido, con sus respectivas macroconstantes K_{a1} , K_{a2} y K_{a3} . Éstas últimas quedarían en función de la concentración de las que podemos llamar macroespecies (más su coeficiente de actividad, claro): CYS(1)H(3), CYS(1)H(2), CYS(1)H(1) y CYS(1)H(0). Un diagrama de distribución en función del pH de las macroespecies indicaría que para $\text{pK}_{a2} \leq \text{pH} \leq \text{pK}_{a3}$ predominaría CYS(1)H(1), entre las otras posibles. Podemos imaginar a SQUAD construyendo este mismo diagrama de distribución y asignando absorptividades molares a cada macroespecie. Entonces, a SQUAD se le administró un "macromodelo" y se obtuvo uno refinado. Esto es así porque se sabe

que tal y como está construido el algoritmo de SQUAD (el balance de masa sobre todo) no es posible trabajar con equilibrios de tautomerización adecuadamente [2]. En otras palabras, el programa trabaja sobre la base de la fórmula estequiométrica. Obviamente, la información espectrofotométrica está relacionada con la estructura pero la información al respecto no la brinda el programa. Se tienen que hacer algo extra para obtener más resultados.

A CYS(1)H(1) le corresponden dos microespecies: HCys⁻ y CysH⁻ (ver capítulo 4), siendo la primera más absorbente ya que, a diferencia de la segunda, ésta contiene el grupo sulfidrilo ionizado. Se ha demostrado que el grupo RS⁻ es responsable de la absorción de diferentes tioles y que estructuras similares sin el grupo tiolato absorben muy poco [3], [4], [y capítulo 4]. Este hecho queda claramente confirmado en las figuras 10.7 y 10.8 junto con los espectros directos de las figuras 10.5 y 10.6. La forma CysH₂ (interpretada como CYS(1)H(2)), que no contiene al grupo tiol ionizado, prácticamente no absorbe. Ahora, cabe preguntarse ¿por qué es la absorción de CYS(1)H(1) aproximadamente la mitad de la de CYS(1)H(0)? ¿Será tal vez porque cuando predomina CYS(1)H(1), 50% se encuentra en la forma HCys⁻ y el resto en la forma CysH⁻? Un poco de álgebra sencilla ayudará.

Sea $\epsilon_{\text{CYS(1)H(1)}}$ la absorción de la macroespecie CYS(1)H(1). Entonces, si C es la concentración y su subíndice la especie a la que se refiere, es claro que

$$\epsilon_{\text{CYS(1)H(1)}} C_{\text{CYS(1)H(1)}} = \epsilon_{\text{CYS(1)H(1)}} (C_{\text{HCys}^-} + C_{\text{CysH}^-}) \quad (1)$$

Pero si cada microespecie posee su propia absorción, entonces

$$\epsilon_{\text{CYS(1)H(1)}} C_{\text{CYS(1)H(1)}} = \epsilon_{\text{HCys}^-} C_{\text{HCys}^-} + \epsilon_{\text{CysH}^-} C_{\text{CysH}^-} \quad (2)$$

Sea R el cociente de tautómeros

$$R = C_{\text{HCys}^-} / C_{\text{CysH}^-} \quad (3)$$

Entonces la ecuación (2) es posible reorganizarla para despejar a R

$$R = (\epsilon_{\text{CYS(1)H(1)}} - \epsilon_{\text{CysH}^-}) / (\epsilon_{\text{HCys}^-} - \epsilon_{\text{CYS(1)H(1)}}) \quad (4)$$

La hipótesis de trabajo es suponer que las dos microespecies con el grupo tiolato absorben igualmente. Las dos otras microespecies absorben comparativamente menos pero se supone que igual [4-6]. Esto se traduce en las siguientes ecuaciones (ver ecuaciones 4.13 y 4.14):

$$\epsilon_{\text{HCys}^-} = \epsilon_{\text{Cys(2-)}} = \epsilon_{\text{CYS(1)H(0)}} \quad (5)$$

$$\epsilon_{\text{CysH}^-} = \epsilon_{\text{CysH}_2} = \epsilon_{\text{CYS(1)H(2)}} \quad (6)$$

La primera igualdad en (5) y en (6) es la hipótesis de trabajo. La segunda igualdad en las mismas es debida a la identificación inequívoca de la macroespecie CYS(1)H(0) con la microespecie Cys²⁻. Similarmente para CYS(1)H(2) y CysH₂. Por último (4) se reescribe a partir de las ecuaciones (5) y (6):

$$R = (\epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(1)} - \epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(2)}) / (\epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(0)} - \epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(1)}) \quad (7)$$

o bien

$$\epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(1)} = (R \epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(0)} + \epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(2)}) / (R + 1) \quad (8)$$

Si $R \approx 1$, entonces $\epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(1)} \approx (\epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(0)} + \epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(2)}) / 2$ como aproximadamente se ve en la Fig. 10.7. Benesch y Benesch [4], con gran intuición, trabajaron con una forma equivalente a la ecuación (9) y que llamaron la "fracción RS⁻":

$$f \equiv C_{\text{HCys}^-} / (C_{\text{HCys}^-} + C_{\text{CysH}^-}) = R / (1 + R) \quad (9)$$

Si en la Fig. 10.7 vemos que $f \approx 1/2$, eso implica que $R \approx 1$ y que el 50% se encuentra en la forma tiolato y el otro 50% en la forma tiol. Una vez comprendido lo que nos quiere decir las curvas de la Fig. 10.7 y de haber formalizado las ideas sólo resta hacer un poco de aritmética y explotar (como dicen los franceses) la ecuación (7) junto con los datos de la Fig. 10.7. En la Fig. 10.10 se muestra a R en función de la longitud de onda a partir de la información de la Fig. 10.7. Como puede observarse, los resultados no son concluyentes y más bien inciertos. Cabe citar que ya se había encontrado la variación de R en función de la longitud de onda al tratar datos con argumentos parecidos [6]. Splittgerber *et al.* [6] señalan que R es independiente de la longitud de onda y que por lo tanto lo que se está calculando es una R aparente. Luego ellos sugieren que el valor de R ha de buscarse en aquellas longitudes de onda donde R prácticamente no cambia con la longitud de onda. Esto ocurrirá lógicamente en el intervalo de longitudes de onda donde las absorbancias no varíen mucho: $260 \leq \lambda / \text{nm} \leq 300$.

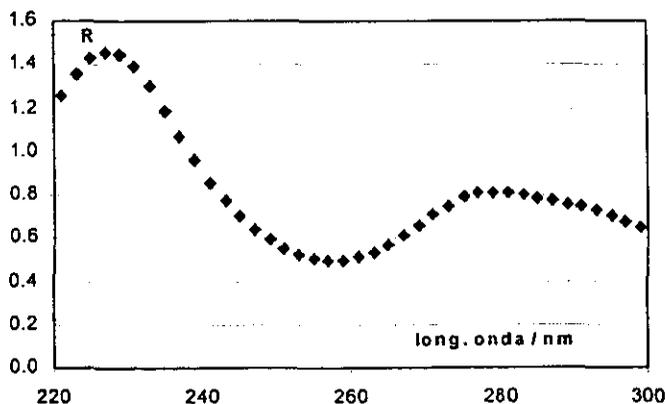


Fig. 10.10. El cociente de tautómeros R aparente en función de la longitud de onda. R calculado a partir de la ecuación (7) y con los datos de la Fig. (10.7).

En la Fig. 10.11 se muestra el equivalente de la Fig. 10.10 pero a partir de los datos de las figuras 10.8 y 10.9. En este caso, $\epsilon_{\text{CYS}(1)\text{H}(1)}$ se toma como el promedio simple de los pertenecientes a las mismas figuras. Aquí se observa que R tiende a un valor constante de

aproximadamente 0.5 precisamente en el intervalo $260 \leq \lambda / \text{nm} \leq 300$; la causa es que los espectros son más bien planos a esas longitudes. Estos resultados no son concluyentes.

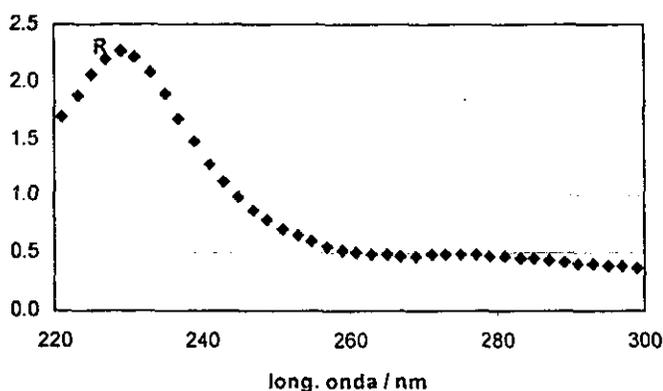


FIG. 10.11. El cociente de tautómeros R aparente en función de la longitud de onda. R calculado a partir de la ecuación (7) y con los datos de las Figuras (4) y (5).

Es interesante observar que en la última figura haya aparecido un máximo alrededor de los 229 nm, longitud comparable a la elegida por Benhallam *et al.* [5] de 227 nm para realizar sus estudios de los procesos microscópicos. Empleando un algoritmo de ajuste, ellos hicieron uso de la función q , conocida como el número promedio de protones, llamada en ocasiones "curva de protonación". q es análoga al número promedio de ligandos (\bar{n}) inventado por Bjerrum [7]. El objetivo era obtener una microconstante (que junto con las macroconstantes sea suficiente para hallar las otras tres) minimizando la suma de los cuadrados de los residuos $U = (q_{\text{Hexp}} - q_{\text{Hcalc}})^2$. Ver la sección 4.4-.

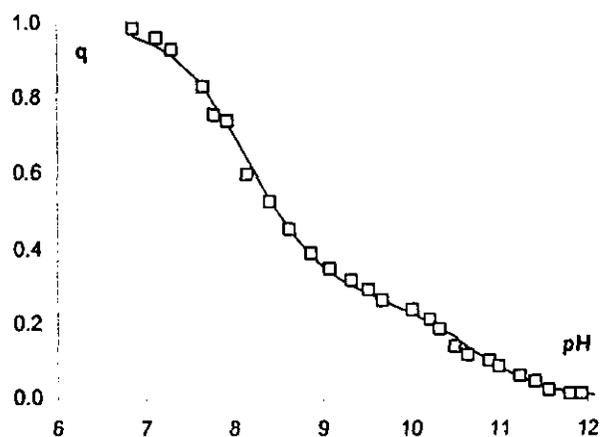


FIG. 10.12. Curva de protonación según $\lambda / \text{nm} = 227$. El cálculo de q_{Hexp} partió de datos de concentración 6×10^{-4} M. □ Punto experimental. Línea continua, resultado del ajuste efectuado por Solver (MS Excel).

En la Fig. 10.12 aparece la reproducción de dicho tratamiento con los datos experimentales obtenidos. De ahí se obtuvo $pK_{\text{NS}} = 10.11$ y $R = 2.7$; $U = 0.00598$ para 27 datos (con las

constantes $pK_{a1} = 10.69$ y $pK_{a2} = 8.19$ fijas, resultados de SQUAD, y con $\epsilon_{Cys(2-)} = \epsilon_{Cys(1)H(0)}$ y $\epsilon_{CysH2} = \epsilon_{Cys(1)H(2)}$ libres, partiendo de resultados refinados por SQUAD). Benhallam *et al.* [5] obtuvieron $pK_{NS} = 9.78$ y $R = 3.2$.

El siguiente paso es manejar varias longitudes a la vez. Eso se hizo para $\lambda = 221, 223, \dots, 259$ nm. Se eligió la información experimental de soluciones 6.0×10^{-4} M, necesaria para calcular ϵ y de ahí q_{Hexp} (ver sección 4.4). Se manejaron inicialmente las absorptividades molares calculadas por SQUAD de CYS(1)H(0) y CYS(1)H(2) (provenientes del refinamiento a $7 \leq pH \leq 13$) como m_{max} y m_0 respectivamente (ver sección 4.4). Estas absorptividades molares se les permitió variar -según la idea original- lo que permitió reducir a U de 11.821 a 1.080 para 540 datos. De ahí se obtuvo $pK_{NS} = 10.32$ y $R = 1.4$ (con las constantes $pK_{a1} = 10.69$ y $pK_{a2} = 8.19$ fijas).

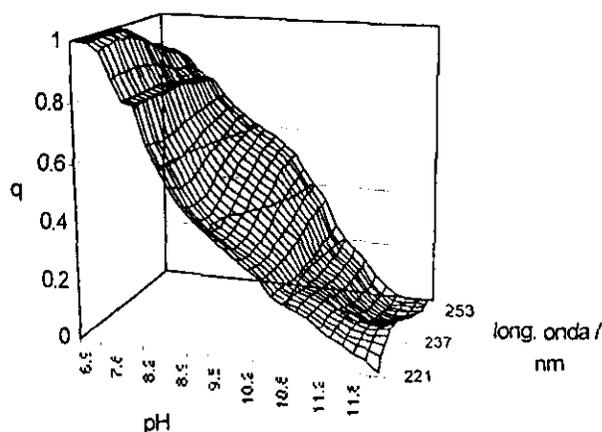


Fig. 10.13. Superficie de protonación $q_{Hexp} = f(pH, \lambda)$

El cálculo de q_{Hexp} partió de datos de concentración 6×10^{-4} M.

Para analizar un poco la información resultante se presenta la superficie $q_{Hexp} = f(pH, \lambda)$ en la Fig. 10.13. Al seguir una línea paralela al eje de las longitudes de onda se observa que q_{Hexp} tampoco es 100% independiente de la longitud de onda (que en principio debería ser). Sin embargo la variación es mucho más pequeña que en el caso de la ec. (7) y figuras 10.10 y 10.11. Cabe esperar, por esto, un resultado más confiable. La hipótesis de trabajo es la misma en ambas técnicas metodológicas (ecs. (5) y (6)) pero la transformación q hace la diferencia junto con el uso de un método de ajuste.

Para exponer el grado de ajuste general a la curva calculada en una imagen, se muestra en la Fig. 10.14 la curva recalculada al lado de experimentales a diferentes longitudes de onda.

10. Resultados y discusión: Sistema cisteína / H₂O

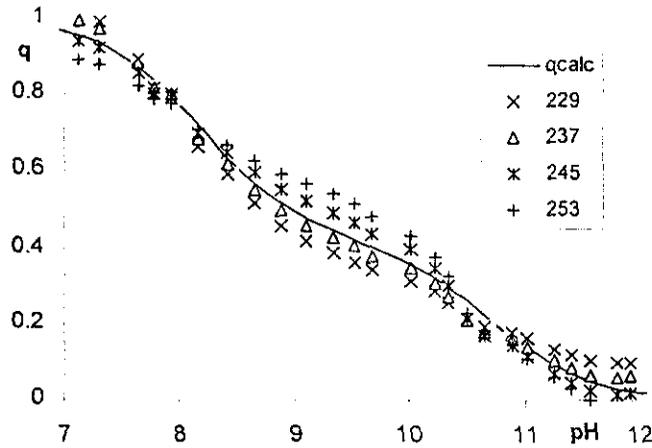


FIG. 10.14. Curvas de protonación, q , calculada y una selección de cuatro longitudes de onda.

También se muestran los coeficientes de absorptividad de CYS(1)H(2) y CYS(1)H(0) antes (originalmente calculados por SQUAD) y después del refinamiento para obtener la microconstante, Fig. 10.15. Como puede observarse, la variación no es muy grande. Finalmente aparece la tabla de resultados finales para el modelo de disociación ácida de la cisteína en solución acuosa.

Los resultados de la razón tautomérica señalan que ambas formas, tiol y amonio, se disocian simultáneamente, aunque la primera en un grado ligeramente mayor. No es posible asignar un pK_a único ni a la forma tiol ni al amonio.

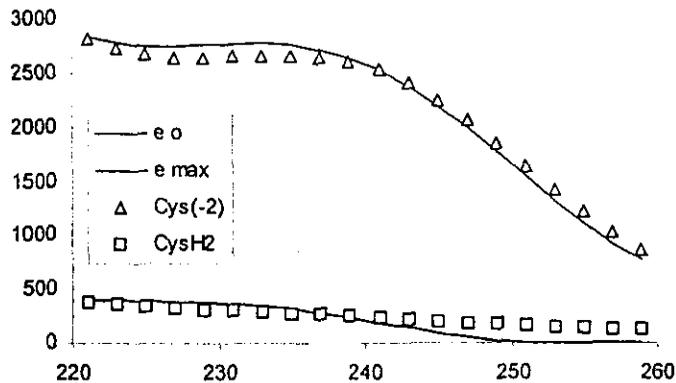


FIG. 10.15. Absorptividades molares antes y después del refinamiento para el cálculo de la microconstante pK_{Ns} . Cys(-2) se refiere a la absorptividad de CYS(1)H(0) y CysH2 a la de CYS(1)H(2). Ambas inicialmente calculadas por SQUAD. (Fig. 3). Las líneas continuas hacen referencia a los valores finales después del refinamiento de la microconstante.

Resultados finales

La desviación estándar de la constante aparece entre paréntesis. Cuando no aparece se desconoce.

Tabla 10.4a. Resultados finales.

CYS(1)H(0) + H = CYS(1)H(1)				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	$\log K = pK_{a3}$
N.V.	25	$0.1 \leq \mu \leq 0.2$	EF	10.69(0.05)
[5]	25	0.5	P	10.407(0.008)
[8]	25	0.15	P	10.40

NV: nuestros valores. Mét.: Método. EF: espectrofotometría. P: potenciometría.

Tabla 10.4b. Resultados finales.

CYS(1)H(1) + H = CYS(1)H(2)				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	$\log K = pK_{a2}$
N.V.	25	$0.1 \leq \mu \leq 0.2$	EF	8.19(0.07)
[5]	25	0.5	P	8.286(0.004)
[8]	25	0.15	P	8.30

Tabla 10.4c. Resultados finales.

$\text{Cys}^{2-} + \text{H}^+ = \text{HCys}^-; ^-\text{SCH}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^-$				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	$\log K = pk_{SN}$
N.V.	25	$0.1 \leq \mu \leq 0.2$	EF	10.45
[5]	25	0.5	Polar.	10.28(0.01)
[4]	23	Tampons	EF	10.36

Polar.: Polarimetría

Tabla 10.4d. Resultados finales.

$\text{Cys}^{2-} + \text{H}^+ = \text{CysH}^-; \text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COO}^-$				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	$\log K = pk_{NS}$
N.V.	25	$0.1 \leq \mu \leq 0.2$	EF	10.32
[5]	25	0.5	EF	9.780(0.005)
[4]	23	tampons	EF	10.03

Tabla 10.4e. Resultados finales.

${}^-\text{SCH}_2\text{CH}(\text{NH}_3^+)\text{COO}^- ; \text{HCys}^- + \text{H}^+ = \text{CysH}_2$				
Ref.	T / °C	μ / M	Mét.	$\log K = pK_s$
N.V.	25	$0.1 \leq \mu \leq 0.2$	EF	8.43
[5]	25	0.5	Polar	8.41
[4]	23	Tampons	EF	8.53

Tabla 10.4f. Resultados finales.

$\text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COO}^- ; \text{CysH}^- + \text{H}^+ = \text{CysH}_2$				
Ref.	T / °C	μ / M	Mét.	$\log K = pK_N$
N.V.	25	$0.1 \leq \mu \leq 0.2$	EF	8.56
[5]	25	0.5	EF	8.91
[4]	23	Tampons	EF	8.86

Tabla 10.4f. Resultados finales.

$\text{CysH}^- = \text{HCys}^-$				
Ref.	T / °C	μ / M	Mét.	R
N.V.	25	$0.1 \leq \mu \leq 0.2$	EF	1.4
[5]	25	0.5	EF	3.2
[5]	25	0.5	Polar.	3.0
[4]	23	tampons	EF	2.1
[9]	-	tampons	EF	1.3

Bibliografía.

- [1] Ma, N.L.; Tsang, C.W. *J.Chem.Ed.* 1998, 75, 122-123.
- [2] Altamirano, V.; Ruiz, Y. *Estudio espectrofotométrico de los equilibrios ácido-base y tautoméricos del sistema PAR-H⁺ para la determinación de sus constantes de acidez en medio acuoso por medios computacionales.* Tesis de licenciatura. F.E.S.-Cuautitlán, U.N.A.M. 1996.
- [3] Gorin, G. *J. Am. Chem. Soc.* 1956, 78, 767.
- [4] Benesch, R.E.; Benesch, R. *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77, 5877.
- [5] Benhallam, R.; Collange, E.; Pâris, M.R. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1985, 6, 1159.
- [6] Splittgerber, A.G.; Chinander, L.L. *J. Chem. Educ.* 1988, 65, 167.
- [7] Ringbom, A. *Formación de Complejos en Química Analítica*; Alhambra: Madrid, 1979.
- [8] Grafius, M.A.; Neilands, J.B. *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77, 3389.
- [9] Clement, G.E.; Hartz, T.P. *J. Chem. Educ.* 1971, 48, 395.

Sistemas ternarios

11. Resultados y discusión: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu(II)

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

11.1. Resultados

Experimento: Cu^{II}_{total}/ fen_{total} = 1 : 1.

En este experimento la concentración total inicial de cobre (II) fue [Cu²⁺]_{tot}^o = 49.8 μM y la correspondiente para 1,10-fenantrolina : [fen]_{tot}^o = 54.0 μM, por lo que la relación Cu(II)/fen resultó en realidad 1.00 : 1.08

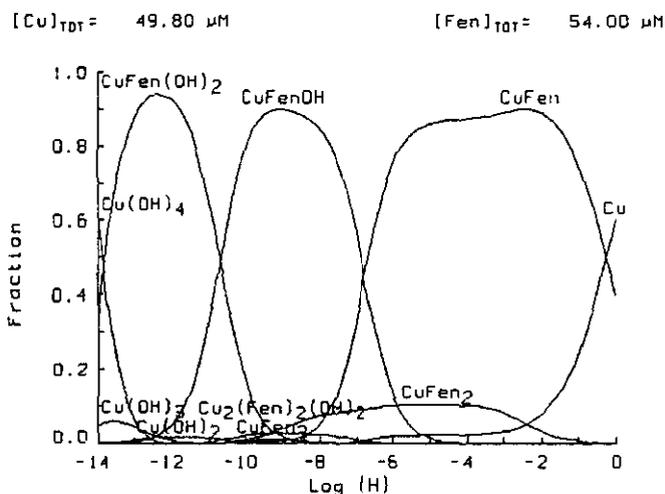


FIG. 11.1. Diagrama de distribución de las especies del ion cúprico en función de $-\text{pH}=\log[\text{H}^+]$ con la razón Cu : fen = 1.00 : 1.08.

En la figura 11.1 puede observarse un modelo de la distribución de las especies de Cu(II) en las condiciones de este experimento y construido con las constantes de equilibrio reportadas con anticipación [1]. Se observa que es posible refinar con ese juego de datos las constantes de formación para dos especies diferentes: Cu(OH)fen⁺ y Cu(OH)₂fen. La constante de formación del compuesto Cufen²⁺ no es conveniente refinarla de estos datos pues casi no hay presencia de Cu²⁺ libre (además de que es transparente en estos órdenes de concentración por arriba de los 210 nm y por debajo de los 380 nm). En general es también difícil obtenerla dado el gran desplazamiento de la reacción Cu²⁺ + fen = Cufen²⁺ hacia la derecha.

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

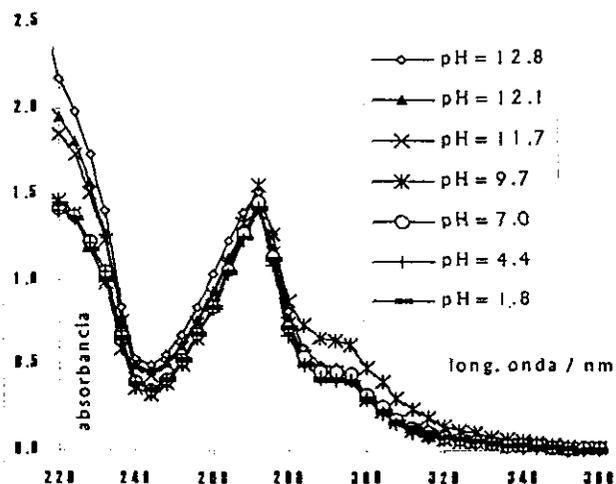


Fig. 11.2. Selección de espectros de absorción UV registrados a soluciones de o-fen 5×10^{-5} M junto con Cu(II) en razón 1:1, de diferente pH. $\mu=0.10$ (KCl) y $T = 25^\circ\text{C}$ (la gráfica muestra sólo una porción de los espectros obtenidos, esto con el fin de evitar una acumulación innecesaria de los mismos). El experimento comenzó con una solución básica a la que se le fue añadiendo HCl(ac). La absorbancia fue disminuyendo gradualmente en el intervalo $12.8 \leq \text{pH} \leq 9.7$ para luego permanecer prácticamente constante.

La presencia del cobre cambia apreciablemente la forma de los espectros. La banda alrededor de los 272 nm para Hfen⁺ ahora es más puntiaguda para Cufen²⁺ y la antigua banda para fen entre los 220 y 240 es ahora un hombro, a semejanza del espectro de Hfen⁺ (Fig. 9.3).

Los resultados del programa TRIANG se presentan a continuación. Estos indican que sólo se cuenta con información espectrofotométrica de una o dos especies (se prefiere usar los errores en transmitancia, ΔT , alrededor de 0.003). Es muy probable que las especies Cufen²⁺, Cu(OH)fen⁺ y Cu(OH)₂fen no tengan compartimientos espectrofotométricos con diferencias importantes. De hecho los espectros de una mezcla 1:1 de Cu/fen prácticamente no cambian con el pH (Fig. 11.2).

ΔT	Número de especies
0.001	3
0.002	2
0.003	2
0.004	1

Resultados de TRIANG.

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

Primera estrategia

Datos de 220 a 318 nm, tomando las absorbancias correspondientes a las longitudes de onda *pares*. Por lo que se ha dicho, parece razonable intentar refinar las constantes $\log K_{Cu(OH)fen,H}^{Cu, fen}$ y $\log K_{Cu(OH)_2 fen, 2H}^{Cu, fen}$ manteniendo fija la constante de formación del complejo 1:1 ($\log \beta_1$ para Cufen). Como valores iniciales por refinar para las dos primeras constantes se asignaron los valores de 3.4 y -8.0, respectivamente.

Si $(\log \beta_1)_{fijo} = 9.00$, entonces $\log K_{Cu(OH)fen,H}^{Cu, fen} = 5.88 (0.03)$, $\log K_{Cu(OH)_2 fen, 2H}^{Cu, fen} = -5.35 (0.19)$ y $U = \text{Suma de cuadrados (obsvd. - calc.)} = 6.408$.

Si $(\log \beta_1)_{fijo} = 9.08$, entonces $\log K_{Cu(OH)fen,H}^{Cu, fen} = 3.38(0.07)$, $\log K_{Cu(OH)_2 fen, 2H}^{Cu, fen} = -8.06(0.24)$ y $U = 14.882$.

Si $(\log \beta_1)_{fijo} = 9.15$, entonces $\log K_{Cu(OH)fen,H}^{Cu, fen} = 5.98 (0.03)$, $\log K_{Cu(OH)_2 fen, 2H}^{Cu, fen} = -5.26(0.19)$ y $U = 6.233$.

De estos resultados, el mejor modelo es el tercero, pues ahí U es la más pequeña. Sin embargo, aún es muy alta.

Segunda estrategia

Datos de 220 a 318 nm, tomando las absorbancias correspondientes a las longitudes de onda *pares*. En un intento por hacer que el algoritmo del programa se acercara más a la información que procesaba, se supuso que la formación del complejo 1:1 era completa y que era innecesario suponer la existencia de Cu(II) y 1,10-fenantrolina libres. Entonces $U = 11.93$ con $\log K_{Cu(OH)fen,H}^{Cufen} = -5.73(0.06)$, $\log K_{administrada} = -8.0$, $\log K_{Cu(OH)_2 fen, 2H}^{Cufen} = -17.1(0.2)$, $\log K_{administrada} = -17.3$. Además de que U no disminuyó, se puede hacer una objeción: este resultado no puede calificarse por bueno dado que el ion metálico y el ligando no se encontraban en una relación estricta 1.00 : 1.00 sino 1.00 a 1.08 a favor de la fenantrolina y es ésta, tal vez, que encontrándose en un ligero exceso hace fallar en el resultado siendo una especie con una gran capacidad de absorber. Sin embargo, el resultado guarda consistencia.

Experimento: $Cu^{II}_{total} / fen_{total} = 1 : 2$.

En este experimento la concentración total inicial de cobre (II), $[Cu^{2+}]_{tot}^{\circ} = 23.9 \mu M$ y la correspondiente para 1,10-fenantrolina : $[o-fen]_{tot}^{\circ} = 54.0 \mu M$

En la figura 11.3 puede observarse un modelo de la distribución de las especies de Cu(II) bajo las condiciones de este experimento y construido con las constantes de equilibrio reportadas con anticipación [1]. Se observa que el sistema es más complicado que el anterior. La figura hace suponer que en principio se cuenta con información experimental de las especies: $Cufen^{2+}$, $Cu(OH)fen^+$, $Cu(OH)_2fen$, $Cufen_2^{2+}$ y $Cufen_3^{2+}$.

La intención de este experimento fue de refinar la constante de formación del compuesto 1:2. Este experimento no fue suficiente para lograrlo satisfactoriamente. El mejor de los

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

resultados parte de la aproximación justificada de que la formación del monofenantrolinocobre(II) es completa. Las absorptividades molares, de las especies involucradas, calculadas por el programa no son confiables (debido a las altas desviaciones estándar calculadas) y esto sólo confirma la falta de precisión en el resultado.

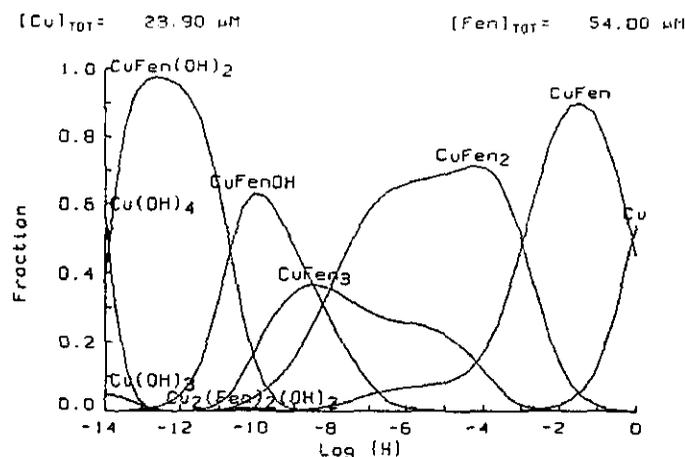


FIG. 11.3. Diagrama de distribución de las especies del ion cúprico en función de pH con la razón Cu : fen = 1.00 : 2.26.

Tabla 11.1. Constantes de formación. Experimento 1:2. T=25°C. $\mu=0.1$ (KCl)

Modelo de entrada				Modelo de referencia	
ESPECIE	log β	F o V	ϵ	log β	σ
CUFEN(1)FEN(1)	6.87	V	Sí	10.7	0.1
CUFEN(1)FEN(2)	12.29	V	Sí	14.9	0.2
CUFEN(1)OH2)	-8.00	V	Sí	-4.5	0.1
CUFEN(1)OH(2)	-17.30	V	Sí	-13.4	0.1
FEN(1)H(1)	4.96	F	Dadas	-	-
				0.328	0.019

CUFEN representa a la especie Cufen²⁺. CUFEN(1)FEN(1) significa que log β hace referencia al equilibrio Cufen²⁺ + fen = Cufen₂²⁺. Similarmente con el resto.

En la Tabla 11.1 aparece el llamado intento 1. En los otros intentos se manejaron estrategias en donde se fijaban diferentes constantes o se cambiaba el modelo (como por ejemplo suprimiendo la especie Cufen₃) pero ninguno de ellos fue satisfactorio químicamente. De hecho los resultados de la Tabla 11.1 tampoco, pues lleva las constantes de dos a más órdenes de magnitud por arriba de los valores publicados por otros autores (como referencia tómesese el valor administrado). El hecho de que la espectrofotometría (cálculo de las absorptividades molares) tampoco se haya mostrado satisfactoria es otro indicio para no concluir positivamente sobre estos valores.

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

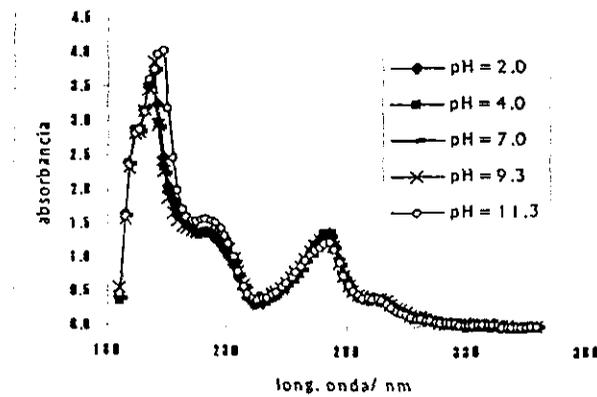


Fig. 11.4. Selección de espectros de absorción registrados a soluciones de *o*-fen 5×10^{-5} M junto con Cu(II) en razón 1:2 (Cu a fen), de diferente pH. $\mu=0.10$ (KCl) y $t = 25^\circ\text{C}$. El experimento comenzó con una solución neutra a la que se le fue añadiendo ya sea HCl(ac) o NaOH(ac). Familia de espectros parecida a la de la relación 1:1.

Experimento: $\text{Cu}^{\text{II}}_{\text{total}}/o\text{-fen}_{\text{total}} = 1 : 3$.

En este experimento la concentración total inicial de cobre (II), $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{tot}}^{\circ} = 15.9 \mu\text{M}$ y la correspondiente para 1,10-fenantrolina: $[o\text{-fen}]_{\text{tot}}^{\circ} = 54.0 \mu\text{M}$.

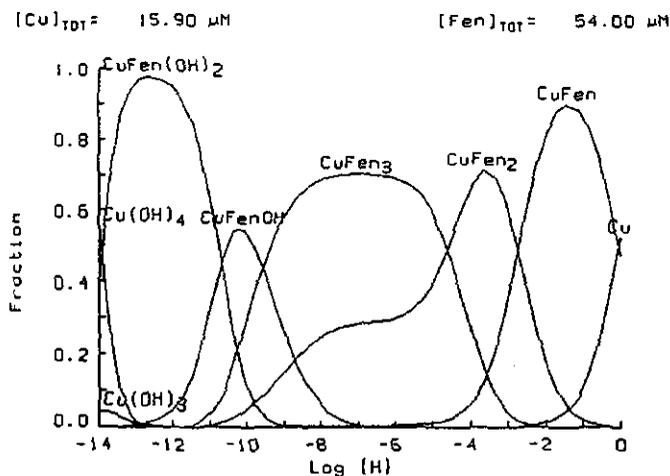


Fig. 11.5. Diagrama de distribución de las especies del ion cúprico en función de pH con la razón Cu : fen = 1.00 : 3.40.

En la figura 11.5 puede observarse un modelo de la distribución de las especies de Cu(II) bajo las condiciones de este experimento y construido con las constantes de equilibrio reportadas con anticipación. Se observa que es posible refinar, al parecer y como máximo (con este juego de datos), las constantes de formación para las especies: CuFen^{2+} , Cu(OH)fen^+ , $\text{Cu(OH)}_2\text{fen}$, CuFen_2^{2+} y CuFen_3^{2+} .

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

En la Fig. 11.6 se muestra una selección de los espectros de absorción UV de este experimento (Cu : fen = 1 : 3). Estos espectros ya difieren de los registrados a 1:1 y 1:2 pues mientras esos dos eran bastante similares, aquí ya se puede observar un desplazamiento de las bandas semejante al de la fenantrolina sola.

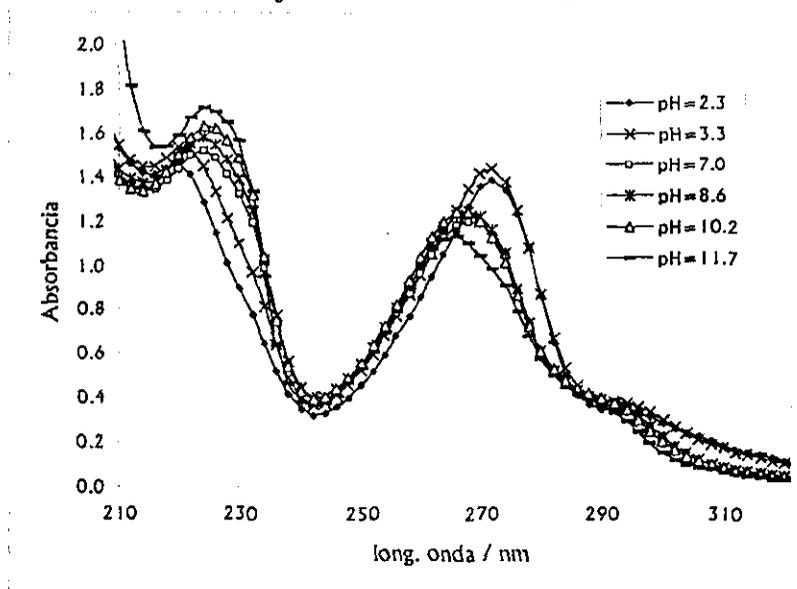


Fig. 11.6. Selección de espectros de absorción registrados a soluciones de *o*-fen 5×10^{-5} M junto con Cu(II) en razón 1:3 (Cu a fen), de diferente pH. $\mu=0.10$ (KCl) y $t = 25^\circ\text{C}$. El experimento comenzó con una solución neutra a la que se le fue añadiendo ya sea HCl(ac) o NaOH(ac).

Tabla 11.2. Constantes de formación. Experimento 1:3. $T=25^\circ\text{C}$. $\mu=0.1$ (KCl)

Modelo de entrada				Modelo de salida	
ESPECIE	$\log\beta$	F o V	ϵ	$\log\beta$	σ
CU(1)FEN(1)	9.08	F	Sí	—	—
CU(1)FEN(2)	15.76	V	Sí	14.90	0.06
CU(1)FEN(3)	20.94	V	Sí	19.30	0.06
CU(1)FEN(1)OH(1)	2.5	F	Sí	—	—
CU(1)FEN(1)OH(2)	-8.2	V	Sí	-8.65	0.05
FEN(1)H(1)	4.96	F	Dadas	—	—
				0.328	0.019

En la Tabla 11.2 aparecen los resultados obtenidos con SQUAD. Referidos a los valores administrados, estos valores refinados son comparables. En la Fig. 11.7 se muestran las absorptividades molares que durante el proceso de convergencia pudieron variar. Su aspecto señala la dificultad que en el algoritmo tuvo para ajustar el modelo a la información dada.

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

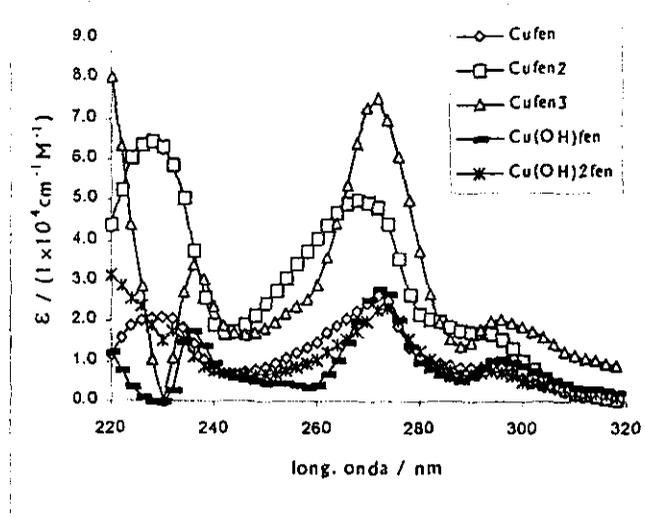


FIG 11.7. Absorptividades molares de diferentes especies del sistema H₂O/o-fen/Cu²⁺ a partir del procesamiento del experimento 1:3 hecho por SQUAD.

Experimento: Cu^{II}_{total} / fen_{total} = 3 : 2.

En este experimento la concentración total inicial de cobre (II), [Cu²⁺]_{tot}^o = 81.0 μM y la correspondiente para 1,10-fenantrolina : [fen]_{tot}^o = 54.0 μM.

En este caso se buscaron mejores condiciones para lograr refinar la constante de formación del complejo 1:1. La razón Cu:fen es 1.50:1.00. La figura 11.8 muestra el diagrama de distribución de especies en el plano fracción de Cu(II) en función del pH y la figura 11.9 en el plano fracción de fen en función del pH.

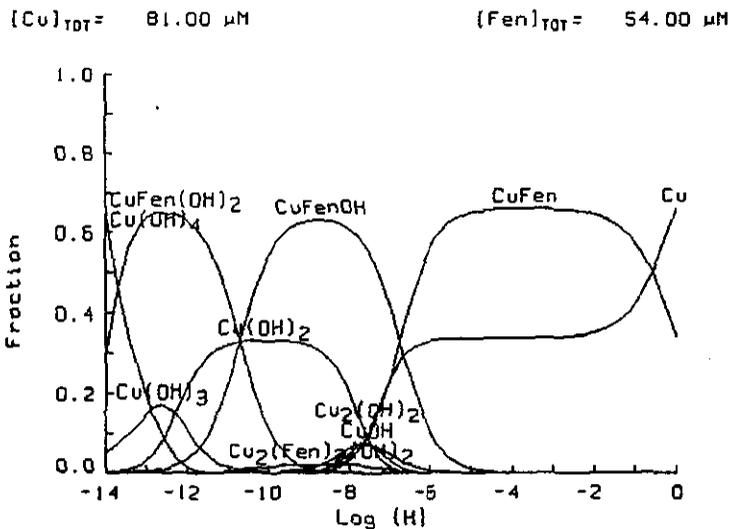


Fig. 11.8. Diagrama de distribución de las especies del ion cúprico en función de pH con la razón Cu : fen = 1.50 : 1.00. Fracción de Cu(II) en función del pH.

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

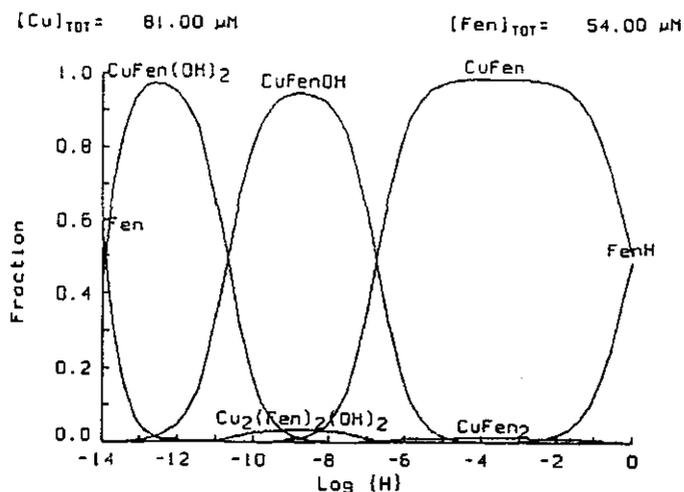


FIG 11.9. Diagrama de distribución de las especies del ion cúprico en función de pH con la razón Cu : fen = 1.50 : 1.00. Fracción de fen en función del pH.

Las especies de cobre principales son CuFen^{2+} , Cu(OH)fen^+ , $\text{Cu(OH)}_2\text{fen}$ y Cu(OH)_2 , y cobre libre en medios ácidos.

Los resultados obtenidos por SQUAD al administrar la información obtenida en medios ácidos aparece en la Tabla 11.3:

Tabla 11.3. Constantes de formación. Experimento 3:2. T=25°C. $\mu=0.1$ (KCl)

Modelo de entrada					
ESPECIE	$\log\beta$	F o V	ϵ	$\log\beta$	σ
CU(1)FEN(1)	9.0	V	Sí	9.6	0.97
FEN(1)H(1)	4.96	F	Dadas	-	-
				19.406	0.180

Y al tratar con las soluciones de medio básico:

Tabla 11.4. Constantes de formación. Experimento 3:2. T=25°C. $\mu=0.1$ (KCl)

Modelo de entrada					
ESPECIE	$\log\beta$	F o V	ϵ	$\log\beta$	σ
CU(1)FEN(1)	9.6	F	Sí	1.39	0.04
CU(1)FEN(1)OH(1)	2.5	V	Sí	-9.09	0.05
CU(1)FEN(1)OH(2)	-8.0	V	Sí	-8.65	0.05
FEN(1)H(1)	4.96	F	Dadas	-	-
				0.328	0.019

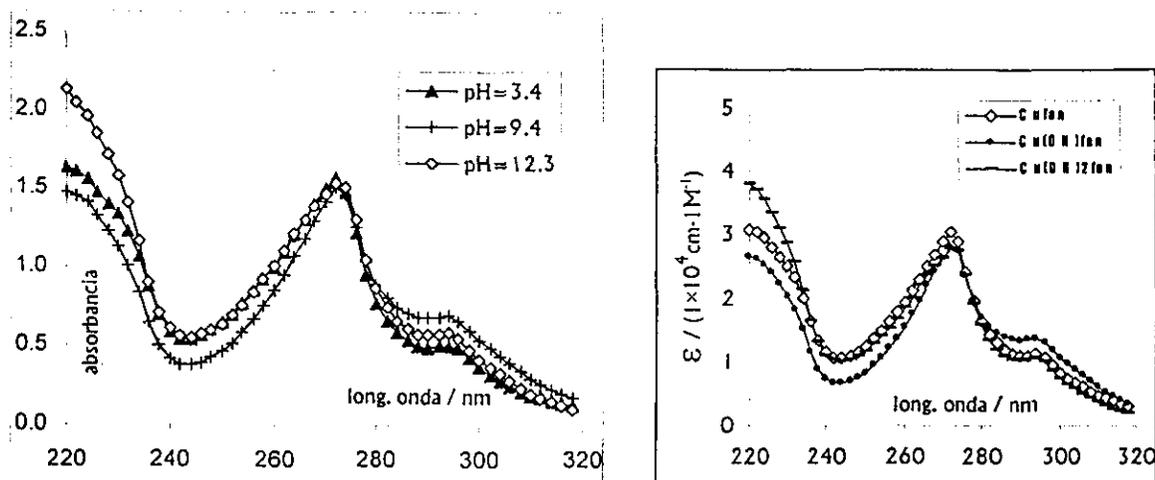


FIG 11.10. (Izq.) Algunos espectros de absorción para el para el experimento con razón Cu: fen = 1.50 : 1.00.
 FIG 11.11. (DER.) Absortividades molares de las especies involucradas en el experimento d.

En el diagrama de distribución de especies de Cu(II) en función del pH (Fig. 11.8) se observa que por haber exceso de Cu(II), es necesario considerar en el modelo administrado a SQUAD la hidrólisis del este catión metálico. Por el otro lado, en la Fig. 11.9, donde aparecen las especies de 1,10-fenantrolina para esta razón metal/ligando, se observa las tres especies que en principio estuvieron absorbiendo, dependiendo del pH de la mezcla.

En las tablas de resultados se encuentran constantes refinadas que se pueden calificar como buenas, hecho que queda ilustrado también por el aspecto "suave" de las curvas en la Fig 11.11. Este experimento permitió, a diferencia de los demás, refinar la constante del equilibrio $\text{Cu}^{2+} + \text{fen} = \text{Cufen}^{2+}$.

Experimento: $\text{Cu}^{\text{II}}_{\text{total}}/o\text{-fen}_{\text{total}} = 2 : 1$.

En este experimento la concentración total inicial de cobre (II), $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{tot}}^{\circ} = 108.0 \mu\text{M}$ y la correspondiente para 1,10-fenantrolina : $[o\text{-fen}]_{\text{tot}}^{\circ} = 54.0 \mu\text{M}$. En la Fig. 11.12 se muestra una selección de los espectros obtenidos con esta mezcla. El diagrama de distribución de especies para fenantrolina sería esencialmente el mismo al de la figura 11.9, y el respectivo para ion cúprico sería semejante al de la Fig.11.8 pero con una abundancia mayor de cobre libre y sus hidroxocomplejos.

Discusión y Análisis

La variación experimental del cociente metal/ligando es muy importante para el estudio de la formación de compuestos de coordinación (complejos), de tal forma que se pueda llegar a construir un modelo de equilibrio donde se establezca no sólo la estequiometría sino también la constante de formación (o su cociente de concentraciones en el equilibrio). Esto es importante para la química analítica pero también para otras ramas de la química en donde interese la cinética (el equilibrio sería la meta y habría que estudiar la velocidad y/o el mecanismo por el cual llega ahí) o la síntesis en solución o no (si se desea obtener alguna

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

especie no soluble, el conocimiento de lo que sí se solubiliza siempre ayudará) e incluso en otras ramas de la ciencia, como la medicina (llámese bioquímica aplicada o quelatoterapia).

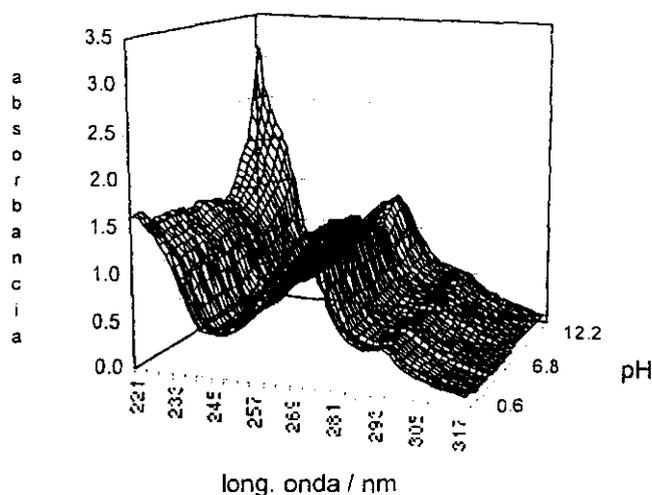


FIG. 11.12. Selección de espectros de absorción registrados a soluciones de *o*-fen 5×10^{-5} M junto con Cu(II) en razón 2:1 (Cu a fen), de diferente pH. $\mu=0.10$ (KCl) y $t = 25^\circ\text{C}$.

Regresando al sistema H₂O / *o*-fen / Cu(II), es aconsejable (si no, necesario) aprovechar la diferente información experimental obtenida al variar el cociente metal / ligando. Es por ello, que se presenta a continuación resultados obtenidos con SQUAD al administrarle, simultáneamente, datos provenientes de dos o más de los experimentos arriba descritos.

NOTAS INICIALES:

Este refinamiento y los que siguen quedan descritos por las siguientes características generales (a no ser que se diga lo contrario):

- (1) Longitudes de onda seleccionadas 220, 222, ..., 318 para un total de 50 datos por subarchivo (espectro). Si se manejaron 24 de estos, esto hace un total de 1200 datos.
- (2) Contaron inicialmente con la información de las absorptividades molares de la fenantrolina y el ion fenantrolinio. $(pK_a)_{fija} = 4.93$.

En los casos en que se haya decidido introducir constantes de hidrólisis del cobre (hidroxocomplejos), estos quedaron como no absorbentes, siendo las constantes (en todos los casos mantenidas fijas) correspondientes a los equilibrios balanceados con agua y protones: $pK_{a1g} = 7.7$; $pK_{a2g} = 15.2$; $pK_{a3g} = 27.5$; $pK_{a4g} = 40.4$ y $\log K_{2Cu}^{Cu_2(OH)_2 \cdot 2H} = 10.48$. Aquí $pK_{ang} = \log K_{Cu}^{Cu(OH)_n \cdot nH}$ [1]. Si estas constantes se usaron aparecerá CUHYDX DATA en la parte inferior izquierda de la tabla.

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

Refinamiento de la constante de formación para el compuesto 1:1 ($\log K_{Cufen}^{Cu, fen}$)

Los datos se seleccionaron de soluciones ligera a francamente ácidas de los experimentos denominados 1:1, 3:2 y 2:1.

Tabla 11.5. Refinamiento de $\log K_{Cufen}^{Cu, fen}$.

Modelo de entrada				Modelo refinado	
ESPECIE	$\log\beta$	F o V	ϵ	$\log\beta$	σ
CU(1)FEN(1)	9.00	V	Si	9.60	0.15
				9.570	0.093

Refinamiento de las constantes de formación para los compuestos mono y dihidroxo de monofenantrolincobre(II)

Se administraron también las absorptividades de Cufen calculadas por SQUAD en el proceso anterior. CUHYDX DATA en la parte inferior izquierda de la Tabla 11.6 indica que entraron en el cálculo las constantes de hidrólisis del cobre. Si una de los dos hidroxocomplejos mixtos está ausente en el modelo, *U* se duplica. Si ninguno de las dos se alimenta, entonces se multiplica por 8. En la Fig 11.13 aparecen las absorptividades molares de las tres especies hasta ahora discutidas.

Tabla 11.6. Refinamiento de $\log K_{Cu(OH)fen, H}^{Cu, fen}$ y $\log K_{Cu(OH)_2 fen, 2H}^{Cu, fen}$

Modelo de entrada				Modelo refinado	
ESPECIE	$\log\beta$	F o V	ϵ	$\log\beta$	σ
CU(1)FEN(1)	9.60	Fija	dado	-	-
CU(1)FEN(1)OH(1)	2.5	V	Si	3.70	0.17
CU(1)FEN(1)OH(2)	-8.2	V	Si	-8.66	0.18
CUHYDX DATA				5.66	0.075

CUHYDX DATA

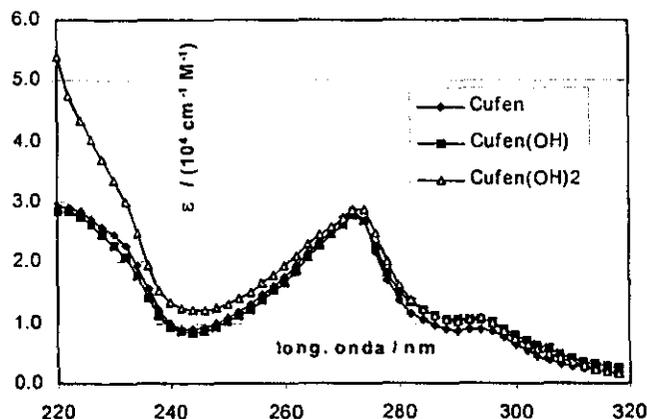


Fig. 11.13. Absorptividades molares de las especies $Cufen^{2+}$, $Cu(OH)fen^+$ y $Cu(OH)_2fen$

Refinamiento de las constantes de formación para los compuestos 1:2 y 1:3

La estrategia de mezclar archivos no fue exitosa en el refinamiento de las constantes de formación para los complejos de estequiometría 1:2 y 1:3. Se agruparon los datos en grupos de acuerdo al pH (ácidos, básicos y todo el intervalo). Se modificaron los modelos y/o se administraron diferentes absorptividades. El programa no convergía o los resultados eran pésimos (U muy grande, valores de constantes muy por encima de lo esperado y absorptividades con altas desviaciones estándar). Aunque en algunos casos se intentó administrar las absorptividades de Cufen^{2+} , siempre se probó sin ellas porque se sabe de las limitaciones que el programa SQUAD tiene al contar con varias absorptividades fijas no nulas [2].

Sin embargo se quiere citar un caso en el que se administraron las absorptividades de fen, Hfen^+ y Cufen^{2+} . Si se pedía refinar un modelo con los complejos Cufen_2^{2+} y Cufen_3^{2+} el programa convergía pero asignaba absorptividades molares nulas al compuesto de estequiometría 1:3 (con una desviación estándar muy alta) y una U de 483. Pero sí se retiraba del modelo a la especie 1:3 se obtenía una $U = 0.88$. Cuando se presenta algo parecido usualmente se diría entonces que no hay información experimental de la especie 1:3. Esto *no* puede negar la existencia de la especie 1:3, sobre todo habiendo tanta evidencia reportada en la literatura, pero si pone de manifiesto que la información experimental parece no ser suficiente. Resulta entonces deseable realizar experimentos en donde la razón metal /ligando sea más pequeña (por ejemplo 1:5 y 1:10). En la Fig. 11.14 se muestra el caso en que resultó $U = 0.88$. En la Tabla 11.7 aparece el modelo resultante. Como se puede ver $\log\beta_2$ se vuelve mayor.

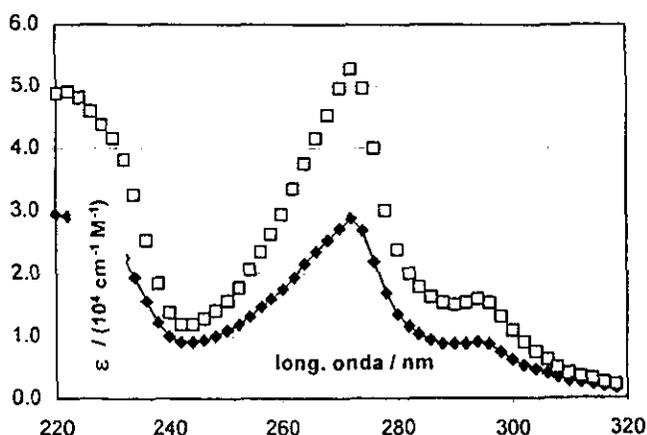


FIG. 11.14. Absorptividades molares de las especies Cufen_2^{2+} (rombos negros) y Cufen_3^{2+} (cuadrados blancos) a partir de información experimental de soluciones con Cu/fen ; 1:1; 1:2 ó 1:3 en medios ácidos. $U=0.88$, pero si se introducía al modelo Cufen_3^{2+} entonces $U=483$.

Es interesante observar en la Fig. 11.14 que Cufen_2^{2+} absorbe más que Cufen_3^{2+} pero que la forma de ambos espectros es muy parecida.

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

En este punto de la discusión se observa que los valores de $\log K_{Cu,2,2}^{Cu,2,2,2}$ y $\log K_{Cu,3,3}^{Cu,3,3}$ se han presentado como los más inciertos y alejados de los valores de la literatura. Sólo a partir de datos aislados del experimento 1:3, como ya se vio, fue posible refinar $\log K_{Cu,3,3}^{Cu,3,3}$. Por ello en las Tabla 11.8 y 11.9 se presentan dos análisis de esos datos con diferentes modelos alimentados, ya contando con valores refinados de los mono y dihidroxo complejos mixtos con fenantrolina.

Tabla 11.7. Refinamiento de $\log K_{Cu,2,2}^{Cu,2,2}$.

Modelo de entrada				Modelo refinado	
ESPECIE	logβ	F o V	ε	logβ	σ
CU(1)FEN(1)	9.60	<i>F</i>	<i>Dados</i>	–	–
CU(1)FEN(2)	16.00	<i>V</i>	<i>Sí</i>	17.99	0.04
				U	σ
				0.876	0.032

En la Tabla 11.8 están los resultados al fijar las constantes refinadas que han aparecido en la discusión y que pueden tomarse como buenos valores. Sin embargo los resultados muestran valores altos para los complejos 1:2 y 1:3. La espectrofotometría resultante se muestra en la Fig. 11.15 donde se han omitido las absorptividades de los hidroxocomplejos mixtos y se han añadido las del complejo 1:1 obtenidas anteriormente. Es interesante la espectrofotometría porque muestra una probable tendencia de los espectros de estas especies.

Tabla 11.8. Refinamiento de $\log K_{Cu,2,2}^{Cu,2,2}$ y $\log K_{Cu,3,3}^{Cu,3,3}$.

Modelo de entrada				Modelo refinado	
ESPECIE	logβ	F o V	ε	logβ	σ
CU(1)FEN(1)	9.60	<i>Fija</i>	<i>Sí</i>	–	–
CU(1)FEN(2)	16.00	<i>V</i>	<i>Sí</i>	17.22	0.09
CU(1)FEN(3)	21.35	<i>V</i>	<i>Sí</i>	22.81	0.13
CU(1)FEN(1)OH(1)	3.70	<i>Fija</i>	<i>Sí</i>	–	–
CU(1)FEN(1)OH(2)	–8.66	<i>Fija</i>	<i>Sí</i>	–	–
				U	σ
				0.238	0.019

11. Resultados y discusión: Sistema: H₂O / 1,10-fenantrolina / Cu²⁺

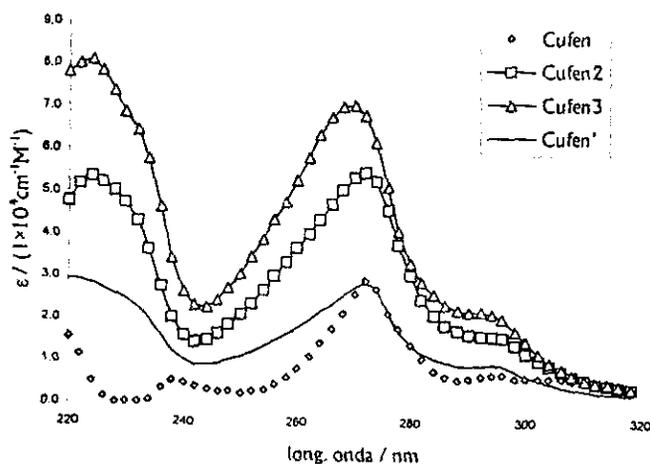


Fig. 11.15. Absortividades molares de las diferentes especies de acuerdo al refinamiento mostrado en la Tabla 11.8. La línea continua es el espectro específico del compuesto 1:1 (Cufen²⁺) mostrado en la Fig. 11.13.

Tabla 11.9. Refinamiento de $\log K_{Cufen_2}^{Cu,2fen}$, $\log K_{Cufen_3}^{Cu,3fen}$ y $\log K_{Cu(OH)fen,H}^{Cu,fen}$

Modelo de entrada				Modelo refinado	
ESPECIE	logβ	F o V	ε	logβ	σ
CU(1)FEN(1)	9.60	Fija	Si	—	—
CU(1)FEN(2)	16.00	V	Si	15.56	0.06
CU(1)FEN(3)	21.35	V	Si	19.90	0.06
CU(1)FEN(1)OH(1)	3.70	V	Si	2.50	0.04
CU(1)FEN(1)OH(2)	-8.66	Fija	Si	—	—
				0.166	0.016

En lo que respecta a la Tabla 11.9, la espectrofotometría (así como los resultados mismos) es semejante a la de la Fig. 11.7, correspondiente a la Tabla 11.2. A diferencia de los resultados de la Tabla 11.8, los de la Tabla 11.9 muestran valores más pequeños a los que se esperaban.

Resultados Finales

Tabla 10a. Resultados finales.

Cu ²⁺ + fen = Cufen ²⁺				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	logK=
N.V.	25	0.1 ≤ μ ≤ 0.2	EF	9.60(0.15)
[3]	25	0.1	Ext	9.1
[4]	20	0.1	Varios	9.25
[5]	25.0	0	Termo.	9.14(0.06)

NV: nuestros valores. Mét.: Método. EF: espectrofotometría. Ext.: reparto entre fases. Termo.: Termoquímico. Las desviaciones estándar aparecen entre paréntesis. Si no se dan en algunos casos es porque la publicación no las cita.

Tabla 10b. Resultados finales.

Cu ²⁺ + 2fen = Cufen ₂ ²⁺				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	logK=
N.V.	25	0.1 ≤ μ ≤ 0.2	EF	15.56(0.06)
[3]	25	0.1	Ext	15.8
[4]	20	0.1	Varios	16.00
[5]	25.0	0	Termo.	16.01(0.1)
[6]	25	0.1	Ext	15.39

Tabla 10c. Resultados finales.

Cu ²⁺ + 3fen = Cufen ₃ ²⁺				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	logK=
N.V.	25	0.1 ≤ μ ≤ 0.2	EF	19.90(0.06)
[4]	20	0.1	Varios	21.35
[5]	25.0	0	Termo.	21.43(0.1)
[6]	25	0.1	Ext	20.41

Tabla 10d. Resultados finales.

Cu ²⁺ + fen + H ₂ O = Cu(OH)fen ⁺ + H ⁺				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	logK=
N.V.	25	0.1 ≤ μ ≤ 0.2	EF	3.70(0.17)
[7]	25	0.1	Pot	2.48

Tabla 10e. Resultados finales.

Cu ²⁺ + fen + 2H ₂ O = Cu(OH) ₂ fen + 2H ⁺				
Ref.	T/°C	μ/M	Mét.	logK=
N.V.	25	0.1 ≤ μ ≤ 0.2	EF	-8.66(0.18)
[7]	25	0.1	Pot	-8.22

Bibliografía

- [1] Martell, A.E.; Smith, R.M.. "Critical Stability Constants", Plenum press: New York, 1974.
- [2] Comunicación personal con el Dr. Alberto Rojas.
- [3] Banks, C.V.; Bystroff, R. I. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1959, 81, 6153.
- [4] Anderegg, G. *Helv. Chim. Acta*, 1963, 46, 2397.
- [5] Eatough, D.J. *Anal. Chem.*, 1970, 42, 635.
- [6] H. Irving & D. H. Mellor, *J. Chem. Soc.*, 1962, 5222.
- [7] R. L. Gustafson & A. E. Martell, *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 525 (1959).

Sistemas ternarios

12. Resultados y discusión: Sistema H₂O / cisteína / Cu(II)

FALTA PAGINA

No. **103**

12. Resultados y discusión: Sistema H₂O / cisteína / Cu

12.1. Resultados.

Relación Cu/Cys = 1:4. [Cu(II)] = 1.0×10^{-4} M.

Se hizo variar el pH de una mezcla Cu/Cys 1:4 ([Cu(II)] = 1.0×10^{-4} M). Se partió de medios ácidos (HClO₄, pH_{inicial} = 1.83) y se fue añadiendo una solución de hidróxido de sodio para pasar por medios neutros y llegar a medios básicos (pH_{final} = 12.13). Se registraron 50 espectros. La Fig. 12.1 proporciona un aspecto de la información espectrofotométrica.

Los espectros muestran una absorbancia creciente simultánea al aumento del pH. Se observa un aumento rápido de la absorbancia de pH 11.15 a 11.30.

Cabe decir que en este caso (y en los que siguen) la mezcla no era una solución en rigor, sino una suspensión: pequeñas partículas se observaban suspendidas en el agua. Este fenómeno aumentaba en medios alcalinos. El aspecto llegaba a ser de una mezcla más o menos transparente con un color blancuzco o gris. En concentraciones más altas, del orden de 10^{-2} y 10^{-1} M, se formaba un precipitado que hacía que la mezcla se tornara de un color violeta oscuro.

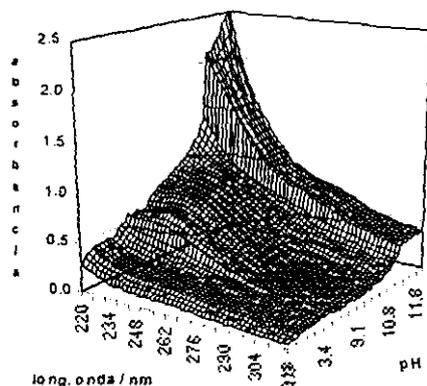


FIG. 12.1. Superficie de absorbancia, $A=f(pH, \lambda)$, de una mezcla ternaria Cu(II)/Cys (en agua, para hacer tres componentes) en proporción 1:4, $[Cu^{II}]_{inicial} = 1.0 \times 10^{-4}$ M, al variar el pH de equilibrio.

Relación Cu/Cys = 1:4. [Cu(II)] = 0.50×10^{-4} M

Se hizo variar el pH de una mezcla Cu/Cys 1:4 ([Cu(II)] = 0.50×10^{-4} M). Se partió de medios ácidos (HClO₄, pH_{inicial} = 1.99) y se fue añadiendo una solución de hidróxido de sodio para pasar por medios neutros y llegar a medios básicos (pH_{final} = 12.02). Se registraron 29 espectros. La Fig. 12.2 proporciona un aspecto de la información espectrofotométrica.

12. Resultados y discusión: Sistema H₂O / cisteína / Cu

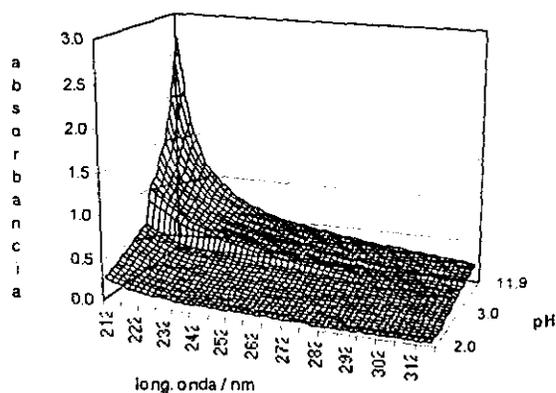


FIG. 12.2. Superficie de absorbancia, $A=f(\text{pH}, \lambda)$, de una mezcla ternaria Cu(II)/Cys (en agua, para hacer tres componentes) en proporción 1:4, $[\text{Cu}^{II}]_{\text{inicial}} = 5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$, al variar el pH de equilibrio.

El aumento de la absorbancia que se observa en la Fig. 12.2 es artificial porque durante la adición de NaOH(ac) el pH cambió rápidamente de 3.5-9.3.

12.2 Variaciones continuas.

Experimento de variación continua I.

Medio: HClO₄(ac) de concentración 1.4 mM. $2.97 \leq \text{pH}_{\text{valoración}} \leq 3.05$

Alicuota: 20 de mL de cisteína de concentración $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$.

Valorante: Cobre(II),(ac) de concentración $1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$.

En la Fig. 12.3 se muestra el resultado después de la transformación para este experimento.

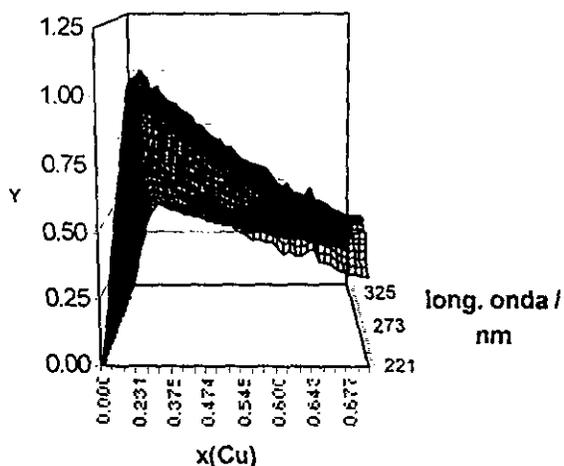


FIG. 12.3. Superficie de Job: curvas de Job para diferentes longitudes de onda. $C=1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$.

12. Resultados y discusión: Sistema H₂O / cisteína / Cu

En la Fig. 12.4 se da una vista de una selección de curvas de Job para unas pocas longitudes de onda. De manera visual se observa que el máximo corresponde a $\chi_M = 0.2$ lo que implica una estequiometría, para un modelo sencillo (tipo donador/receptor/partícula), de estequiometría 1:4.

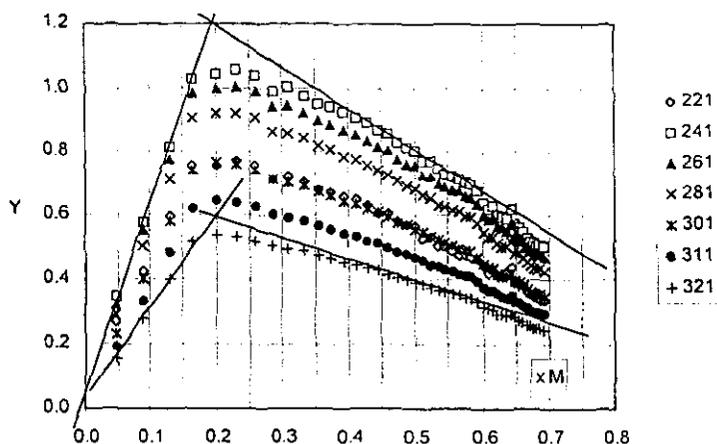


FIG. 12.4. Selección de algunas curvas de Job para siete longitudes de onda.
El máximo indica una estequiometría 1:4.

Al realizar el ajuste a un modelo lineal de los extremos de cada curva de Job a cada longitud de onda se observó que el máximo corresponde a 0.20 con una desviación estándar del 1.4% con respecto a este valor.

Nota:

De lo mencionado en la sección de teoría se vió que $Y = A - L$ donde estas tres cantidades son números reales, pero también pueden ser matrices ($Y = A - L$, correspondientes a la Fig. 12.3). L es la absorbancia de una muestra que supuestamente no reacciona. Dado que Y es en este caso diferente de cero, la mezcla reacciona.

$L = (\epsilon_M C_M + \epsilon_L C_L)b$ y se puede expresar como $L = bC(\epsilon_M \chi_M + \epsilon_L (1 - \chi_M))$ ya que $C_M = \chi_M C$ y $C_L = (1 - \chi_M)C$. Si $\chi_M = 0$, entonces $L = \epsilon_L bC = P_1$ y si $\chi_M = 1$, $L = \epsilon_M bC = P_2$. De esta forma L es la recta que pasa por P_1 y P_2 , siendo P_1 la ordenada al origen y $(P_2 - P_1)$ la pendiente.

A continuación se indica como se calculó L . Una vez transformada la curva de titulación $A = f(v)$ en una de la forma $A = f(\chi_M)$ con la ecuación $\chi_M = v/(v + v_0)$, se procedió a realizar regresiones lineales sobre los extremos ajustables de cada una de estas curvas. Así,

$$A = P_1 + Q_1 \chi_M, \text{ para } v \leq v_0/n \text{ y}$$

$$A = M_1 + N_1 \chi_M, \text{ para } v \geq v_0/n$$

Siendo los valores M , N , P y Q los resultados de las regresiones lineales para ordenada y pendiente. P_1 se conoce directamente y $P_2 = M_1 + N_1$. Por lo tanto, debido a lo visto aquí,

$$L = P_1 + (M_1 + N_1 - P_1) \chi_M \quad (12.1)$$

Siendo la ecuación (12.1) la expresión empleada para realizar la última transformación: $A = f(\chi_M) \rightarrow Y = f(\chi_M)$.

Experimento de variación continua 2.

Medio: HClO₄(ac) de concentración 1.4 mM. $2.96 \leq \text{pH}_{\text{valoración}} \leq 3.07$

Alicuota: 20 de mL de cisteína de concentración 6.0×10^{-4} M.

Valorante: Cobre(II),(ac) de concentración 6.0×10^{-4} M.

Este es un caso similar al anterior pero con una concentración un poco más baja. En la Fig. 12.5 se observa la superficie de datos transformados.

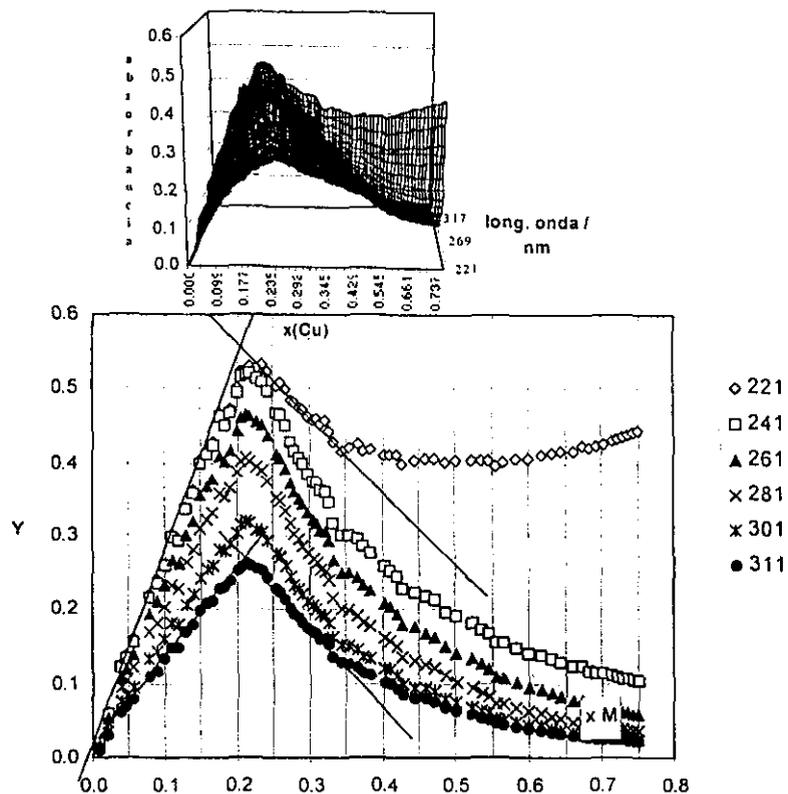


FIG.12.5. Parte superior: Superficie de Job; curvas de Job para diferentes longitudes de onda. $C=6.0 \times 10^{-4}$ M. En la parte inferior se muestra una selección.

Se observa en la Fig. 12.5 que el resultado es también 0.2, lo que implica una estequiometría, para un modelo simple, 1:4.

Cabe resaltar el hecho de que la linealidad no queda tan marcada, a diferencia del experimento de la Fig. 12.5, a partir de $\chi_M \geq 0.4$. Esto podría explicarse por el hecho de que hacia el final de la titulación dejó de burbujearse nitrógeno debido a que la mezcla ya no cabía en la celda. Para dar más espacio se quitó el tapón que la cubría, lo que puso la mezcla en franco contacto con el oxígeno del aire.

12. Resultados y discusión: Sistema H₂O / cisteína / Cu

En este experimento se contaron con más puntos antes del máximo lo que ayuda afirmar la conclusión de que el máximo se da alrededor de 0.2. Las regresiones lineales se hicieron seleccionando las partes que muestran una variación compatible con este modelo de ajuste, en este caso, cerca del máximo, ver Fig. 12.5. En promedio el cruce se dio en 0.21 con una desviación estándar del 0.3 % con respecto a la media.

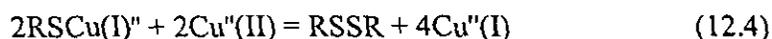
1.2.2. Discusión.

En el estudio polarográfico del sistema Cu(II)/Cys [2] se explican los hechos observados con un conjunto de equilibrios que citamos a continuación:



En estas ecuaciones se emplea la doble prima para indicar que las especies son bicondicionales. Esto quiere decir que dos componentes de la mezcla aparecen implícitos en este modelo, además de encontrarse amortiguando el sistema (sus concentraciones son constantes). Kolthoff *et al.* [2] crearon el modelo bajo las siguientes condiciones experimentales: $[RS^-] = 1.0 \text{ mM}$ y $[NH_4Cl] = [NH_3] = 0.1 \text{ M}$, de aquí que los amortiguamientos sean dados por $pNH_3' = -\log\{[NH_3] + [NH_4Cl]\} \approx 0.7$ y $pH \approx 9.4$. La cisteína no lleva doble prima porque se ha tomado la especie representativa, es decir, a $pH = 9.4$ y $pNH_3' = 0.7$ dicho aminoácido se encuentra principalmente en la forma tiolato: RS^- .

Por otro lado, el equilibrio (12.3) es el principal cuando la relación $Cu / Cys = 2:4 = 1:2$. Al aumentar la presencia de Cu(II) se tiene que añadir un equilibrio extra:

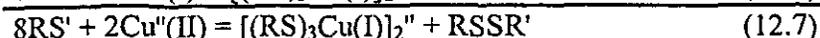
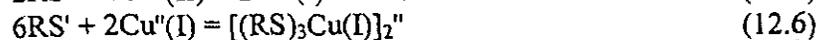


La suma de todas estas reacciones establece un equilibrio de estequiometría $2:2 = 1:1$. Sin embargo, el equilibrio (12.3) se puede escribir en la forma

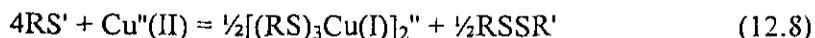


, de aquí sea posible concluir que el máximo en una curva de Job se presentaría en $\chi_M = 1/(1+2) = 0.33$ y no en 0.20 como ocurrió (estrictamente, a las longitudes de onda donde no absorbe la cistina). Lo cierto es que las dos curvas de Job presentadas aquí se hicieron a partir de datos obtenidos en medios ácidos, a diferencia del trabajo de Kolthoff.

Se presenta ahora un modelo que podría decir algo sobre la estequiometría 1:4 experimental



O lo que es lo mismo:



La prima sobre la fórmula de la cisteína indica que al pH impuesto los protones ácidos quedan implícitos. Una estructura sugerida para el dímero puede suponerse, en parte, a partir de lo expresado por otros autores con el sistema cobre/mercaptoetilamina, ver Fig. 6.6 [3]. Los monómeros quedarían enlazados a través de dos "puentes de azufre" entre los núcleos de cobre. El estado de oxidación del cobre es en principio (I) (ion cuproso) pero se observan complejos de valencia mixta con la 2-mercaptoetilamina lo que apoya la posibilidad de que aquí también se lleguen a presentar con la cisteína. En esta estructura propuesta el cobre sería octaédrico. Dos cisteínas (por núcleo de cobre) se unirían con los grupos amina y tiolato al metal, mientras que la tercera lo haría con sólo el azufre ionizado. En la Fig. 12.6 aparece el esquema de lo que sería la estructura del dímero.

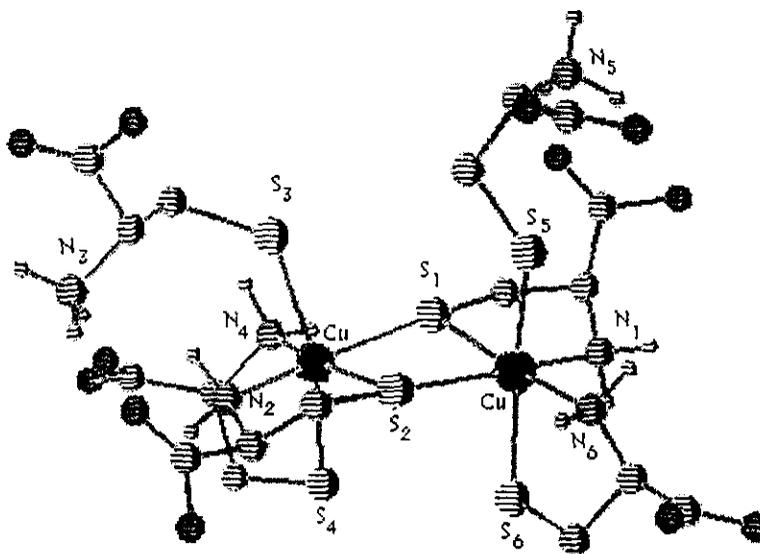


Fig. 12.6. Estructura propuesta para el dímero $[(RS)_3Cu]_2$.

Es posible querer ajustar una curva de Job calculada a una experimental. Los parámetros que se variarían son: la constante de proporcionalidad en la ecuación (7.10), m , y la constante del equilibrio, K . En este trabajo el modelo se construyó a partir de la tabla de variación cantidades molares (con $n = 4$) y la ecuación (7.10). La fracción remanente sin reaccionar, ϵ , fue calculada aproximadamente ya que no se consideró como un sumando ni un sustraendo, sino sólo como un factor, es decir, se supuso $f(v, v_o, n) \pm \epsilon \approx f(v, v_o, n)$. Esto ayudaba a resolver para ϵ . El ajuste se hizo minimizando $U = (Y_{obs} - Y_{calc})^2$.

En la Fig. 12.7 aparecen dos estrategias de ajuste. En un caso se trató de ajustar toda la curva (Fig. 12.7, calc2) y en otro sólo alrededor del punto de equivalencia, $\chi_M = 0.2$, (Fig. 12.7, calc). En el primer caso se obtuvo $m = 6450 M^{-1}$ y $\log K = 18.2$ y en el segundo $m = 6450 M^{-1}$ y $\log K = 16.6$. Estas constantes serían en realidad cocientes de concentración de un equilibrio condicional (pH impuesto). Asimismo debería tomarse el valor de $\log K = 18.2$ como una cota superior para el valor real.

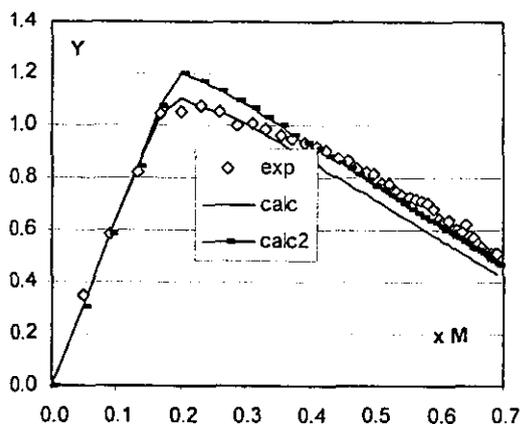


Fig. 12.7. (*calc2*) Curva de Job experimental y ajustada con todos los puntos experimentales para una titulación de cisteína, a pH=3, con cobre(II) de concentraciones ambas 1.0 mM. (*calc*) Ajustando a partir de los datos localizados en la vecindad del punto de equivalencia.

3. Titraciones de cisteína con cobre(II).

Titulación 1.

Se valoraron 25.0 mL de una solución acuosa de cisteína de concentración $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ (1.0mM) con Cu(II) de concentración 20mM. Ni el pH ni la fuerza iónica están impuestas. Cuando r se aproxima a 1 entonces se forma un precipitado que en la Fig. 12.8 puede verse como un gran aumento en la absorbancia.

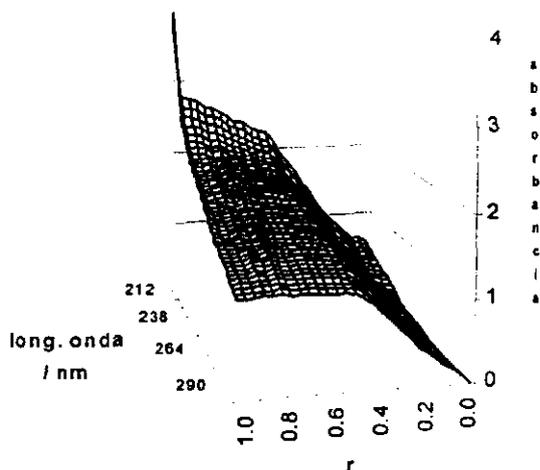


Fig. 12.8. Titulación de 25 mL de una solución de cisteína 1.0 mM con la progresiva y repetida adición de 50 μL de $[\text{Cu(II)}]=20.0 \text{ mM}$. Aquí se muestra la superficie de absorbancia, $A=f(r, \lambda)$, donde r es la razón de moles de cobre a moles de cisteína.

Titulación 2.

Se valoraron 25.0 mL de una solución acuosa de cisteína de concentración $8.2 \times 10^{-4} \text{M}$ (0.82mM) con Cu(II) de concentración 20mM. El pH inicial y durante la valoración lo da el hidróxido de sodio empleado en la preparación de la alícuota: $11.8 \leq \text{pH}_{\text{valoración}} \leq 12.0$. En la Fig. 12.9, cuando r se aproxima a 1 ($0.8 \leq r \leq 1$) entonces se forma un precipitado de forma evidente.

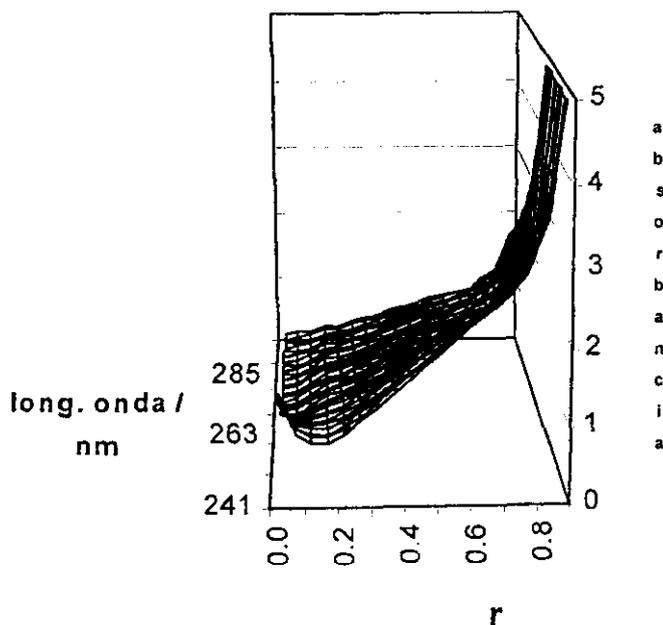


FIG. 12.9. Titulación de 25 mL de una solución de cisteína 0.8 mM con la progresiva y repetida adición de 50 μL de $[\text{Cu(II)}]=20.0 \text{ mM}$. Aquí se muestra la superficie de absorbancia, $A=f(r,\lambda)$, donde r es la razón de moles de cobre a moles de cisteína.

Discusión.

El empleo de SQUAD para sistemas en los que se ven involucradas reacciones redox requiere de la medida adicional del potencial sobre un electrodo de platino (E) que dé la medida del potencial para el equilibrio



Luego el modelo administrado a SQUAD le daría a e^- el status de un ligando, Cu(I) sería el donador y Cu(II) el receptor. Sería entonces necesario administrar la concentración de e^- . La concentración se definiría en una constante definida para el equilibrio (12.10) como

$$K = \frac{[\text{Cu(I)}]}{[\text{Cu(II)}][e^-]} \quad (12.11)$$

Ya que $\Delta G = -RT \ln K$ y $\Delta G = -nFE$ se tendría que

$$\log K = \frac{EF}{2.303(RT)} \quad (12.12)$$

Y mediante un despeje sencillo de la ley de Nernst sería posible obtener el cociente $[\text{Cu(I)}]/[\text{Cu(II)}]$. Así se obtiene $[e^-]$.

Dado que los únicos potenciales de los que se tiene registro son los que se midieron con el electrodo de vidrio, no fue posible proceder de esta forma pues dicho potencial no mide el valor correspondiente al equilibrio electroquímico (12.9). Es por lo tanto deseable medir también el potencial con dicho electrodo. En este caso habría que apagar un electrodo mientras el otro está funcionando para evitar el acoplamiento de los mismos.

El hecho de que tenga que hacerse una medida adicional al sistema queda justificado desde que un proceso más complicado siempre requerirá de mayor información. Si hay una incógnita más, entonces se necesitará siempre de una ecuación independiente adicional, si es que se quiere obtener el conjunto solución mínimo, más preciso y satisfactorio.

Bibliografía

- [1] Hill, Z.D.; MacCarthy, P. *J. Chem. Educ.*, **1986**, *63*, 162.
- [2] Kolthoff, I.M.; Stricks, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 1728.
- [3] Loeb, B.; Crivelli, I.; Andrade, C. *Inorg. Chim. Acta*, **1995**, *231*, 21.

Sistema cuaternario

13. Resultados y discusión: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu(II)

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

13.1. Detección espectrofotométrica en función del pH.

Experimento Cu/1,10-fenantrolina/cisteína = 1:1:1.

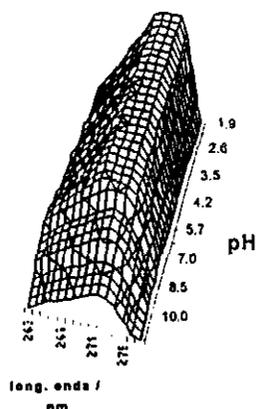
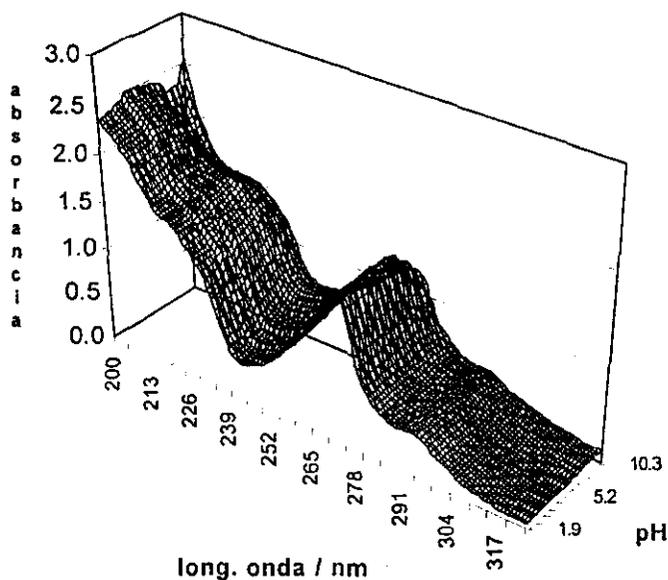


FIG. 13.1. Arriba : Superficie de absorción, $A=f(\text{pH}, \lambda)$, para una mezcla cuaternaria Cu/o-fen/Cys/H₂O en razón 1:1:1 ($[\text{Cu}] = [\text{Cys}] = [\text{fen}] = 5.0 \times 10^{-5} \text{M}$). Abajo : seguimiento del máximo de absorción a los 272 nm.

Se hicieron experimentos en los que las especies se hallaban en proporción 1:1:1. Las concentraciones para el metal y los dos ligandos fueron igual a $5.0 \times 10^{-5} \text{M}$. Un ejemplo se

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

muestra en la Fig. 13.1 en donde la mezcla se encontraba en medio ácido (HClO₄ 0.01 M) y fue neutralizándose (NaOH(ac)) para finalmente alcanzar un pH alto en medios alcalinos. La absorbancia aumentó, al aumentar el pH, y el cambio en esa dirección es notorio en la región $230 \leq \lambda / \text{nm} \leq 260$. Es posible observar una disminución general en la absorbancia a partir de pH 8. La banda de los 272 nm se mantiene en todos los casos con una absorbancia aproximadamente constante hasta pH = 8.5 cuando ésta empieza a bajar. Aparentemente, sin embargo, no existe desplazamiento de ésta.

Experimento Cu/1,10-fenantrolina/cisteína = 1:1:4.

En estos experimentos las especies Cu/fen/Cys se hallaban en proporción 1:1:4. La concentración inicial del ion cúprico fue de 5.0×10^{-5} M. En el ejemplo de la Fig. 13.2 La mezcla se encontraba inicialmente en un medio básico que fue neutralizándose hasta llegar a un pH ácido. En medios ácidos se observa a 272 nm una banda puntiaguda típica de un complejo Cu(II) y *o*-fen. En los medios más básicos ($11.6 \leq \text{pH} \leq 12.4$) el máximo se presenta en los 273 nm. Cabe decir que el sistema se comportó inestablemente en el intervalo $3.0 \leq \text{pH} \leq 8.5$ en las dos ocasiones en que se repitió este experimento. El potenciómetro no llegaba a una lectura que le permitiese llegar al estado de reposo. Por el contrario el pH iba cambiando en el tiempo sin que llegara a un valor estable.

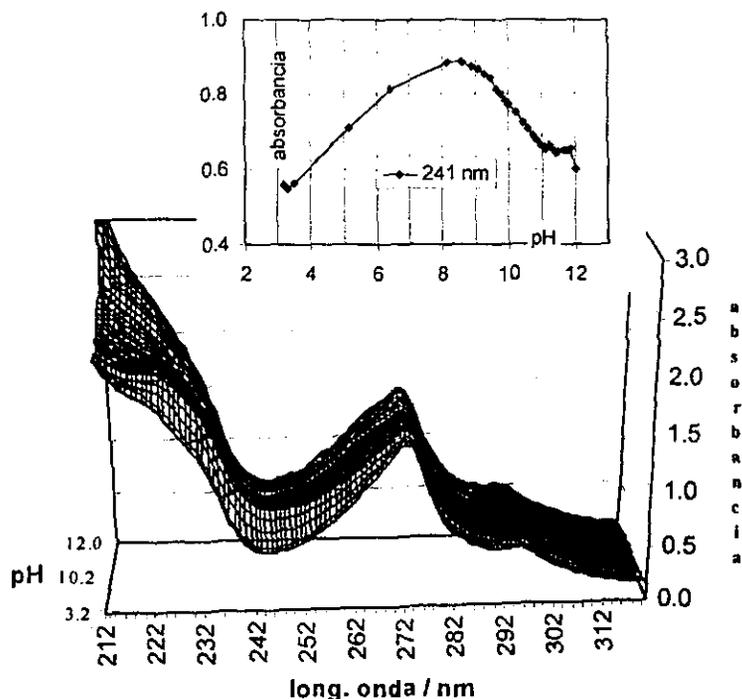


Fig. 13.2. Superficie de absorción, $A=f(\text{pH}, \lambda)$, para una mezcla cuaternaria Cu/o-fen/Cys/H₂O en razón 1:1:4 (con $[\text{Cu}(\text{II})]=5.0 \times 10^{-5}$ M). En la parte superior derecha se observa el cambio en la absorbancia en función del pH a 241 nm. Se partió de la región básica; después de pH=8.5 el sistema se volvió muy inestable.

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

Se hizo un caso equivalente pero partiendo esta vez de medios ácidos ($\text{pH}_{\text{inicial}}=2.07$) que fue neutralizándose hasta llegar a un pH básico ($\text{pH}_{\text{final}}=12.11$). Se registraron 63 espectros. En la Fig. 13.3 se muestra la superficie de absorción.

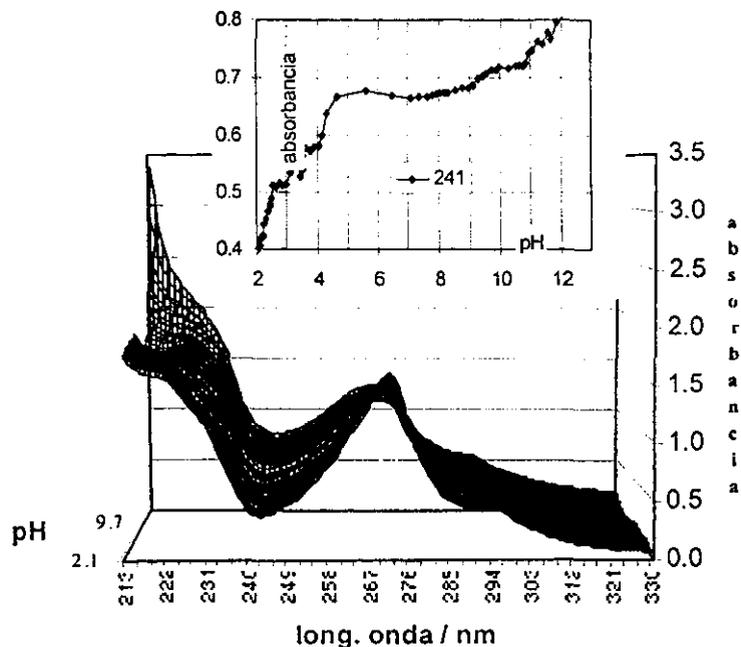


Fig. 13.3. Superficie de absorción, $A=f(\text{pH},\lambda)$, para una mezcla cuaternaria Cu/1,10-fen/Cys/H₂O en razón 1:1:4 (con $[\text{Cu}(\text{II})]=5.0 \times 10^{-5} \text{M}$). En la parte superior se observa el cambio de la absorción en función del pH a 241 nm. Se partió de la región ácida.

Observaciones

Los espectros con la relación 1:1:4 difieren de aquéllos obtenidos con 1:1:1. En la Fig. 13.3, por ejemplo, se observa un espectro con una banda puntiaguda alrededor de los 272 nm, señal de una fenantrolina coordinándose con sus dos nitrógenos; seguramente se trata de la formación del compuesto Cufen. Por otro lado, se observa un desplazamiento de banda al ir básificando el medio. En el intervalo $8.9 \leq \text{pH} \leq 10$ la banda se ensancha y muestra un máximo en los 267 nm. En medios más básicos ($\text{pH} \approx 11$) el máximo regresa a los 273 nm. El seguimiento de la absorción a 241 nm que se muestra en ambas figuras (13.2 y 13.3) revela que el comportamiento de la mezcla depende del sentido del cambio del pH. Por ejemplo, alrededor de $\text{pH}=12$, la absorción de la solución depende de la forma en que ésta haya sido preparada. Si $\text{pH}_{\text{inicial}} \approx 12$, entonces la absorción inicial se presenta alrededor de 0.6 a los 241 nm (Fig. 13.2). Por el contrario, al partir de medios ácidos e ir añadiendo NaOH(ac) llegando a un $\text{pH}_{\text{final}} \approx 12$, esa absorción se muestra cerca de 0.8 (cabe decir que especial cuidado se tuvo con el efecto de la dilución). Las gráficas superiores de las Fig. 11.2 y 11.3 ponen en evidencia este hecho. A este fenómeno se le da el nombre de *histéresis química*.

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

La Fig. 13.4 muestra la misma selección de espectros para los experimentos de las Fig. 13.2 y 13.3. Es evidente que, para $8.9 \leq \text{pH}$, existe una especie en un experimento que no se tiene en el otro. Esto pone resalta aspectos cinéticos y sobre todo, la interacción de la cisteína con el complejo Cufen.

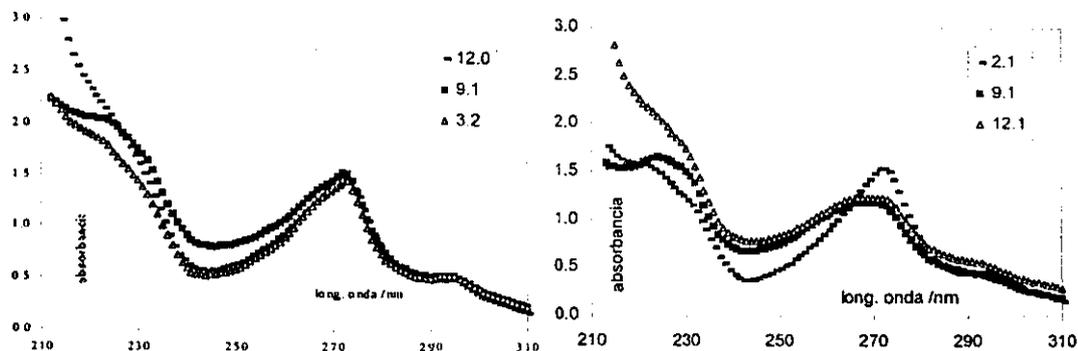


FIG. 13.4. Selección de espectros de absorción UV, $A=f(\lambda)$, para tres pH's correspondientes a una mezcla cuaternaria Cu/o-fen/Cys/H₂O en razón 1:1:4 (con $[\text{Cu(II)}]=5.0 \times 10^{-5} \text{M}$). En la parte izquierda se partió de medios alcalinos hasta llegar a medios ácidos. La figura en la derecha, se obtuvo al proceder a la inversa. Nótese como en este caso se ha formado una especie diferente para pH 9 y 12.

Experimento Cu/1,10-fenantrolina/cisteína = 1:1:10.

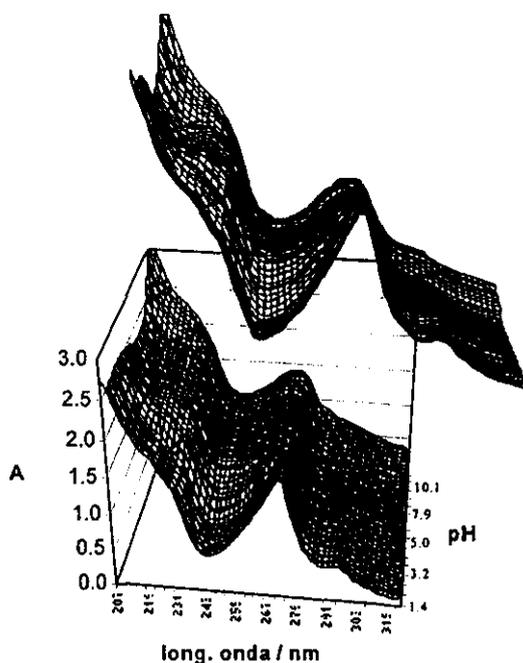


FIG. 13.5. Dos vistas de la superficie de absorción, $A=f(\text{pH}, \lambda)$, para una mezcla cuaternaria Cu/o-fen/Cys/H₂O en razón 1:1:10 (con $[\text{o-fen}]=5.0 \times 10^{-5} \text{M}$). Se parte de medios ácidos y se llega hasta medios básicos.

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

En este experimento las especies Cu/fen/Cys se hallaban en proporción 1:1:10. La concentración inicial del ion cúprico fue de 5.0×10^{-5} M. La mezcla se encontraba inicialmente en un medio ácido que fue neutralizándose hasta llegar a un pH básico. En medios ácidos se observa a 272 nm una banda puntiaguda típica de un complejo Cu(II) y *o*-fen. Para el intervalo $9 \leq \text{pH} \leq 13$ el máximo se encuentra en los 269 nm y la banda ya no tiene la misma forma porque se encuentra ahora más achatada. Otro hecho que ya se había observado es la absorbancia más grandes en el intervalo $230 \leq \lambda / \text{nm} \leq 260$ para los medios alcalinos. Una selección de espectros como los de la Fig. 13.4 revela un parecido claro con los espectros del experimento 1:1:4 llevado a cabo de la misma forma pH: ácido \rightarrow básico, como cabría esperar.

Experimento Cu/1,10-fenantrolina/cisteína = 1:1:16.

En este experimento las especies Cu/*o*-fen/Cys se hallaban en proporción 1:1:16. La concentración inicial del ion cúprico fue de 5.0×10^{-5} M. La mezcla se encontraba inicialmente en un medio ácido (HClO₄, pH_{inicial}=2.07) que fue neutralizándose hasta llegar a un pH básico (NaOH, pH_{final}=12.11). Se registraron 43 espectros. En la Fig. 13.6 se muestra la superficie de absorción.

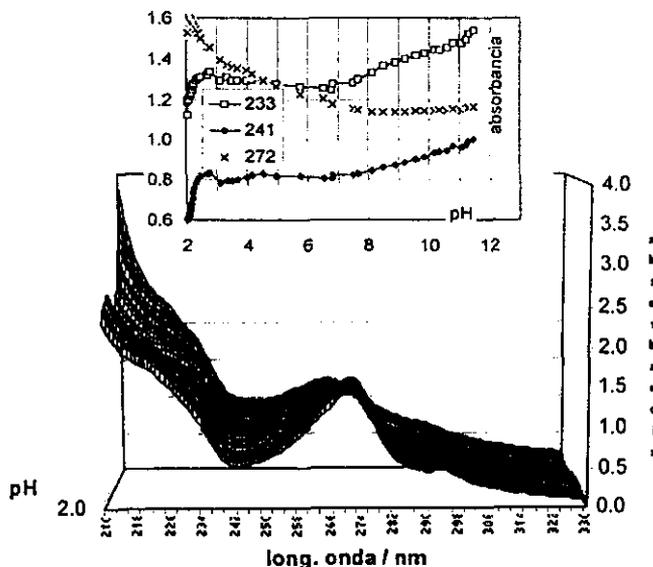


FIG. 13.6. Superficie de absorción, $A=f(\text{pH}, \lambda)$, para una mezcla cuaternaria Cu/*o*-fen/Cys/H₂O en razón 1:1:16 (con $[\text{Cu}(\text{II})]=5.0 \times 10^{-5}$ M). En la parte superior se observa el cambio de la absorbancia en función del pH a tres longitudes de onda.

En la parte superior de la Fig. 13.6 se puede distinguir el seguimiento de la absorbancia a tres longitudes de onda seleccionadas. Tanto a 241 (la longitud particular que se ha seguido en los otros experimentos) como a 233 nm (donde se localiza el máximo de absorción de Cys²⁻) se puede observar un aumento en la absorbancia si el pH aumenta, sobre todo a

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

partir de pH 7 aproximadamente. Este se debe probablemente a un poco de cisteína libre dado el ligero exceso. Por otro lado, el máximo de absorción correspondiente al complejo Cufen²⁺ (a 272 nm) muestra una magnitud decreciente conforme el medio se va haciendo más básico (o bien, disminuye si aumenta el pH). De hecho el máximo de cada espectro se halla entre los 272 y 273 nm para las soluciones de medio ácido ($2.02 \leq \text{pH} \leq 7.71$). Para aquéllas de medio básico ($8.15 \leq \text{pH} \leq 11.47$) el máximo se localiza en los 266-267 nm.

La curva de absorbancia a una sola longitud de onda en función del pH ha sido empleada para detectar el cambio de especies según este parámetro (el pH) y de hecho se puede emplear para determinar pK_a's. Así, por ejemplo, las curvas (Fig. 13.6) muestran que en medios ácidos ($\text{pH} \leq 2.5$) predomina una especie que luego cede el lugar a otra.

Experimento Cu/1,10-fenantrolina/cisteína = 10:3:100.

Se trabajaron con mezclas cuyas proporciones se hallaban en 10:3:100, [o-fen] = 5×10^{-5} M. En un caso se partió de medios ácidos y se neutralizó con NaOH(ac) obteniendo la superficie de la Fig. 13.7. El máximo en medios ácidos se encuentra a los 272 nm y en medios alcalinos se halla en los 266-265 nm.

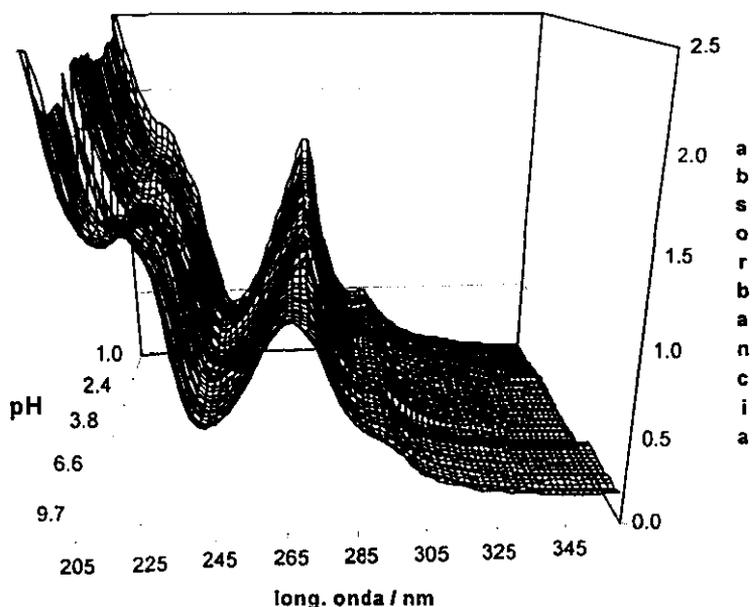


FIG. 13.7. Superficie de absorción, $A=f(\text{pH}, \lambda)$, para una mezcla cuaternaria Cu/o-fen/Cys/H₂O en razón 10:3:100 (con [o-fen]= 1.5×10^{-5} M).

13.2. Variaciones continuas.

Experimento de variación continua 1.

Medio: HClO₄(ac) de concentración 1.4 mM. $2.94 \leq \text{pH}_{\text{valoración}} \leq 3.01$

Alícuota: 20 de mL de cisteína de concentración 1.0×10^{-4} M.

Valorante: Mezcla estequiométrica de cobre(II) y o-fen de concentración 1.0×10^{-4} M.

En la Fig. 13.8 se muestran diferentes aspectos del tratamiento de este experimento. En la Fig. 13.8.a se muestra la superficie experimental. Observéese que ahí aparecen los espectros en función de la concentración inicial (analítica o formal) de Cufen²⁺. Un aspecto interesante de ésta es que, si bien no hay un máximo, sí se forman líneas curvas (no rectas) de absorbancia en función de la concentración inicial del complejo Cufen²⁺. En la Fig. 13.8.b ya aparece la transformación de Job obtenida de la diferencia de absorbancias entre soluciones igualmente elaboradas pero una con y otra sin cisteína. En la Fig. 13.8.c se trata de la misma superficie pero desde otra perspectiva. Como conclusión de 13.8.b se puede decir que aparece un máximo alrededor de $\chi_M=0.2$.

En este caso $L = \epsilon_{\text{Cufen}}bC_{\text{Cufen}} + \epsilon_{\text{Cys}}bC_{\text{Cys}}$ (recordar que la curva de Job queda definida por $Y = A - L$) fue aproximado por $L \approx \epsilon_{\text{Cufen}}bC_{\text{Cufen}}$. En un caso se midió experimentalmente de tal manera que se contaba con los espectros "blancos" correspondientes. Las figuras 13.8.b, c y d se obtuvieron de esta forma. En la Fig. 13.8.e se graficó la información obtenida mediante un cálculo de L en base a $\epsilon_{\text{Cufen}}=f(\lambda)$. El resultado es semejante.

Si bien la curva *directa* del experimento no muestra cambios significativos (pendiente casi constante, como si se tratara de la simple adición de Cufen²⁺ a un sistema no reaccionante), lo cierto es que el método de Job dejó entrever otra cosa, en realidad sí puede tomarse al sistema como reactivo e incluso sugiere de nuevo una estequiometría 1:4.

Para hacer más clara la situación, se trazó la absorbancia (original, a la que no se le ha restado nada) en función de χ_M ($\chi_M = \nu/(\nu_0+\nu)$) para unas cuantas longitudes de onda seleccionadas. En la Fig. 13.9 se observan puntos experimentales cuando se añade una mezcla estequiométrica de cobre(II)/1,10-fenantrolina de concentración 1.0×10^{-4} M a una solución de cisteína de la misma concentración y en medio ácido (pH \approx 3, HClO₄). La línea continua está basada en las mismas medidas de absorbancia a la misma mezcla pero en ausencia de Cys. Es claro que esto muestra que en la mezcla se forma una nueva especie.

En la Fig. 13.10 se muestra la diferencia de absorbancias entre el sistema con cisteína y el que carece de este componente (el blanco) a partir de los datos de la Fig. 13.9. En esa curva aparece evidencia de una reacción global que consume 4 moles de cisteína por mol de cobre cúprico. En la Fig. 13.11 se compara los espectros de mezclas cuaternarias y ternarias (igual que la primera pero sin cisteína).

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

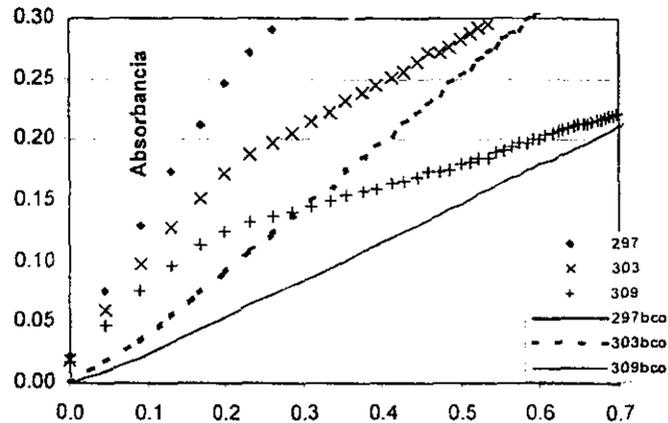


FIG. 13.9. Curvas de absorción en función de χ_M para la adición de una mezcla equimolar de Cu/o-fen a una solución de Cys de la misma concentración, $[Cys]=1.0 \times 10^{-4} M$, a $pH \approx 3$ con marcadores y en línea continua en ausencia de Cys.

En la Fig. 13.11 se observan, con motivo de comparación, los espectros de absorción de tres soluciones. 20 mL de una solución contenían ácido perclórico, tal que $pH \approx 3.0$, y se le añadieron 5 mL ($\chi = v/(v_0+v) = 5/(20+5) = 0.20$) de una solución de Cu(II)/fen en el mismo medio de concentraciones ambas $1.0 \times 10^{-4} M$. Ese espectro se llama *blanco/0.20*. Similarmente se define *blanco/0.26*. El espectro ahí llamado *Cys+Cufen/0.20* es equivalente al espectro *blanco/0.20* a diferencia de que en los 20 ml de alícuota se encontraba además cisteína de concentración $1.0 \times 10^{-4} M$. En esta mezcla la proporción de componentes era Cu/fen/Cys=1:1:4.

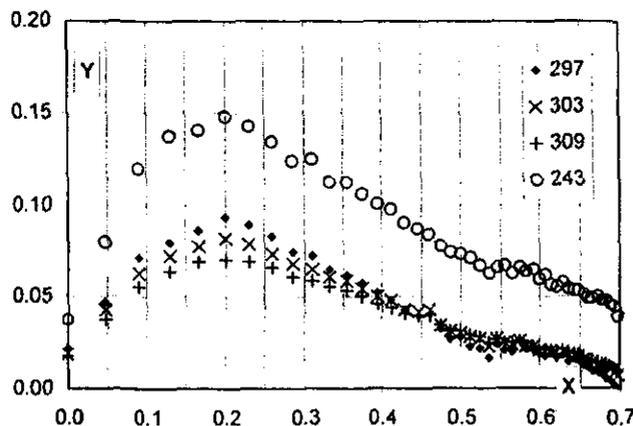


FIG. 13.10. Curvas de absorbancia corregida en función de χ_M (gráfica de Job) para los datos de la Fig. 13.9. "Y" es la diferencia de absorbancias entre soluciones con los cuatro componentes menos la del sistema de tres componentes (excepto cisteína). En otras palabras: la resta de los marcadores menos la línea continua en la Fig. 13.9.

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

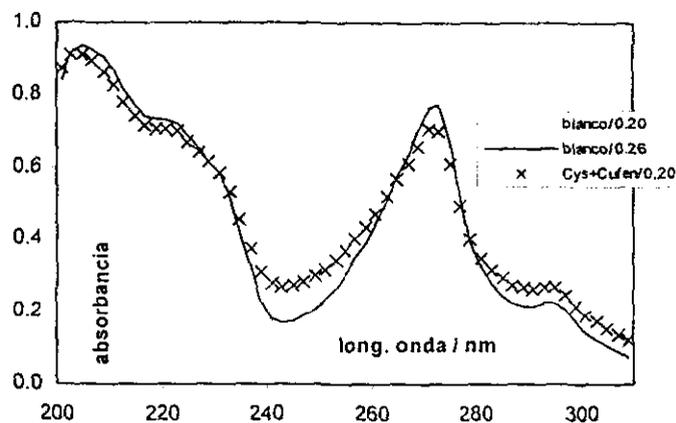


FIG. 13.11. Comparación de los espectros de absorción de mezclas de Cu y fen en cantidades equimolares a pH ≈ 3 (*blanco*) con la misma mezcla pero conteniendo cisteína en proporción $Cu/fen/Cys=1:1:4$ (*Cys + Cufen*). El número después de la diagonal corresponde al valor de χ_M .

La comparación de los espectros *blanco/0.26* y *Cys+Cufen/0.20* pone en evidencia el gran parecido de los espectros. Sin embargo, hay diferencias observables con facilidad. En algunas longitudes de onda un espectro absorbe más que el otro, para luego invertir ese orden. Destaca la diferencia de absorción en el máximo de la banda a 272 nm. También la absorbancia en el mínimo en la vecindad de los 240 nm. Es en esta última región donde se presentaría la absorbancia de la cisteína en la forma RS^- , ya que, recordemos, la forma RSH absorbe mucho menos. Pero a pH 3.0 el solo equilibrio ácido-base no explica la formación del grupo tiolato. Existen razones, por lo tanto, para pensar en la posibilidad de la ocurrencia de una reacción no contemplada que involucre al cobre, la 1,10-fenantrolina y a la cisteína.

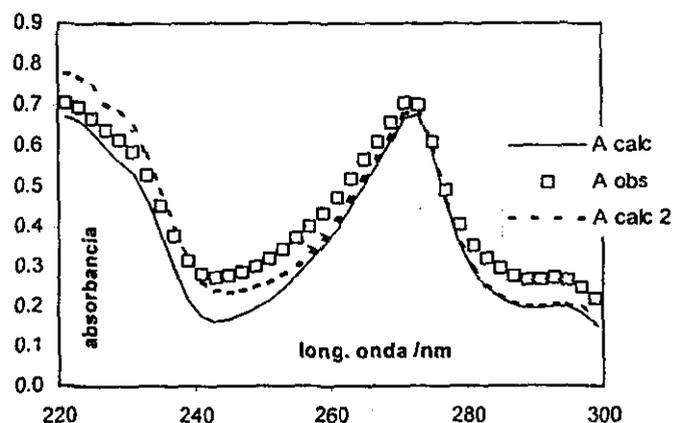


FIG. 13.12. Simulación de los espectros de absorción de mezclas de $Cu/fen/Cys$ 1:1:4 bajo el supuesto de que estas no reaccionan. *A calc* supone que no hay reacción del todo y que por lo tanto el grupo tiol no está disociado. *A calc2* supone la presencia del grupo tiolato a pesar de encontrarse la mezcla a pH = 3.0. La presencia de un grupo sulfuro (necesariamente unido al cobre) podría llegar a explicar las absorbancias más altas en la parte de las longitudes cortas del espectro.

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

En la Fig. 13.12 se muestra una simulación de un espectro hipotético (*A calc*) resultado de una mezcla no reaccionante Cu/*o*-fen/Cys en proporciones 1:1:4 suponiendo la formación completa del compuesto Cufen²⁺ y considerando la especie representativa de la cisteína a pH=3.0 con el grupo tiol no ionizado. La curva experimental se muestra con marcadores (*A obs*). La curva "*A calc2*" simula un espectro bajo la suposición de que se tiene a la cisteína en la forma RS⁻. Ninguna curva hipotética explica el espectro experimental. Sin embargo, la curva "*A calc2*" sugiere la presencia de sulfuros que por necesidad estarían unidos al átomo de cobre.

Esta evidencia sugiere una mezcla reaccionante en que se forma una especie que podría ser de estructura semejante a la que se propone para explicar las curvas de Job de la mezcla ternaria (Fig. 13.7). En ambos casos el pH=3.0 y las curvas de Job apuntan hacia la misma estequiometría global. Aquí también se formaría un dímero y lo que se tan sólo se reemplazaría a los dos nitrógenos de la cisteína unidos a cada núcleo cuproso por los de la 1,10-fenantrolina (ver Fig. 13.13)

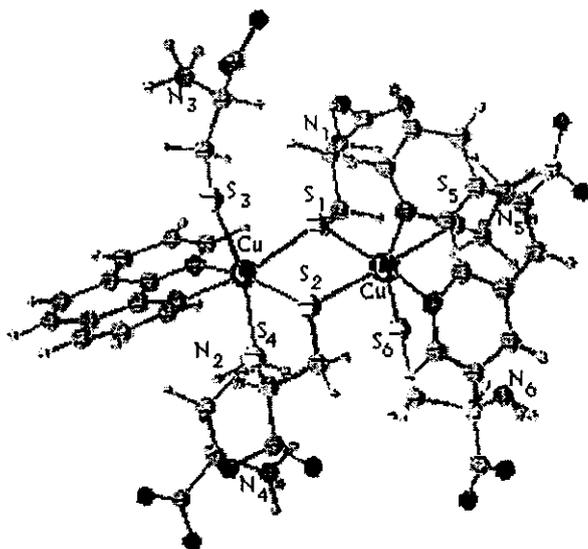


FIG. 13.13. Estructura propuesta para el dímero [(RS)₃Cufen]₂.

Esta tendencia del Cu a formar dímeros también se presenta en el sistema Cu / 1,10-fenantrolina / adenina (ade) en donde se ha llegado a hacer cristalografía de un compuesto de fórmula (Cu(fen)ade)₂ [1]

Análisis de datos con SQUAD

En el análisis por SQUAD se trataron diferentes estrategias para hacer converger al programa. Se intentó trabajar con dímeros [Cufen(Cys)_x]₂ sin éxito. El programa sólo pudo converger para una especie 1:1:1 contando con información experimental incluso de la forma 1:1:16. Los resultados aparecen en la tabla 13.1.

13. Discusión y resultados: Sistema H₂O / 1,10-fenantrolina / cisteína / Cu

Tabla 13.1. Refinamiento de $\log K_{(Cu, fen, Cys) / (Cufen)Cys}$

Modelo original				Modelo refinado	
ESPECIE	LogBETA	F o V	ϵ	$\log\beta$	s
CU(1)FEN(1)	9.60	Fija	Si	-	-
CU(1)FEN(2)CYS(1)	14.00	V	Si	13.90	0.06
CYS(1)H(1)	10.59	F	Dadas	-	-
CYS(1)H(2)	18.88	F	Dadas	-	-
CYS(1)H(3)	20.23	F	No	-	-
FEN(1)H(1)	4.93	F	No	-	-
				28.1	0.179

Las absorptividades molares se presentan en la Fig. 13.14

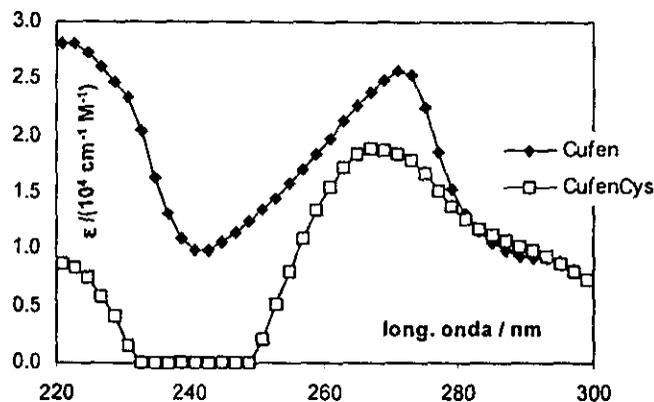


FIG. 13.14. Absorptividades molares para Cufen (que se permitieron variar durante el refinamiento) y el complejo ternario mixto CufenCys.

Este modelo refinado por SQUAD carece de sustento experimental dada la discusión precedente. Se rechaza por tal motivo. El hecho de que *no* se haya podido conciliar la curva de Job con el manejo de SQUAD puede tener una explicación simple desde que existe la posibilidad de reacciones redox simultáneas que evidentemente cambiarían la espectrofotometría y en cuyo caso el empleo de SQUAD requiere la medición del potencial del equilibrio electroquímico del par Cu(II)/Cu(I).

Bibliografía

[1] Comunicación personal con el Dr. Rafael Moreno

14. Conclusiones

12. Conclusiones.

La 1,10-fenantrolina es poco soluble en agua (aproximadamente 0.01M como solubilidad en agua pura). Es una base y su ácido conjugado tiene un pK_a de 4.9 ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $=0.1\text{ M}$, KCl). Se comporta como una monobase cuando el medio no es muy ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico 20%). Soluciones de ésta en el orden de $10^{-5}\text{ mol dm}^{-3}$ son adecuadas para realizar estudios espectrofotométricos en el UV. Es posible estudiar el desplazamiento y la forma de las bandas en diferentes medios. Las absorbancias que se administran a SQUAD resuelven sin problemas para la constante de equilibrio y las absorvidades molares del par ácido/base (Capítulos 3 y 9)

En estas orden de concentración la 1,10-fenantrolina, en presencia de cobre(II), forma una banda más fina con un máximo a los 272 nm en medios ácidos. La variación de la razón metal/ligante y del pH son variables que se manejan en el laboratorio para medir la absorbancia a diferentes longitudes de onda. Esta información se maneja para refinar las constantes de formación de los compuestos de coordinación (estequiometría 1:1, 1:2 y 1:3) y los hidroxocomplejos mixtos que se forman. Los resultados que aquí se obtienen se encuentran dentro del margen de los valores reconocidos en la literatura científica. Las diferencias no son significativas ya que los valores obtenidos para las constantes (en los diferentes intentos) se encuentran con una diferencia pequeña o grande dependiendo de los datos y modelos asignados. Es decir, las diferencias no son constantes. La selección final toma en cuenta parámetros estadísticos y la forma de los espectros (desviaciones estándar de las absorvidades molares) de las especies. Si se desea, el conjunto de valores puede ser mejorado. Para lograrlo sería conveniente realizar experimentos en condiciones diferentes a las de este trabajo. Esta información complementaría la actual y ayudaría a establecer un conjunto de valores más preciso. La metodología resulta exitosa para este problema (capítulos 5 y 11).

El sistema agua / cisteína presenta una química ácido-base producto de tres grupos ionizables. El esquema de disociación presenta dos opciones que llevan a la consideración de los equilibrios de tautomerización. La construcción de un modelo más satisfactorio que explique la composición de una solución de cisteína a nivel estructural y no sólo estequimétrico, es motivo de un análisis posterior a los datos de absorbancia. SQUAD proporciona las macroconstantes y las absorvidades molares de las macroespecies correctamente. La determinación de las microconstantes se lleva a cabo por medio de un análisis de ajuste a diferentes longitudes de onda y no únicamente a una sola como en los estudios publicados. Este resultado lleva también a la conclusión de la "convivencia" simultánea de las diferentes microespecies (capítulos 4 y 10).

Se han publicado estudios que prueban la reducción del cobre(II) por la cisteína en medio amoniacal. El cobre(II) oxida a la cisteína formando cistina. También se sabe que ocurre esto con la 2-mercaptoetilamina, donde incluso se ha propone la formación de un dímero. Cuando ambos núcleos son cobre(I), entonces la solución es incolora y si al menos uno es cobre(II), entonces la solución es morada.

Los estudios espectrofotométricos realizados aquí al sistema cobre / cisteína / agua prueban la reacción entre aminoácido y metal. Las curvas de Job indican una estequiometría de reacción 1:4 en medios ácidos. Se propone la formación de un dímero de cobre(I) con formación de cistina para explicar estos resultados. En sistemas de esta complejidad es necesario realizar estudios donde se obtenga más información. Cuando reacciones redox y de complejación se presentan conjuntamente, entonces la espectrofotometría ayuda pero la electroquímica se presenta obviamente útil. La resolución satisfactoria de este sistema se lograría con la cooperación de las técnicas y metodologías de la química inorgánica, la electroquímica y la analítica, al menos.

El sistema cobre/ 1,10-fenantrolina / cisteína / agua presenta una espectrofotometría donde apenas se distingue la presencia de la cisteína. Sin embargo, sí ocurre una reacción pues queda probado que las absorbancias no son simplemente la adición de dos términos correspondientes a elementos inertes. Los métodos clásicos permiten observar una estequiometría 1:4, misma conclusión que en ausencia de 1,10-fenantrolina. La explicación propuesta es esencialmente la misma en ambos sistemas. Para la estructura del compuesto formado en presencia de 1,10-fenantrolina, sólo se sustituyen dos grupos amina de las cisteínas enlazadas al cobre por los dos grupos amina del ligante heterocíclico. Es necesario realizar más estudios en la búsqueda de elementos para entender mejor la realidad del este sistema.

El estudio de las soluciones acuosas no es fácil y en la actualidad hay una tendencia a estudiar los sistemas que no han podido ser resueltos a satisfacción hasta ahora. Obviamente no son los más fáciles y por ello merecen de todo el empeño del investigador y del manejo de las técnicas más modernas sin olvidarse de los métodos clásicos cuando puedan ser de utilidad.