

119779124

X/888



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
*
FACULTAD DE QUIMICA
Departamento de Química Analítica



CATEDRA DE BROMATOLOGIA, TOXICOLOGIA Y ANALISIS QUIMICO APLICADO

FACULTAD DE FARMACIA

ESTUDIO DE LAS MONOPIRIDILHIDRAZONAS DERIVADAS
DEL DIPIRIDILGLIOXAL Y FENILGLIOXAL COMO
REACTIVOS ANALITICOS
ESPECTROFOTOMETRICOS

- * -

Trabajo presentado para aspirar al Grado
de Doctor en Química por la Licenciada

M^a Luisa Marqués González

375



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

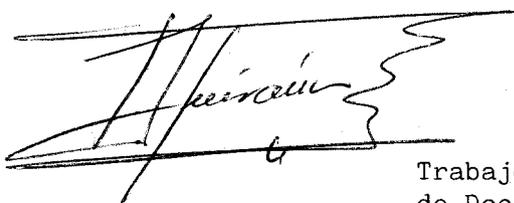
CATEDRA DE BROMATOLOGIA, TOXICOLOGIA Y
ANALISIS QUIMICO APLICADO

- * -

ESTUDIO DE LAS MONOPIRIDILHIDRAZONAS DERIVADAS DEL
DIPYRIDILGLIOXAL Y FENILGLIOXAL COMO REACTIVOS
ANALITICOS ESPECTROFOTOMETRICOS.

EL CATEDRATICO PONENTE:

D.Alfonso Guiraum Pérez



Trabajo presentado para aspirar al Grado
de Doctor en Química por la Licenciada

M^a Luisa Marqués González

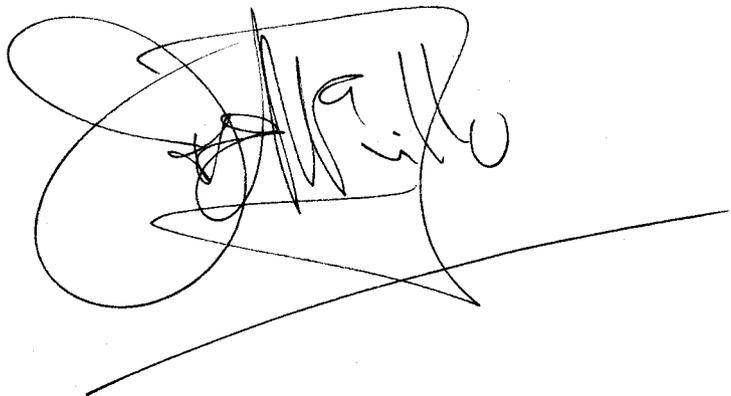


JOSE MARIA TRILLO DE LEYVA, CATEDRATICO DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE QUIMICA INORGANICA Y FISICO-QUIMICA DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA,

CERTIFICO:

Que la presente Memoria, titulada: "ESTUDIO DE LAS MONOPIRIDILHIDRAZONAS DERIVADAS DEL DIPYRIDILGLIOXAL Y FENILGLIOXAL COMO REACTIVOS ANALITICOS ESPECTROFOTOMETRICOS", que presenta Dña M^a Luisa Marqués González, ha sido realizada en la Cátedra de Bromatología, Toxicología y Análisis Químico Aplicado, bajo la Dirección del Profesor Titular Encargado de la Cátedra, Dr.D.Agustín Garcia Asuero, durante el tiempo exigido y reuniendo los requisitos necesarios para este tipo de trabajo.

Y para que conste, expido y firmo la presente certificación en Sevilla, a dieciocho de Junio de mil novecientos ochenta y seis.-

A large, stylized handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. M. Trillo de Leyva', is written over a horizontal line. The signature is highly cursive and overlaps the line.

AGUSTIN GARCIA ASUERO, PROFESOR-TITULAR ENCARGADO DE LA CATEDRA DE ANALISIS QUIMICO APLICADO Y BROMATOLOGIA DEL DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA, TOXICOLOGIA Y ANALISIS QUIMICO APLICADO DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA,

CERTIFICO:

Que la presente Tesis Doctoral, titulada "ESTUDIO DE LAS MONOPIRIDILHIDRAZONAS DERIVADAS DEL DIPYRIDILGLIOXAL Y FENILGLIOXAL COMO REACTIVOS ANALITICOS ESPECTROFOTOMETRICOS", que presenta la Licenciada M^a Luisa Marqués González, ha sido realizada en esta Cátedra bajo mi Dirección reuniendo, a mi juicio, los requisitos exigidos en este tipo de trabajo.

Y para que conste, firmo la presente certificación en Sevilla, a dieciocho de Junio de mil novecientos ochenta y seis.-

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Agustín García Asuero', with a long horizontal stroke extending to the left.

La autora de esta Memoria desea expresar su agradecimiento:

- * Al Profesor, Dr.D.José María Trillo de Leyva por darme la oportunidad de llevar a cabo estas investigaciones.

- * Al Profesor, Dr.D.Alfonso Guiraum Pérez, por la amabilidad mostrada al actuar como Catedrático-Ponente.

- * Al Dr.D.Agustín García Asuero, por su eficaz Dirección y por el gran interés demostrado a lo largo de la realización de todo el trabajo.

- * A la Dr^a.Angeles Herrador Morillo, por su valiosa ayuda.

- * A los compañeros de la Cátedra de Bromatología, Toxicología y Análisis Químico Aplicado, que tanto han facilitado mi labor.

A mis padres

	<u>Página</u>
INTRODUCCION,.....	1
 <u>CAPITULO I.-</u>	
TECNICAS EXPERIMENTALES Y METODOLOGIA GENERAL UTILIZADA,.....	43
I.1.- Reactivos y disoluciones empleadas,.....	44
I.2.- Aparatos,.....	45
I.3.- Métodos experimentales,.....	46
I.3.1.- Síntesis de los reactivos,.....	46
I.3.2.- Solubilidad de los reactivos en distintos disolventes,.....	47
I.3.3.- Espectros IR de los reactivos,.....	47
I.3.4.- Espectros RMN de los reactivos,.....	48
I.3.5.- Espectros UV-V de los reactivos en distintos disolventes,.....	48
I.3.6.- Espectros UV-V a distintos valores de pH,...	48
I.3.7.- Cálculo de las constantes de disociación,...	48
I.3.8.- Comprobación de la ley de Beer de los reactivos,.....	49
I.4.- Estudio de la reaccionabilidad con iones metálicos,.	49
I.5.- Estudio de los sistemas reactivo-ión metálico: Naturaleza de las reacciones,.....	50
I.6.- Características fotométricas de los quelatos,.....	51
 <u>CAPITULO II.-</u>	
ESTUDIO DE LOS REACTIVOS,.....	52
II.1.- Síntesis de los reactivos,.....	53
II.2.- Solubilidad de los reactivos,.....	53
II.3.- Espectros UV de los reactivos en distintos disolventes,.....	54
II.4.- Espectros IR de los reactivos,.....	59
II.5.- Espectros RMN de los reactivos,.....	63
II.6.- Espectros UV-V de los reactivos a distintos valores de pH,.....	69
II.7.- Evaluación de las constantes de acidez,.....	79
II.7.1.- Evaluación de las constantes de acidez de los reactivos: Teoría,.....	80
* Determinación del número de especies en disolución,.....	86
* Evaluación numérica de las constantes de acidez sin medida de pH,.....	89

	<u>Página</u>
II.7.2.- Evaluación espectrofotométrica de las constantes de acidez de la DPGPH,.....	91
* Evaluación del pKa ₅ ,.....	91
* Evaluación del pKa ₄ y pKa ₃ ,.....	95
* Evaluación de las constantes de acidez a partir de los puntos singulares de la curva absorbancia-pH (aplicación a la evaluación de pKa ₄ y pKa ₃),.....	142
* Equilíbrios de protonación de la DPGPH en ácido perclórico concentrado,.....	153
II.7.3.- Evaluación espectrofotométrica de las constantes de acidez de la FGMPH,.....	158
* Evaluación de la constante de acidez del nitrógeno imínico,.....	159
* Evaluación de la constante de acidez del nitrógeno piridínico,.....	173
II.7.4.- Evaluación espectrofotométrica de las constantes de acidez de la BMPH,.....	179
* Evaluación del pKa del nitrógeno piridínico,.....	179
* Evaluación de la constante de acidez del grupo imínico,.....	180

CAPITULO III.-

ESTUDIO DE LA REACCIONABILIDAD DE LA DPGPH CON LOS IONES METALICOS. DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE COBALTO,.....	207
III.1.- Estudio de la reaccionabilidad de la DPGPH con los iones metálicos,.....	208
III.1.1.- Curvas absorbancia-pH,.....	214
III.1.2.- Estequiometrías de los complejos,.....	222
III.2.- Determinación espectrofotométrica de Co con la DPGPH	236
III.2.1.- Espectro de absorción y efecto del pH,....	236
III.2.2.- Influencia del disolvente,.....	238
III.2.3.- Cantidad óptima de reactivo,.....	246
III.2.4.- Efecto de la fuerza iónica, del orden de adición y del tiempo de mezcla de los reactivos,.....	246
III.2.5.- Estequiometría y estructura,.....	250
III.2.6.- Procedimiento recomendado para la determinación espectrofotométrica de Co con DPGPH	251
III.2.7.- Ley de Beer. Reproducibilidad,.....	251
III.2.8.- Efecto de los iones extraños,.....	264
III.2.9.- Determinación de cobalto en preparaciones farmacéuticas,.....	278

CAPITULO IV.-

ESTUDIO DE LA REACCIONABILIDAD DE LA FGMPH CON LOS IONES METALICOS. DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE ZINC,.....	285
IV.1.- Estudio de la reaccionabilidad de la FGMPH con los iones metálicos,.....	286
IV.1.1.- Curvas absorbancia-pH,.....	287
IV.1.2.- Estequiometrías de los complejos,.....	308
IV.2.- Determinación espectrofotométrica de zinc con la FGMPH,.....	323
IV.2.1.- Elección del disolvente,.....	323
IV.2.2.- Influencia de la cantidad de tampón,.....	328
IV.2.3.- Influencia de la fuerza iónica,.....	328
IV.2.4.- Orden de adición de los reactivos,.....	330
IV.2.5.- Composición del complejo,.....	330
IV.2.6.- Procedimiento recomendado,.....	331
IV.2.7.- Sensibilidad, precisión y exactitud,.....	331
IV.2.8.- Estudio de las interferencias,.....	335
IV.2.9.- Determinación de zinc en agua potable,....	350
CONCLUSIONES,.....	354
BIBLIOGRAFIA,.....	358

o o o o o o o o o

o o o o o o o

I N T R O D U C C I O N

Durante muchos años la piridina misma (1-2) ha sido empleada como reactivo analítico. La sustitución del anillo bencénico por el de piridina en una molécula suministra una posición adicional de coordinación, incrementando también su solubilidad en agua, etanol y otros disolventes orgánicos. Por tanto, no es de extrañar que las piridilhidrazonas hayan encontrado una aplicación más amplia que las fenilhidrazonas (3) como reactivos analíticos.

Desde que Lions y Martin en 1958 (4) sintetizaron la piridilhidrazona del piridín-2-aldéhido (PAPHY) se han llevado a cabo muchos estudios analíticos acerca de los compuestos de tipo piridilhidrazona (5-6). Tales derivados (incluyendo en este grupo las quinolil y pirimidilhidrazonas), se comportan como reactivos colorimétricos sensibles y selectivos de cobalto (Tabla 1); cobre (Tabla 2); níquel y hierro (Tabla 3); vanadio (Tabla 4) y paladio (Tabla 5), y la aplicación de estos reactivos a la determinación espectrofotométrica de cobalto y paladio ha sido estudiada frecuentemente.

Cuando se mezclan disoluciones diluidas de cobalto y un reactivo de tipo piridilhidrazona, en medio aproximadamente neutro, se forman, generalmente, coloraciones rojizas o naranja-rojizas. En medio ácido los reactivos de este tipo pierden su capacidad de complejación con los iones metálicos debido a que se produce la protonación del átomo de nitrógeno piridínico de los mismos. Sin embargo, los complejos de cobalto son inertes y una vez formados no se destruyen mediante la adición de cantidades elevadas de ácido. Existen tres tipos de comportamiento cuando se adiciona ácido: a) las coloraciones permanecen inalteradas; b) se produce una protonación de los complejos que pasan de color rojizo a color amarillo; c) se produce un desplazamiento batocrómico del máximo de absorción. Asimismo, los complejos formados entre los reactivos de tipo piridilhidrazona y los demás iones metálicos, generalmente, se destruyen en medio ácido, por lo que las reacciones gozan, además de una sensibilidad adecuada, de una excelente selectividad. Resulta por tanto atractivo el establecimiento de métodos espectrofotométricos de determinación de cobalto empleando este tipo de reactivos.

Por otra parte, la aplicación de los compuestos de tipo piridilhidrazona a la determinación de zinc ha recibido menos atención (Tabla 6), probablemente debido a la poca selectividad de la reacción dado que otros complejos ión metálico-piridilhidrazona absorben considerablemente a la longitud de onda de máxima absorción de los complejos de zinc. El elevado pH de formación de los complejos de zinc también favorece la aparición de precipitados de hidróxidos así como la precipitación de complejos neutros ión metálico-piridilhidrazona, cuando los cationes extraños se encuentran por encima de una cantidad dada. También puede ocurrir, y esto es otro inconveniente, que los reactivos absorban a la longitud de onda de máxima absorción de los complejos de zinc.

Han sido llevados a cabo estudios espectrofluorimétricos con quince hidrazonas N-heterocíclicas (62); siendo el reactivo más sensible de los estudiados la bencimidazol-2-aldéhid-2-quinolilhidrazona, que permite la determinación de zinc por debajo de 1 ppb ($\lambda_{ex} = 490 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 520 \text{ nm}$). Las hidrazonas heterocíclicas derivadas de o-hidroxialdéhidos han sido ensayadas como reactivos espectrofluorimétricos (63) de zinc.

La piridín-2-aldéhid-2-quinolilhidrazona (64) ha sido utilizada en la determinación espectrofluorimétrica de zinc en el rango de concentración de 0,026 a 0,031 ppm ($\lambda_{ex} = 485 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 435 \text{ nm}$). Se han realizado estudios acerca de la extracción de zinc con PAPHY en cloroformo (65). Se ha propuesto asimismo la determinación de hierro y zinc en suero mediante espectroscopía de absorción atómica (EAA) tras la extracción de los correspondientes complejos metálicos con PAPHY en alcohol isoamílico (66). La determinación simultánea de zinc y cadmio con piridín-2-aldéhid-2-quinolilhidrazona como agente complejante (67) precisa la extracción a partir de disoluciones acuosas en cloroformo previamente a la aplicación de la EAA. La determinación de algunos metales de transición por EAA tras la extracción de sus complejos metálicos con piridín-2-aldéhid-2-quinolilhidrazona en alcohol isoamílico o metil-isobutilcetona (68) también ha sido objeto de estudio. El complejo catiónico formado por la PAPHY con zinc sufre desprotonación en dos etapas (69); se ha determinado la constante de equilibrio así como la entropía de la reacción. La valoración en agua (70) y en dioxano-agua (71) del complejo zinc-PAPHY ha sido estudiada. Los complejos de zinc de la PAPHY (72),

dipiridilgloxal 2-piridilhidrazona (73) y glixal bis(2-piridil)hidrazona (74) se comportan como indicadores ácido-base. Se han aislado quelatos metálicos sólidos de zinc y otros iones divalentes, con un cierto número de ligandos del tipo piridilhidrazona, por ejemplo: 6-Me-PAPHY (75), 5-acetil-8-quinolil 2-piridilhidrazona (76) y dipiridilgloxal bis(2-piridil)hidrazona (77).

Algunos de los derivados mencionados anteriormente -agentes ligantes tridentados- forman quelatos altamente coloreados con los iones zinc. Se han publicado datos espectrales para los complejos formados por zinc y piridilhidrazonas y reactivos estructuralmente relacionados (55), pero no se han establecido en cambio las interferencias causadas por la presencia de iones extraños. Por ejemplo, la fenantridín-2-aldehído 2-piridilhidrazona permite la determinación colorimétrica exacta por extracción de cantidades de zinc del orden de la ppm, pero el cadmio interfiere. Las mono y bis-piridilhidrazonas del dipiridilgloxal (78) así como la 3-hidroxipiridín-2-aldehído 2-piridilhidrazona (79) también forman complejos de zinc altamente coloreados. El ligando 2-(3'-sulfobenzoil)piridín 2-piridilhidrazona forma un complejo aniónico con zinc (y con otros iones metálicos) cuyo comportamiento en la resina Bio-Rad AG 1X2 ha sido estudiado en detalle (80). En vista de las elevadas sensibilidades de las reacciones zinc-reactivos tipo piridilhidrazona, resulta interesante tratar de establecer métodos selectivos de análisis con estos compuestos. La 2-benzoilpiridina 2-piridilhidrazona forma un complejo con zinc en medio alcalino ($\text{pH} > 10,5$) que muestra un máximo de absorción a 455 nm con una absortividad molar de $51000 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Esta propiedad hace posible la determinación directa de cantidades traza (10) de zinc (0,01% de zinc en aluminio). La falta de selectividad puede superarse mediante la utilización de agentes enmascarantes apropiados o mediante una técnica de desenmascaramiento diferencial, tal como indican Platte y Marcy (81) o cualquier modificación apropiada de esta última. Así, la dipiridilgloxal 2-piridilhidrazona (13) y la dipiridilgloxal 2-quinolilhidrazona (18) han sido propuestas en la determinación directa de iones zinc. No obstante, estos métodos presentan ciertas desventajas tales como la escasa estabilidad de las coloraciones y el elevado coste de los reactivos.

Las principales piridilhidrazonas estudiadas han sido derivadas de aldéhdos y cetonas piridínicos y compuestos relacionados, habiendo recibido en cambio escasa atención el estudio de reactivos con átomos donadores distintos del nitrógeno piridínico. La línea general seguida ha sido incrementar el sistema π de la molécula de reactivo en orden a obtener una mayor sensibilidad con los iones metálicos (Figura 1).

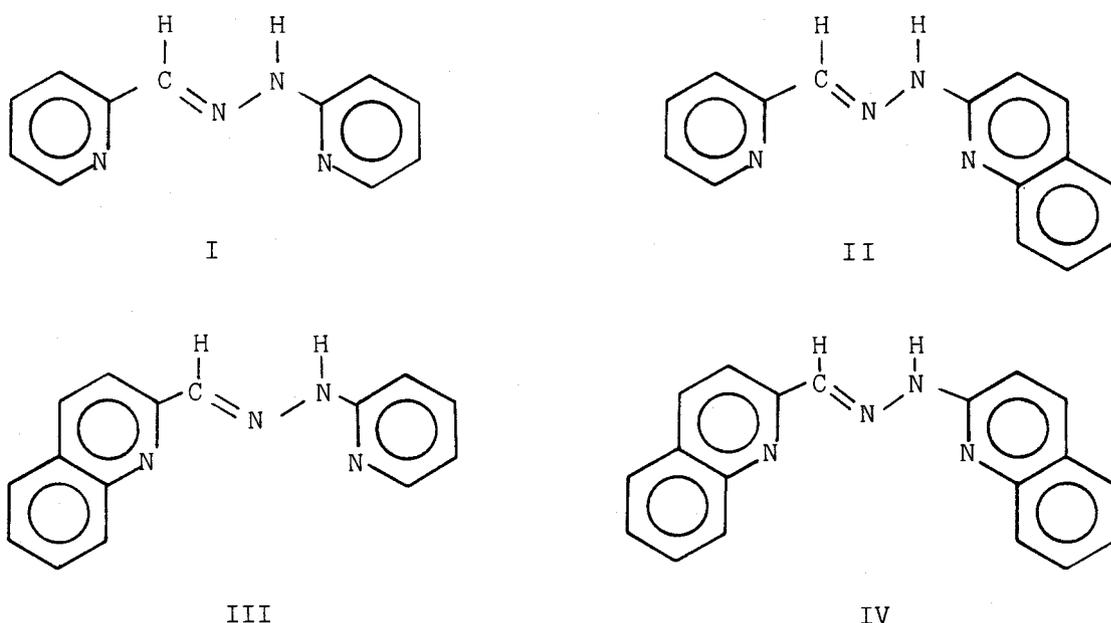


FIGURA 1 * I - Piridín-2-aldéhdido-2-piridilhidrazona
 II - Piridín-2-aldéhdido-2-quinolilhidrazona
 III - Quinolín-2-aldéhdido-2-piridilhidrazona
 IV - Quinolín-2-aldéhdido-2-quinolilhidrazona

Se han estudiado, por orden cronológico, los derivados del piridín-2-aldéhdido, al que ha seguido la 2-benzoilpiridina y di-2-piridilcetona. En cuanto al tipo de reactivo, primero se estudiaron las piridilhidrazonas y después las quinolilhidrazonas, piracinihidrazonas (82-83), ftalacinihidrazonas (50) y quinoxalilhidrazonas (84) (Figuras 2 y 3).

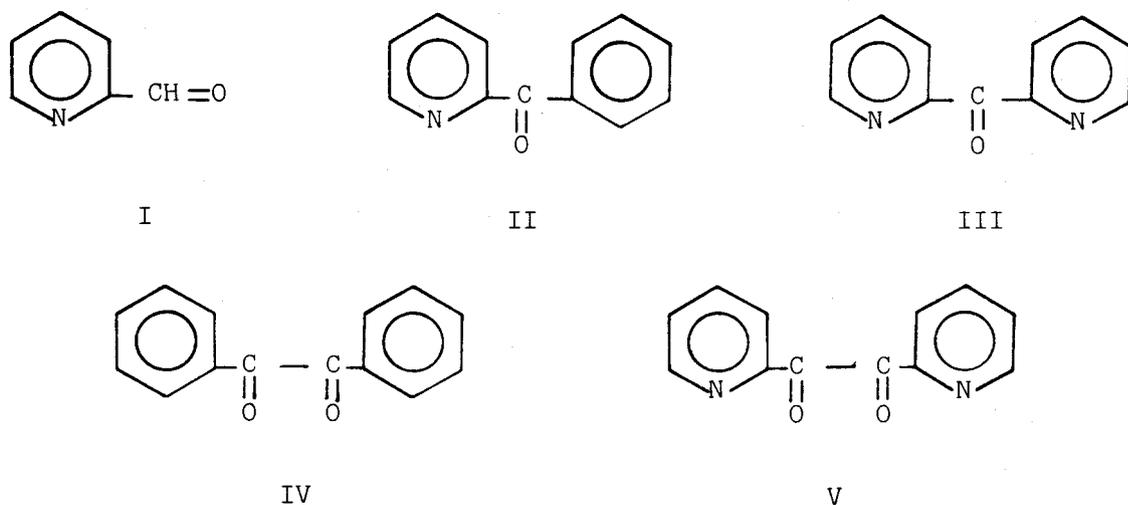


FIGURA 2 * I - Piridín-2-alhído, II - 2-Benzoilpiridina
 III - di-2-Piridilcetona, IV - Bencilo, V - Dipiridilglioxal

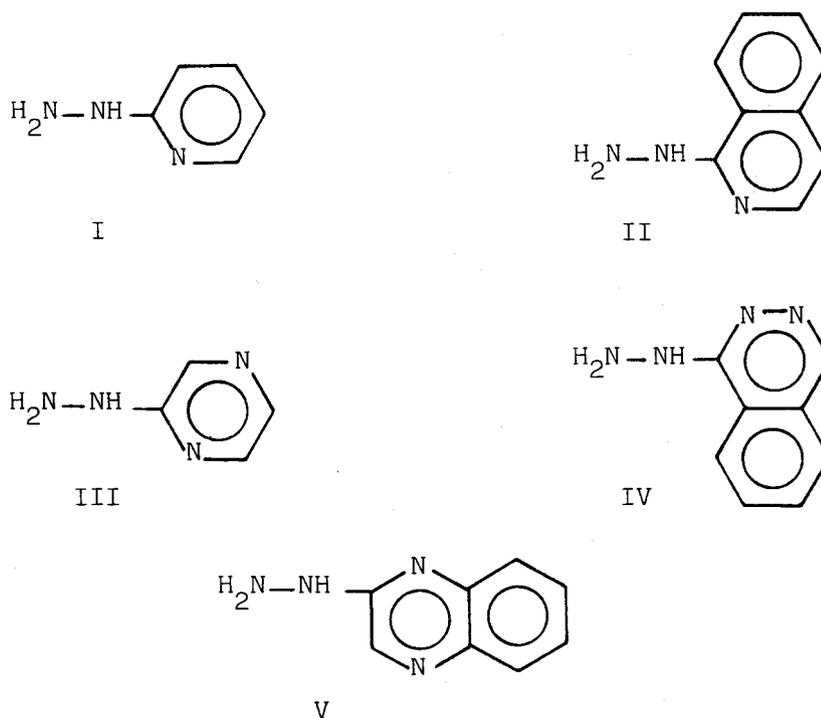


FIGURA 3 * I - 2-Piridilhidracina, II - 2-Quinolilhidracina,
 III - 2-Piracinilhidracina, IV - 2-ftalacinilhidracina
 V - 2-Quinoxalilhidracina

Se ha pensado también en el reemplazamiento de uno de los átomos de nitrógeno de este tipo de hidrazonas tridentadas por otra agrupación; así, la 2-piridil (85) y 2-quinolilhidrazona del ácido fenilpirúvico (86) han sido empleadas en la determinación espectrofotométrica de cobre.

Se han sintetizado hidrazonas heterocíclicas derivadas de o-hidroxialdehídos, comparándose con reactivos de estructura análoga (colorantes o-hidroxiazo) ampliamente utilizados en la práctica analítica (87). La presencia en los quelatos metálicos de las primeras de enlaces M-O (ión metálico-oxígeno) modifica considerablemente las propiedades analíticas de tal tipo de ligando. Son reactivos potenciales de un cierto número de iones, especialmente Zn, Al, Ga, In y Sc.

Resulta particularmente interesante que las bases de Schiff derivadas del salicilaldehído tales como la salicilaldehído-2-piridilhidrazona forman en disolución complejos de calcio y de magnesio fluorescentes, aunque, desafortunadamente, resulta necesaria la presencia de un gran exceso de iones metálicos alcalinotérreos. Recientemente, se ha puesto a punto una determinación espectrofluorimétrica de aluminio con piridín-3-hidroxi-2-aldehído-2-piridilhidrazona, determinándose aluminio en aguas de bebida y agua de mar (79).

En los últimos veinte años, por tanto, numerosos compuestos del tipo piridilhidrazona y relacionados se han sintetizado e investigado con el propósito de aprovechar su capacidad de reaccionar con trazas de iones metálicos, y puede afirmarse, sin lugar a dudas, que el valor de las piridilhidrazonas como reactivos espectrofotométricos de iones metálicos está hoy día firmemente establecido.

La 2-piridilhidrazina fue preparada por primera vez por Fargher y Furness (88) en 1915, haciendo reaccionar hidrato de hidracina y 2-cloropiridina, aunque también puede obtenerse mediante hidracinación directa del anillo de piridina. La hidracida de sodio en hidracina reacciona con piridina para dar lugar a la α -hidracina correspondiente (89-90). Deben adoptarse precauciones especiales en el manejo de este compuesto ya que se descompone rápidamente cuando se expone al aire. A pesar de que su síntesis fue ideada hace ya muchos años, ha encontrado aplicación en Química Orgánica preparativa.

Sólamente aparecen una docena de citas acerca de los usos de la 2-piridilhidracina como material de partida para la síntesis de compuestos orgánicos distintos de las bases de Schiff. En realidad, la 2-piridilhidracina reacciona muy fácilmente con compuestos carbonílicos, aldéhdos o cetonas, para dar lugar a piridilhidrazonas. Mediante una elección apropiada del aldéhdido o cetona de partida, se pueden obtener compuestos con interesantes propiedades analíticas. Las posibilidades analíticas de este tipo de compuestos fueron primeramente observadas por Lions y Martin (4), pero es a partir de la publicación de una anotación de Geldard y Lions (91) y un pequeño resumen de Cameron y col. (92), que trataba acerca de la evaluación preliminar de la piridín-2-aldéhdido-2-piridilhidrazona como reactivo analítico, cuando se produce un gran interés acerca del uso de las bases de Schiff derivadas de la 2-piridilhidracina como reactivos orgánicos colorimétricos para la determinación de trazas de iones metálicos. Una muestra del impacto producido por este tipo de reactivos se encuentra en las Tablas 1-6.

En realidad, la 2-piridilhidracina misma origina reacciones coloreadas con los iones metálicos. Emmert y Schneider (93) indican en 1933 que el complejo formado entre Fe(II) y la 2-piridilhidracina se oxida fácilmente originando el correspondiente complejo de Fe(III), de manera contraria a los complejos ferrosos derivados del dipiridilo y de la o-fenantrolina, hecho citado posteriormente por Korenman (94). Se han publicado una serie de trabajos que tratan acerca de su significación farmacológica (95-98). Se ha encontrado que la 2-piridilhidracina es un reactivo del grupo carbonilo que es capaz de inducir la fragmentación (espectrometría de masas) en un esqueleto alicíclico con una eficiencia comparable a la de un grupo amino terciario o un grupo etilen-acetal (99). En condiciones suaves, la 2-piridilhidracina reacciona con o- y p- benzoquinona formando colorantes piridilazóicos no accesibles a través de rutas sintéticas convencionales. Esta reacción se ha empleado para preparar 2-(2-piridilazo)-1-naftol (α -PAN), un isómero del β -PAN. Las posibilidades analíticas de este, y otros compuestos análogos, han sido estudiadas por Anderson y Nickless (100-101) y por Betteridge y John (102-105).

El uso de las piridilhidrazonas no se ha restringido únicamente a sus aplicaciones como reactivos espectrofotométricos. Estos

compuestos -como hemos indicado anteriormente- también son útiles como reactivos espectrofluorimétricos (106-109) y como indicadores ácido-base (72, 110-111), e indicadores metalocrómicos (112). Se han realizado asimismo estudios de extracción con disolventes de los complejos metálicos de la piridín-2-aldéhido-2-piridilhidrazona (113), así como de las propiedades cromatográficas de los complejos de la piridín-2-aldéhido-2-quinolilhidrazona (114). Este último reactivo se ha empleado como agente complejante en la determinación de elementos traza en cereales por cromatografía en capa fina (115).

En los laboratorios de nuestra Cátedra se emprendió hace unos años la preparación de las bis-piridilhidrazonas derivadas del glioxal, biacetilo, 1,2-ciclohexanodiona y di(6-metil-piridil)glioxal bis(2-piridil)hidrazona así como las monopiridilhidrazonas derivadas del biacetilo y biacetilmonoxima (Figura 4) como parte de una investigación sistemática acerca del uso de las bases de Schiff derivadas del biacetilo y compuestos relacionados (116-117).

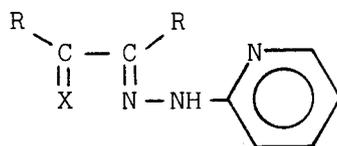
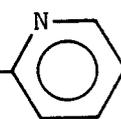
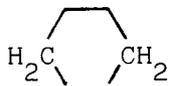
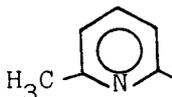


FIGURA 4

Nombre	R	X
Glioxal bis(2-piridil) hidrazona	-H	
Biacetil bis(2-piridil) hidrazona	-CH ₃	
1,2-Ciclohexanodiona bis (2-piridil)hidrazona		
di(6-Metil-piridil)glioxal bis(2-piridil)hidrazona		
Biacetil mono(2-piridil) hidrazona	-CH ₃	= O
Biacetil monoxima (2-piridil) hidrazona	-CH ₃	= N - OH

Se ha seleccionado para estudio en nuestros laboratorios, una familia de ligandos del tipo piridilhidrazona debido a la amplia utilidad e interés de los mismos. Los objetivos analíticos de tales investigaciones son el desarrollo de nuevos métodos de determinación de iones metálicos que superen en sensibilidad y/o selectividad a los métodos ya establecidos. Típicamente los estudios implican la comparación de un ligando modelo con análogos sustituidos. Esta Cátedra es pionera en el estudio de las piridilhidrazonas en nuestro país. La evaluación preliminar de la biacetil bis(2-piridil)hidrazona como reactivo analítico fue llevada a cabo por Asuero (118) en 1978. Este ligando tetradentado sintetizado por Lions y Martin en 1958 (4) es superior como reactivo colorimétrico a su análogo la bencil bis(2-piridil)hidrazona (78) que posee la misma estructura básica, y es un reactivo potencial de cobalto y de paladio, aunque hasta la fecha no se han descrito aplicaciones prácticas con el mismo.

Hasta hace unos años no existía en la literatura analítica información acerca de la presencia simultánea de una agrupación oxima y otra de piridilhidrazona en una molécula ensayada con propósitos analíticos, aunque eran bien conocidos varios reactivos que poseían ambas agrupaciones oxima y fenilhidrazona en su molécula (119-123). La biacetilmonoxima 2-piridilhidrazona fue sintetizada también en 1958 por Lions y Martin (116), quienes aislaron sus complejos de Cu(II) y Co(III). Este compuesto puede actuar como un agente quelatante tridentado y los átomos donadores en su molécula están dispuestos de tal manera que pueden formarse anillos quelatos bicíclicos simétricos en reacción con los iones metálicos.

Algunos compuestos quelatos planos tetradentados han sido preparados a partir de biacetil bis(2-piridil)hidrazona e iones metálicos de transición que permiten la formación de estructuras plano-cuadradas (124). No obstante, no existían estudios acerca de sus formas de equilibrio, constantes de disociación, comportamiento a distintos valores de pH, efecto de variados disolventes orgánicos, relaciones metal ligando o estabilidades, que tan importantes son en Química Analítica, ya que las propiedades complejantes de las moléculas dependen tanto de la presencia y disposición de los grupos dadores de electrones en la molécula de reactivo, como de su solubilidad y de

sus propiedades ácido-base (125-129).

La reacción de la 2-piridilhidracina con una α -dicetona para obtener monopiridilhidrazona fue descrita por primera vez por Chiswell, Lions y Tomlinson (130), desarrollando posteriormente Pflaum y Tucker (12) un método espectrofotométrico de determinación de cobalto con un reactivo de este tipo, la bencil mono(2-piridil)hidrazona.

La biacetil mono(2-piridil)hidrazona está estrechamente relacionada con este último reactivo. Las posibilidades analíticas como reactivo colorimétrico de la biacetilmonoxima 2-piridilhidrazona han sido estudiadas en nuestra Cátedra (131). También han sido objeto de estudio las propiedades ácido-base y las características espectrales de la biacetil bis(2-piridil)hidrazona, biacetilmonoxima 2-piridilhidrazona y biacetil mono(2-piridil)hidrazona, junto con la reaccionabilidad con los iones metálicos; en particular la biacetil mono(2-piridil)hidrazona se ha examinado en detalle (111, 22).

Se ha puesto a punto un método para la determinación espectrofotométrica de cobalto con el uso de biacetil mono(2-piridil)hidrazona. Este reactivo se seleccionó con este objeto debido a varias razones:

a) La elevada solubilidad del mismo, así como de sus complejos en medio acuoso.

b) El hecho de que la absorción del reactivo a la longitud de onda de máxima absorción del complejo de cobalto es despreciable incluso en presencia de un gran exceso del mismo.

c) Las reacciones de este compuesto con ión cobalto son superiores en sensibilidad a las que origina la biacetil bis(2-piridil)hidrazona y la biacetilmonoxima 2-piridilhidrazona.

d) Es el más selectivo de los tres reactivos considerados.

El quelato rojo-anaranjado muestra un pH aparente de formación de 4,8 y una zona óptima de pH entre 4,8 y 6, pero es inerte y una vez formado no se disocia por la adición de un ácido al medio de reacción (HClO_4 2 M). El coeficiente de absorptividad molar es de $2,3 \times 10^4 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 505 nm. El método propuesto presenta ventajas

sobre el uso de los nitrosoaftoles y se ha aplicado con éxito a la determinación de cobalto en nitratos de Zn(II), Cd(II), Hg(II), Pb(II) y $UO_2(II)$ (22).

Se ha propuesto también un método espectrofotométrico para la determinación de zinc (a 440 nm en un tampón ácido bórico-hidróxido sódico a pH 10 conteniendo un 20% de etanol), con biacetil mono(2-piridil)hidrazona. El coeficiente de absortividad molar es muy elevado, aproximadamente $5,2 \times 10^4 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (59). El método ha sido aplicado a la determinación de zinc en aguas potables y en sales de alcalinos y alcalinotérreos, medicamentos (60), sal común, azúcar, almidón y aguas que contienen cobre (61). Un estudio detallado de las piridilhidrazonas derivadas del biacetilo y de su uso como reactivos analíticos se encuentra en la Memoria de Doctorado de M.M. Rodríguez (132).

En el transcurso de los estudios acerca de las piridilhidrazonas derivadas de α -dicetonas en los laboratorios de nuestra Cátedra, se ha encontrado que la biacetilmonoxima 2-piridilhidrazona se comporta como un reactivo selectivo para la determinación espectrofotométrica de cobalto (23). En disolución acuosa (pH > 8), reacciona con cobalto para formar un complejo naranja que, con adición de ácido, sufre un desplazamiento hipsocrómico cambiando de naranja a amarillo. Se ha comprobado que puede lograrse la determinación cuantitativa de cobalto por medida de la absorbancia de la coloración amarilla a 430 nm en disolución de una acidez final $\sim 0,5 \text{ N}$ en $HClO_4$, en presencia de un gran número de iones extraños. El pH aparente de formación es 4,0. El método ideado se aplicó a la determinación de cobalto en mezclas sintéticas, catalizadores de Al-Mo-Ni-Co, aleaciones y sales, y puede compararse favorablemente con otros métodos previamente utilizados con el mismo propósito. El complejo naranja formado por cobalto y biacetilmonoxima 2-piridilhidrazona en disolución básica, muestra una absortividad molar de $9200 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 480 nm, pudiendo también emplearse en la determinación de cobalto en catalizadores de hidrogenación (133).

La biacetilmonoxima 2-piridilhidrazona reacciona fácilmente con paladio en disolución ácida dando un complejo insoluble de color

púrpura. Este complejo se disocia mediante la adición de ácido, pero puede extraerse a partir de disoluciones ácidas en cloroformo dando un complejo de color púrpura-rojizo que puede emplearse en la determinación espectrofotométrica de paladio. La absortividad molar del complejo es $7500 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ a 560 nm en el extracto de cloroformo. El método ideado se ha aplicado a la determinación de paladio en catalizador de Pd/CaCO_3 con buenos resultados.

El estudio de la extracción con disolvente de los complejos de cobre, níquel y cobalto con bencil mono(2-piridil)hidrazona (134), bencil mono(2-quinolil)hidrazona (135) y biacetil mono(2-quinolil)hidrazona (136) ha sido llevado a cabo por Berger. En particular, la bencil mono(2-quinolil)hidrazona ha sido propuesta como agente quelatante de cobre. Este reactivo forma un complejo 1:1 con Cu(II) que puede extraerse en benceno a pH 6 con una eficiencia del 98% usando una concentración de ligando en el rango de 4×10^{-3} a 1×10^{-2} M. El máximo de absorción se presenta a 520 nm, teniendo el complejo una absortividad molar aparente de $4,0 \times 10^4 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. El método de extracción colorimétrico puede usarse para determinar cobre en el rango de 0,3 a 2 ppm, no interfiriendo un exceso cien veces superior de Zn(II) , Mn(II) y Ni(II) ; sin embargo, Co(II) , Cd(II) , Fe(II) y Fe(III) interfieren (137). Recientemente se ha realizado el estudio de la biacetil bis(2-piridil)hidrazona como un agente extractante de Cu(II) , Co(II) y Ni(II) (138); y de la bispiridilhidrazona de la 1,2-ciclohexanodiona como reactivo analítico espectrofotométrico (139). Este último reactivo ha sido propuesto para la determinación de cobalto (24).

El buen comportamiento de la biacetil mono(2-piridil)hidrazona como reactivo analítico ha llamado la atención de algunos investigadores que han obtenido derivados del mismo, tales como la tiosemicarbazona (140). La introducción de una cadena de tiosemicarbocida adicional afecta de forma negativa a las propiedades del reactivo originándose una disminución considerable de la solubilidad del reactivo, de la selectividad y de la sensibilidad de las reacciones.

Los buenos resultados obtenidos con la monopiridilhidrazona del biacetilo nos ha animado a continuar con este línea de trabajo, por lo que en esta Memoria nos hemos propuesto el estudio de las

aplicaciones analíticas de las monopiridilhidrazonas derivadas del fenilglioxal (FGMPH) y del dipiridilglioxal (DPGPH) (Figura 5). Esta última ha sido sintetizada y estudiada su reaccionabilidad con los iones metálicos por Schilt y col. (78). Sin embargo, hasta la fecha no ha sido propuesta como reactivo espectrofotométrico de determinación de trazas de cobalto. Tampoco se ha realizado estudio alguno del equilibrio ácido-base de este reactivo, el cual posee varias constantes de acidez. En la presente Memoria hemos abordado el estudio del equilibrio ácido-base de la DPGPH, el comportamiento de los complejos de Co, Cu, Ni, Zn, Fe y Cd frente al pH, así como las estequiometrías de los complejos en disolución en el rango de pH óptimo. A la vista de los resultados obtenidos, la reacción entre el Co(II) y la DPGPH ha sido estudiada en detalle, proponiéndose en consecuencia un nuevo método para la determinación espectrofotométrica de trazas de cobalto en disolución, el cual se ha aplicado con éxito a la determinación de dicho ión en preparaciones farmacéuticas. Dicho método compite tanto en sensibilidad como en selectividad con otros ya establecidos que emplean reactivos de tipo piridilhidrazona en la determinación espectrofotométrica de cobalto.

Se ha llevado a cabo asimismo el estudio de las características físico-químicas de la FGMPH habiéndose evaluado también espectrofotométricamente sus constantes de acidez y realizado un estudio análogo al de la DPGPH con los iones metálicos, lo que ha permitido seleccionar, para ulterior estudio, la reacción con el ión Zn(II). Esta reacción es de un particular interés dada la elevada sensibilidad que muestra, así como un rango de pH óptimo apropiado, lo que permite su aplicación a la determinación espectrofotométrica directa de zinc en agua potable.

Las características físico-químicas de la bencil mono(2-piridil) hidrazona (BMPH) (Figura 5) también han sido estudiadas en esta Memoria con objeto de comparar los resultados obtenidos con los correspondientes a la DPGPH y a la FGMPH.

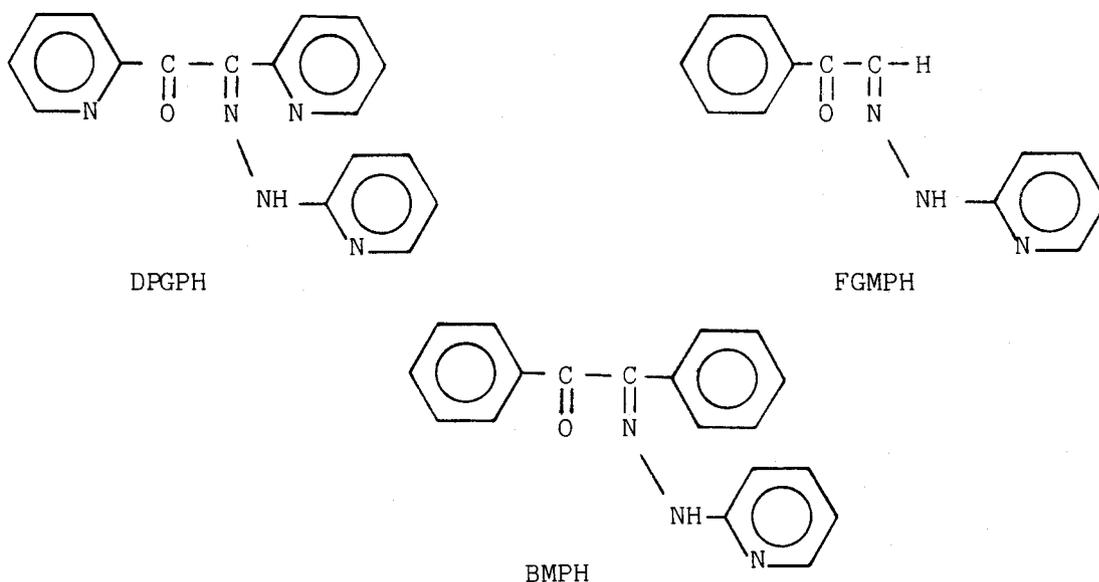


FIGURA 5 * DPGPH - Dipiridilglioxal mono(2-piridil)hidrazona
 FGMPH - Fenilglioxal mono(2-piridil)hidrazona
 BMPH - Bencil mono(2-piridil)hidrazona

Los reactivos estudiados en esta Memoria pertenecen al tipo bases de Schiff derivadas de α -dicetonas (116). Como antecedente remoto de reactivos de esta clase puede citarse a uno de los primeros descubiertos y más ampliamente empleados en Análisis Químico, la dimetilglioxima (141). Como antecedentes próximos puede citarse el uso de diversas bisfeniltiosemicarbazonas (142-144) y bishidrazonas (145) derivadas de α -dicetonas, así como el estudio de diversas bases de Schiff derivadas de la biacetilmonoxima (146).

Un resumen de las aplicaciones analíticas de las bases de Schiff derivadas del biacetilo y compuestos relacionados, bisderivados, derivados de la biacetilmonoxima y monoderivados, se encuentra en las Tablas 7, 8 y 9 respectivamente. Asimismo en la Tabla 10 se recogen algunos de los usos no analíticos de las bases de Schiff derivadas de α -dicetonas.

* * * * *
 * * * * *

TABLA 1 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE COBALTO

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.	Determinación de Co
Piridín-2-aldehido 2-piridilhidrazona	470	28,0				(7)	
	496		2-5	0-5 μg	^b Acetona/ $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ 1:9	(8)	En aceros
Piridín-2-aldehido 2-quinolilhidrazona	510	30,0	6,5-11,5	0,2-2,0 ppm	50% EtOH	(9)	
Benzoilpiridina 2-piridilhidrazona	478	29,3	3,9-12,6	4,02-52,3 x 10^{-6} M	50% EtOH	(10)	En aceros y aleaciones
Bencil-2-piridilcetona 2-piridilhidrazona	480	28,3	4,0	0-3 ppm	60% EtOH	(11)	En pinturas
Bencil-mono- (2-piridil)hidrazona	535	27,4	2 M HCl- -pH 8	6,1-61 x 10^{-6} M	60% EtOH	(12)	

(a) En $1.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

(b) El complejo se extrae como par iónico con 9,10-Dimetoxiantraceno-2-sulfonato

TABLA 1 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE COBALTO - CONTINUACION -

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.	Determinación de Co
Di-2-piridilcetona	480	32,0	3-10	0,25-3,75 ppm	4-20% EtOH	(13)	
2-piridilhidrazona	500	42,0	20-30%	0,15-2,00 ppm	4-20% EtOH	(13)	
	500	42,0	HClO ₄ 3,5 N	0-0,5 ppm	Acuoso ^b	(14)	En agua de mar y salmuera
Piridín-2-aldehido	547	78,0	5,4-5,8	0,04-0,4 ppm	CHCl ₃ / Acetona 7:3	(15)	En aceros
2-piridilhidrazona+ +eosina							
Dipiridilgloxal bis (2-quinolil)hidrazona	510	36,5	2-12	0-1,84 ppm	50% EtOH	(16)	
	530	41,0	5 M HClO ₄	0-2,0 ppm	20% EtOH	(16)	

(b) Re-extracción

(a) En $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

TABLA 1 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION
 ESPECTROFOTOMETRICA DE COBALTO - CONTINUACION -

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.	Determinación de Co
2,2'-Bispiridilglioxal 2-quinolilhidrazona	520	32,0	4,0-8,0	0-2 ppm	50% EtOH	(17)	y Ni (simultánea) en mezclas sinté- ticas
Di-2-piridilcetona 2-quinolilhidrazona	510	33,0	2-12	0-1,92 ppm	50% EtOH	(18)	En aleaciones
	530	38,0	2-5 N HClO ₄	0-2,16 ppm	20% EtOH	(18)	En aleaciones
	510		9,0	7-37 μ g		(19)	y Fe (simultánea) en mezclas sinté- ticas
Piridín-2-aldehido 2-pirimidilhidrazona	460	29,5	2,5-11,5	0-2,1 ppm	10% EtOH	(20)	
	440	31,5	2,5-6,5 M HClO ₄	0-2,1 ppm	10% EtOH	(20)	

(a) En $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

TABLA 1 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION
 ESPECTROFOTOMETRICA DE COBALTO - CONTINUACION -

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.	Determinación de Co
Dipiridilglioxal mono- (2-quinolil)hidrazona	520	32,0	4,0-8,0	0-1,0 ppm	50% EtOH	(21)	
Biacetil mono- (2-piridil)hidrazona	505	23,5	2 M HClO ₄ - -pH 6	0,3-1,2 ppm	4-50% EtOH	(22)	En nitratos
Biacetil monoxima 2-piridilhidrazona	430	3,7	2 M HClO ₄ - -pH 3,2	0,81-15 ppm	20% DMF	(23)	En mezclas sinté- ticas, cataliza- dores, aleaciones y sales
Ciclohexano-1,2-diona bis(2-piridil)hidrazona	525	13,7	0,5 M HClO ₄ - -pH 5	0,25-4,0 ppm	12% DMF	(24)	En aleaciones y minerales
anti-2-Furaldehido 2-piridilhidrazona	418	47,0	9,0	0-1,0 ppm	50% EtOH	(25)	En humo ambiental

(a) En $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

TABLA 2 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE COBRE

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.	Determinación de Cu
Quinolin-2-aldehido 2-quinolilhidrazona	536	47,3	9,45-11,02	3,33-22,21 $\times 10^{-6}$ M	Nitrobenceno	(26)	En agua potable
	540	58,0	6,5	0,1-1 ppm	Benceno	(27)	En agua de mar (2-4 ppb Cu)
Dipiridilglioal 2-quinolilhidrazona	500	35,0	7,5-9,6	0-2,27 ppm		(28)	En aleaciones
Biacetil mono- quinolilhidrazona	570		7,5-11,6	0-22,0 ppm		(29)	En aleaciones
Di-2-piridilcetona 2-pirimidilhidrazona	430	1,2	9,0	0,1-1,6 ppm	40% EtOH	(30)	y Fe (simultánea) y Cu en oro
Di-2-piridilcetona 2-quinolilhidrazona			9,0		40% EtOH	(31)	

(a) En $1.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

TABLA 3 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE: (A) NIQUEL; (B) HIERRO

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.	Determinación de
(A) Piridín-2-aldehido 2-quinolilhidrazona	515	67,0	10,0	2,5-10 ppb	Benceno	(32)	Ni en agua de mar
	492	50,5	3,0-6,5	0,1-1 ppm	CHCl ₃	(9)	
(Z)-Tiofen-2-aldehido 2-piridilhidrazona	427	55,2	10,7	0-1,2 ppm	50% EtOH	(33)	Ni en aceros y humo ambiental
(B) Di-2-piridilcetona 2-piridilhidrazona	538	15,5	1,5-3,5	0,6-3,3 ppm	5% EtOH	(34)	
Dipiridilgloxal 2-quinolilhidrazona	500	33,0	6,0-10,5	0-2 ppm	50% EtOH	(35)	Fe en aleaciones

(a) En $1.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

TABLA 4 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE VANADIO

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.	Determinación de V
Di-2-piridilcetona 2-pirimidilhidrazona	480	14,6	3,7-4,9	0-4,08 ppm	20% EtOH	(36)	
Piridoxal 2-piridilhidrazona	430	10,7	1,7-1,9	0,5-4,5 ppm	26% DMF	(37)	
	505	12,9	8,5-10,0	0,5-3,5 ppm	58% DMF	(37)	
	505	12,0	10,0	1,0-3,5 ppm	Alcohol iso- butílico/DMF	(37)	
Di-2-piridilcetona 2-quinolilhidrazona	572	25,8	2,5-4,0	0-1,5 ppm	^b CHCl ₃	(38)	En aceros

(a) En $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

(b) Separación del V(V) por cambio iónico; extracción

TABLA 5 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE PALADIO

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.
Piridín-2-aldehido 2-piridilhidrazona	520	13,96	11,5-11,8	0,8-9,6 ppm	Acuoso	(39)
	573	18,0	0,05-0,2 N HCl	0,5-10 ppm	Benceno	(40)
	562	16,5	2,5-7,0	0,4-4 ppm	$o\text{-C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$	(41)
Di-2-quinolilcetona 2-piridilhidrazona	624	19,5	1,0-6,0	0,25-5 ppm	CHCl_3	(42)
Di-2-piridilcetona 2-piridilhidrazona	540		5-7	0,2-4,0 ppm	$\text{H}_2\text{O-EtOH}$	(43)
Piridín-2-aldehido 2-quinolilhidrazona	508	7,5	1,8		Acuoso	(44)
	594	12,0	1,5-2,3	0,2-6,0 ppm	CHCl_3	(44)
	589	12,8	6,3-8,9	0,66-13,19 ppm	CHCl_3	(45)
	592	15,8	6,3-8,9	0,66-13,19 ppm	CHCl_3	(45)

(a) En $l \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

TABLA 5 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE PALADIO - CONTINUACION -

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.
Di-2-piridilcetona	604	22,1	0,2-0,9 M	0,2-4,2 ppm	Benceno	(46)
2-quinolilhidrazona	570	17,5	En HCl			(46)
	608	20,1			CHCl ₃	(46)
	570	14,0	4,5-7,5	0-10,64 ppm	CHCl ₃	(47)
Dipiridilglioxal	550	12,8	3,5-6,6	1,06-8,50 ppm	Acuoso	(48)
2-quinolilhidrazona						
Furil-2-aldehido	430	29,0	9,85	0,5-2,5 ppm	H ₂ O-EtOH	(49)
2-piridilhidrazona						
Benzotiazol-2-aldehido	587	16,8	0,65-4,25 M en H ₂ SO ₄	0-6x10 ⁻⁵ M	CHCl ₃	(50)
2-ftalacinilhidrazona						

(a) En $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

TABLA 5 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE PALADIO - CONTINUACION -

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.	Determinación de Pd
Benzotiazol-2-aldehido 2-quinolilhidrazona	647	24,0	0,02-5,8 N en H_2SO_4	0-4 ppm	Benceno ^b	(51)	
Biacetilmonoxima 2-piridilhidrazona	560	7,5	1,2-1,8	1,93-12,6 ppm	$CHCl_3$	(52)	En catalizador $Pd/CaCO_3$
Di-2-piridilcetona 2-piridilhidrazona	585	19,0	2,0-12,0	0-1,6 ppm	$CHCl_3$	(53)	En aleaciones (dentales y de joyería)
Tiazol-2-aldehido 2-quinolilhidrazona	625	19,3	0,5 N HCl- -pH 4,3	0-4,2 ppm	Benceno	(54)	En catalizadores

(a) En $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

(b) Se extrae como complejo de ligando mixto

TABLA 6 * REACTIVOS TIPO PIRIDILHIDRAZONA Y RELACIONADOS EMPLEADOS EN LA DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE ZINC

Reactivo	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	pH óptimo	Ley de Beer	Medio	Ref.	Determinación de Zn
2-Benzoilpiridina 2-piridilhidrazona	455	51,0	> 11	$2-36 \times 10^{-6}$ M	50% EtOH	(10)	
Fenantridin-2-aldehido 2-quinolilhidrazona	530	57,0	9	0-1,0 ppm	CHCl ₃	(55)	
Fenantridin-2-aldehido 2-piridilhidrazona	533	64,0	9	0-0,52 ppm	Benceno- Hexano	(55)	
Di-2-piridilcetona 2-piridilhidrazona	442	49,0	$12 \pm 0,2$	0,12-1,32 ppm	2% EtOH	(56)	
Di-2-piridilcetona 2-quinolilhidrazona	480	63,0	11,5-12,7	0-1,17 ppm	50% EtOH	(57)	
Di-2-piridilcetona 2-pirimidilhidrazona	430	52,0	Borato/ cianuro	2,6-13 μ g		(58)	
Biacetil mono- (2-piridil)hidrazona	440	52,0	9,2-10,8	0,04-1,2 ppm	20% EtOH	(59)	En agua potable y sales
	440	52,1	6,5-10,5	0,04-1,2 ppm	20% EtOH	(60)	En preparaciones farmacéuticas
	440	48,0	2,6-3,4	0,1-1,0 ppm	CHCl ₃	(61)	En agua potable
	440	52,1	6,5-10,5	0,04-1,2 ppm	20% EtOH	(61)	En sal común, azúcar y almidón

(a) En $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

TABLA 7 * APLICACIONES ANALITICAS DE ALGUNAS BASES DE SCHIFF DERIVADAS DEL BIACETILO Y COMPUESTOS RELACIONADOS : BISDERIVADOS

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Biacetil bis (tiobenzhidrazona)	Cu(II)	530		Determ. de Cu en aleaciones Al-Cd	(147)
Biacetil bis (hidrazona)	Fe(II)	442	6,9	NaCH ₃ COO; 20% etanol	(148)
Biacetil + hidracina	Fe(II)	490	9,8	pH 5,5-6	(148)
Biacetil bis (salicil)hidrazona	Zn(II), Cd(II)			Gravimetría; Mg, Mn, Co y Cu interfieren	(149)
Biacetil bis (5-bromosalicil) hidrazona	Zn(II), Cd(II)			Gravimetría	(149)
Biacetil bis (tiobenzhidrazona)	Pb(II)	400-	3,0-		(150)
	In(III)	-500	-14,0		
	Sb(III)				
	Bi(III)				
Biacetil bis (4-fenil-3-tiosemicarbazona)	Varios			Separación por cromatografía de capa fina. Determ. espectrofotométrica con extracción	(151)
Biacetil bis (tiobenzhidrazona)				Separación en columna de los complejos de Co(II), Hg(II), Pb(II) y Zn(II)	(152)
Biacetil bis (4-hidroxibenzoil) hidrazona	Varios	440	21,0-6,5	Se añade ligando 1 mM a catión 20 μ M en NaOH 10 mM	(153)

(a) En $l.mol^{-1}.cm^{-1}$

TABLA 7 * - CONTINUACION -

Reactivo	Cación	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Biacetil bis (4-fenil-3-tiosemicarbazona)				Separación de varios iones metálicos por cromatografía líquida de alta resolución	(154)
	Cu(II)	435	12,7	pH 1,8-11,9; 60% DMF	(155)
		530	8,2		
	Zn(II)	440	21,5	pH 5,5-9,5; 60% DMF	(156)
	Hg(II)	420	14,5	pH 4,2-9,7; 60% DMF	(157)
Biacetil bis (2-piridil)hidrazona	Co(II), Pd(II), Cu(II)			Estudios cualitativos	(118)
	Varios			Estudio del reactivo y reaccionabilidad	(111)
Biacetil bis (isonicotil) hidrazona	Bi(III)	430	13,0	pH 10 ($\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3$)	(158)
Biacetil bis (tiosemicarbazona)	Co(II)	510	1,7	pH 10 ($\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3$)	(159)
		450	4,7	pH 3 (ftalato/HCl)	
Biacetil bis (isonicotil) hidrazona	Y(III)	390	13,1	Determ.espectrofluorimétrica y fotométrica de Y(III)	(160)
	Sn(IV)	420	5,1	Determ.espectrofluorimétrica y fotométrica de Sn(IV)	(161)

TABLA 7 * - CONTINUACION -

Reactivo	Cación	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Biacetil bis (isonicotil) hidrazona	Sn(II)	425	13,1	Determ.espectrofluorimétrica y fotométrica de Sn(II)	(162)
	Bi(III)	430	13,0	Determ.espectrofotométrica de Bi(III) en sales de uso farmacéutico	(163)
Biacetil bis (4-fenil-3-tiosemicarbazona)	Pb(II)	440	16,5	Tampón amoniacal; 60% DMF	(164)
	Ni(II)	460	22,8	pH 2,5; 60% DMF	(165)
Biacetil bis (isonicotil) hidrazona	Zr(IV)	430	16,7	Estudio de la formación del complejo de Zr y de su estequiometría	(166)
Biacetil bis (2-piridil) hidrazona	Cu(II)	505		Estudio de la extracción de los quelatos con metil-isobutil-cetona	(138)
	Co(II)	430			
	Ni(II)	410			
	Varios			Estudio del reactivo y reaccionabilidad	(140)
Glioxal bis (2-mercaptoanilo)	Varios			Reaccionabilidad con iones metálicos	(167)
	Hg(II)			Determ. cualitativa; 0,5 μ g en papel de filtro, 5 μ g en tubos de ensayo	(168)
Glioxal bis (2-hidroxianilo)	Hg(II)			Ensayos cualitativos	(168)
	Ca(II)	520		pH 12,5; disolución metanólica	(169)
Glioxal bis (4-hidroxibenzoil) hidrazona	Ca(II)	460	15,0	Determ. colorimétrica de Ca ó Cd enmascarando con CN^- ó citrato. Estudio de otras bisaroilhidrazonas de α -dicetonas	(153)
	Cd(II)	460	28,0		

TABLA 7 * - CONTINUACION -

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\epsilon \times 10^{-3}$ ^a	Medio, Comentarios	Ref.
Gloxal bis (2-hidroxianilo)	Cd(II)			Colorimetría anular altamente selectiva	(170)
	Hg(II)			Colorimetría anular altamente selectiva	(171)
Gloxal bis (2-mercaptoanilo)	Hg(II)			Técnica de la estufa anular, 0,3-0,96 μ g	(171)
Gloxal bis (tiosemicarbazona)	Ag(I)	335	43,0	pH 1-7; AEDT como enmascarante	(172)
	Hg(II)	335	43,0	pH 1-7; AEDT como enmascarante	(172)
	Pd(II)	385	13,0	pH 1-9,5; AEDT como enmascarante	(74)
1,2 y 1,3-Ciclohexanodiona bis (2-piridil)hidrazona	Varios			Estudio del reactivo y reaccionabilidad. Especial interés en la reacción de 1,2-CBPH con Co	(139)
1,2 y 1,3-Ciclohexanodiona bis (2-hidroxibenzoil)hidrazona	Varios			Estudio de los reactivos y reaccionabilidad con diversos cationes	(173)
1,2-Ciclohexanodiona bis (benzoil)hidrazona	Ti(IV)	477	10,5	pH 1,8-3,0; etanol:agua 3:2 Determ.de Ti en minerales y rocas	(174)
2-Hidroxi-3-metil-ciclopenten-2-ona bis (tiosemicarbazona)	Varios			Reaccionabilidad y estudio del reactivo	(175)

TABLA 7 * - CONTINUACION -

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\xi^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Bencil bis (2-piridil) hidrazona	Cu(I)	430	5,4	Estudio del reactivo y características fotométricas de los complejos	(78)
	Co(II)	531	4,6		
	Ni(II)	497	4,9		
	Fe(II)	635	5,8		
Bencil bis (2-hidroxibenzoil) hidrazona	Ca(II)	432	17,6	pH 12; 60% DMF. Determ. en aguas y alimentos	(176)
	Ti(IV)	460	16,6	pH 3,5-6,5; 60% DMF	(177)
		500	15,5	Extr.en alcohol bencílico pH 1,0-2,0	
	Sn(II)	450	22,5	pH 3,5-6,5; 60% DMF	(178)
		455	35,4	Extr.en metil-isobutil-cetona,	
		475	28,8	pH 2,45-3,20	
In(III)	440	46,3	pH 6,2; 60% DMF	(179)	
di (6-Metil-2-piridil) glioxal bishidrazona	Cu(II)	440	8,7	Extracción en nitrobenzono	(180)
Dipiridilglioxal bis (hidrazona)	Fe(II)	488	8,2	pH 4,5-7,8	(181)
		486	9,2	Extracción en nitrobenzono	

TABLA 7 * - CONTINUACION -

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Dipiridilglioal bis (2-piridil) hidrazona	Cu(I)	466	20,3		(78)
	Co(II)	480	25,4		
	Ni(II)	452	32,0	Estudio del reactivo y características fotométricas de los complejos	
	Zn(II)	452	24,0		
	Fe(II)	595	8,3		
573		10,4			
Dipiridilglioal bis (2-pirazinil) hidrazona	Cu(I)	484	20,0		(82)
	Co(II)	508	29,7	Estudios de reaccionabilidad con otros cromógenos tipo ferroina	
	Ni(II)	479	46,0		
	Fe(II)	601	10,3		
		603	9,2		
Dipiridilglioal bis (2-quinolil) hidrazona	Pd(II)	550	12,8	pH 3,5-6,6; 60% etanol	(182)
Dipiridilglioal bis (2-hidroxibenzoil) hidrazona	Ca(II)	435	10,3	pH 8,5-10,5; 60% DMF	(176)
	In(III)	440	46,3	pH 6,2; 60% DMF	(179)

TABLA 8 * APLICACIONES ANALITICAS DE ALGUNAS BASES DE SCHIFF DERIVADAS DE LA BIACETILMONOXIMA Y RELACIONADOS

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Biacetilmonoxima tiosemi-carbazona	Mn(II)	346			(183)
Biacetilmonoxima p-nitrofenil-hidrazona (cobaltona I)	Co(II)	520		pH 11,7-11,9; medio acuoso El exceso de reactivo se elimina extrayendo con éter	(119)
Biacetilmonoxima hidrazona	Varios			Reaccionabilidad con los iones metálicos	(184)
Biacetilmonoxima salicilal-déhidó azina	Varios			Reaccionabilidad con los iones metálicos	(184)
Biacetilmonoxima saliciloil-hidrazona	Varios			Reaccionabilidad con los iones metálicos	(184)
Biacetilmonoxima etilendimina	Ni(II), Pd(II)			Determinación gravimétrica	(185)
Biacetilmonoxima o-fenilendiimina	Ni(II), Pd(II)			Determinación gravimétrica	(185)
Biacetilmonoxima tiosemicarbazona	Mn(III) Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Bi(III)	540		pH 9,8-11,7	(186) (187,172)
Biacetilmonoxima 2-benzotiazolil hidrazona	Pd(II)			Ensayo de identificación	(188)

(a) En 1.mol ⁻¹ .cm ⁻¹

TABLA 8 * - CONTINUACION -

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Biacetilmonoxima 2-benzotiazolil hidrazona	Pd(II)	560	5,11	Extracción a pH 1,8 en CHCl_3	(189)
Biacetilmonoxima tiosemicarbazona	Mn(II)			Ensayo microquímico	(190)
	Mn(III)			Determinación polarográfica	(191-192)
	O_2	540		pH 10 (tampón amoniacal) 10-100 ppm O_2	(193)
	Fe(II)	507	6,25	Medio fuertemente ácido (0,05 M HClO_4); ascórbico	(194)
Biacetilmonoxima semicarbazona	Cu(II)	335	10,1	pH 10 ($\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3$)	(195)
	Ni(II)	340	19,5	pH 11,4 ($\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$)	
	Co(II)	330	6,3	pH 8,6 ($\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$)	
	Pd(II)	390	2,9	pH 5 (Acético/Acetato)	
Biacetilmonoxima (4-fenil-3-tiosemicarbazona)	Mn(III)	550	3,6	pH 9-12, extracción en CHCl_3	(196)
Biacetilmonoxima p-nitrofenilhidrazona	Co(II)	520		Medio ácido. Complejo de ligando mixto con etilendiamina. Determinación de Co en plantas	(123)
Biacetilmonoxima (4-fenil-3-tiosemicarbazona)	Cu(II)	395	10,3	pH 4,8; extracción en alcohol amílico	(197)
	Bi(III)	375	17,0	pH 3,2-5,0; extr. en alcohol amílico	

TABLA 8 * - CONTINUACION -

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\epsilon \times 10^{-3}$ ^a	Medio, Comentarios	Ref.
Biacetilmonoxima 2,4-dinitro- fenilhidrazona	Co(II)			Detección cualitativa	(3)
Biacetilmonoxima p-nitrofenil- hidrazona	Co(II)	520		Separación del exceso de reac- tivo con éter etílico	(3)
Biacetilmonoxima 2-piridil- hidrazona	Varios			Estudio espectrofotométrico de la reaccionabilidad	(131)
Biacetilmonoxima glicinimina	Ni(II)	420	17,0	Se añade disolución de bromo, el exceso se elimina con amoniaco pH 8-11. Determ. de Ni en aleaciones	(198)
Biacetilmonoxima 2-piridil- hidrazona	Co(II)	430	3,7	0,5 N HClO ₄ , 20% DMF. Determ.en ca- talizadores de hidrogenación, alea- ciones y sales	(23)
	Pd(II)	560	7,5	Extracción con CHCl ₃ . Determ.en ca- talizador Pd/CaCO ₃	(52)
Biacetilmonoxima nicotinil- hidrazona	Ti(IV), Zr(IV), Hf(IV)			Determ.espectrofluorimétrica de estos iones así como de sus mezclas binarias	(199)
Biacetilmonoxima 2-piridil- hidrazona	Co(II)	480	9,2	pH 10 (H ₃ BO ₃ /NaOH), 20% DMF. Determ. (133) en catalizadores de hidrogenación	(133)
Dipiridilglioalmonoxima 2-piridilhidrazona	Co(II)	482	27,4	pH 7 (Acetato amónico)	(83)
	Fe(II)	529	9,0	pH 4	

TABLA 9 * APLICACIONES ANALITICAS DEL ALGUNAS BASES DE SCHIFF DERIVADAS DEL BIACETILO Y COMPUESTOS RELACIONADOS : MONODERIVADOS

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Biacetilmonosemioxamazona				Reaccionabilidad con iones metálicos	(184)
Biacetilmonosaliciloilhidrazona					
Biacetil mono(tiosemicarbazona)	Cu(II)	410	6,3	pH 5 (tampón acético/acetato)	(200)
	Ni(II)	400	12,4	pH 8 (tampón fosfato)	
Biacetil monohidrazona azina	Cu(I)	350	7,2	Extracción en alcohol bencílico	(201)
	Fe(II)	460	5,6	NaCH ₃ COO; 10% etanol	
Biacetil mono (2-piridil) hidrazona	Varios			Estudio del reactivo y de la reaccionabilidad con diversos cationes	(111)
	Co(II)	505	23,5	2 M HCl pH 6; 4-25% etanol Determ. en nitratos	(22)
Biacetil mono (2-quinolil) hidrazona	Cu(II)	498	4,5	Extr.con metil-isobutil-cetona, con perclorato como contraión	(136)
	Ni(II)				
	Co(II)				
Biacetil mono (2-piridil) hidrazona	Zn(II)	440	48,0	Extr.previa con biacetil bis(4-fenil-3-tiosemicarbazona) en CHCl ₃ de iones interferentes. pH 10 (H ₃ BO ₃ /NaOH) 20% etanol. Determ.de Zn en aguas, sal común, azúcar y almidón	(61)

TABLA 9 * - CONTINUACION -

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Biacetil mono(2-piridil)hidrazona	Zn(II)	440	52,1	pH 10 ($H_3BO_3/NaOH$); 20% etanol Determ. de Zn en preparaciones farmacéuticas	(60)
	Zn(II)	440	52,0	pH 10 ($H_3BO_3/NaOH$); 20% etanol Determ. de Zn en agua y en sales alcalinas y alcalinotérreas	(59)
Pirivaldehido mono(2-benzotiazolil)hidrazona	Cd(II)			Ensayo de identificación en aleaciones.	(202)
	Cd(II)	460	4,6	Extracción del complejo en benceno	(203)
Bencil mono(2-piridil)hidrazona	Co(II)	535	27,0	pH 8 HCl 2 M; 60% etanol Determ. de Co en muestras metálicas	(12)
Bencil mono (2-quinolil) hidrazona	Cu(II)	520	40,0	Extracción en benceno. Fase acuosa a pH 6	(137)
	Cu(II)			Ensayos de extracción en metil- isobutil-cetona	(135)
	Ni(II) Co(II)				
Bencil mono (2-piridil)hidrazona	Cu(II)	495	33,5	Estudios de extracción con metil- isobutil-cetona, con perclorato como contraión	(134)
	Ni(II)	490	21,0		
	Co(II)	535	15,5		

TABLA 9 * - CONTINUACION -

Reactivo	Catión	λ (nm)	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	Medio, Comentarios	Ref.
Dipiridilglioxal mono(2-piridil) hidrazona	Cu(II)	496	16,2		(78)
	Co(II)	489	28,0	Estudio del reactivo y características fotométricas de los complejos	
	Ni(II)	474	28,0		
	Zn(II)	466	24,0		
	Fe(II)	621	13,0		
Dipiridilglioxal mono(2-quinolil) hidrazona	Fe(II)	500	33,0		pH 6-10,5; 50% etanol Determ.de Fe en aleaciones
	Co(II)	520	32,0	pH 4,0-8,0; 50% etanol	(17)
	Ni(II)	490	44,0	Determ.simultánea de Co y Ni en mezclas sintéticas.	

TABLA 10 * APLICACIONES NO ANALITICAS DE ALGUNAS BASES DE SCHIFF DERIVADAS DE α -DICETONAS

Reactivo	Comentarios	Ref.
Biacetil monohidrazona	Características fotométricas y punto de fusión	(204)
Biacetilmonoxima	Características fotométricas y punto de fusión	(204)
Biacetil bishidrazona	Características fotométricas y punto de fusión	(204)
Biacetil bis(N-metilimina)	Características fotométricas del complejo de Fe(II)	(205)
Biacetil bishidrazona	Estudio espectral y magnético del complejo de Fe(II)	(206)
	Estudio espectral. Determinación de solubilidades, momentos magnéticos y propiedades químicas de los complejos de Fe(II), Co(II) y Ni(II)	(207)
	Estudio de los espectros IR de los complejos de Fe(II), Co(II) y Ni(II)	(208)
Biacetil bis(benzoil)hidrazona	Estudio termodinámico de la interacción del complejo de Ni(II) en benceno con alquilaminas	(209)
	Estudio termodinámico de la interacción entre el complejo de Ni(II) en benceno y las trialquilaminas y fosfinas	(210)
	Estudio termodinámico de la interacción entre el complejo de Ni(II) en benceno y las aminas alifáticas primarias	(211)

TABLA 10 * - CONTINUACION -

Reactivo	Comentarios	Ref.
Biacetilmonoxima salicilhidrazona	Se determinan potenciométricamente las constantes de estabilidad del complejo de Ni(II), así como las de otros quelatos metálicos con biacetilmonoxima aroilhidrazonas	(212)
Biacetil bis(2-piridil)hidrazona	Estudio espectral y determinación de la conductividad de los complejos de Cu(II), Ni(II) y Pd(II)	(124)
2,2'-Dimetil-2,2'-bis(benzotiazolina)	Estudio de las reacciones con Zn(II), Cd(II) y Hg(II). Estudio de las transposiciones inducidas por iones metálicos para dar quelatos de bases de Schiff	(213)
Biacetilmonoxima	Determinación de constantes de disociación de los ácidos conjugados de la dimetilglioxima y biacetilmonoxima	(214)
Biacetilmonoxima azina	Estudio espectral (IR y electrónico), determinación del momento magnético del complejo de Ni(II)	(215)
Biacetil bis(tiosemicarbazona)	Caracterización por métodos magnéticos, espectrales y electroquímicos	(216)
Biacetil bis(benzoil)hidrazona	Se han preparado complejos con Sn(IV), Pb(II) y Pb(IV) y se han obtenido datos espectrales	(217)
	Síntesis y caracterización de los complejos de La, Pr, Nd, Sm, Gd, Ho, Er y Yb	(218)

TABLA 10 * - CONTINUACION -

Reactivo	Comentarios	Ref.
Biacetil bis(dimetil)hidrazona	Se ha determinado la conductividad molar y el momento magnético de los complejos Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) y Zn(II)	(219)
Glioxal bis(N-metilimina)	Características fotométricas del complejo de Fe(II)	(205)
Glioxal bis(benzotiazolinas)	Estudio de las reacciones con Zn(II), Cd(II) y Hg(II). Estudio de las transposiciones inducidas para dar quelatos de bases de Schiff	(213)
2-Ceto-3-etoxibutiraldehido bis(tiosemicarbazona)	Estudio inorgánico de su estructura y de la del complejo de cobre (actividad antitumoral)	(220)
2,3-Octanodiona bis(tiosemicarbazona)	Caracterización por métodos magnéticos, espectrales y electroquímicos	(216)
o-Fenilendiimina bis(biacetilmonoxima)	Evaluación espectrofotométrica de las constantes solapadas de ionización	(221)
Bencil mono(2-piridil)hidrazona	Estudio espectral, medidas de conductividad y momento magnético de los complejos de Cu(II) y Ni(II) de esta y otras monopiridilhidrazonas derivadas de α -dicetonas	(130)
Bencil bis(benzotiazolina)	Estudio de las reacciones con Zn(II), Cd(II) y Hg(II) Estudio de las transposiciones inducidas para dar quelatos de bases de Schiff	(213)

TABLA 10 * - CONTINUACION -

Reactivo	Comentarios	Ref.
Piridín-2-aldéhido etilendiimina	Estudio espectral y magnético del complejo de Fe(II)	(206)
Piridín-2-aldéhido azina	Estudio del espectro IR de los complejos de Fe(II), Co(II) y Ni(II)	(222)
Dipiridilglioxal bis(2-piridil) hidrazona	Estudio inorgánico del reactivo y de su complejo de Ni(II)-perclorato	(77)

C A P I T U L O I

TECNICAS EXPERIMENTALES Y
METODOLOGIA GENERAL UTILIZADA

I.1.- REACTIVOS Y DISOLUCIONES EMPLEADAS

Los productos usados en la síntesis de los reactivos son todos comerciales: Bencilo (MERCK), Fenilglioal (EGA CHEMIE), dipiridilglioal (FLUKA-AG BUCHS-SG) y 2-Piridilhidracina (EGA CHEMIE).

A lo largo del trabajo experimental se emplearon disoluciones de reactivos al 0,1% en etanol, 0,1% en dimetilformamida (DMF), 10^{-3} M en etanol (estudio de las curvas absorbancia-pH de los reactivos) y otras de distinta concentración que se indicarán en cada caso.

Para ajustar el pH se han empleado disoluciones de ácido clorhídrico o perclórico, e hidróxido de sodio o potasio de distinta concentración. En los casos en que fue necesario se utilizaron las siguientes disoluciones reguladoras: (223-224)

- Disolución reguladora de pH=4,30: Se disuelven 105 g de acetato sódico trihidrato en agua destilada, se añaden 100 ml de ácido acético glacial y se diluye a 1 l con agua destilada.
- Disolución reguladora de pH=4,50: Se disuelven 280 g de acetato sódico trihidrato en agua destilada, se añaden 150 ml de ácido acético glacial y se diluye a 1 l con agua destilada.
- Disolución reguladora de pH=4,74: Se disuelven 72,1 g de acetato sódico trihidrato en agua destilada, se añaden 26 ml de ácido acético glacial y se diluye a 1 l con agua destilada.
- Disolución reguladora de pH=5,50: Se disuelven 12,76 g de ftalato ácido de potasio y 1,94 g de hidróxido sódico en agua destilada diluyendo la mezcla hasta 250 ml.
- Disolución reguladora de pH=7,00: Acetato amónico 3 M.
- Disolución reguladora de pH=8,30: Se mezclan 50 ml de tris(hidroximetil) aminometano (TRIS) 0,5 M con 12,5 ml de HCl 1 M y se completa hasta 100 ml con agua destilada.
- Disolución reguladora de pH=8,47: Se mezclan 50 ml de TRIS 0,5 M con 6,2 ml de HCl 1 M y se completa hasta 100 ml con agua destilada.
- Disolución reguladora de pH=8,80: Se mezclan 50 ml de TRIS 0,5 M con 4,25 ml de HCl 1 M y se completa hasta 100 ml con agua destilada.
- Disolución reguladora de pH=8,60: A 500 ml de una disolución 0,5 M en ácido bórico y 0,5 M en cloruro potásico se le añaden 118 ml de hidróxido sódico 0,5 M diluyendo a continuación la mezcla hasta 1 l con agua destilada.
- Disolución reguladora de pH=10,00: A 500 ml de una disolución 0,5 M en ácido bórico y 0,5 M en cloruro potásico se le añaden

437 ml de hidróxido sódico 0,5 M diluyendo a continuación la mezcla hasta 1 l con agua destilada.

Se han utilizado disoluciones de cationes y aniones disponibles en nuestro Departamento, procedentes de investigaciones previas. Cuando fue necesario el empleo de disoluciones de menor concentración, se prepararon a partir de las anteriores por dilución con agua destilada.

Asímismo ha sido preparada una serie de disoluciones de los agentes enmascarantes más empleados en análisis, tales como: tiourea*, citrato, fosfato, tartrato, trietanolamina (TEA), tiosemicarbácida*, ioduro, fluoruro, oxalato, tiosulfato* y bicina (N,N-bis(2-hidróxi-etil)glicina).

Todos los reactivos o productos empleados eran de grado analítico, o de la pureza requerida para el uso a que iban destinados.

En todo el trabajo experimental se usó agua destilada en aparato de vidrio, recogida en garrafas de polietileno y protegida del polvo atmosférico.

I.2.- A P A R A T O S

Los espectros de absorción en la región ultravioleta-visible (UV-V) se registraron en un espectrofotómetro Spectronic 2000 (Bausch & Lomb) equipado con registrador gráfico XY Recorder.

Para las medidas de absorbancia a longitud de onda fija se utilizó también el Spectronic 2000.

A lo largo de todo el trabajo experimental se han utilizado cubetas de cuarzo de 1,0 cm de paso de luz.

Las pesadas que requerían mayor exactitud se llevaron a cabo en balanzas analíticas Mettler AE-100 y Sartorius 2442.

También se usó ocasionalmente un granatario monoplátillio Mettler P1210.

Las medidas de pH se realizaron en un pH-metro Crison Mod. 501 y en un Beckman 70, equipados con electrodos combinados de vidrio-calomelanos. Los pH-metros han sido estandarizados empleando tampones

(*) Se usaron disoluciones recién preparadas.

acuosos de pH exáctamente conocido (Crison, pH 4,00, 7,02 y 9,23; Beckman, pH 4,00, 7,00 y 10,01; Merck, pH 4,00, 7,00 y 10,00). Las medidas de pH han sido establecidas en un medio mixto agua-etanol. Al no haber efectuado las correcciones oportunas al medio acuoso, los valores de pH serán operacionales.

Los espectros RMN de los reactivos han sido realizados en un Bruker WP 80 SY.

Los espectros IR se han obtenido usando un espectrofotómetro Perkin-Elmer 1310 (Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Farmacia).

Los puntos de fusión se midieron con un Büchi Mod. 510.

Cuando fue necesario el calentamiento de las muestras, se empleó el baño Selecta Univeba-401, termostatzado.

También se ha utilizado un agitador magnético Mod. Agimatic Selecta.

Para el tratamiento de datos se ha utilizado una calculadora Texas Instruments programable 59 provista de impresora Texas PC-100B* y un ordenador personal Casio PB-700.

I.3.- METODOS EXPERIMENTALES

I.3.1.- Síntesis de los reactivos.- Han sido sintetizadas las monopiridilhidrazonas del dipiridilglioxal, fenilglioxal y bencilo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

En un matraz de fondo redondo de 250 ml se mezclan cantidades equimoleculares (~0,009 mol) de 2-piridilhidracina y compuesto dicarbónico (en ligero exceso) disueltos en unos 30 ml de etanol, se añaden unas gotas de ácido acético glacial y se somete a reflujo durante media hora.

Una vez enfriada la mezcla, a temperatura ambiente, se vierte sobre hielo picado (caso de la DPGPH y FGMPH) y se deja estar un día

(*) Agradecemos al Dr.Trillo de Leyva la amabilidad mostrada al poner a nuestra disposición la calculadora programable y la impresora, sin las cuales no hubiera sido posible la realización de esta Memoria.

en el frigorífico.

Los precipitados obtenidos se filtran por placa G-4 y se lavan con mezcla etanol:agua 1:3 v/v.

Los compuestos obtenidos son de color amarillo y de aspecto cristalino (BMPH) o pulverulento (DPGPH y FGMPH).

Los puntos de fusión de la BMPH y DPGPH, 137-40 °C y 105-6 °C respectivamente, concuerdan con los valores descritos en la bibliografía, 140 °C y 108-9 °C respectivamente (130, 78)

La FGMPH ha sido sintetizada por primera vez en esta Memoria, por lo que se reseñan a continuación su punto de fusión y los resultados de análisis elemental (efectuado en la Sección de Microanálisis del Instituto de Química Orgánica General (C.S.I.C.) de Madrid, con un Autoanalizador Perkin Elmer 240).

Punto de fusión: 105-9 °C

Fórmula empírica de la FGMPH: $C_{13}N_3OH_{11}$

	<u>% C</u>	<u>% H</u>	<u>% N</u>
Calculado:	69,33	4,88	18,66
Encontrado:	69,36	4,97	18,63

I.3.2.- Solubilidad de los reactivos en distintos disolventes.

El procedimiento seguido consistió en pesar exáctamente cantidades variables de reactivo (mayores de 50 mg) y tratar de disolverlo en diversos disolventes orgánicos a temperatura ambiente usando matraces aforados y agitando hasta obtener disoluciones transparentes que se guardaron unos días para comprobar si se enturbiaban en el transcurso del tiempo.

La solubilidad en medio acuoso-orgánico se determinó preparando una serie de muestras en matraces de 25 ml con cantidades fijas de reactivo y variando la proporción de etanol y DMF hasta obtener disoluciones transparentes y estables.

I.3.3.- Espectros IR de los reactivos.- Los espectros IR de los reactivos se obtuvieron en fase sólida soportados en pastillas de KBr.

I.3.4.- Espectros RMN de los reactivos.- Los espectros RMN de los reactivos se realizaron con dimetilsulfóxido como disolvente y tetrametilsilano como estándar interno.

I.3.5.- Espectros UV-V de los reactivos en distintos disolventes
Para realizar este estudio se empleó la siguiente técnica: Se preparan disoluciones 10^{-3} M en DMF de cada uno de los reactivos, se toman 0,7 ml y se llevan a un matraz aforado de 25 ml enrasando en cada caso con el disolvente en cuestión. Se registran los espectros de absorción frente a blancos adecuados.

I.3.6.- Espectros UV-V a distintos valores de pH.- En todos los casos se utilizaron disoluciones 4×10^{-5} M del reactivo en agua con determinadas cantidades de etanol para evitar ulteriores precipitaciones y asegurar la completa disolución (BMPH 20%, DPGPH 4% y FGMPH 20% en etanol respectivamente).

Los agentes de pH empleados consistieron en disoluciones de ácidos y bases fuertes (HCl ó HClO_4 y KOH ó NaOH) de concentración adecuada.

La fuerza iónica se ajustó con disolución 1 M de electrolito indiferente (KCl ó NaClO_4).

En el caso particular de la BMPH y DPGPH, se hizo necesario aumentar la concentración de reactivo en orden a visualizar equilibrios ácido-base que no se percibían bien en el orden de concentraciones utilizado en la técnica general propuesta. Por tanto, se prepararon disoluciones de BMPH 4×10^{-4} M en agua-etanol al 40% y de DPGPH 8×10^{-5} M en HClO_4 5×10^{-2} M para elegir las longitudes de onda idóneas en el estudio de los equilibrios de protonación correspondientes al nitrógeno piridínico de la BMPH y de uno de los nitrógenos piridínicos de la DPGPH.

Todos los espectros se realizaron frente a blancos de disolvente adecuados.

I.3.7.- Cálculo de las constantes de disociación.- Para la obtención de las curvas A-pH de cada uno de los reactivos se prepararon

las muestras procediendo análogamente a como se indicó en el apartado anterior. Las absorbancias se midieron a varias longitudes de onda, seleccionadas a partir de los espectros de absorción a distintos pH, de forma que la diferencia entre los valores de absorptividad molar fuese lo más elevada posible.

I.3.8.- Comprobación de la ley de Beer de los reactivos.- Se comprobó el cumplimiento de la ley de Beer de los reactivos cubriendo un rango de concentraciones de 3×10^{-6} a 5×10^{-5} M a dos valores de pH en los que la curva A-pH presenta una zona plana (absorbancia constante).

I.4.- ESTUDIO DE LA REACCIONABILIDAD CON LOS IONES METALICOS

Los ensayos cualitativos de reaccionabilidad se han efectuado en tubos de ensayo añadiendo cantidades variables de los iones metálicos (5-20 ppm), agente de pH, disolvente (etanol), aproximadamente 2,5 ml de disolución de reactivo al 0,1% en etanol y agua destilada hasta completar 10 ml. La reacción se toma como positiva cuando aparece un precipitado o se produce un cambio de color.

Se prepararon muestras (con los cationes que daban color), en matraces de 25 ml en el siguiente orden: catión, regulador de pH, (5 ml de etanol en el caso de la FGMPH), agua destilada y, en último lugar, 2,5 ml de disolución de reactivo al 0,1% en etanol. Las muestras se dejaron en reposo unos diez minutos y se registraron los espectros de absorción en el rango de 350-650 nm frente a blancos preparados de igual forma pero sin añadir el catión.

Los ensayos cualitativos de extracción se han realizado pipeteando alícuotas (5 ml) de las disoluciones preparadas para el registro gráfico, las cuales se trasvasan a tubos de ensayo y se añade el mismo volumen de disolvente orgánico (cloroformo), se agita durante 30 segundos y una vez separadas las fases se anotaron las coloraciones observadas.

I.5.- ESTUDIO DE LOS SISTEMAS REACTIVO-ION METALICO: NATURALEZA DE LAS REACCIONES

Los datos relativos al estudio de los complejos, así como a las determinaciones espectrofotométricas de cobalto y zinc estudiadas, se incluyen en los capítulos correspondientes, por lo que en este apartado nos limitaremos a exponer las técnicas y consideraciones generales.

En todo el trabajo experimental se han utilizado matraces aforados de 25 ml y las medidas de absorbancia se han efectuado en cubetas de cuarzo de 1,0 cm de paso de luz frente a blancos preparados de igual forma que las muestras, pero sin catión y, en algunos casos, frente a blancos de disolvente.

El orden de adición seguido en la preparación de las muestras fue el siguiente: catión, disolvente, regulador de fuerza iónica (a veces), agente de pH, agua destilada y reactivo. En el estudio de las interferencias éstas se añaden después del catión estudiado y, para su eliminación, el agente enmascarante se añade después de la interferencia a eliminar.

Se han llevado a cabo experiencias para elegir las longitudes de onda de medida más adecuadas, seleccionándose, generalmente, como longitud de onda analítica la correspondiente a la zona de máxima absorción para hacer mínimo el error; aunque a veces es más apropiado medir a longitudes de onda más elevadas donde la absorbancia del blanco es mínima.

Para el estudio de la estequiometría de los quelatos se han utilizado los métodos de la razón molar (225) y de las variaciones continuas o método de Job (226-227). El medio contenía etanol en proporción variable dependiendo del caso; y el orden de adición era el mismo indicado anteriormente. Las muestras se dejaron reposar durante 20-30 minutos antes de medir sus absorbancias.

Asimismo, se ha seguido la estabilidad de las muestras midiendo la absorbancia de las mismas en función del tiempo y en las condiciones apropiadas de cada caso, bien a longitud de onda fija o mediante el registro gráfico de sus espectros de absorción.

I.6.- CARACTERISTICAS FOTOMETRICAS DE LOS QUELATOS

Para comprobar si se cumple la ley de Lambert-Beer de los quelatos, se preparó una serie de muestras con cantidades variables de cación y se representaron los datos de absorbancia obtenidos frente a la concentración de ión metálico en ppm.

Con los datos obtenidos en la ley de Beer se calcula el intervalo de concentración de ión metálico en el que la determinación tiene un error mínimo, a partir del gráfico de Ringbom (228), en el cual se representa el tanto por ciento de transmitancia frente al logaritmo decimal de la concentración de ión metálico (ppm). La zona de mínimo error corresponde al tramo recto de la curva.

En el estudio de la reproducibilidad, para calcular el porcentaje de error, se prepara una serie de muestras con una concentración de ión metálico incluida en el rango óptimo de trabajo según el gráfico de Ringbom. A partir de los datos de absorbancia medidos a cada longitud de onda, se hace el estudio estadístico del método, calculándose la desviación estándar, desviación estándar de la media y el porcentaje de error de la media.

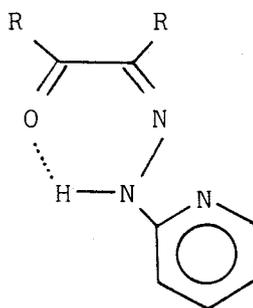
También se determinan la sensibilidad, precisión del método, rango de aplicación y límite de detección.

* * * * *
* * * * *

II.1.- SINTESIS DE LOS REACTIVOS

Las reacciones de condensación entre el fenilgloxal, bencilo y dipiridilgloxal con la 2-piridilhidracina para dar las correspondientes monopiridilhidrazonas, se llevan a cabo con facilidad en medio ácido débil o moderadamente fuerte, obteniéndose buenos rendimientos.

Es bien conocido que los compuestos α -dicarbónicos originan fácilmente osazonas con hidracinas sustituidas, tal como fenilhidracina (229). No obstante, en el caso de la piridilhidracina la reacción, generalmente, transcurre con formación de monopiridilhidrazona, debido probablemente a la estabilización de esta última mediante formación de un puente de hidrógeno intramolecular, tal como se observa en el siguiente esquema (77):



Se ha seguido un procedimiento análogo al descrito por Chiswell Lions y Tomlinson (130), que conduce a rendimientos ligeramente superiores, obteniéndose el producto deseado sin formación de mezclas.

II.2.- SOLUBILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos se disuelven fácilmente en disolventes orgánicos de uso común, como etanol, DMF o cloroformo, lo que permite la utilización de estos disolventes con fines analíticos. Los reactivos estudiados son asimismo solubles en disoluciones ácidas dada la protonación del átomo de nitrógeno piridínico en este medio. No obstante, es un inconveniente disolver los reactivos en medio ácido ya que el reactivo protonado pierde la capacidad de quelación con los iones metálicos. Por otra parte, resulta necesaria la presencia de una cierta

proporción de disolvente orgánico en el medio en orden a mantener el reactivo en disolución.

Se ha elegido el etanol como disolvente de uso general debido a su bajo coste y toxicidad, aunque la DMF ha sido también empleada en experiencias aisladas.

Se ha estudiado la solubilidad de los reactivos en disolución agua-etanol; para ello se ponen 2,5 ml de disolución de reactivo al 0,1% en etanol en matraces de 25 ml y se agregan distintas cantidades de agua y de etanol hasta el enrase; se determina así la porción mínima de etanol que impide la precipitación del reactivo (Tabla 11).

TABLA 11 * SOLUBILIDAD DE LOS REACTIVOS

Reactivo	% Etanol	Transparencia
DPGPH	8	30 minutos
	20	> 24 horas
FGMPH	36	2 minutos
	40	10 minutos
	44	25 minutos
	48	> 24 horas
BMPH	32	5 minutos
	36	5 minutos
	40	1 hora

II.3.- ESPECTROS UV DE LOS REACTIVOS EN DISTINTOS DISOLVENTES

Se han registrado los espectros UV de los tres reactivos, DPGPH, FGMPH y BMPH, a una concentración $2,8 \times 10^{-5}$ M, en distintos disolventes orgánicos inmiscibles con agua. No obstante, todas las muestras contenían un 2,8% de DMF, por lo que los disolventes en cuestión son en realidad mixtos. Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 6-8. Asimismo, en la Tabla 12 se recogen las longitudes de onda de máxima absorción de los distintos reactivos en los disolventes empleados junto con los coeficientes de absorción molar.

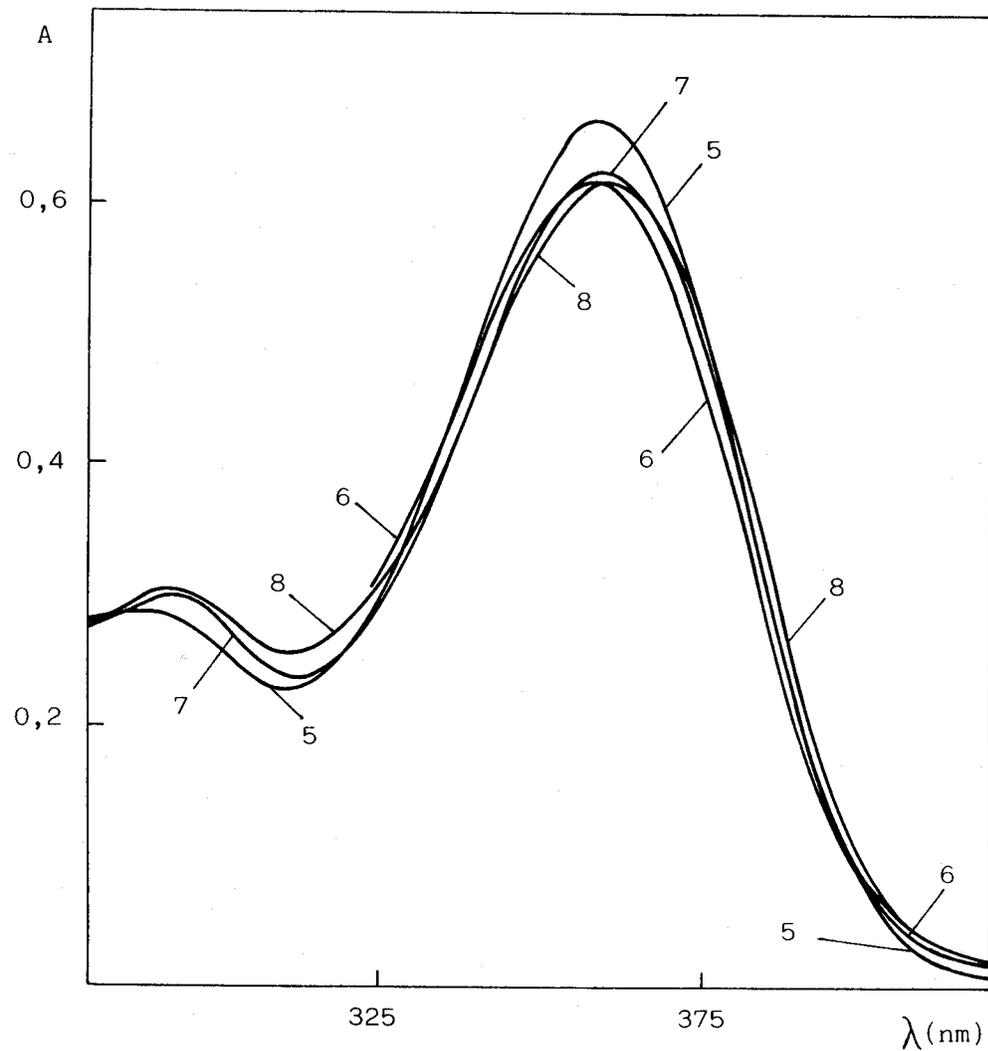
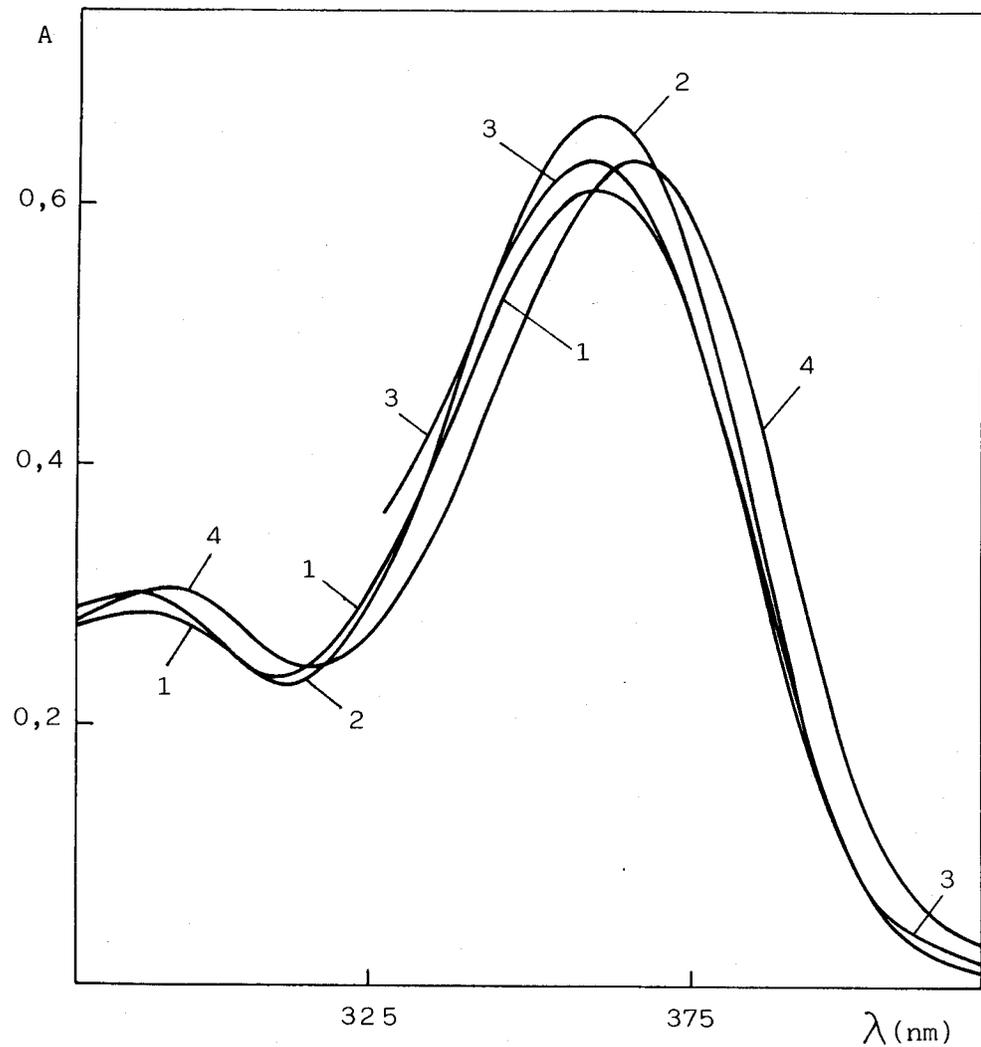


FIGURA 6 * Espectros UV de la DPGPH en distintos disolventes: 1.- DMF; 2.- Etanol; 3.- Metilisobutilcetona; 4.- Cloroformo; 5.- Metanol; 6.- Acetona; 7.- Eter etílico; 8.- Dioxano

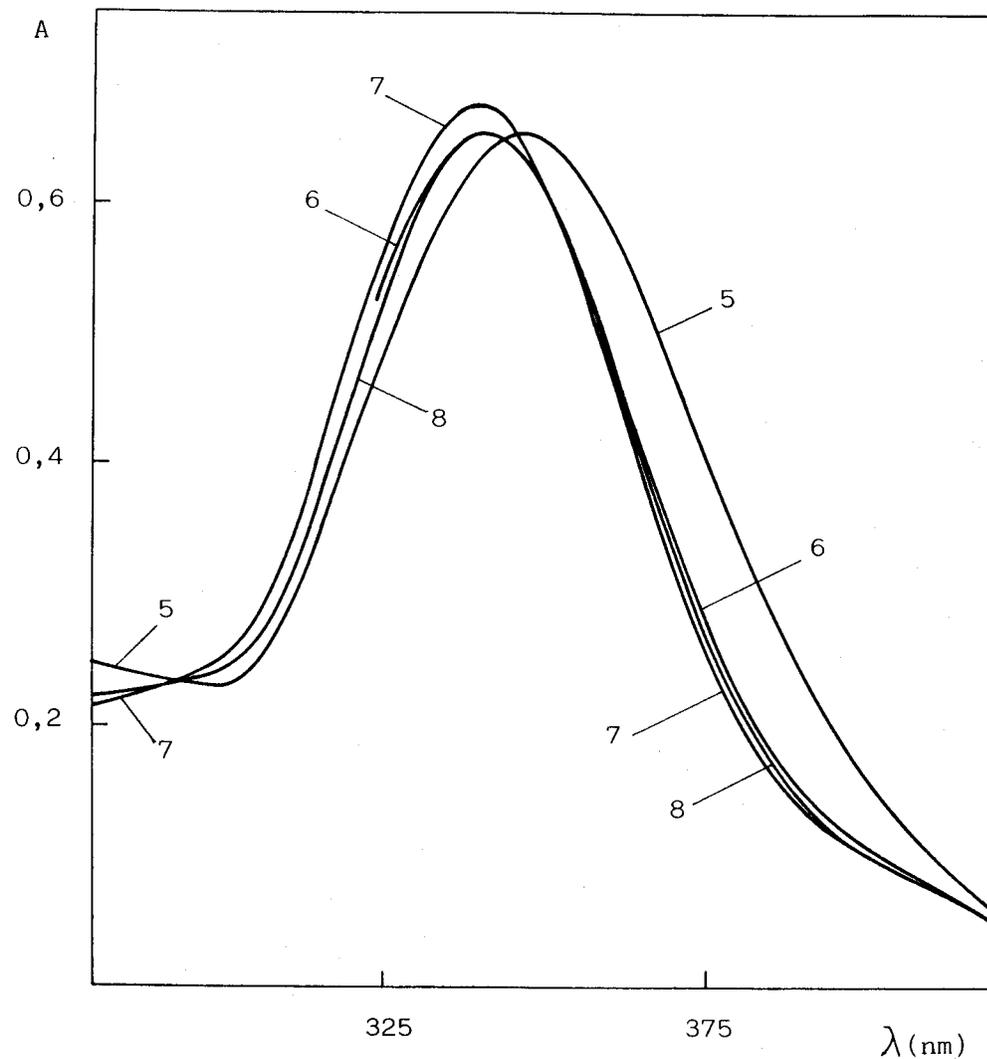
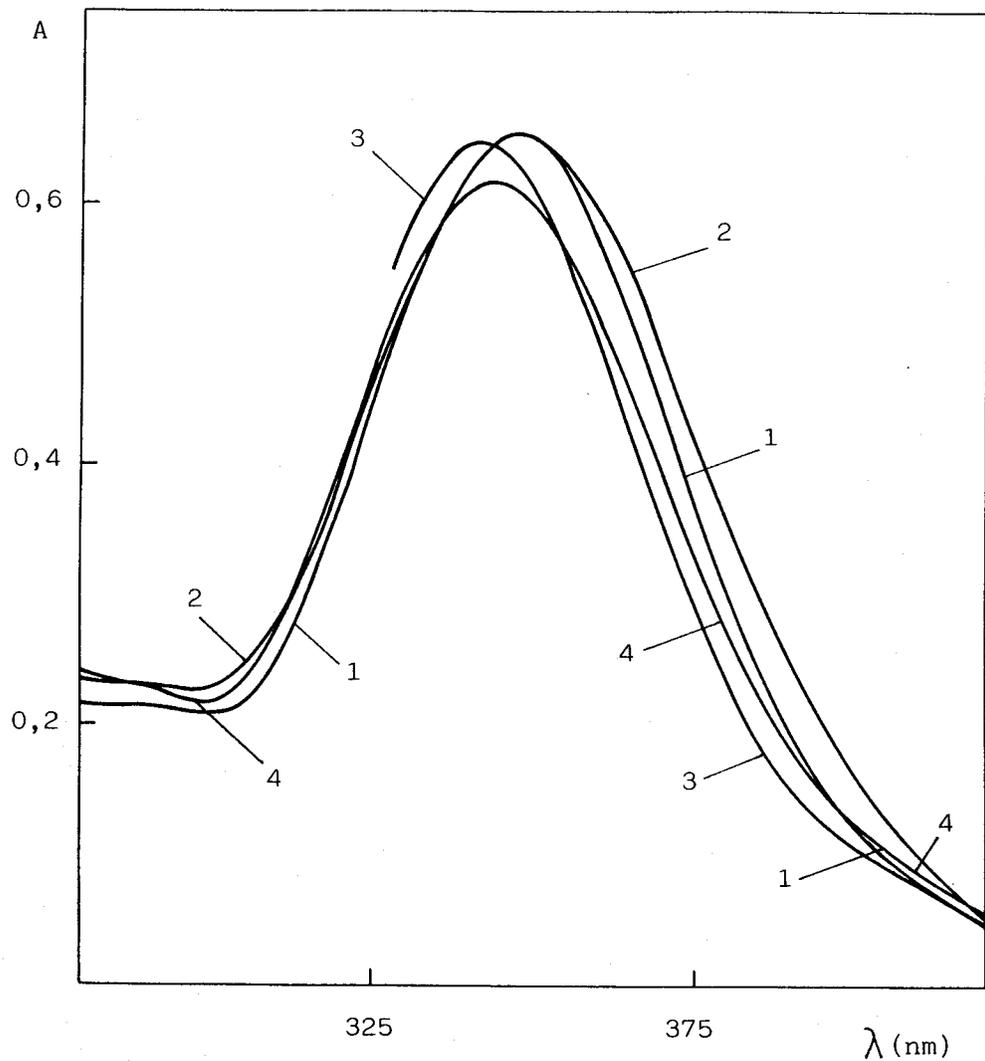


FIGURA 7 * Espectros UV de la FGMPH en distintos disolventes: 1.- DMF; 2.- Etanol; 3.- Metilisobutilcetona; 4.- Cloroformo; 5.- Metanol; 6.- Acetona; 7.- Eter etílico; 8.- Dioxano

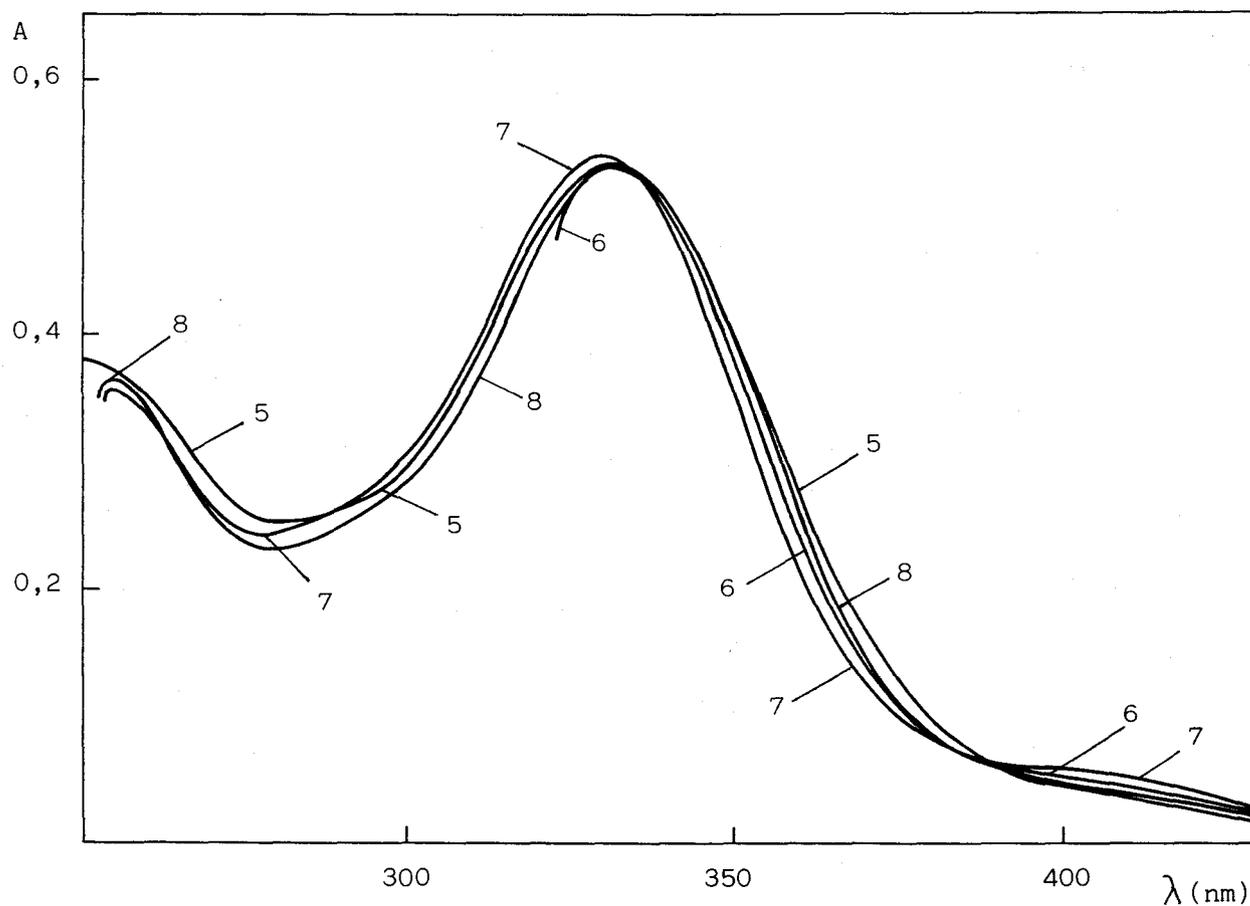
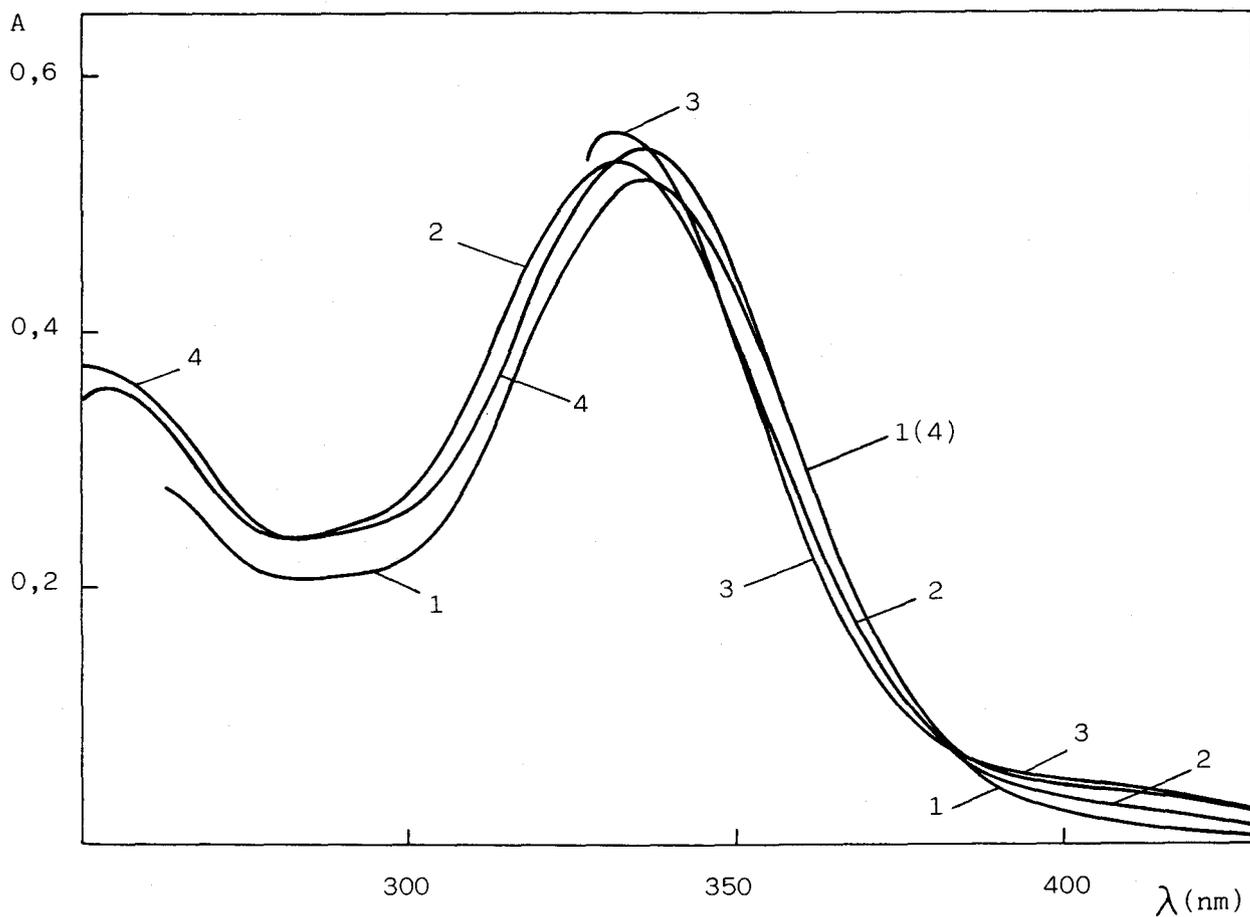


FIGURA 8 * Espectros UV de la BMPH en distintos disolventes: 1.- DMF; 2.- Etanol; 3.- Metilisobutilcetona; 4.- Cloroformo; 5.- Metanol; 6.- Acetona; 7.- Eter etílico; 8.- Dioxano

TABLA 12 * INFLUENCIA DE LOS DISTINTOS DISOLVENTES EN LA LONGITUD DE ONDA DE MAXIMA ABSORCION Y EN EL COEFICIENTE DE ABSORTIVIDAD MOLAR PARA LOS DISTINTOS REACTIVOS.

Disolvente	Constante dieléctrica (230)	BMPH		DPGPH		FGMPH	
		$\lambda_{\text{máx}}$	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	$\lambda_{\text{máx}}$	$\epsilon^a \times 10^{-3}$	$\lambda_{\text{máx}}$	$\epsilon^a \times 10^{-3}$
Dimetilformamida	37,6	337	18,6	361	21,9	347	23,5
Metanol	32,6	331	19,0	359	23,9	347	23,4
Etanol	24,3	333	19,0	361	23,9	349	23,4
Acetona	20,7	331	19,0	359	22,1	341	23,5
Metil-isobutil-cetona	13,1	332	19,9	360	22,6	341	23,4
Cloroformo	4,8	337	19,4	366	22,6	343	22,1
Eter etílico	4,3	331	19,3	359	22,4	339	24,3
Dioxano	2,2	333	19,0	362	22,1	341	23,4

(a) Expresado en $l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

Los espectros son análogos en su forma y muestran dos picos de absorción, el segundo de ellos por debajo de 300 nm. La menor absorbividad molar en el pico de absorción principal, corresponde a la BMPH que, sin embargo, es el reactivo que muestra mayor absorción en el pico secundario. La DPGPH absorbe a mayores longitudes de onda que la FGMPH y ésta a mayores que la BMPH.

II.4.- ESPECTROS IR DE LOS REACTIVOS

Los espectros IR de los reactivos*, DPGPH (Figura 9), FGMPH (Figura 10) y BMPH (Figura 11), muestran varias bandas de absorción en regiones similares, lo que hace fácil su interpretación, a pesar de su relativa dificultad y complejidad. Los espectros consisten principalmente en absorciones debidas a los grupos C-H, C=C y C=N del anillo aromático junto con la de los N-H y C=O.

El espectro más sencillo de los tres es el de la FGMPH, como es de esperar dada su estructura. Los espectros de la DPGPH y de la BMPH son análogos en complejidad. Las bandas de absorción asociadas con las vibraciones del anillo de piridina son bien conocidas (231, 222). La piridina muestra cuatro bandas a 1582, 1570, 1481 y 1437, que aparecen a mayores o menores números de onda en los tres derivados estudiados. La absorción correspondiente a los enlaces N-H y C=N ocurre en la región esperada, por otra parte bien conocida (232-234). En particular, las bandas de absorción correspondientes al C=N y al C=O deben encontrarse solapadas. Las bandas próximas a 900 y 700 cm^{-1} son indicativas de la existencia del anillo de piridina. Una característica interesante del espectro de la BMPH es la aparición de un pico bien definido, estrecho, a 3310 cm^{-1} , que no aparece en los espectros de la DPGPH y de la FGMPH, ni tampoco en los de la biacetil bis(2-piridil)hidrazona (112), biacetil mono(2-piridil)hidrazona (112), 1,2-ciclohexanodiona (2-piridil)hidrazona (235), glioxal bis(2-piridil)hidrazona (74), pero sí en el de la biacetilmonoxima (2-piridil)hidrazona (112), que puede ser debida a la existencia de un enlace de hidró-

(*) Agradecemos a D. J.M.Llera Fernández la realización de los espectros IR y sus orientaciones sobre los mismos.

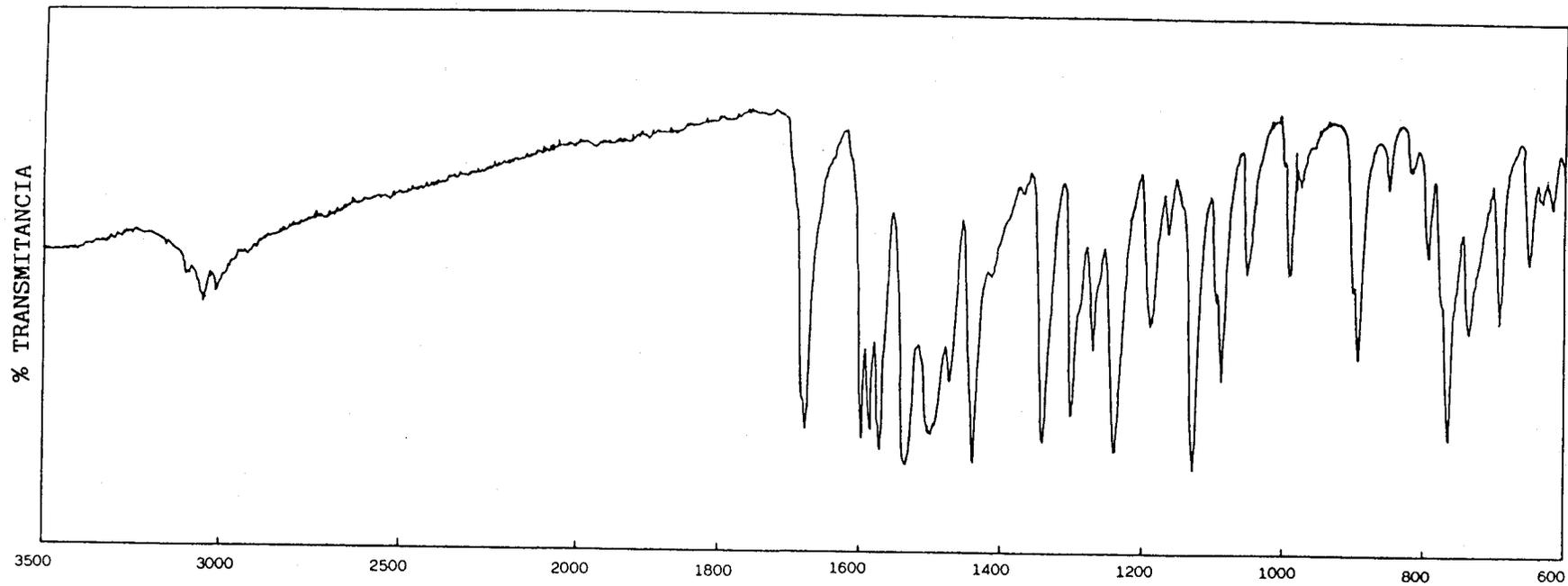


FIGURA 9 * Espectro IR de la DPGPH

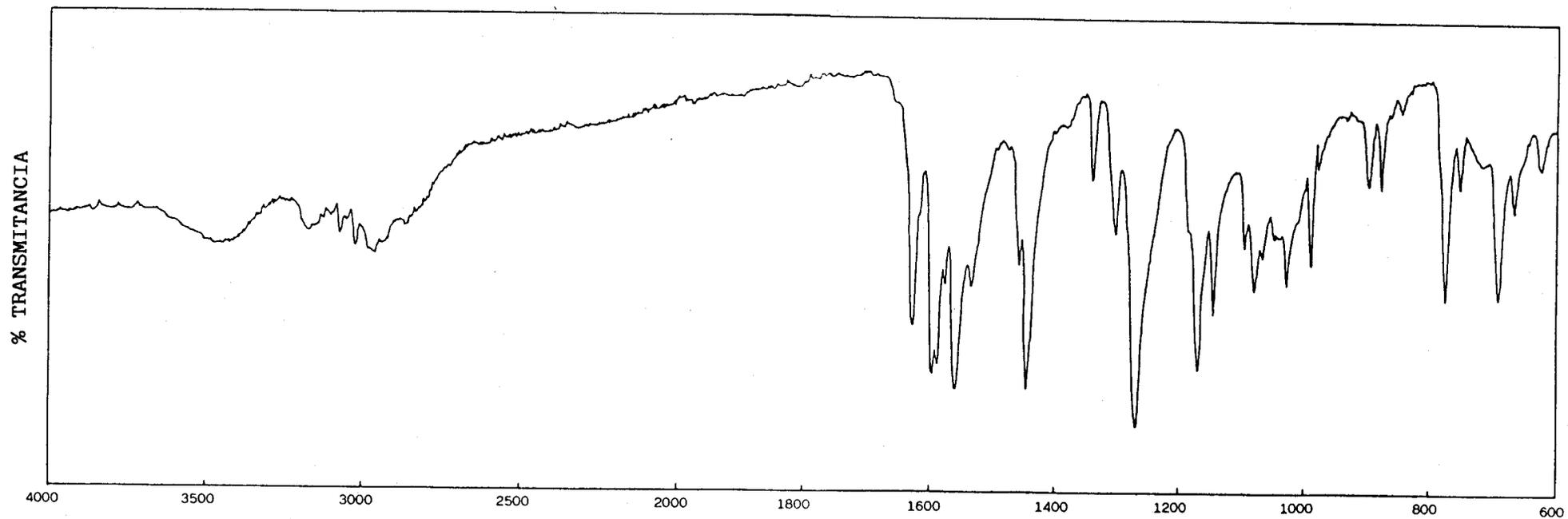


FIGURA 10 * Espectro IR de la FGMPH

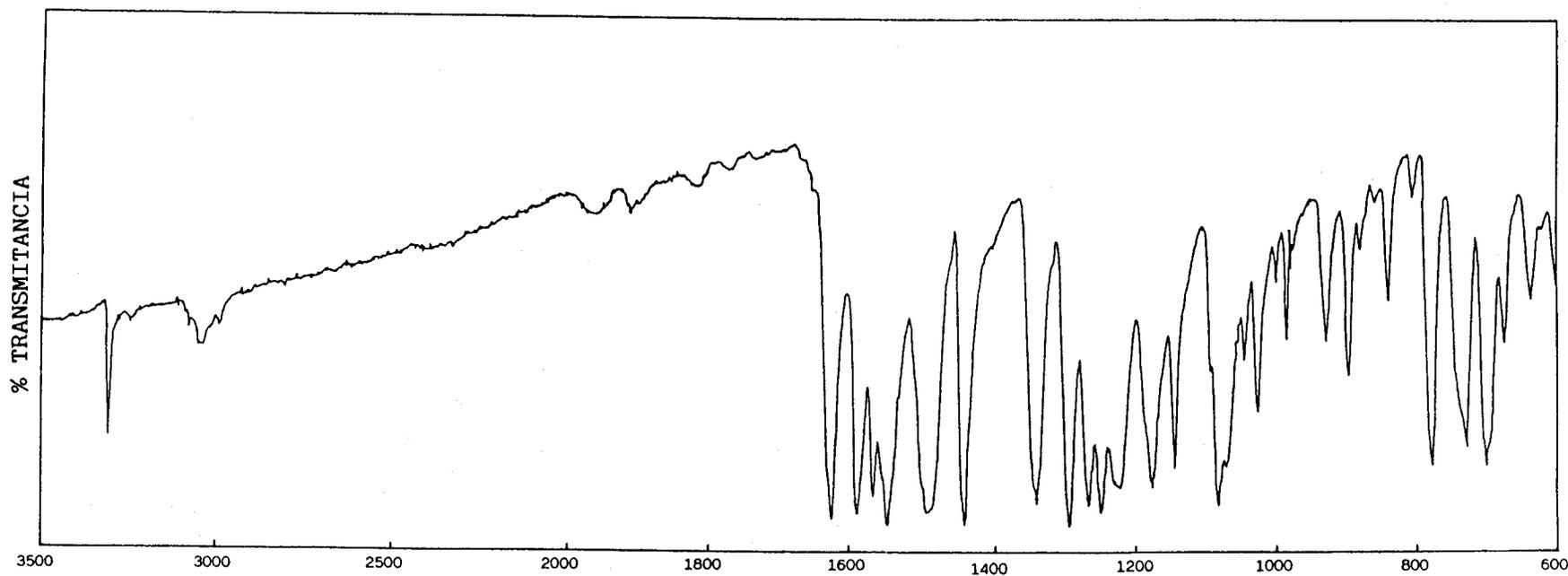


FIGURA 11 * Espectro IR de la BMPH

geno intramolecular. En el rango de 1500 a 500 cm^{-1} existen fuertes absorciones motivadas por las deformaciones de los enlaces C-H del anillo piridínico. Las asignaciones de las principales bandas de absorción se detallan en la Tabla 13.

II.5.- ESPECTROS RMN DE LOS REACTIVOS

Los espectros de ^1H -RMN de los tres derivados (Figuras 12-14)* presentan gran similitud como corresponde a una estructura base prácticamente idéntica. En la Tabla 14 se encuentran recogidos los datos más relevantes de los mismos.

Los protones aromáticos resuenan en el intervalo 6,7-9,0 ppm (236). Para la FGMPH el protón cetimínico se encuentra solapado con estas señales (237) por lo que su asignación correcta no es posible.

El punto más importante a destacar es la presencia de más de una señal correspondiente al protón hidracínico (Figuras 12-14). Esto es debido, sin duda, a la existencia de dos isómeros (Z y E) del doble enlace $>\text{C}=\text{N}$ (238-240).

En el isómero Z (ver Tabla 14) es posible un puente de hidrógeno intramolecular a través de un ciclo de seis eslabones entre el NH de hidracina y el oxígeno carbonílico. Esto provoca un desapantallamiento de este protón por lo que la señal a δ mayor podrá ser asignada a este isómero. Sin embargo, hay que tener presente que el disolvente utilizado (DMSO-d_6) tiene fuerte tendencia a formar puentes de hidrógeno con los protones "móviles" de los sustratos que disuelve.

Este último punto trae consigo una incertidumbre en la asignación de las señales correspondientes a cada isómero, ya que en estas condiciones el NH en el isómero E estará formando puentes de hidrógeno con el disolvente, mientras que en el Z habrá competencia entre estas asociaciones y las intramoleculares lo cual provocaría distintos desapantallamientos difíciles de evaluar.

(*) Agradecemos al Profesor D. F. Zorrilla la realización de los espectros RMN, y su valiosa orientación. Asimismo agradecemos a D. J.M. Llera su colaboración en la asignación de los mismos.

TABLA 13 * ESPECTROS IR DE LOS REACTIVOS (Número de onda en cm^{-1})

DPGPH	FGMPH	BMPH	Asignación	
3100-3000 da	3200-2800 da	3310 m	$\nu_{\text{N-H}}$ hidracina	
3100-3000 d	3100-3000 d	3100-3000 d	$\nu_{\text{C-H}}$ aromático	
1675 f	1639 f	1635 f	$\nu_{\text{C=O}}$	
1595 f	1600 f	1595 f	Bandas de respiración aromática ($\nu_{\text{C=C}}$ y $\nu_{\text{C=N}}$)	
1585 f	1585 f	1575 f		
1570 f	1560 f	1555 mf		
1535 f	1450 f	1495 f		$\nu_{\text{C=N}}$ hidrazona
1500 f		1445 f		$\delta_{\text{N-H}}$ hidracina
1440 f				
1340 f	1275 F	1340 f	$\nu_{\text{C-N}}$ hidracina	
1240 f	1175 f	1250 f		
765 f	780 m	780 f	$\delta_{\text{C-H}}$ aromático	
	695 m	730 f		
		700 f		

FIGURA 12 * Espectro RMN de la DPGPH

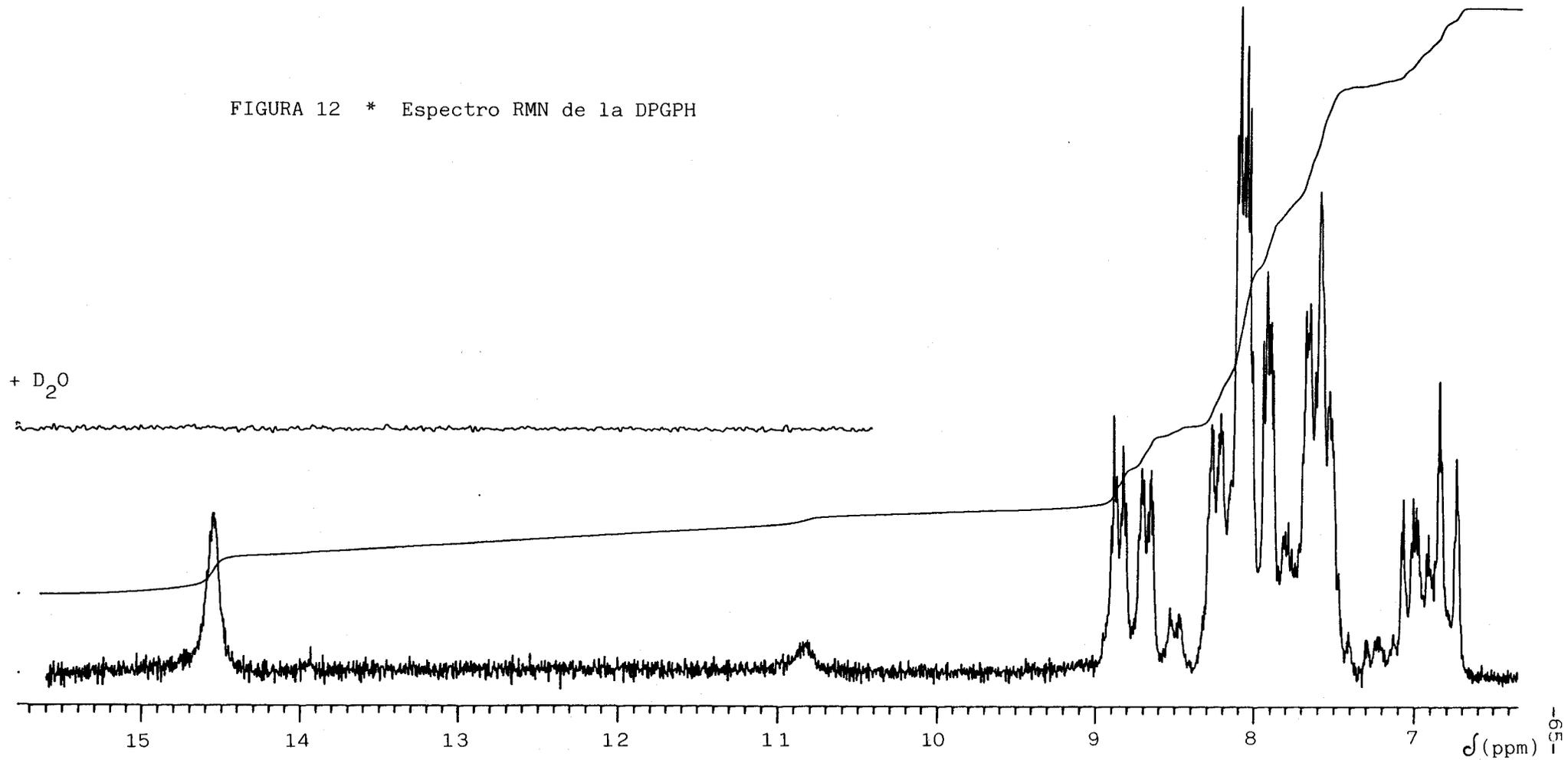


FIGURA 13 * Espectro RMN de la FGMPH

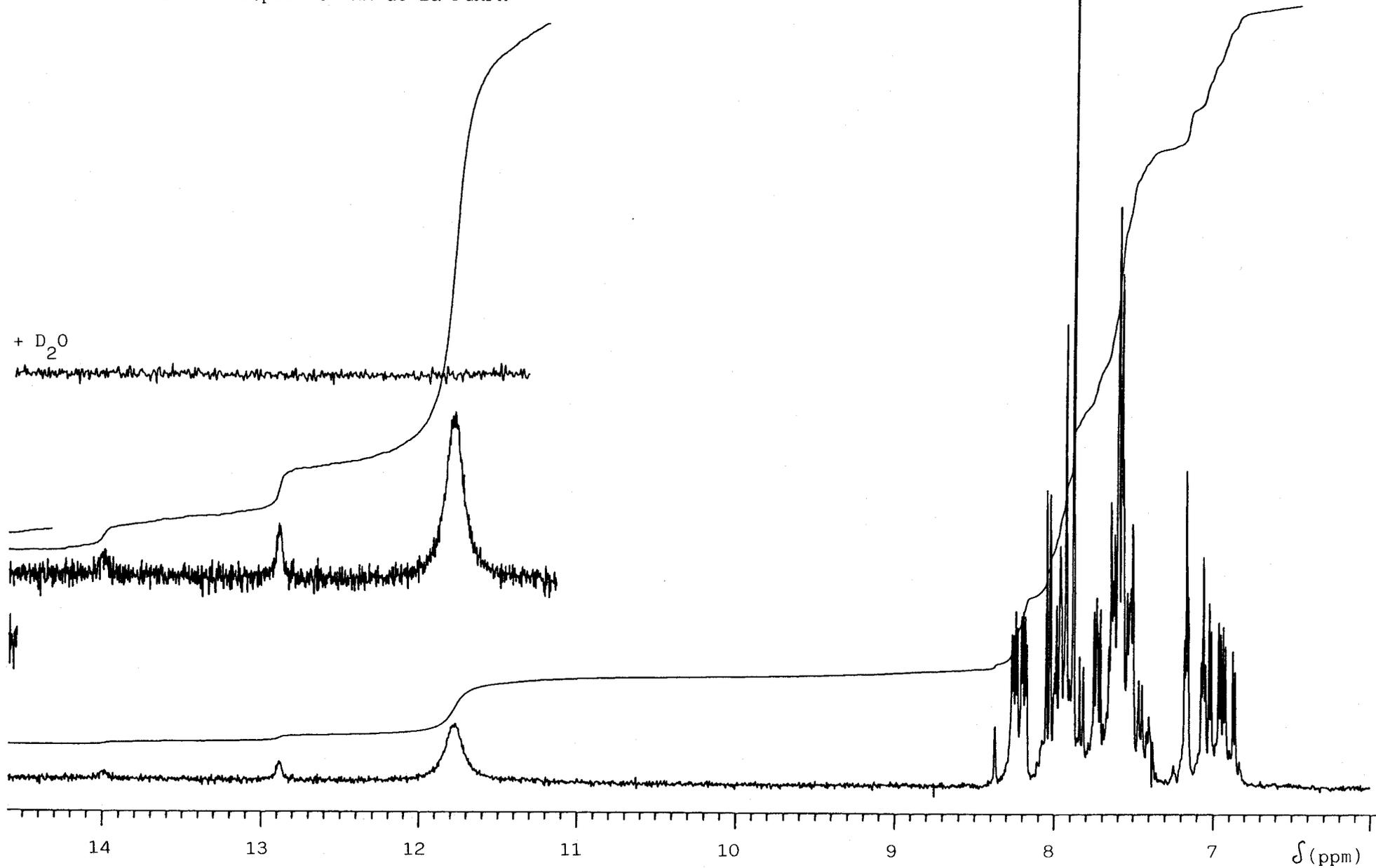


FIGURA 14 * Espectro RMN de la BMPH

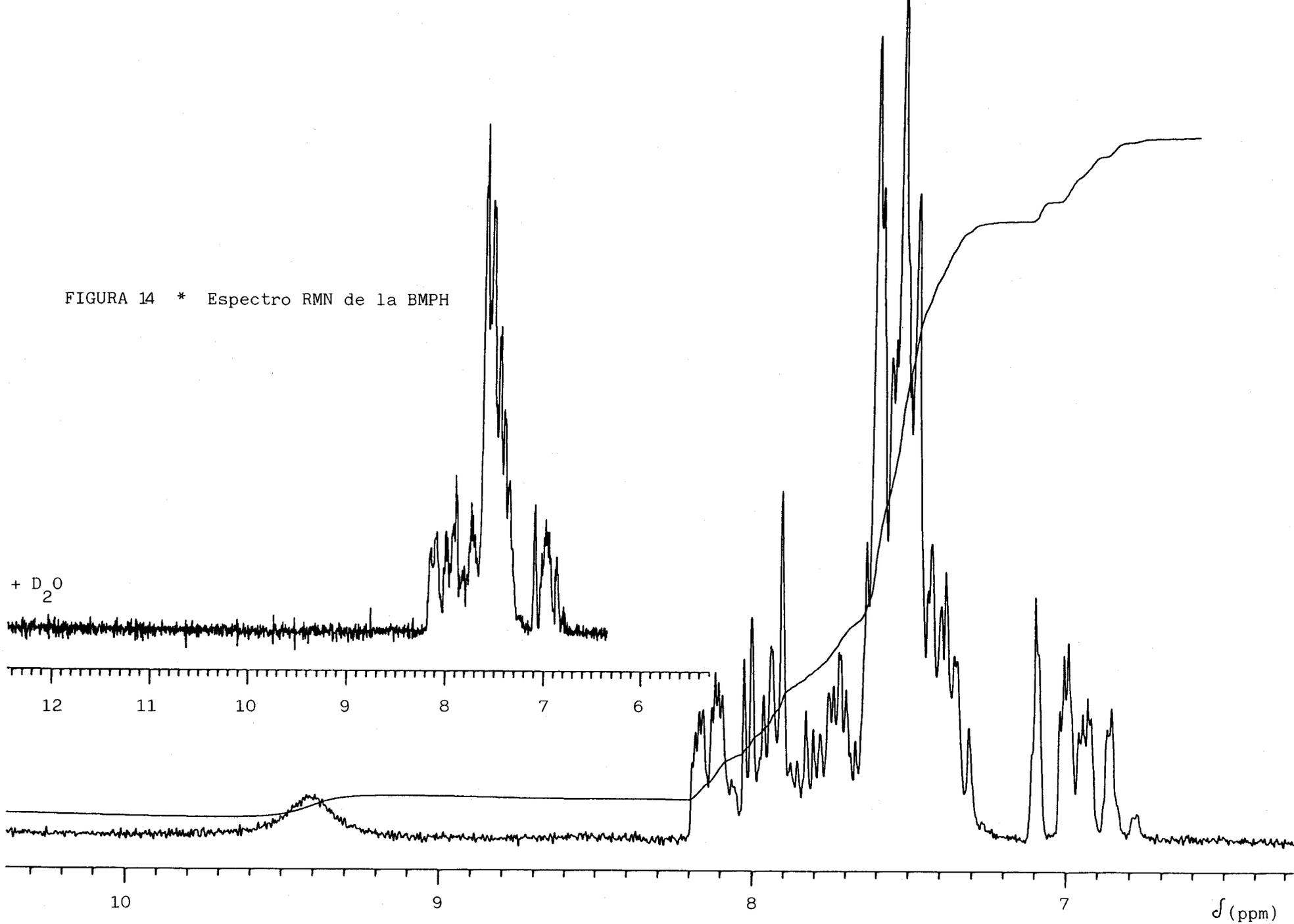
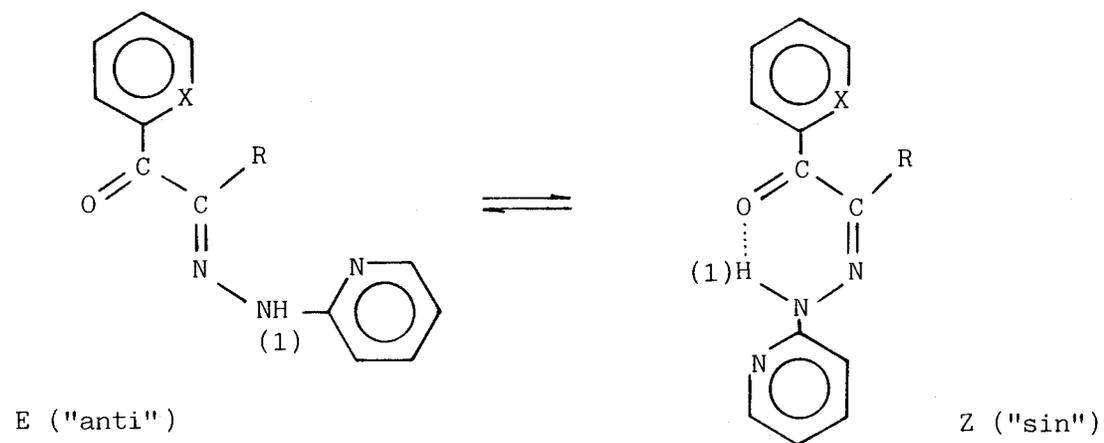


TABLA 14 * ESPECTROS RMN DE LOS REACTIVOS



X	R	Nombre	δ ppm			
			Z	E	H(2)	H aromáticos
			H*(1)	H*(1)		
N	2-piridil	DPGPH	14,5	10,8	-	6,7 - 9,0
CH	H(2)	FGMPH	12,9	11,8	**	6,8 - 8,4
CH	Fenil	BMPH	9,4	**	-	6,8 - 8,2

(*) Desaparecen al deuterar

(**) Banda solapada con la señal de H aromáticos

Esto explicaría las tres señales observadas para la FGMPH aunque es arriesgado decidirse sobre cuál corresponde a cada situación. Se podría pensar, en base exclusivamente a requerimientos estéricos, que en la FGMPH el isómero E fuera nétamente más estable que el Z. Esto, de acuerdo con la forma del espectro (Figura 13), indicaría que la señal de NH a δ menor (que es la mayoritaria), se origina a partir de este isómero. Con esta base, se podría asignar en todos los espectros al isómero E la señal a δ menor.

Para la DPGPH, tanto los factores estéricos como la formación de puentes de hidrógeno (ver Tabla 14), favorecen al isómero Z, lo cual está de acuerdo con que la señal a campo menor sea más intensa.

En el caso de la BMPH, se aprecia una única señal a $\delta = 9,4$ ppm correspondiente al protón hidracínico. Si nos atenemos a los valores de la integral, se pone de manifiesto que dicha señal no corresponde a un protón sino aproximadamente a 0,4. Esto indica que la otra señal correspondiente a 0,6 protones debe encontrarse bien a mayores valores de δ o bien solapada con los picos de la señal aromática.

Se ha comprobado que en el rango de δ 10-17 ppm no aparece ningún pico. Por otra parte, el valor de la integral para la señal de H aromáticos muestra la existencia de aproximadamente 14,6 protones frente al valor esperado de 14. Además, la adición de agua deuterada, modifica una zona de la señal aromática, lo cual aduce otras razones a esta explicación.

Así pues, podemos suponer que la señal correspondiente a la fracción 0,6 del protón hidracínico se encuentre solapada con la de los protones aromáticos. Dado que $\delta_Z > \delta_E$, hemos asignado la señal a 9,4 ppm al conformero Z.

II.6.- ESPECTROS UV-V DE LOS REACTIVOS A DISTINTOS VALORES DE pH

Los espectros UV-V de la DPGPH registrados a distintos valores de pH se encuentran recogidos en la Figura 15. En medio ácido a un valor de pH igual a 1,90 la DPGPH muestra un pico principal de absorción situado a unos 375 nm junto con una banda secundaria en el rango de 220 á 300 nm. El pico principal sufre un desplazamiento hipso e hipocrómico conforme el pH aumenta a 2,40 y 3,66, para luego sufrir

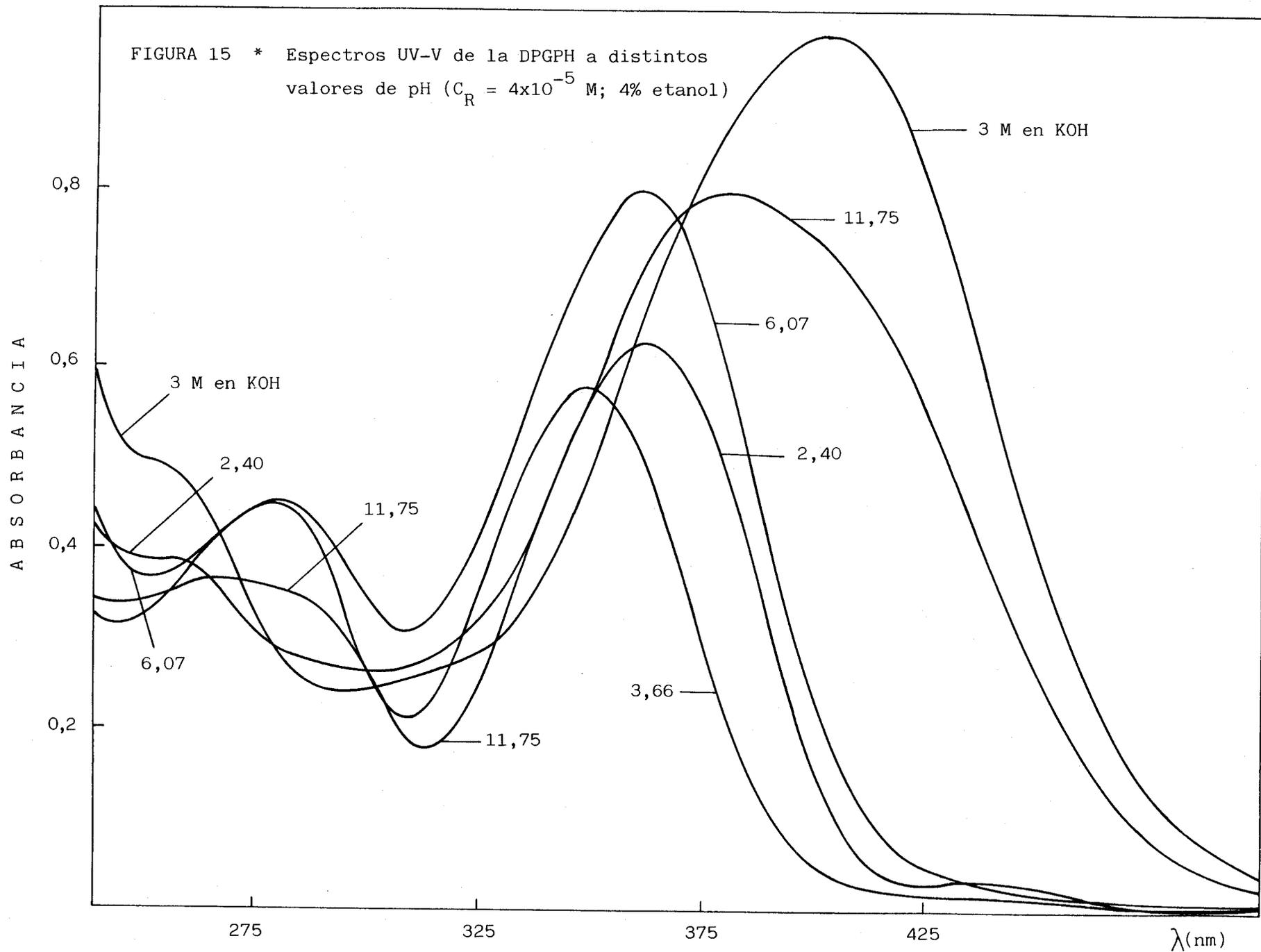
en cambio un desplazamiento bato e hiperocrómico cuando el pH se eleva a 5,75 y 10,93. Un nuevo desplazamiento bato e hiperocrómico se produce cuando se aumenta aún más la alcalinidad del medio. La banda de absorción secundaria también sufre cambios drásticos cuando se produce una variación de la acidez en el medio. Cuando el pH se incrementa desde 1,90 a 3,66 aparece un pico de absorción definido a unos 290 nm, pero si el pH del medio sigue aumentando, se observa cómo disminuye la absorción hasta el punto de que en medio básico la banda de absorción secundaria se sitúa por debajo de la absorción mostrada a valores de pH próximos a 1,90.

Estos cambios en el espectro UV-V pueden atribuirse sin lugar a dudas a los diferentes equilibrios ácido-base en los que está implicada la DPGPH. La forma neutra del reactivo puede designarse como HR, dado que posee un protón débilmente ácido (hidrógeno imínico) e ionizable por tanto a valores de pH elevados. En medio ácido puede sufrir varias protonaciones sucesivas, dado que posee tres átomos de nitrógeno piridínicos. De hecho, las variaciones de los espectros en el rango de pH 1,90-5,75 indican la presencia de dos equilibrios protolíticos simultáneos. La forma de los espectros registrados a valores de pH inferiores a 1,90 indican la existencia de un equilibrio ácido-base adicional que debe implicar la protonación del tercer átomo de nitrógeno piridínico. Estos cambios se observan preferentemente en la región de la banda de absorción secundaria. En la Tabla 15 se muestran los valores de absorbancia a las longitudes de onda de máxima absorción, a distintos valores de pH.

TABLA 15

pH	$\lambda_{\text{máx}}$	$A_{\text{máx}}$
1,90	366	0,705
2,37	363	0,625
2,40	363	0,625
3,66	350	0,581
5,75	360	0,779
6,07	360	0,798
10,93	367	0,791
11,75	380	0,796
12,25	400	0,859
$ \text{OH}^- \simeq 3 \text{ M}$	404	0,973

FIGURA 15 * Espectros UV-V de la DPGPH a distintos valores de pH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 4% etanol)



Con objeto de proceder posteriormente al estudio cuantitativo de los equilibrios ácido-base que nos permitirá la evaluación de las constantes de acidez, se ha investigado la estabilidad de las disoluciones diluidas de la DPGPH en distintas concentraciones de ácido perclórico, $5,85 \times 10^{-2}$ M, 2,80 M y 4,21 M, durante un periodo de 25 días. Los cambios en los espectros de absorción con el tiempo son mínimos en el pico principal de absorción (Figura 16), y más significativos en cambio en el pico secundario, aunque difícilmente atribuibles a un fenómeno de hidrólisis dada la escasa relevancia de los mismos. La conclusión evidente es que estos cambios no plantean problema alguno de cara al estudio de los equilibrios ácido-base del reactivo en medio fuertemente ácido.

En medio fuertemente básico, a una concentración aproximadamente 3 M en hidróxido de potasio, se produce un cambio de absorbancia en el máximo de absorción, situado a 404 nm, de 0,973 á 0,958 unidades de absorbancia en 15 horas, siendo por tanto también excelente la estabilidad de las disoluciones diluidas de la DPGPH en medio alcalino.

La fenilgloxal mono(2-piridil)hidrazona, FGMPH, sufre unos cambios en sus espectros de absorción UV-V con respecto al pH análogos en cierta manera a los producidos por la DPGPH. Este reactivo muestra, según se observa en la Figura 17, a valores de pH del orden de 7,30 ó 9,57, un pico de absorción situado hacia unos 360 nm y que debe corresponder a la forma neutra (HR) del reactivo. La banda de absorción principal sufre un fuerte desplazamiento batocrómico en medio alcalino pero, al contrario de lo que ocurre con la DPGPH, la intensidad de la banda disminuye fuertemente. También se producen en este caso cambios en los espectros de absorción en medio ácido imputables a la protonación del átomo de nitrógeno piridínico y que se hacen patentes tanto en la aparición de un máximo definido en la banda de absorción secundaria situada entre 260 y 300 nm, como en la banda principal, que sufre un leve desplazamiento hipso e hiperocrómico. Dada la menor complejidad de esta molécula, los cambios en el espectro de absorción cuando la acidez del medio varía, son más sencillos que en el caso de la DPGPH, y más fácilmente interpretables.

En la Tabla 16 se recogen los valores de absorbancia obtenidos en el máximo de absorción a diferentes valores de pH.

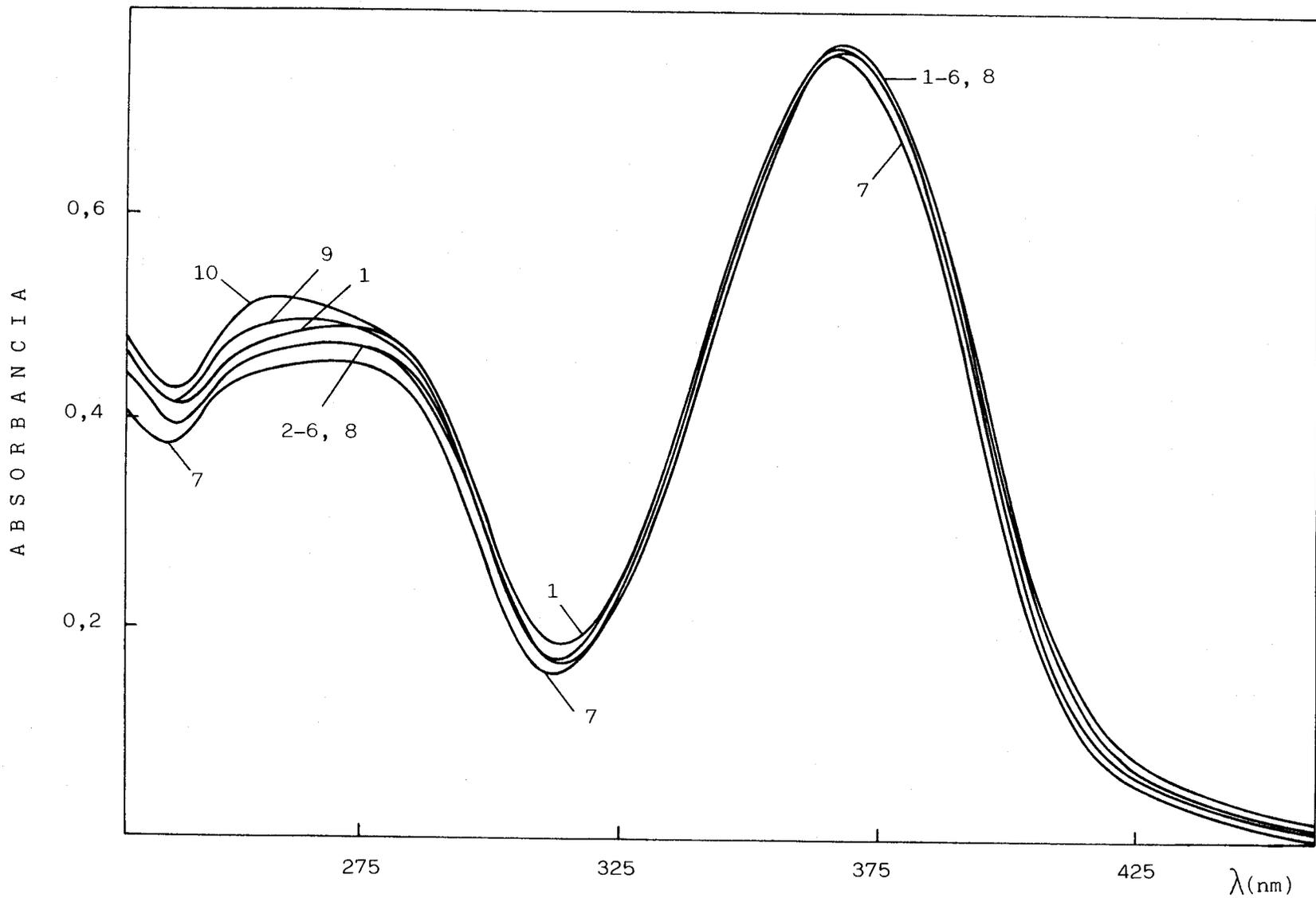


FIGURA 16 * Estabilidad de la DPGPH a una concentración en HClO₄ de 4,2 M.
 1.- Inmediatamente; 2.- 15 min; 3.- 30 min; 4.- 45 min; 5.- 60 min;
 6.- 1 día; 7.- 3 días; 8.- 6 días; 9.- 10 días; 10.- 25 días.

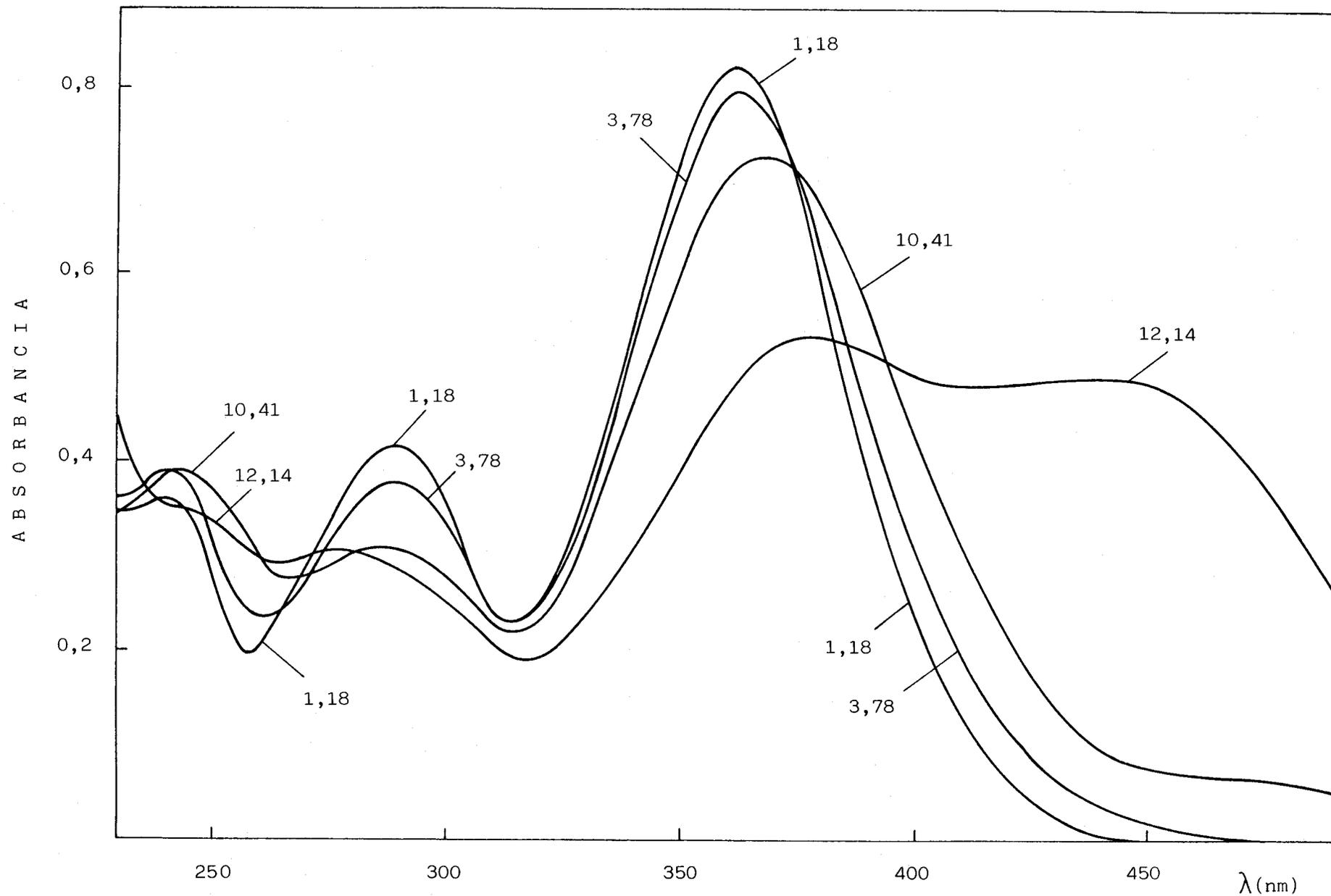


FIGURA 17 * Espectros UV-V de la FGMPH a distintos valores de pH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 20% etanol)

T A B L A 1 6

pH	$\lambda_{\text{máx}}$	$A_{\text{máx}}$
1,18	352	0,823
3,78	352	0,795
5,01	356	0,762
7,30	358	0,758
9,57	358	0,758
10,14	358	0,742
10,41	358	0,728
12,14	366	0,530
	430 ^a	0,490

(a) Hombro

Se ha realizado un estudio de la estabilidad de las disoluciones diluidas del reactivo (4×10^{-5} M) en medio alcalino de pH 12. Se observa cómo a los 15 minutos de preparadas las muestras, el valor de la absorbancia en el máximo principal situado hacia unos 360 nm es ligeramente inferior, a la par que el valor a 440 nm es ligeramente superior, pero sin embargo las muestras pueden considerarse estables desde un punto de vista práctico durante un largo periodo de tiempo. Cabe concluir que la hidrólisis del reactivo en un periodo de tres días a pH 12 es escasa.

La bencil mono(2-piridil)hidrazona muestra, a valores de pH de 5,65, 6,75 ó 9,62, una banda de absorción principal que presenta un máximo situado hacia unos 350 nm (Figuras 18-19). Conforme aumenta la acidez aparece de nuevo, de forma semejante a lo que ocurre con la DPGPH y FGMPH, un máximo secundario definido a unos 270 nm. En medio alcalino se produce, al igual que en el caso de la FGMPH y al contrario que con la DPGPH, un desplazamiento bato e hipocrómico del máximo principal de absorción. Los cambios en medio ácido no son de gran magnitud por lo que se han registrado los espectros a concentración de reactivo más elevada (Figura 18(a)), a fin de poder elegir adecuadamente las longitudes de onda más favorables que permiten en principio realizar espectrofotométricamente el estudio de la protonación del átomo de nitrógeno piridínico en la molécula de reactivo.

La variaciones en medio alcalino son en cambio, y al igual que en los casos de la DPGPH y FGMPH, drásticos, coloreándose fuértemente de amarillo las disoluciones diluidas de los reactivos, comportándose de esta manera como indicadores de alta alcalinidad. Los valores de absorbancia obtenidos a la longitud de onda de máxima absorción y a diferentes valores de pH, se encuentran recogidos en la Tabla 17.

TABLA 17

pH	$\lambda_{\text{máx}}$	$A_{\text{máx}}$
2,02	345	0,753
3,52	345	0,753
5,65	346	0,738
6,75	345	0,722
9,41	346	0,766
9,62	346	0,753
11,30	347	0,741
11,78	346	0,735
12,17	345	0,703
12,42	347	0,634
12,81	351	0,534
12,99	419	0,549

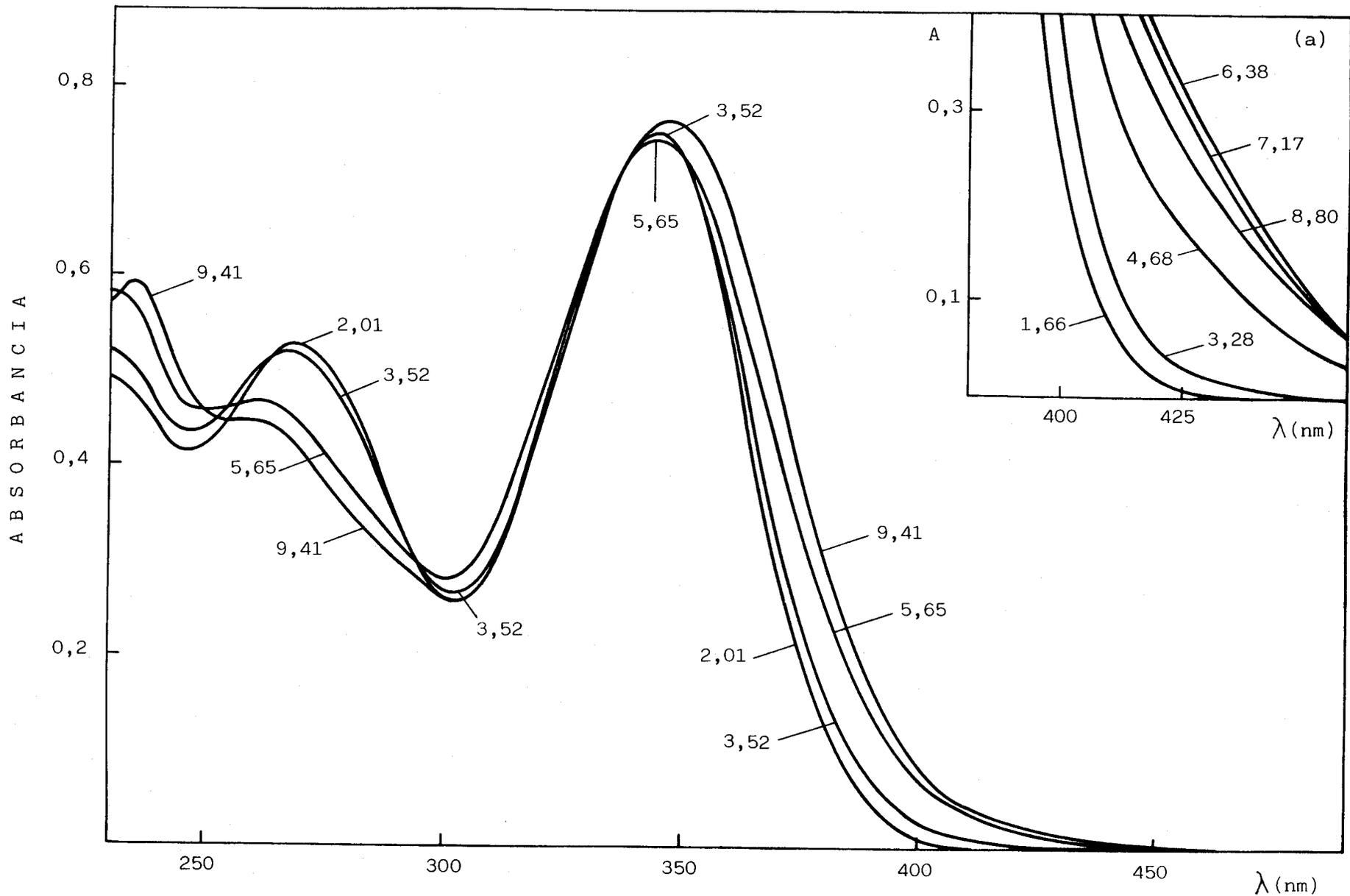


FIGURA 18 * Espectros UV-V de la BMPH a distintos valores de pH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 20% etanol)
 (a) $C_R = 4 \times 10^{-4}$ M; 40% etanol.

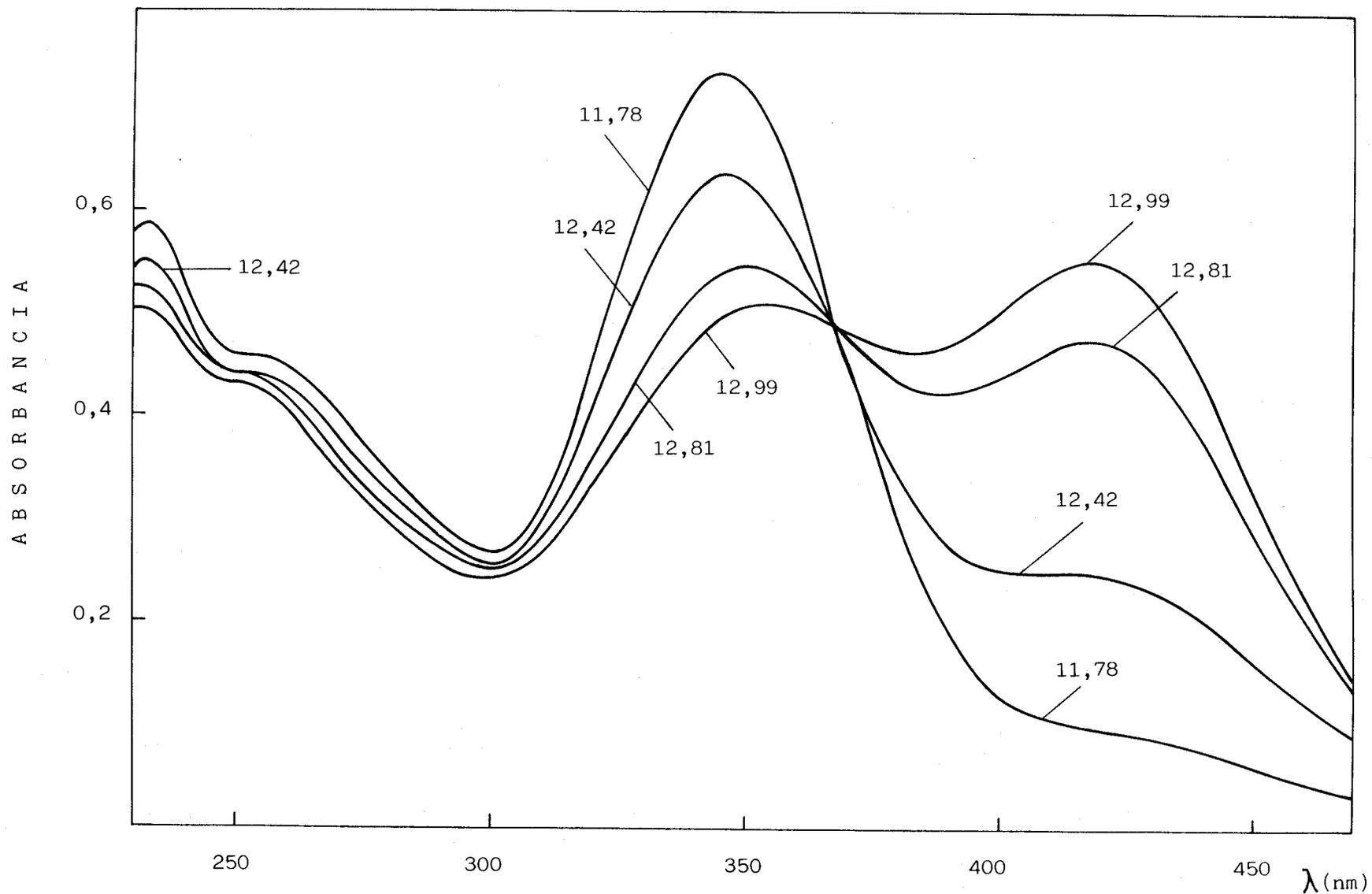


FIGURA 19 * Espectros UV-V de la BMPH a distintos valores de pH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 20% etanol)

II.7.- EVALUACION DE LAS CONSTANTES DE ACIDEZ

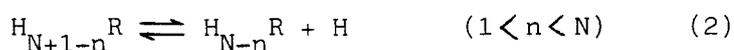
Tal como se ha indicado en la sección que versa acerca de los espectros de absorción en el UV de los reactivos, DPGPH, FGMPH y BMPH, dos equilibrios ácido-base son comunes a los mismos: la desprotonación de la agrupación imina del resto de la cadena piridilhidracínica y la protonación del átomo de nitrógeno piridínico. Dado el carácter débilmente ácido del hidrógeno de la agrupación imina, la desprotonación de los tres reactivos ocurre, en consecuencia, a valores de pH elevados. La protonación del átomo de nitrógeno del anillo de piridina del resto piridilhidracínico ocurre en cambio en medio ácido débil. La DPGPH posee dos átomos de nitrógeno protonables adicionales y, por tanto, dos constantes de acidez más, en principio, que los otros dos reactivos considerados. De todas formas y dada la estructura de los reactivos, resulta factible pensar en una posible protonación en medio fuertemente ácido del átomo de nitrógeno azometínico, tal como ocurre por ejemplo en el caso de la tiosemicarbazona del picolinaldéhido (241) o de la ditiosemicarbazona del dipiridilglioxal (242).

En lo que sigue vamos a indicar los métodos de evaluación de constantes de acidez que se han empleado en la presente Memoria.

II.7.1.- Evaluación de las constantes de acidez de los reactivos: Teoría.- A una longitud de onda dada, la relación entre la absorbancia y la composición de una disolución de un ácido poliprótico $H_N R$ (cubetas de 1,0 cm de paso de luz y concentración total de reactivo, C_R , constante en la serie de medidas) viene dada por:

$$A = \frac{1}{C_R} \sum_{j=0}^{j=N} A_j |H_j R| \quad (1)$$

donde A_j es la absorbancia de una disolución en la que el reactivo se encuentra totalmente en la forma $H_j R$. La constante de acidez del equilibrio de disociación n-ésimo



donde se omiten cargas por razones de sencillez y generalidad, puede evaluarse espectrofotométricamente a partir de la ecuación (1) teniendo en cuenta la concentración total de reactivo

$$C_R = |H_{N-n} R| + |H_{N+1-n} R| \quad (3)$$

y la expresión de la constante de acidez

$$K_{a_n} = \frac{|H| |H_{N-n} R|}{|H_{N+1-n} R|} \quad (4)$$

En efecto, combinando las ecuaciones (1) (3) y (4) se obtiene fácilmente:

$$K_{a_n} = |H| \frac{A - A_{N+1-n}}{A_{N-n} - A} \quad (5)$$

donde A_{N+1-n} y A_{N-n} son las absorbancias de las especies $H_{N+1-n} R$ y

H_{N-n}^R puras en disolución, respectivamente. Esto es:

$$A_{N+1-n} = \epsilon_{N+1-n} C_R \quad (6a)$$

$$A_{N-n} = \epsilon_{N-n} C_R \quad (6b)$$

ϵ_{N+1-n} y ϵ_{N-n} son los coeficientes de absortividad molar, y C_R la concentración total de reactivo que permanece constante. La única restricción que se impone al uso de la ecuación (5) de cara a la evaluación espectrofotométrica de constantes de acidez, es que en el intervalo de pH utilizado en los cálculos existan tan solo las especies H_{N+1-n}^R y H_{N-n}^R del ácido en disolución. Cuando las absorbancias límites A_{N+1-n} y A_{N-n} son conocidas, tomando logaritmos en la expresión (5) tenemos:

$$\log \left[\frac{A_{N-n} - A}{A - A_{N+1-n}} \right] = pK_{a_n} - pH \quad (7)$$

Si se representa el logaritmo del término incluido entre corchetes frente al pH se obtiene una línea recta cuyo punto de corte con el eje de las X nos da el valor del pK_{a_n} .

Ahora bien, no siempre las absorbancias límites de las formas ácida o básica de un par ácido-base son accesibles experimentalmente (243-245). Si las constantes $K_{a_{n+1}}$ y K_{a_n} ($1 \leq n \leq N-1$) están próximas por ejemplo, A_{N-n} no es susceptible de medida directa. Resulta entonces necesario recurrir a un método numérico de cálculo (246) para evaluar K_{a_n} y A_{N-n} , o bien a los métodos gráficos que se exponen a continuación.

Si se despeja $(A - A_{N+1-n})$ en la ecuación (5) se tiene:

$$A - A_{N+1-n} = (A_{N-n} - A) \frac{K_{a_n}}{[H]} \quad (8)$$

Si se despeja A de la ecuación (5) se tiene:

$$A = \frac{A_{N-n} + A_{N+1-n} \frac{|H|}{K a_n}}{1 + \frac{|H|}{K a_n}} \quad (9)$$

Sustituyendo este valor de A en la expresión (8) y operando se llega:

$$A - A_{N+1-n} = \frac{A_{N-n} - A_{N+1-n}}{1 + \frac{|H|}{K a_n}} \quad (10)$$

con lo que invirtiendo ambos miembros de esta expresión se obtiene la ecuación dóblemente recíproca (247-248):

$$\frac{1}{A - A_{N+1-n}} = \frac{1}{A_{N-n} - A_{N+1-n}} + \frac{1}{A_{N-n} - A_{N+1-n}} \frac{|H|}{K a_n} \quad (11)$$

Si se representa el recíproco de $(A - A_{N+1-n})$ frente a $|H|$ se obtiene una línea recta, que corta al eje de abscisas en el punto $(-K a_n, 0)$, operando a distintas longitudes de onda se obtiene un haz de rectas concurrentes en el punto anterior.

Si se despeja en cambio en la ecuación (5), $(A_{N-n} - A)$:

$$A_{N-n} - A = (A - A_{N+1-n}) \frac{|H|}{K a_n} \quad (12)$$

se obtiene fácilmente la ecuación del método de las rectas paralelas (249):

$$A = A_{N-n} + (A_{N+1-n} - A) \frac{|H|}{K a_n} \quad (13)$$

Representando A en función de $(A_{N+1-n} - A) |H|$ se obtiene para diversas longitudes de onda un haz de rectas paralelas cuya pendiente es $1/K a_n$ y cuya ordenada en el origen es A_{N-n} .

Por último, combinando las ecuaciones (6b) y (12):

$$\epsilon_{N-n} C_R - A = (A - A_{N+1-n}) \frac{|H|}{K_{a_n}} \quad (14)$$

con lo que dividiendo miembro a miembro por $1/(\epsilon_{N-n} A)$

$$\frac{C_R}{A} - \frac{1}{\epsilon_{N-n}} = \frac{(A - A_{N+1-n})}{A \epsilon_{N-n}} \frac{|H|}{K_{a_n}} \quad (15)$$

con lo que reordenando se obtiene

$$\frac{C_R}{A} = \frac{1}{\epsilon_{N-n}} + \frac{(A - A_{N+1-n})}{A \epsilon_{N-n}} \frac{|H|}{K_{a_n}} \quad (16)$$

expresión dada por Agren (250), y conocida generalmente con el nombre de Sommer (251). Si se representa C_R/A frente a $(A - A_{N+1-n}) |H|/A$ se obtiene una línea recta; el cociente de la ordenada en el origen y la pendiente nos da el valor de K_{a_n} .

En el caso en el que $K_{a_{n+1}}$ y K_{a_n} ($N \geq n \geq 2$) no difieran grandemente, A_{N+1-n} no es accesible experimentalmente, con lo que operando de manera similar a como se ha hecho anteriormente, pero despejando ahora $(A - A_{N-n})$ en el caso de la ecuación doblemente recíproca, y $(A - A_{N+1-n})$ en el de las rectas paralelas y de Agren-Sommer, se obtienen expresiones análogas a las ecuaciones (11), (13) y (16), que permiten el cálculo de K_{a_n} y A_{N+1-n} :

Ecuación doblemente recíproca (247-248):

$$\frac{1}{A - A_{N-n}} = \frac{1}{A_{N+1-n} - A_{N-n}} + \frac{1}{A_{N+1-n} - A_{N-n}} \frac{K_{a_n}}{|H|} \quad (17)$$

Ecuación de las rectas paralelas (249) :

$$A = A_{N+1-n} + \frac{A_{N-n} - A}{|H|} K_{a_n} \quad (18)$$

Ecuación de Agren-Sommer (250-251):

$$\frac{C_R}{A} = \frac{1}{\xi_{N+1-n}} \frac{A - A_{N-n}}{A|H|} \frac{K_{a_n}}{\xi_{N+1-n}} \quad (19)$$

En aquellos casos en los que los equilibrios ácido-base se solapan es factible el empleo de métodos gráficos de evaluación de las constantes de los ácidos dipróticos, siempre que la curva A-pH muestre un valor máximo o mínimo. En estos casos, en una cierta porción de la curva, cada valor de absorbancia se corresponde con dos valores de pH lo que permite efectuar simplificaciones.

La relación que liga la absorbancia con la composición de una disolución de un ácido diprótico puede expresarse de la forma:

$$(A - A_0) + (A - A_1) \frac{|H|}{K_{a_2}} + (A - A_2) \frac{|H|^2}{K_{a_2}K_{a_1}} = 0 \quad (20)$$

Esta ecuación se deduce combinando la expresión (1) con:

$$C_R = |R| + |HR| + |H_2R| \quad (21)$$

y

$$K_{a_1} = \frac{|HR| |H|}{|H_2R|} \quad \text{y} \quad K_{a_2} = \frac{|R| |H|}{|HR|} \quad (22a,b)$$

eliminando A_2 entre dos pares de observaciones (pH_1, A) (pH_2, A) se tiene:

$$(A - A_0) K_{a_2} \left[\frac{1}{|H|_1} + \frac{1}{|H|_2} \right] + (A - A_1) = 0 \quad (23)$$

expresión, que reordenada conduce a:

$$K_{a_2} = \frac{A - A_1}{A_0 - A} P \quad P = \left[\frac{|H|_1 |H|_2}{|H|_1 + |H|_2} \right] \quad (24a,b)$$

Eliminando en cambio A_0 entre dos pares de observaciones (pH_1, A) (pH_2, A) se tiene:

$$(A - A_1) K_{a_1} + (A - A_2) \left[|H|_1 + |H|_2 \right] \quad (25)$$

$$K_{a_1} = \frac{A_2 - A}{A - A_1} Q \quad \left[Q = |H|_1 + |H|_2 \right] \quad (26 a,b)$$

La semejanza de las ecuaciones (24a) y (26a) con la ecuación que describe la conducta espectrofotométrica de un ácido monoprótico es evidente. En efecto, ambas ecuaciones muestran la forma general:

$$K_{a_n} = \frac{A - A_{N+1-n}}{A_{N-n} - A} T \quad (27)$$

$$(n = 1, T = Q; n = 2, T = P)$$

Por tanto, pueden aplicarse los mismos métodos empleados en el caso de equilibrios sencillos (ácidos monopróticos) a los equilibrios simultáneos de un ácido diprótico.

Los requisitos necesarios son que la curva A-pH muestre un máximo o un mínimo, y que una de las absorbancias límites extremas (A_0 ó A_2) sea conocida.

Determinación del número de especies en disolución:

A continuación se expone un método elegante y conciso que permite la determinación del número de especies en disolución. Se empleará ahora una nomenclatura diferente a la usada anteriormente: las absorbancias límites de las diferentes especies las designaremos como $A_{H_j R}$, y las absorbancias medidas a diferentes longitudes de onda como A_1, A_2, \dots, A_n . La absorbancia de una disolución que contiene n especies absorbentes (por ejemplo un ácido poliprótico $H_N R$) a una longitud de onda dada l vendrá dada por:

$$A_l = \sum_{j=0}^{j=N} \epsilon_{H_j R} |H_j R| \quad (28)$$

Si se mide la absorbancia a $(n+1)$ longitudes de onda:

$$\begin{aligned} A_1 &= \epsilon_{R,1} |R| + \epsilon_{HR,1} |HR| + \dots + \epsilon_{H_N R,1} |H_N R| \\ A_2 &= \epsilon_{R,2} |R| + \epsilon_{HR,2} |HR| + \dots + \epsilon_{H_N R,2} |H_N R| \\ &\vdots \\ A_n &= \epsilon_{R,n} |R| + \epsilon_{HR,n} |HR| + \dots + \epsilon_{H_N R,n} |H_N R| \\ A_{n+1} &= \epsilon_{R,n+1} |R| + \epsilon_{HR,n+1} |HR| + \dots + \epsilon_{H_N R,n+1} |H_N R| \end{aligned} \quad (29)$$

De acuerdo con el teorema de Rouché-Frobenius (252) :

$$\begin{vmatrix} A_1 & \epsilon_{R,1} & \epsilon_{HR,1} & \dots & \epsilon_{H_N R,1} \\ A_2 & \epsilon_{R,2} & \epsilon_{HR,2} & \dots & \epsilon_{H_N R,2} \\ \vdots & & & & \\ A_n & \epsilon_{R,n} & \epsilon_{HR,n} & \dots & \epsilon_{H_N R,n} \\ A_{n+1} & \epsilon_{R,n+1} & \epsilon_{HR,n+1} & \dots & \epsilon_{H_N R,n+1} \end{vmatrix} = 0 \quad (30)$$

Esto implica que la última fila (u otra cualquiera) debe ser combinación lineal de todas las demás:

$$A_{n+1} = k_1 A_1 + k_2 A_2 + \dots + k_n A_n = \sum_{k=1}^{k=N+1} k_j A_j \quad (31)$$

y por tanto:

$$A_{n+1} - \sum_{k=1}^{k=N+1} k_j A_j = 0 \quad (32)$$

Para una especie en una disolución dada g , se sigue que:

$$A_{2g} - k_1 A_{1g} = 0 \quad (33a)$$

$$A_{2g} = k_1 A_{1g} \quad (33b)$$

Se obtiene una familia de líneas rectas que pasan a través del origen de coordenadas cuando la absorbancia de una serie de disoluciones de concentración arbitraria, a una longitud de onda dada, se representa frente a las absorbancias a otras longitudes de onda de la misma serie de disoluciones.

Para dos especies se tiene:

$$A_{3g} - (k_1 A_{1g} + k_2 A_{2g}) = 0 \quad (34a)$$

$$\frac{A_{3g}}{A_{1g}} = k_1 + k_2 \frac{A_{2g}}{A_{1g}} \quad (34b)$$

Cuando en la representación de los cocientes de absorbancias para una serie de disoluciones, medidas a tres longitudes de onda, se obtiene una línea recta, queda indicada la existencia de dos especies absorbentes en disolución, según la ecuación (34b).

Para tres especies, la aplicación de la ecuación (32) da lugar a:

$$A_{4g} = k_1 A_{1g} + k_2 A_{2g} + k_3 A_{3g} \quad (35a)$$

Si hacemos $g=a$ (disolución de referencia) se tiene:

$$A_{4a} = k_1 A_{1a} + k_2 A_{2a} + k_3 A_{3a} \quad (35b)$$

Eliminando k_1 entre las expresiones (35a) y (35b), y reagrupando la expresión resultante se tiene:

$$\frac{A_{4g} A_{1a} - A_{4a} A_{1g}}{A_{2g} A_{1a} - A_{2a} A_{1g}} = k_2 + k_3 \frac{A_{3g} A_{1a} - A_{3a} A_{1g}}{A_{2g} A_{1a} - A_{2a} A_{1g}} \quad (36)$$

La ecuación (36) también puede obtenerse de una manera más laboriosa (253-254) eliminando los términos en concentración a partir de un conjunto de $(n+1)$ ecuaciones de la forma (28), lo que permite por otra parte el cálculo de los k_n parámetros.

Evaluación numérica de la constante de acidez sin medida de pH:

En contra de lo que en un principio pudiera pensarse, no es necesario medir los valores de pH para calcular una constante de acidez (244). Si se tiene el equilibrio de desprotonación sencillo de un ácido monoprótico $HR \rightleftharpoons H + R$, la constante de acidez expresada en función de dos concentraciones diferentes de ión hidrógeno vendrá dada por:

$$K_a = |H|_1 \frac{|R|_1}{|HR|_1} = |H|_2 \frac{|R|_2}{|HR|_2} \quad (37)$$

Si llamamos y_i a la fracción de molaridad de la especie HR en la disolución i se tiene:

$$K_a = |H|_1 \frac{1 - y_1}{y_1} = |H|_2 \frac{1 - y_2}{y_2} \quad (38)$$

Dividiendo miembro a miembro por C_R y teniendo en cuenta que:

$$C_H = |H| + |HR| \quad (39)$$

$$\frac{|HR|_1}{|HR|_2} = \frac{y_1}{y_2} = r \quad (40)$$

se tiene:

$$\frac{K_a}{C_R} = \frac{C_{H_1} - |HR|_1}{C_R} \frac{(1 - y_1)}{y_1} = \frac{C_{H_2} - |HR|_2}{C_R} \frac{(1 - y_2)}{y_2} \quad (41)$$

si ahora hacemos:

$$q_I = \frac{C_{H_1}}{C_R} \quad y \quad q_{II} = \frac{C_{H_2}}{C_R} \quad (42a,b)$$

$$\frac{K_a}{C_R} = (q_I - y_1) \frac{(1 - y_1)}{y_1} = (q_{II} - y_2) \frac{(1 - y_2)}{y_2} \quad (43)$$

con lo que combinando esta expresión con la (40), se obtiene una

ecuación de segundo grado:

$$r(r-1)y_2^2 - r(q_I - q_{II})y_2 + q_I - rq_{II} = 0 \quad (44)$$

cuya solución viene dada por:

$$y_2 = \frac{\sqrt{r(q_I - q_{II})} - \sqrt{r(q_I - q_{II})^2 - 4(r-1)(q_I - rq_{II})}}{2\sqrt{r(r-1)}} \quad (45)$$

El valor de r se calcula según:

$$r = \frac{y_1}{y_2} = \frac{|HR|_1}{|HR|_2} = \frac{A_1 - A_R}{A_2 - A_R} \quad (46)$$

ya que:

$$y_i = \frac{(A_i - A_R)}{(A_{HR} - A_R)} \quad (47)$$

Una vez calculada y_2 , puede evaluarse K_a a partir de la expresión (43)

$$K_a = C_R(q_{II} - y_2) \frac{1 - y_2}{y_2} \quad (48)$$

Por otra parte podemos calcular q :

$$q = \frac{|H|_1}{|H|_2} = \frac{y_1}{(1 - y_1)} \frac{(1 - y_2)}{y_2} = \frac{r(1 - y_2)}{(1 - ry_2)} \quad (49)$$

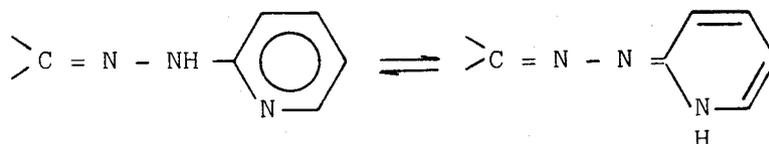
y evaluar la absorbancia límite de la especie HR aplicando una ecuación previamente deducida por nuestro equipo de trabajo (255).

$$A_{HR} = \frac{A_b r - A_a q}{r - q} \quad (50)$$

II.7.2.- Evaluación espectrofotométrica de las constantes de acidez de la DPGPH.-

Evaluación del pKa₅

A partir de la Figura 15 se seleccionaron ocho longitudes de onda para efectuar las medidas de absorbancia en función del pH. Los resultados experimentales se recogen en la Tabla 18 y se muestran en la Figura 20. Se observa en ella una zona de absorbancia constante situada hacia valores de pH 7-9, correspondiente a la forma neutra del reactivo, a las longitudes de onda de 360, 390 y 406 nm. A longitudes de onda superiores a 406 nm, se observa en cambio un leve aumento gradual de la absorbancia en esa región de pH, lo que hace difícil la asignación de la absorbancia límite de la especie neutra HR. Tales cambios podrían asignarse a una tautomería:



previa a la desprotonación. Esto, junto con el error alcalino del electrodo de vidrio (aunque se ha empleado hidróxido de potasio en el ajuste del pH), introduce una incertidumbre en los valores calculados del pKa₅. La absorbancia límite correspondiente a la forma R del reactivo, es desconocida; por lo que en la evaluación del pKa₅ se han empleado métodos de extrapolación lineal basados en el reordenamiento de la ecuación clásica:

$$K_a = |H| \frac{A - A_1}{A_0 - A}$$

donde A₀ y A₁ son las absorbancias límites correspondientes a las formas puras del reactivo R y HR, respectivamente:

$$A_0 = \epsilon_0 C_R$$

$$A_1 = \epsilon_1 C_R$$

ϵ_0 y ϵ_1 son los coeficientes de absorptividad molar de R y HR, respectivamente; y C_R es la concentración total del reactivo:

$$C_R = |R| + |HR|$$

TABLA 18 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA DPGPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M, 4% ETANOL)

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a							
	360	380	390	406	420	430	440	450
0,88	0,680	0,742	0,579	0,156	0,045	0,032	0,031	0,026
0,96	0,680	0,740	0,574	0,155	0,044	0,032	0,031	0,026
1,32	0,680	0,736	0,566	0,152	0,046	0,036	0,036	0,030
1,58	0,680	0,725	0,556	0,147	0,044	0,034	0,033	0,028
1,89	0,670	0,688	0,519	0,135	0,039	0,030	0,030	0,025
2,39	0,633	0,575	0,421	0,109	0,033	0,025	0,026	0,022
2,90	0,606	0,428	0,281	0,077	0,028	0,023	0,024	0,020
3,06	0,581	0,373	0,232	0,062	0,023	0,018	0,018	0,015
3,16	0,580	0,346	0,207	0,056	0,022	0,017	0,018	0,016
3,24	0,586	0,332	0,195	0,055	0,023	0,019	0,010	0,016
3,71	0,546	0,252	0,125	0,037	0,018	0,014	0,014	0,012
3,85	0,547	0,245	0,118	0,037	0,020	0,015	0,015	0,012
3,94	0,549	0,250	0,118	0,036	0,018	0,013	0,013	0,010
4,25	0,554	0,248	0,120	0,040	0,020	0,014	0,013	0,010
4,60	0,583	0,291	0,155	0,057	0,026	0,017	0,014	0,011
4,87	0,635	0,359	0,209	0,078	0,032	0,020	0,015	0,011
5,19	0,682	0,444	0,282	0,107	0,043	0,025	0,018	0,013
5,75	0,787	0,604	0,414	0,158	0,060	0,033	0,022	0,014
5,95	0,796	0,634	0,440	0,170	0,065	0,035	0,024	0,016
6,05	0,804	0,653	0,458	0,177	0,067	0,038	0,025	0,017

TABLA 18 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA DPGPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M, 4% ETANOL)

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a							
	360	380	390	406	420	430	440	450
7,17	0,824	0,690	0,489	0,196	0,080	0,048	0,036	0,028
7,88	0,825	0,702	0,503	0,207	0,091	0,060	0,047	0,037
8,53	0,807	0,681	0,498	0,208	0,099	0,071	0,061	0,055
9,16	0,803	0,680	0,498	0,210	0,102	0,075	0,066	0,061
9,46	0,776	0,667	0,498	0,226	0,131	0,105	0,094	0,087
9,65	0,820	0,703	0,513	0,230	0,116	0,081	0,063	0,085
10,28	0,794	0,702	0,532	0,277	0,169	0,131	0,108	0,088
10,35	0,794	0,708	0,542	0,292	0,185	0,145	0,119	0,096
10,75	0,790	0,727	0,579	0,349	0,236	0,187	0,146	0,108
10,92	0,772	0,728	0,613	0,407	0,315	0,256	0,203	0,142
11,27	0,732	0,751	0,668	0,519	0,416	0,340	0,264	0,190
11,45	0,702	0,775	0,712	0,602	0,530	0,435	0,334	0,235
11,82	0,649	0,777	0,778	0,736	0,642	0,542	0,427	0,310
12,11	0,605	0,784	0,825	0,832	0,750	0,635	0,499	0,365
12,22	0,606	0,800	0,850	0,866	0,784	0,664	0,522	0,380
12,32	0,617	0,820	0,875	0,894	0,804	0,674	0,520	0,369
12,50	0,607	0,815	0,893	0,913	0,824	0,679	0,530	0,371
12,69	0,614	0,830	0,894	0,923	0,833	0,693	0,535	0,373
13,01	0,610	0,830	0,898	0,933	0,845	0,704	0,541	0,379

- CONTINUACION -

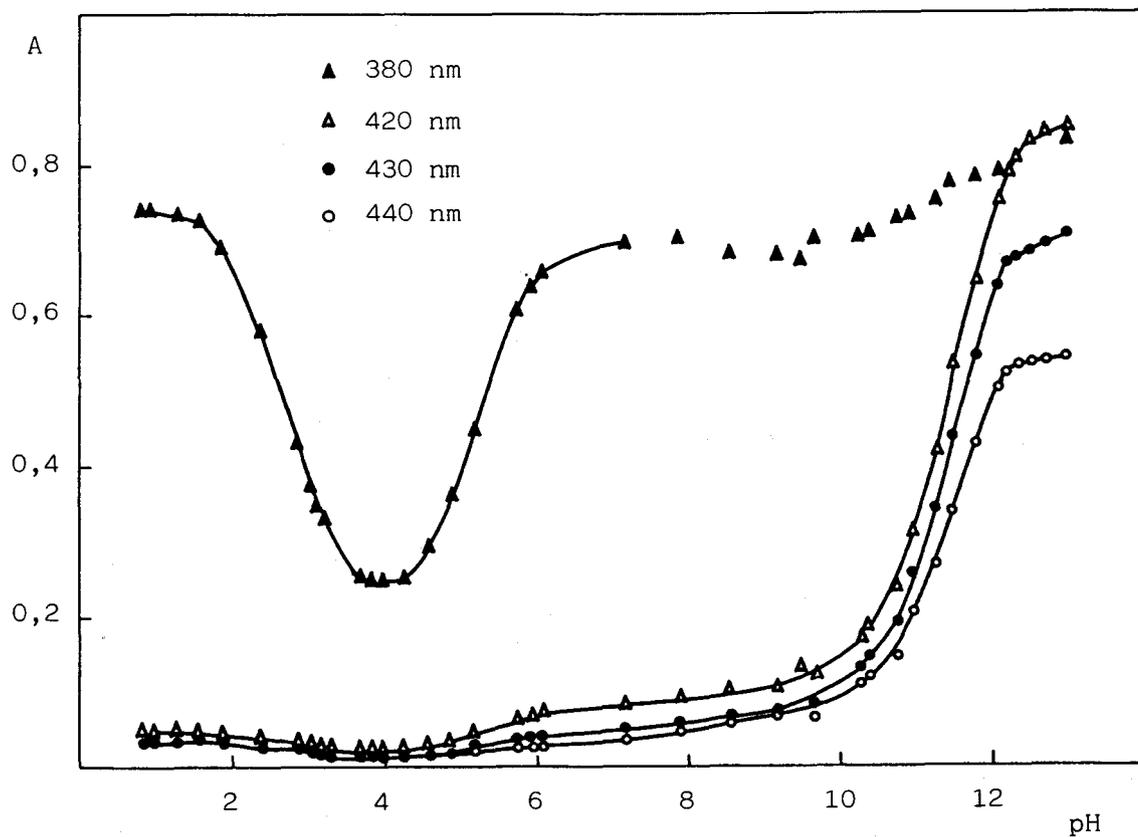
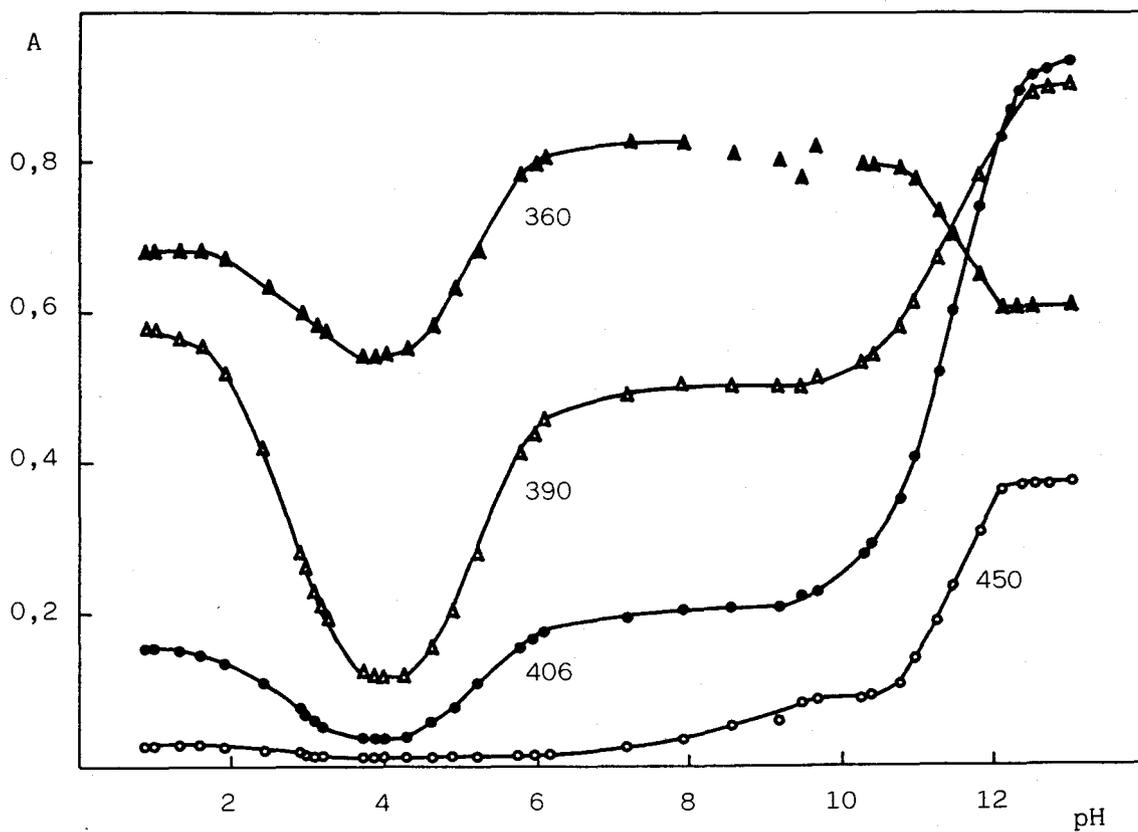


FIGURA 20 * Curvas absorbancia-pH de la DPGH a distintas longitudes de onda. ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 4% etanol).

Previamente a la evaluación del pK_{a_5} se ha comprobado que el reactivo cumple la ley de Beer a un $pH=8,3$, de acuerdo con los datos recogidos en las Tablas 19 y 20, y representados en la Figura 21(b) a tres longitudes de onda. La forma de los espectros de absorción del reactivo a distintas concentraciones es invariable, tal como se muestra en la Figura 21(a); lo que indica que el reactivo no sufre asociación en este rango de concentraciones y a este pH .

Se ha aplicado el método gráfico sugerido por Budessinsky (253), en orden a comprobar que sólo una especie del reactivo se encuentra en disolución a un valor de $pH=8,3$. Efectivamente, cuando se supone la existencia de una sólo especie se obtiene en la representación de la absorbancia a una longitud de onda dada frente a la absorbancia a otra longitud de onda diferente, para distintos pares de longitudes de onda, una familia de rectas concurrentes en el origen de coordenadas (Figura 22(a)), de acuerdo con la teoría desarrollada en la sección anterior. Cuando se supone la existencia de dos especies en cambio, no se obtienen líneas rectas, sino un punto mal definido (Figura 22(b)).

Los datos experimentales absorbancia- pH se transforman en diagramas de dos variables de acuerdo con las ecuaciones (11) y (16), que deben dar lugar a líneas rectas (Figuras 23-24). Los puntos malos perturban, por lo que se eliminan. Las ecuaciones obtenidas a las diferentes longitudes de onda a las que se han realizado las medidas, junto con los coeficientes de correlación, número de puntos empleados, así como los valores de absorbancias límites y de pK_{a_5} , se encuentran recogidos en la Tabla 21. Se obtienen valores medios ($\bar{X} \pm S$) de $11,59 \pm 0,20$ y $11,49 \pm 0,14$ según los métodos de las rectas concurrentes y de Agren-Sommer, respectivamente. En ambos casos se han elegido las longitudes de onda más apropiadas.

Evaluación de pK_{a_4} y pK_{a_3}

Con objeto de evaluar las constantes de acidez de la DPGPH, pK_{a_4} y pK_{a_3} , se ha obtenido una nueva familia de curvas absorbancia- pH^* , con una gran cantidad de puntos experimentales en el rango de

(*) Registradas aproximadamente un año después que las primeras, con otra remesa de reactivo, a la misma concentración y en el mismo medio.

TABLA 19 * LEY DE BEER DE LA DPGPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~8,3

ppm DPGPH	A b s o r b a n c i a							
	280	340	350	360	364	370	380	390
1	0,040	0,052	0,062	0,069	0,071	0,067	0,057	0,040
2	0,082	0,109	0,132	0,147	0,148	0,143	0,120	0,085
3	0,113	0,153	0,185	0,208	0,210	0,203	0,171	0,120
4	0,151	0,205	0,249	0,277	0,280	0,271	0,228	0,161
5	0,187	0,254	0,308	0,343	0,346	0,335	0,283	0,198
6	0,227	0,312	0,379	0,418	0,421	0,409	0,344	0,241
7	0,264	0,361	0,438	0,485	0,489	0,474	0,400	0,282
8	0,296	0,402	0,488	0,538	0,542	0,526	0,444	0,313
9	0,334	0,460	0,556	0,615	0,621	0,602	0,508	0,358
10	0,380	0,520	0,626	0,690	0,697	0,675	0,569	0,402
11	0,409	0,558	0,680	0,752	0,759	0,737	0,622	0,440
12	0,440	0,608	0,735	0,811	0,820	0,795	0,670	0,472
13	0,482	0,661	0,799	0,883	0,891	0,865	0,729	0,514
14	0,514	0,708	0,855	0,941	0,949	0,921	0,776	0,547

TABLA 20 * RECTAS DE REGRESION CORRESPONDIENTES A LA LEY DE BEER DE LA DPGPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~8,3

λ (nm)	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	S_A	S_B	$S_{y/x}$	Cov(A,B)
280	$Y = 0,0058 + 0,0365 X$	0,9998	14	0,0066	0,0002	0,0035	-4,0878 E-07
340	$Y = 0,0043 + 0,0505 X$	0,9998	14	0,0084	0,0003	0,0045	-6,7662 E-07
350	$Y = 0,0057 + 0,0611 X$	0,9998	14	0,0096	0,0003	0,0052	-8,7756 E-07
360	$Y = 0,0089 + 0,0672 X$	0,9998	14	0,0108	0,0004	0,0058	-1,1182 E-06
364	$Y = 0,0091 + 0,0678 X$	0,9998	14	0,0109	0,0004	0,0059	-1,1319 E-06
370	$Y = 0,0100 + 0,0657 X$	0,9997	14	0,0124	0,0004	0,0067	-1,4707 E-06
380	$Y = 0,0065 + 0,0555 X$	0,9998	14	0,0089	0,0003	0,0048	-7,4787 E-07
390	$Y = 0,0041 + 0,0392 X$	0,9998	14	0,0068	0,0002	0,0037	-4,4208 E-07

S_A = Desviación estándar de la ordenada en el origen.

S_B = Desviación estándar de la pendiente.

$S_{y/x}$ = Desviación estándar de la regresión.

Cov(A,B)= Covarianza entre la ordenada en el origen y la pendiente.

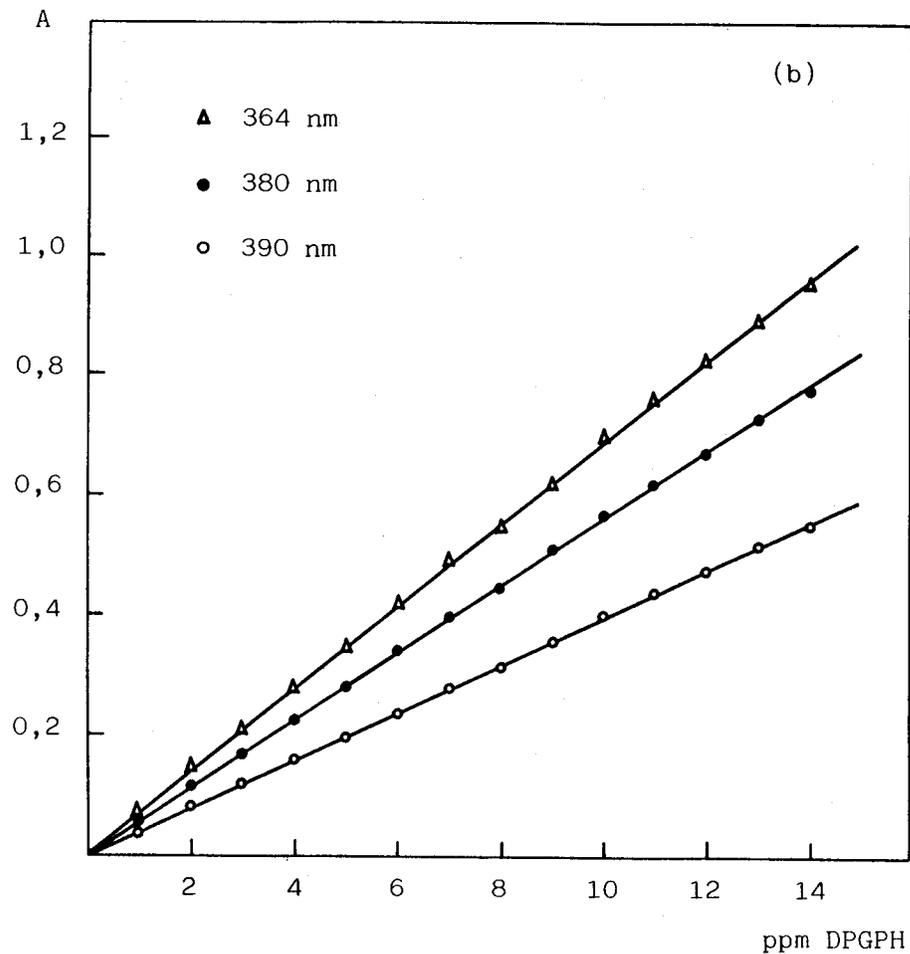
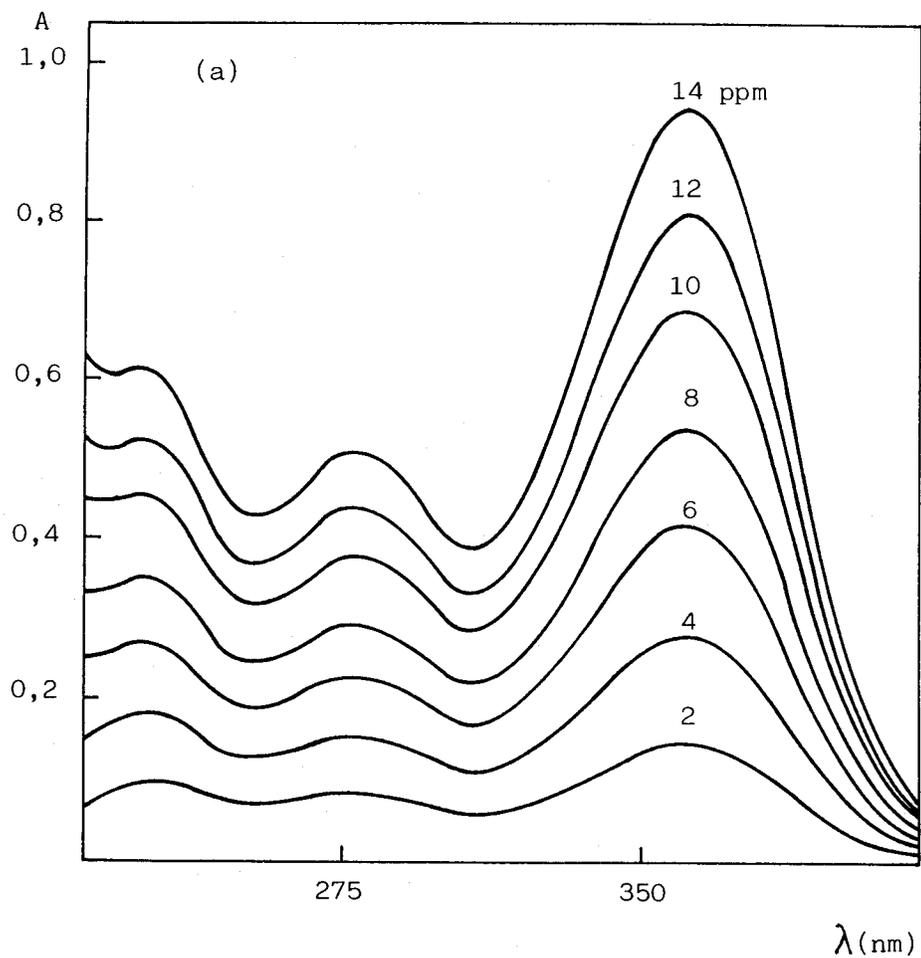


FIGURA 21 * (a) Espectros UV de la DPGPH a pH ~8,3 y C_R variable. (b) Ley de Beer a pH ~8,3.

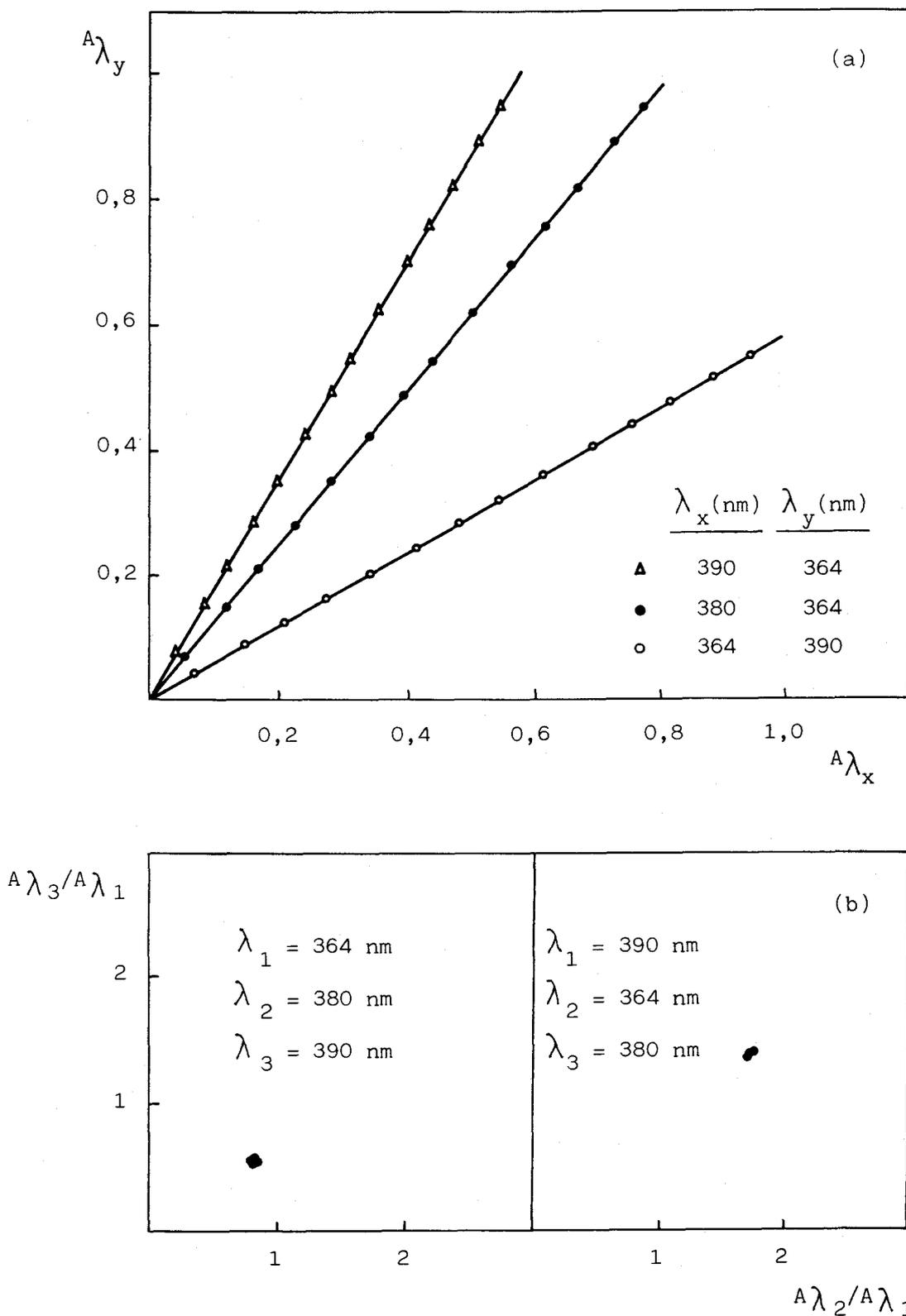


FIGURA 22 * Determinación del número de especies absorbentes en disolución a pH = 8,3 y [DPGPH] variable. (a) Una especie; (b) Dos especies.

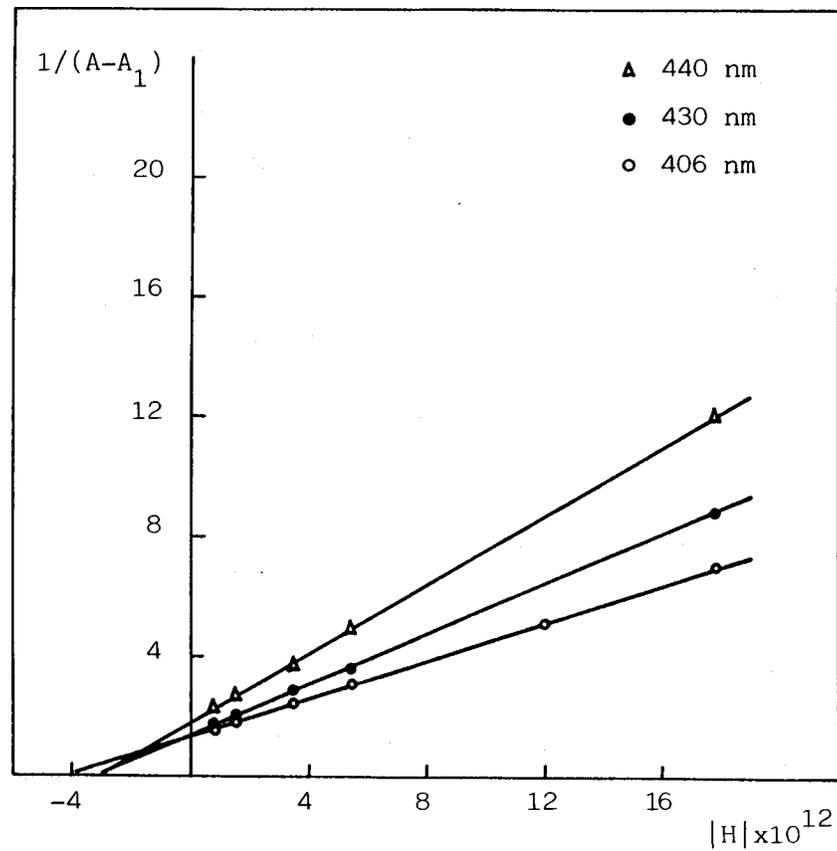
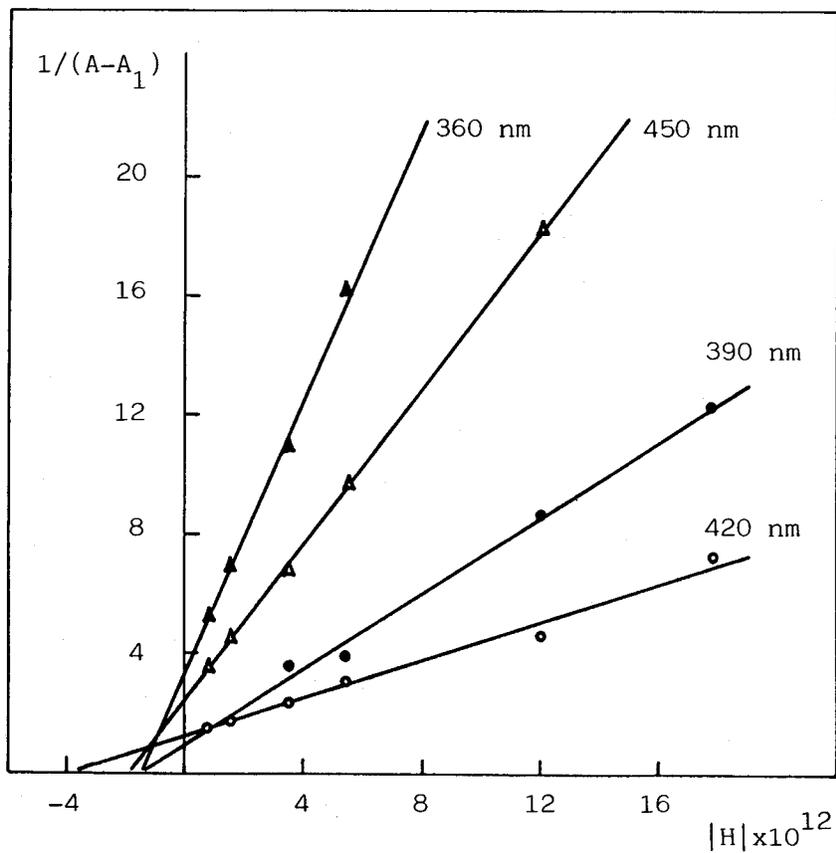


FIGURA 23 * Determinación del pK_{a_5} de la DPGPH por el método de las rectas concurrentes.

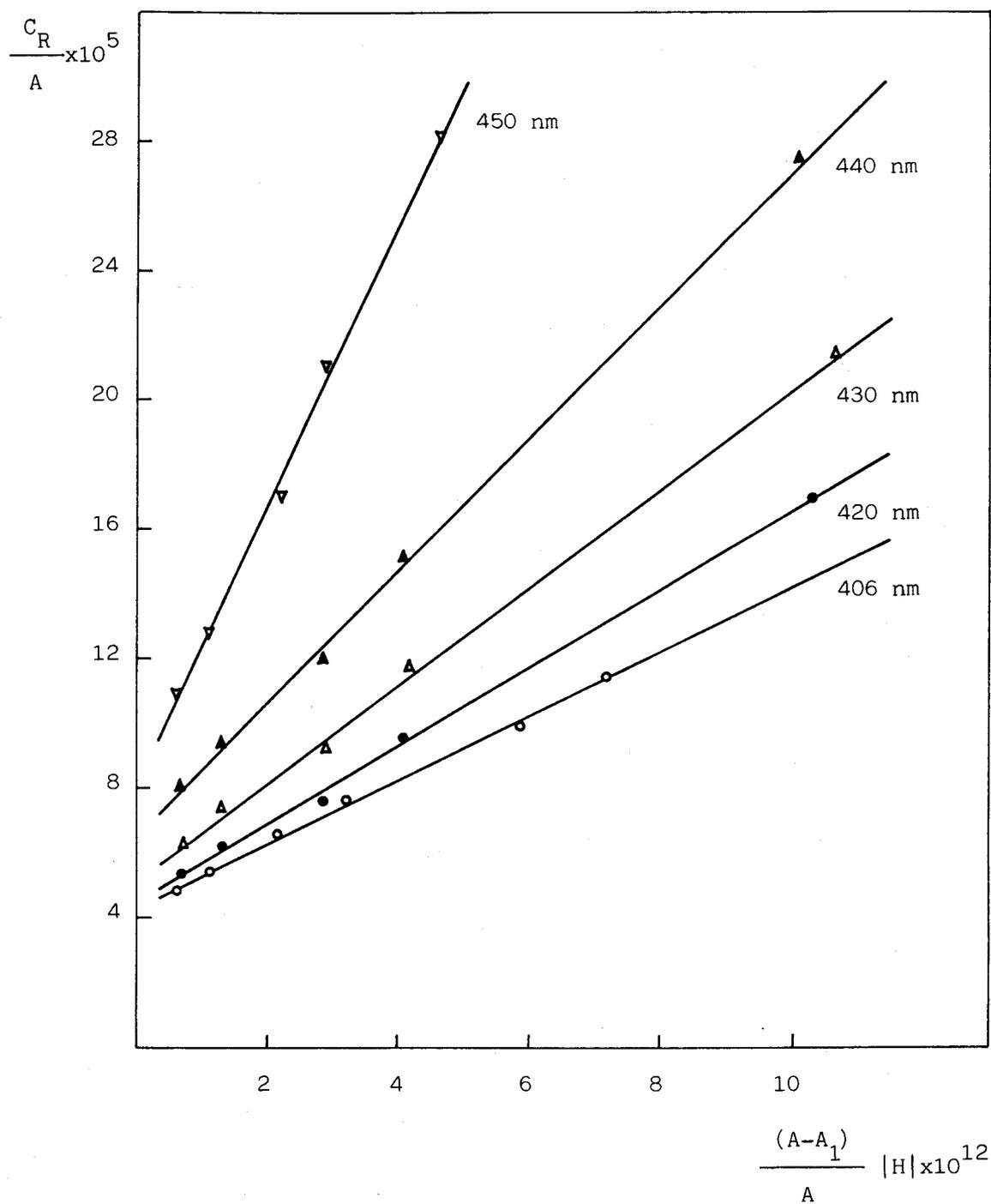


FIGURA 24 * Determinación del pKa₅ de la DPGPH por el método de Agren-Sommer.

TABLA 21 * EVALUACION DEL pK_{a5} DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION.
 A) CONCURRENTES; B) AGREN-SOMMER

λ (nm)	A_1	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_0	pK_{a5}
360	0,794	$Y = -3,304 - 2,317 E12 X$	0,9996	4	0,491	11,846
390	0,498	$Y = 0,976 + 6,378 E11 X$	0,9967	4	1,522	11,815
406	0,208	$Y = 1,406 + 3,153 E11 X$	0,9988	6	0,919	11,351
A) 420	0,099	$Y = 1,257 + 3,229 E11 X$	0,9917	6	0,895	11,410
430	0,075	$Y = 1,441 + 4,209 E11 X$	0,9995	5	0,769	11,465
440	0,063	$Y = 1,817 + 5,750 E11 X$	0,9997	5	0,613	11,500
450	0,087	$Y = 2,474 + 1,307 E12 X$	0,9993	5	0,491	11,723
406	0,208	$Y = 4,358 E-05 + 9,736 E06 X$	0,9979	6	0,918	11,349
420	0,099	$Y = 4,497 E-05 + 1,205 E07 X$	0,9985	5	0,890	11,428
B) 430	0,075	$Y = 5,210 E-05 + 1,517 E07 X$	0,9990	5	0,768	11,464
440	0,063	$Y = 6,532 E-05 + 2,061 E07 X$	0,9993	5	0,612	11,499
450	0,087	$Y = 8,206 E-05 + 4,274 E07 X$	0,9980	5	0,487	11,717

pH de 0,8 a 9 (Tabla 22), a las longitudes de onda a las cuales el equilibrio de protonación de dos de los átomos de nitrógeno piridínico se hace más evidente (Figuras 25-28). Se observa que no existe una absorbancia constante en la zona de pH intermedia correspondiente a la protonación de HR para dar H₂R. Dos estrategias diferentes se han seguido en la evaluación del pKa₄. En primer lugar se ha tratado el equilibrio de protonación ignorando la protonación subsiguiente de H₂R a H₃R, haciendo uso por tanto de la ecuación:

$$Ka_4 = |H| \frac{A - A_2}{A_1 - A}$$

La otra estrategia ha sido considerar ambos equilibrios simultáneos con lo que, de acuerdo con la ecuación (27), se tiene:

$$Ka_4 = \left[\frac{A - A_2}{A_1 - A} \right] \left[\frac{|H|_1 |H|_2}{|H|_1 + |H|_2} \right]$$

$$Ka_3 = \left[\frac{A - A_3}{A_2 - A} \right] \left[|H|_1 + |H|_2 \right]$$

donde |H|₁ y |H|₂ tienen el significado expresado anteriormente, o sea son los valores de concentración de ión hidrógeno que se corresponden con un valor de absorbancia dado, ya que la curva absorbancia-pH en el rango de pH 1-7 presenta un mínimo.

Ahora bien, si consideramos únicamente un equilibrio sencillo de protonación, previamente a la aplicación de los métodos de las rectas concurrentes (ecuación 17), paralelas (ecuación 18) y de Agren-Sommer (ecuación 19), resulta necesario calcular el intervalo de pH en el que existen tan sólo las especies HR y H₂R en disolución, desde un punto de vista práctico.

Se obtienen líneas rectas (Figura 29(a)) en la representación del cociente de absorbancia a dos longitudes de onda, 3 y 1, frente al cociente de absorbancia a las longitudes de onda 2 y 1, para una serie de disoluciones cuyo pH varía entre 3,95 y 5,61, cuando se supone la existencia de dos especies en disolución, tal como es de esperar de acuerdo con la teoría. Cuando se supone la existencia de tres especies en disolución, se obtiene un punto mal definido (Figura 29(b)).

TABLA 22 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA DPGPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M, 4% ETANOL)

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a						
	360	376,6	376,9	377	380	390	406
-	0,655	0,715	0,713	0,713	0,691	0,544	0,182
-	0,646	0,724	0,722	0,720	0,706	0,548	0,149
0,98	0,646	0,724	0,722	0,720	0,706	0,547	0,148
1,01	0,652	0,718	0,717	0,716	0,698	0,543	0,141
1,10	0,646	0,720	0,718	0,717	0,700	0,540	0,141
1,32	0,651	0,706	0,705	0,703	0,683	0,519	0,135
1,32	0,650	0,705	0,704	0,704	0,683	0,519	0,133
1,65	0,635	0,670	0,669	0,667	0,645	0,485	0,120
1,70	0,633	0,663	0,662	0,660	0,639	0,476	0,116
1,75	0,631	0,655	0,652	0,655	0,627	0,466	0,113
1,78	0,629	0,649	0,646	0,644	0,621	0,460	0,110
1,90	0,622	0,628	0,626	0,625	0,600	0,442	0,106
2,18	0,603	0,580	0,577	0,577	0,550	0,398	0,090
2,32	0,593	0,532	0,528	0,527	0,495	0,347	0,083
2,33	0,590	0,529	0,525	0,524	0,492	0,345	0,083
2,45	0,578	0,496	0,493	0,491	0,457	0,314	0,076
2,61	0,565	0,456	0,452	0,452	0,415	0,276	0,065

TABLA 22 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA DPGPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M, 4% ETANOL) -CONTINUACION-

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a						
	360	376,6	376,9	377	380	390	406
2,78	0,547	0,409	0,405	0,403	0,363	0,231	0,053
3,00	0,529	0,352	0,348	0,348	0,304	0,177	0,040
3,08	0,523	0,344	0,340	0,346	0,295	0,170	0,041
3,24	0,515	0,313	0,308	0,306	0,261	0,141	0,033
3,44	0,507	0,291	0,287	0,285	0,238	0,119	0,028
2,66	0,503	0,275	0,269	0,267	0,219	0,104	0,025
3,66	0,505	0,277	0,272	0,273	0,222	0,106	0,027
3,82	0,506	0,276	0,270	0,269	0,219	0,102	0,026
3,95	0,507	0,273	0,269	0,268	0,218	0,103	0,028
4,04	0,512	0,276	0,272	0,271	0,221	0,104	0,030
4,15	0,520	0,283	0,277	0,276	0,225	0,107	0,033
4,33	0,533	0,298	0,293	0,291	0,241	0,120	0,038
4,37	0,535	0,301	0,296	0,294	0,243	0,123	0,039
4,43	0,544	0,320	0,312	0,314	0,256	0,130	0,043
4,75	0,575	0,364	0,359	0,357	0,307	0,175	0,060
4,90	0,596	0,398	0,393	0,391	0,342	0,204	0,073
5,11	0,622	0,440	0,435	0,438	0,385	0,239	0,086

TABLA 22 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA DPGPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M, 4% ETANOL) -CONTINUACION-

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a						
	360	376,6	376,9	377	380	390	406
5,15	0,637	0,459	0,454	0,452	0,403	0,253	0,092
5,20	0,655	0,492	0,487	0,485	0,436	0,281	0,103
5,31	0,663	0,513	0,509	0,508	0,460	0,300	0,110
5,35	0,669	0,519	0,515	0,514	0,466	0,306	0,109
5,44	0,690	0,548	0,544	0,542	0,495	0,330	0,121
5,61	0,723	0,593	0,588	0,586	0,538	0,364	0,137
5,73	0,730	0,609	0,605	0,603	0,554	0,377	0,142
5,75	0,735	0,612	0,607	0,607	0,558	0,380	0,142
5,88	0,759	0,648	0,644	0,643	0,596	0,412	0,153
6,18	0,793	0,686	0,690	0,680	0,640	0,450	0,165
6,53	0,805	0,718	0,714	0,712	0,663	0,465	0,176
6,70	0,806	0,722	0,718	0,717	0,670	0,470	0,177
7,35	0,807	0,725	0,722	0,720	0,672	0,473	0,179
8,10	0,799	0,717	0,714	0,713	0,665	0,470	0,177
8,55	0,800	0,719	0,715	0,715	0,667	0,472	0,180
9,40	0,800	0,725	0,724	0,722	0,679	0,485	0,200

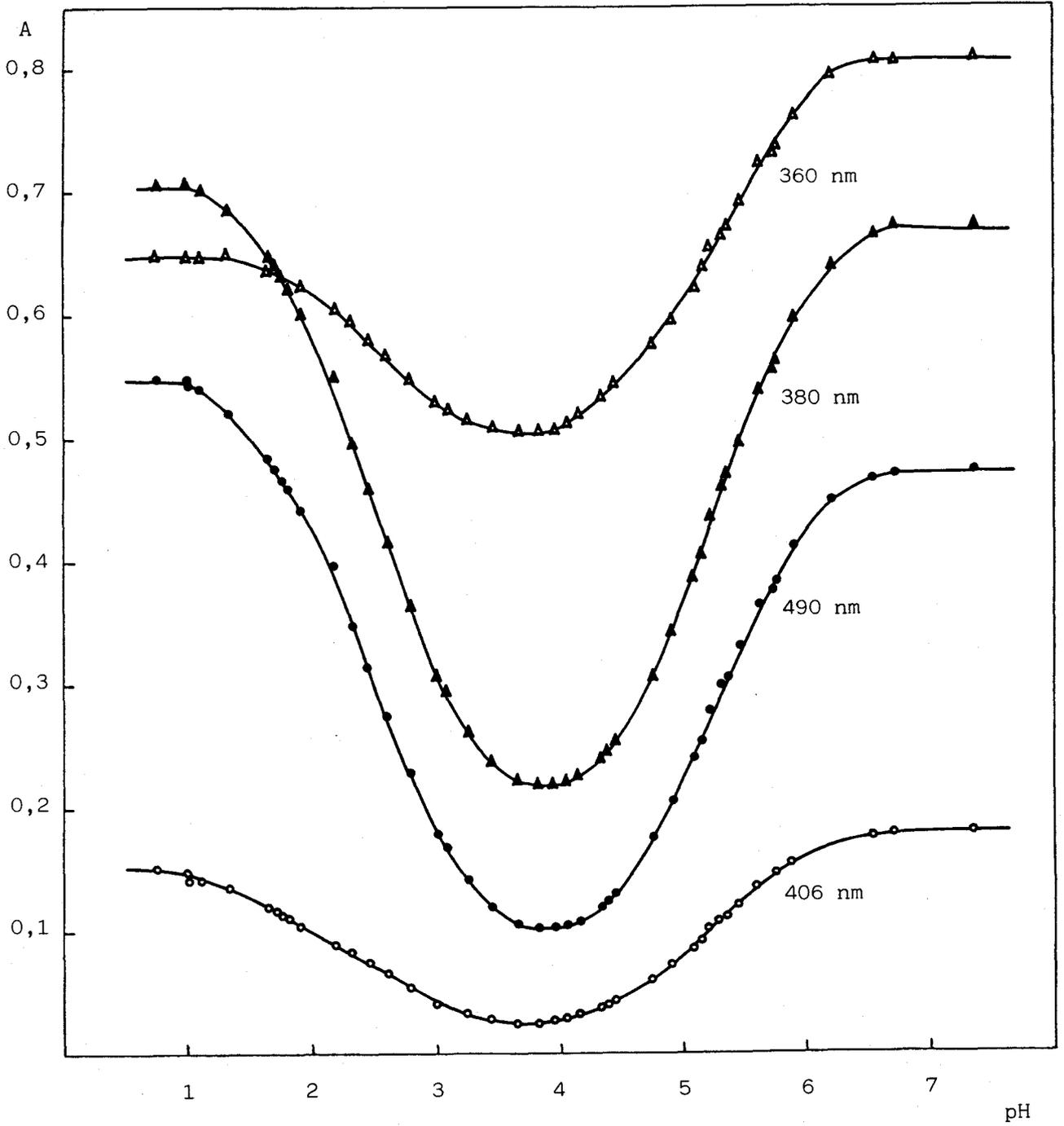


FIGURA 25 * Curvas absorbancia-pH de la DPGPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 4% etanol).

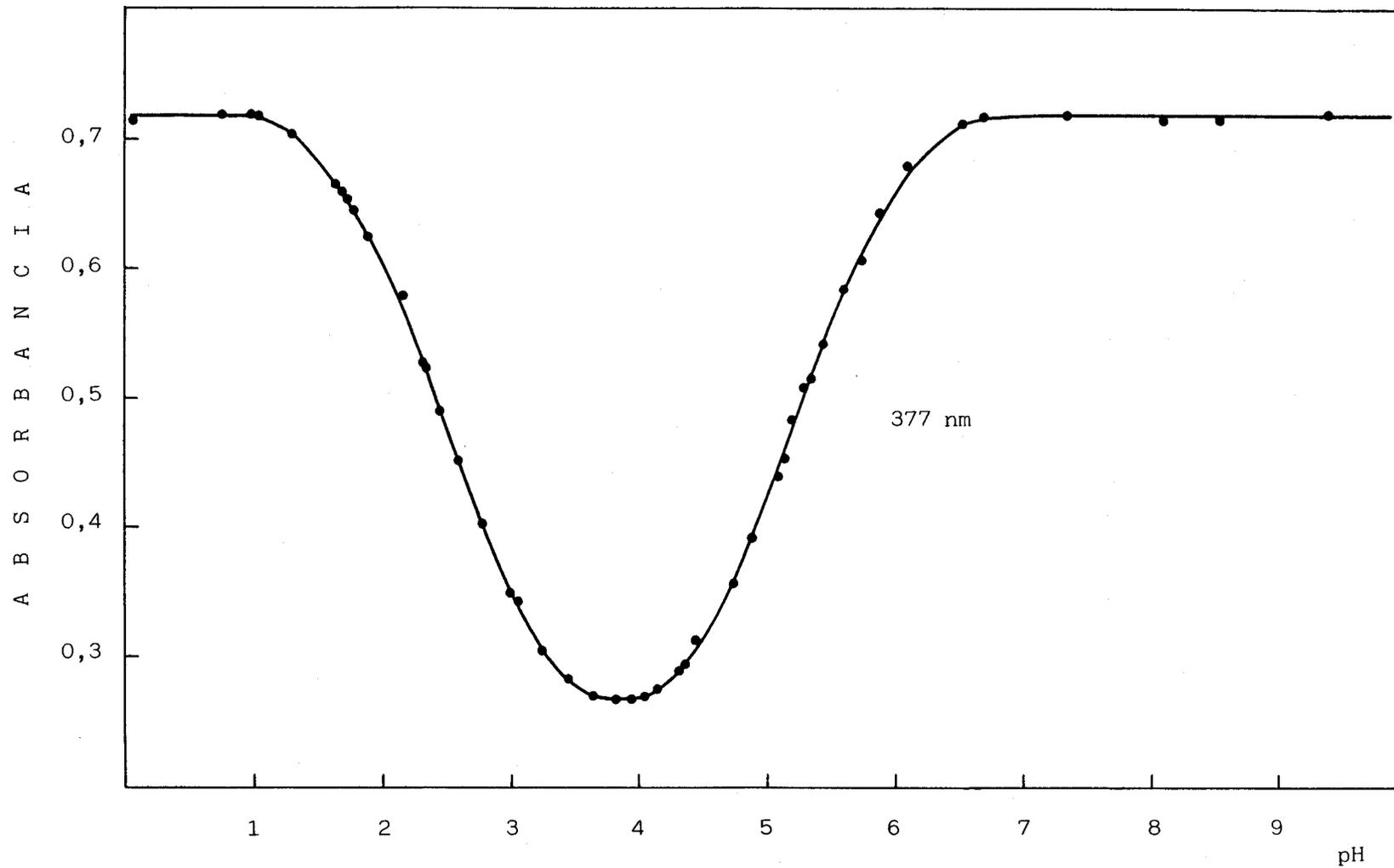


FIGURA 26 * Curva absorbancia-pH de la DPGPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 4% etanol).

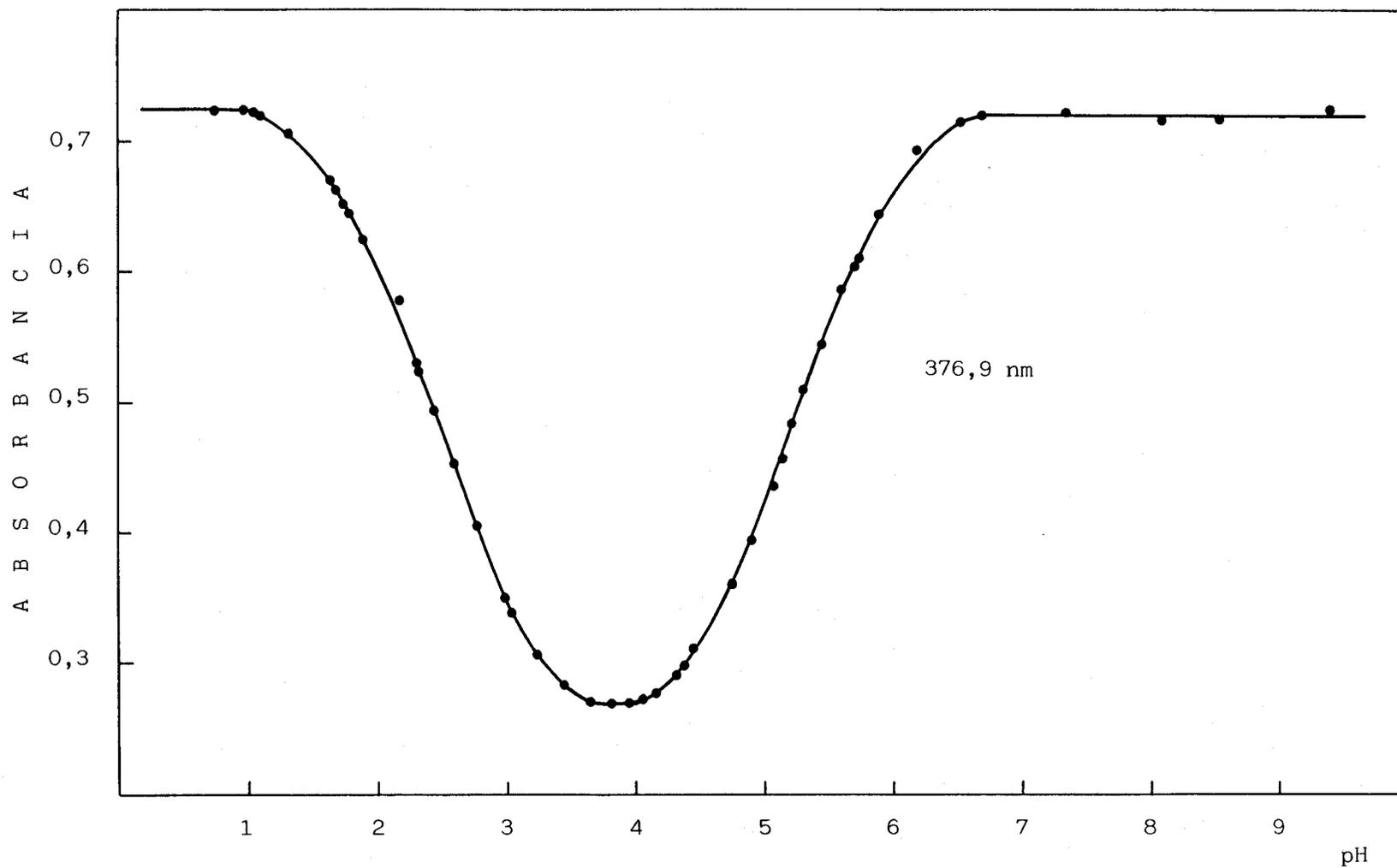


FIGURA 27 * Curva absorbancia-pH de la DPGH ($C_R = 4 \times 10^{-5} M$; 4% etanol).

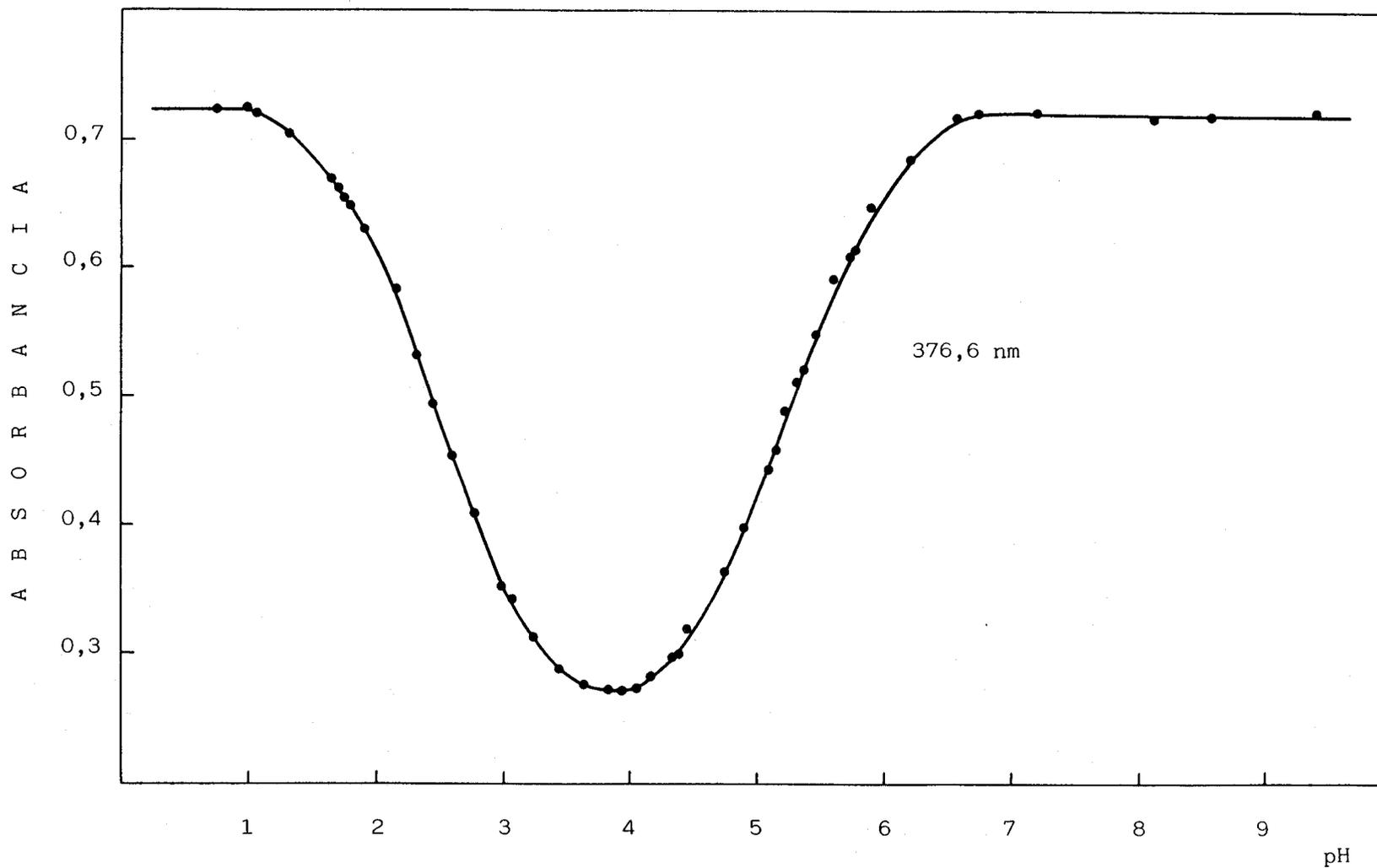


FIGURA 28 * Curva absorbancia-pH de la DPGPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 4% etanol).

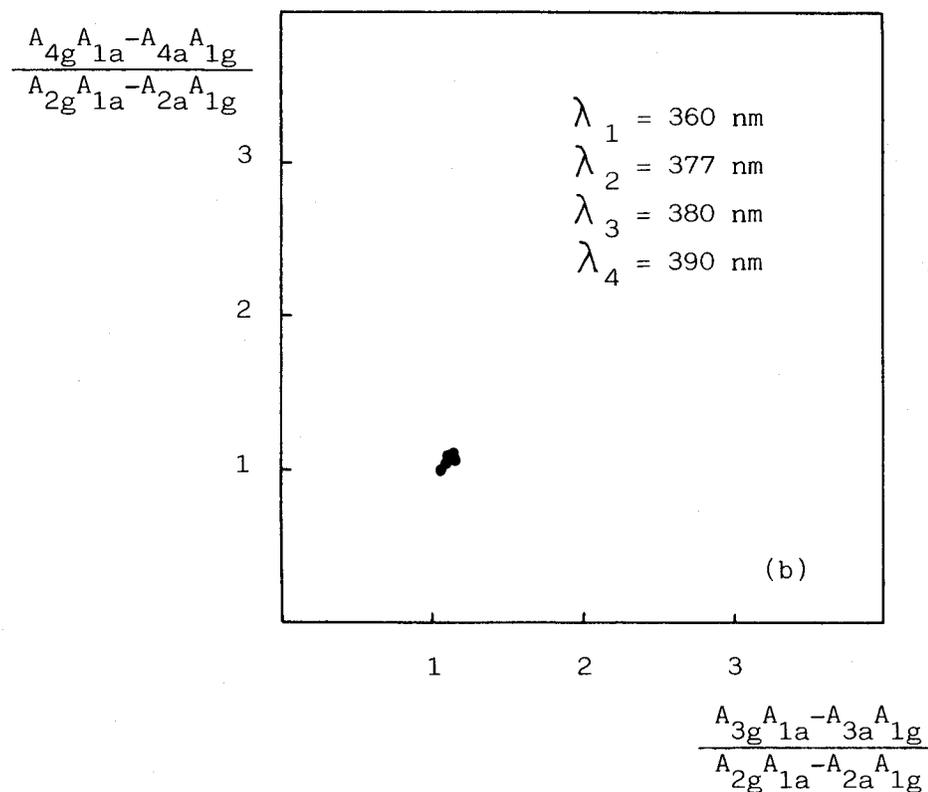
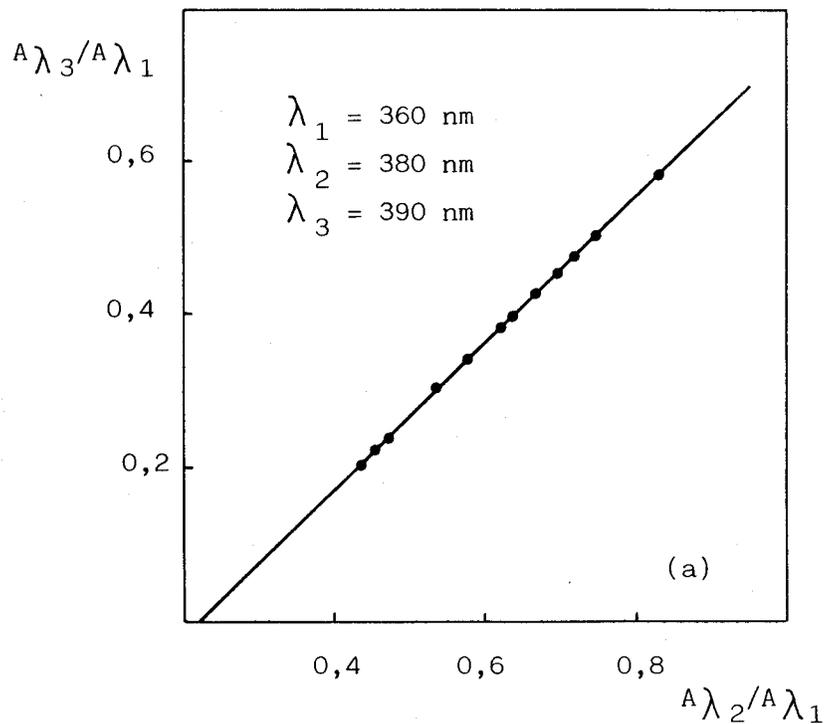


FIGURA 29 * Determinación del número de especies absorbentes en disolución en la zona de pH comprendida entre 3,95-5,61, a $|DPGPH|$ constante.
 (a) Dos especies; (b) Tres especies.

Representaciones gráficas típicas obtenidas mediante la aplicación de los métodos de las rectas concurrentes, rectas paralelas y de Agren-Sommer, se encuentran recogidas en las Figuras 30, 31 y 32 respectivamente. Asimismo en las Tablas 23-25 se observan las ecuaciones de las rectas obtenidas en cada caso, a las diferentes longitudes de onda empleadas, así como los valores de los coeficientes de correlación, número de puntos de cada recta y valores de los parámetros desconocidos: pK_{a_4} y A_2 . Las líneas rectas obtenidas (Figuras 30-32) indican que la suposición de que tan sólo las especies HR y H_2R están presentes en ese intervalo de pH, es correcta. En las Figuras 30 y 32 las rectas concurren en el eje de las X ($-1/Ka_4, 0$) dentro de los límites del error experimental, y en la Figura 31 las rectas, según se observa, son paralelas, tal como es de esperar de acuerdo con la teoría.

Se obtienen valores medios de pK_{a_4} ($\bar{X} \pm S$) de $5,19 \pm 0,01$; $5,25 \pm 0,01$ y $5,21 \pm 0,01$ con los métodos de las rectas concurrentes, paralelas y de Agren-Sommer. Se observa una excelente concordancia entre los valores calculados de pK_{a_4} a diversas longitudes de onda, con cada método. Asimismo, se obtiene también una excelente concordancia entre los valores de las absorbancias límites de la especie H_2R , determinadas a las diferentes longitudes de onda (Tabla 26):

T A B L A 2 6

MEDIA Y DESVIACION ESTANDAR DE A_2 A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA							
λ (nm)	360	376,6	376,9	377	380	390	406
\bar{A}_2	0,499	0,243	0,238	0,238	0,184	0,073	0,019
S	0,003	0,006	0,008	0,007	0,007	0,007	0,001

A valores de pH próximos a 0,8 existe, aparentemente, una constancia en los valores de absorbancia a longitudes de onda comprendidas entre 360 y 406 nm, según se observa en las Figuras 25-28, luego en principio, resulta posible el cálculo de pK_{a_3} y de A_2 empleando los

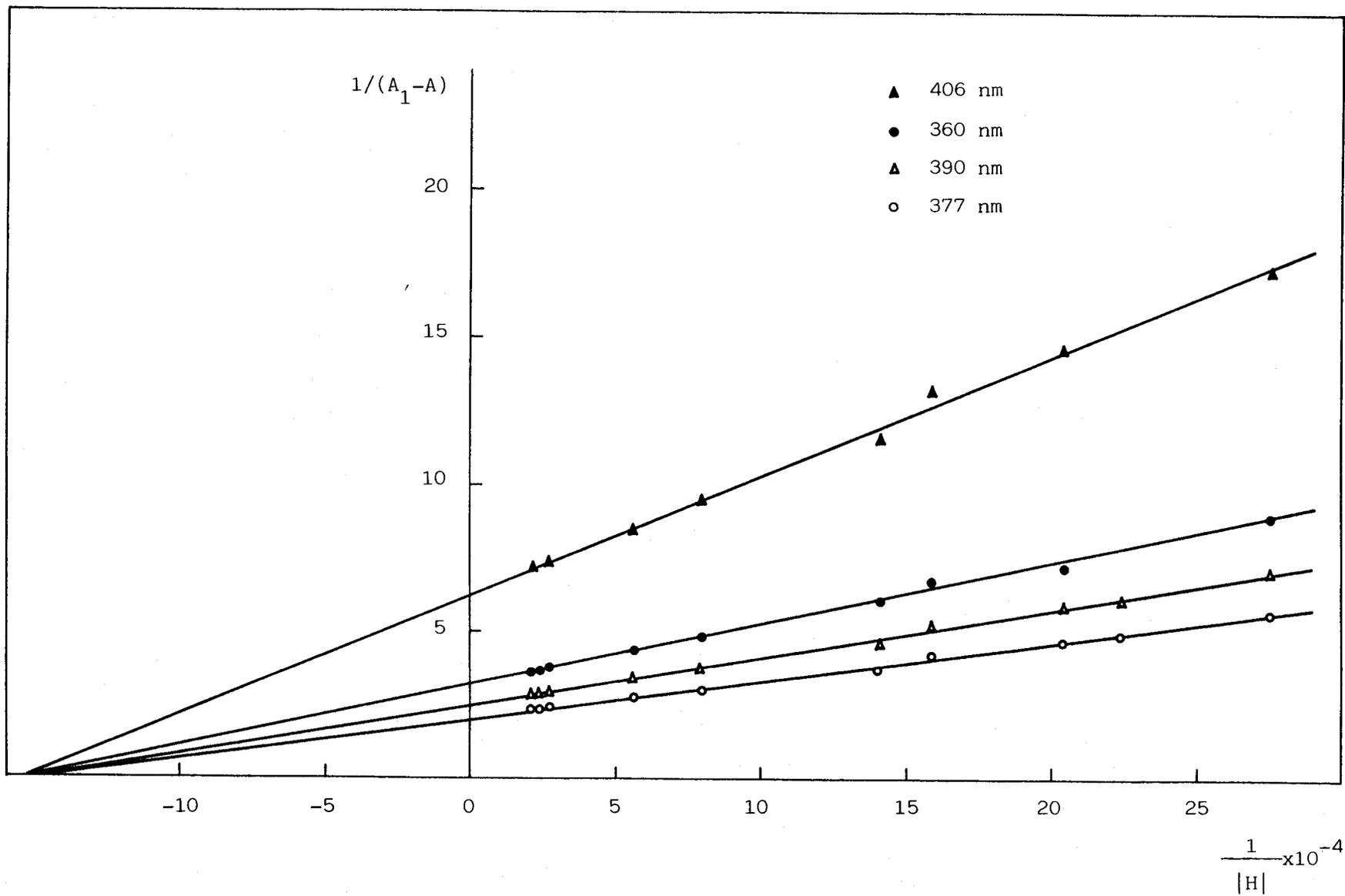


FIGURA 30 * Determinación del pK_{a4} de la DPGPH por el método de las rectas concurrentes.

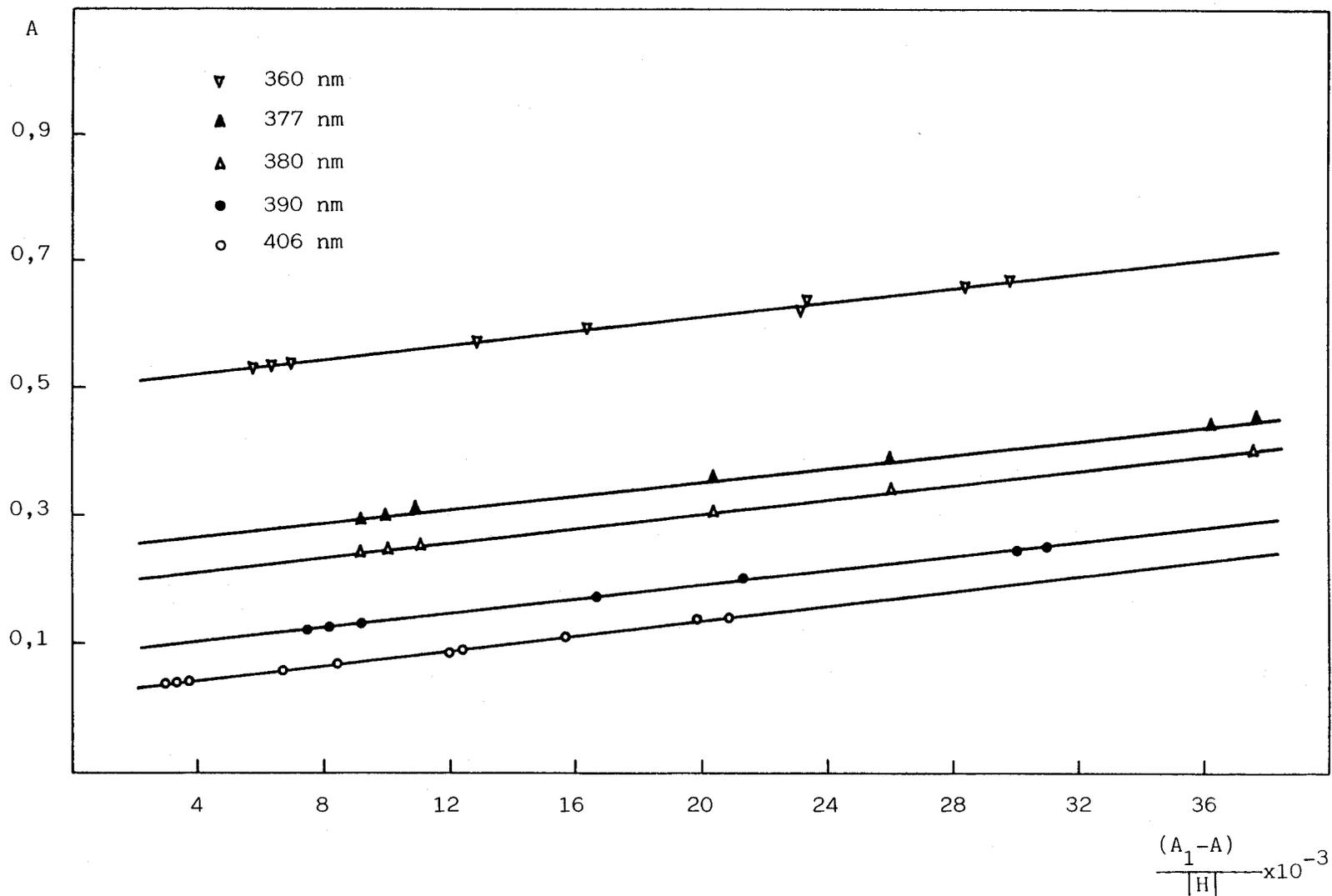


FIGURA 31 * Determinación del pK_{a4} de la DPGPH por el método de las rectas paralelas.

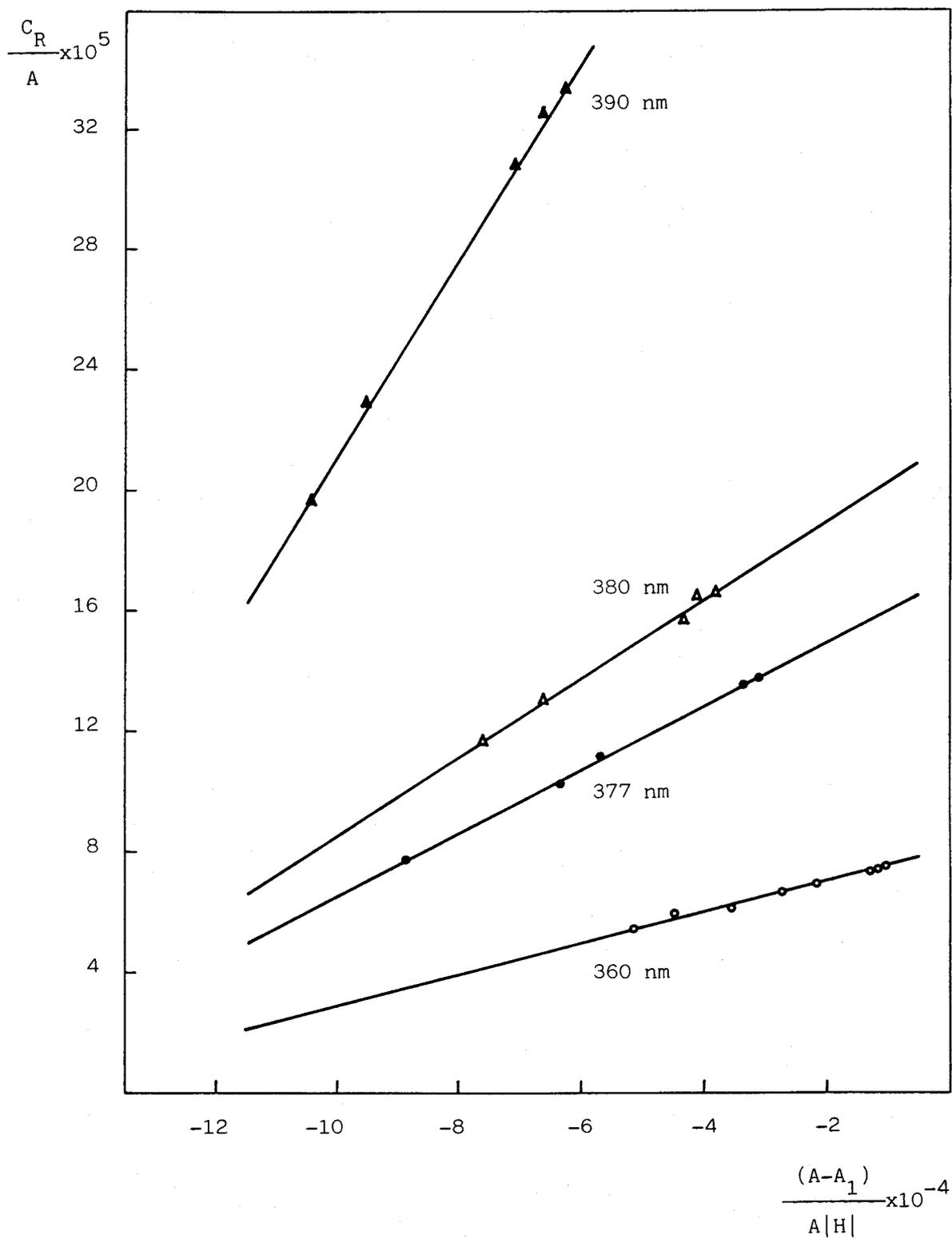


FIGURA 32 * Determinación del pKa₄ de la DPGPH por el método de Agren-Sommer.

TABLA 23 * EVALUACION DEL pKa₄ DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION. METODO DE LAS RECTAS CONCURRENTES.

λ (nm)	A ₁	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A ₂	pKa ₄
360	0,802	Y= - 3,286 - 2,028 E-05 X	0,9970	9	0,498	5,210
376,6	0,720	Y= - 2,080 - 1,339 E-05 X	0,9974	10	0,239	5,191
376,9	0,717	Y= - 2,056 - 1,350 E-05 X	0,9978	9	0,231	5,183
377	0,719	Y= - 2,058 - 1,295 E-05 X	0,9977	10	0,233	5,201
380	0,669	Y= - 2,030 - 1,333 E-05 X	0,9978	10	0,176	5,183
390	0,472	Y= - 2,460 - 1,636 E-05 X	0,9977	10	0,066	5,177
406	0,179	Y= - 6,214 - 4,041 E-05 X	0,9973	8	0,018	5,187

TABLA 24 * EVALUACION DEL pK_{a4} DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION. METODO DE LAS RECTAS PARALELAS.

λ (nm)	A_1	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_2	pK_{a4}
360	0,802	$Y = 0,502 + 5,587 E-06 X$	0,9969	9	0,502	5,253
376,6	0,720	$Y = 0,250 + 5,705 E-06 X$	0,9971	6	0,250	5,244
376,9	0,717	$Y = 0,247 + 5,431 E-06 X$	0,9957	7	0,247	5,265
377	0,719	$Y = 0,246 + 5,433 E-06 X$	0,9968	7	0,246	5,265
380	0,669	$Y = 0,189 + 5,752 E-06 X$	0,9991	6	0,189	5,240
390	0,472	$Y = 0,080 + 5,538 E-06 X$	0,9971	7	0,080	5,257
406	0,179	$Y = 0,020 + 5,884 E-06 X$	0,9975	10	0,020	5,230

TABLA 25 * EVALUACION DEL pK_{a4} DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION. METODO DE AGREN-SOMMER

λ (nm)	A_1	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_2	pK_{a4}
360	0,802	$Y = 8,055 \text{ E-05} + 5,124 \text{ E-10 X}$	0,9972	8	0,497	5,196
376,6	0,720	$Y = 1,657 \text{ E-04} + 1,019 \text{ E-09 X}$	0,9998	5	0,241	5,211
376,9	0,717	$Y = 1,694 \text{ E-04} + 1,040 \text{ E-09 X}$	0,9998	5	0,236	5,212
377	0,719	$Y = 1,708 \text{ E-04} + 1,036 \text{ E-09 X}$	0,9997	5	0,234	5,217
380	0,669	$Y = 2,149 \text{ E-04} + 1,286 \text{ E-09 X}$	0,9961	5	0,186	5,223
390	0,472	$Y = 5,430 \text{ E-04} + 3,311 \text{ E-09 X}$	0,9995	5	0,074	5,215

métodos de extrapolación lineal que se derivan de la ecuación:

$$K_{a_3} = [H] \frac{A - A_3}{A_2 - A}$$

conocido el valor de A_3 . No obstante, resulta necesario, de una parte, comprobar que el reactivo no sufre asociación en este medio de pH, y de otra, calcular el intervalo de pH en el cual existen tan sólo, desde un punto de vista práctico, las especies H_2R y H_3R en disolución. Efectivamente, el reactivo cumple la ley de Beer a $pH=0,8$ en el rango de concentraciones de 1 á 16 ppm ($3,3 \times 10^{-6}$ á $5,3 \times 10^{-5}$ M) (Figura 33, Tablas 27-28), indicando el test gráfico de Budensinsky la existencia de una sola especie (Figura 34(a)). Cuando se postula la existencia de dos especies (Figura 34(b)) en disolución, a un valor de $pH=0,8$, no se obtienen líneas rectas, tal como es de esperar.

Se ha aplicado asimismo el test gráfico de Budensinsky en el rango de pH 1,65-3,82 a concentración de reactivo constante postulando la existencia tanto de dos como de tres especies absorbentes en ese rango de pH (Figura 35). Los resultados obtenidos indican la existencia de dos especies, dentro de los límites del error experimental.

En las Figuras 36, 37 y 38 se muestran las líneas rectas obtenidas mediante la aplicación de las rectas concurrentes, paralelas y de Agren-Sommer. Asimismo, en las Tablas 29, 30 y 31 se recogen las ecuaciones de las rectas obtenidas a las diversas longitudes de onda, junto con los parámetros evaluados, pK_{a_3} y A_2 .

Se obtienen valores medios de pK_{a_3} ($\bar{X} \pm S$) de $2,49 \pm 0,09$; $2,49 \pm 0,08$ y $2,52 \pm 0,05$ mediante los métodos de las rectas concurrentes, paralelas y de Agren-Sommer, respectivamente. En la Tabla 32 se encuentran la media y desviación estándar de los valores de A_2 encontrados a las diversas longitudes de onda.

T A B L A 3 2

λ (nm)	360	376,6	376,9	377	380	390	406
\bar{A}_2	0,480	0,239	0,235	0,235	0,185	0,076	0,018
S	0,003	0,002	0,003	0,005	0,003	0,005	-

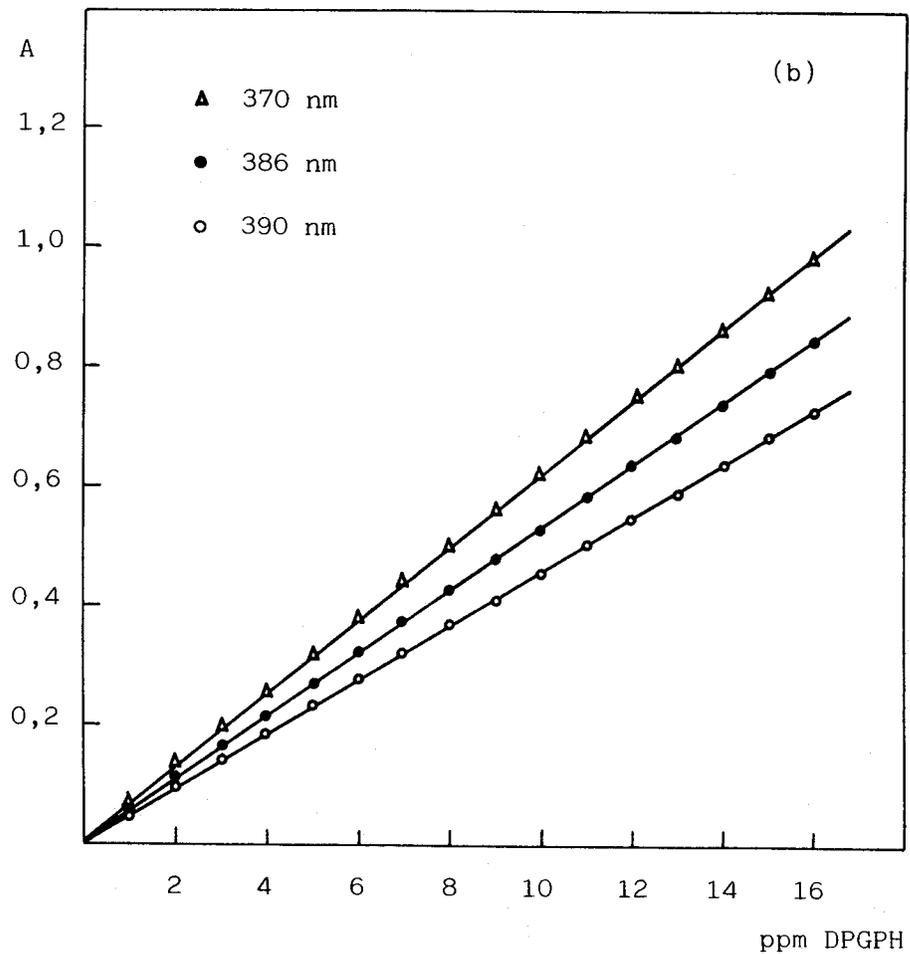
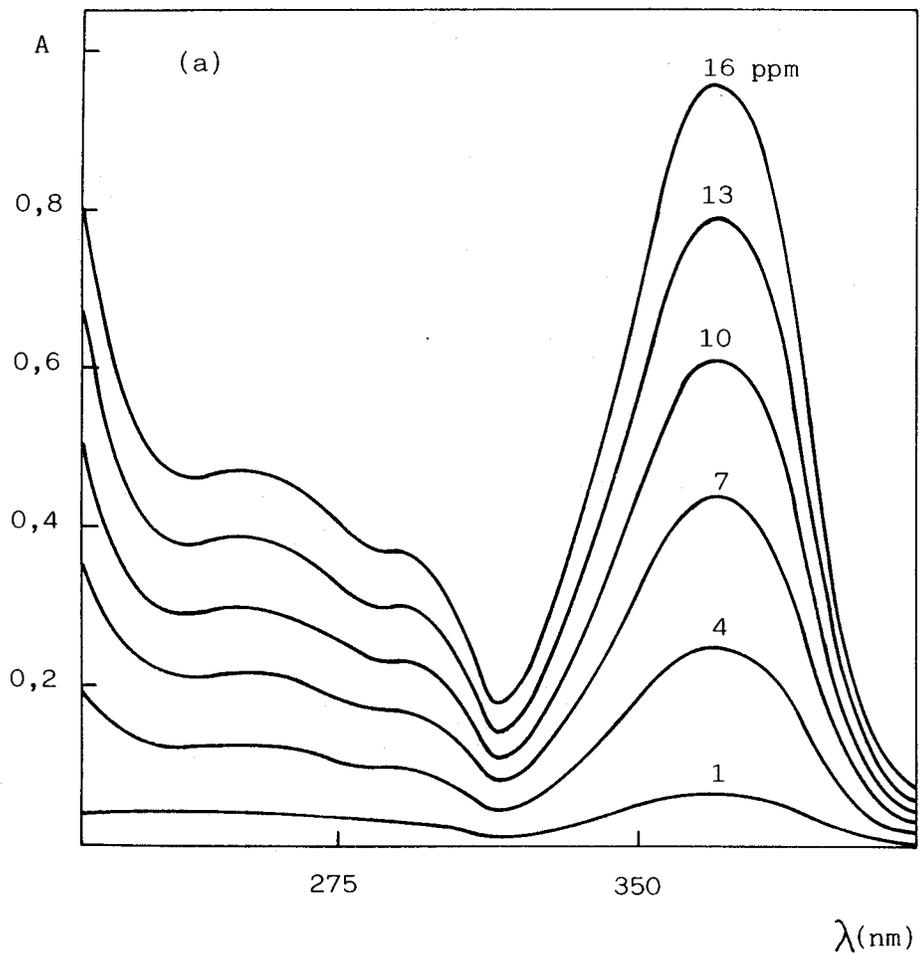


FIGURA 33 * (a) Espectros UV de la DPGPH a pH $\sim 0,8$ y C_R variable. (b) Ley de Beer a pH $\sim 0,8$.

TABLA 27 * LEY DE BEER DE LA DPGPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~0,8

ppm DPGPH	A b s o r b a n c i a					
	350	360	370	380	386	390
1	0,048	0,063	0,069	0,065	0,059	0,050
2	0,094	0,119	0,134	0,127	0,114	0,100
3	0,136	0,175	0,194	0,185	0,165	0,146
4	0,179	0,229	0,255	0,243	0,217	0,187
5	0,219	0,284	0,318	0,303	0,272	0,234
6	0,266	0,340	0,380	0,353	0,324	0,279
7	0,310	0,395	0,442	0,415	0,377	0,324
8	0,346	0,447	0,501	0,478	0,429	0,370
9	0,395	0,503	0,563	0,536	0,479	0,412
10	0,435	0,556	0,622	0,593	0,530	0,456
11	0,470	0,610	0,685	0,652	0,587	0,505
12	0,524	0,670	0,749	0,715	0,639	0,550
13	0,565	0,720	0,804	0,765	0,685	0,590
14	0,602	0,765	0,858	0,818	0,738	0,640
15	0,647	0,824	0,920	0,875	0,795	0,687
16	0,690	0,876	0,980	0,932	0,845	0,730

TABLA 28 * RECTAS DE REGRESION CORRESPONDIENTES A LA LEY DE BEER DE LA DPGPH A DISTINTAS
LONGITUDES DE ONDA Y A pH \sim 0,8

λ (nm)	Ecuación de la Recta	Coficiente Correlación	n	S _A	S _B	S _{y/x}	Cov(A,B)
350	Y = 0,0079 + 0,0426 X	0,9999	16	0,0057	0,0002	0,0031	-2,4051 E-07
360	Y = 0,0128 + 0,0542 X	0,9999	16	0,0062	0,0002	0,0034	-2,8141 E-07
370	Y = 0,0137 + 0,0607 X	0,9999	16	0,0070	0,0002	0,0038	-3,5703 E-07
380	Y = 0,0114 + 0,0579 X	0,9999	16	0,0079	0,0002	0,0043	-4,5598 E-07
386	Y = 0,0091 + 0,0523 X	1,0000	16	0,0039	0,0001	0,0021	-1,1270 E-07
390	Y = 0,0079 + 0,0451 X	1,0000	16	0,0039	0,0001	0,0021	-1,1270 E-07

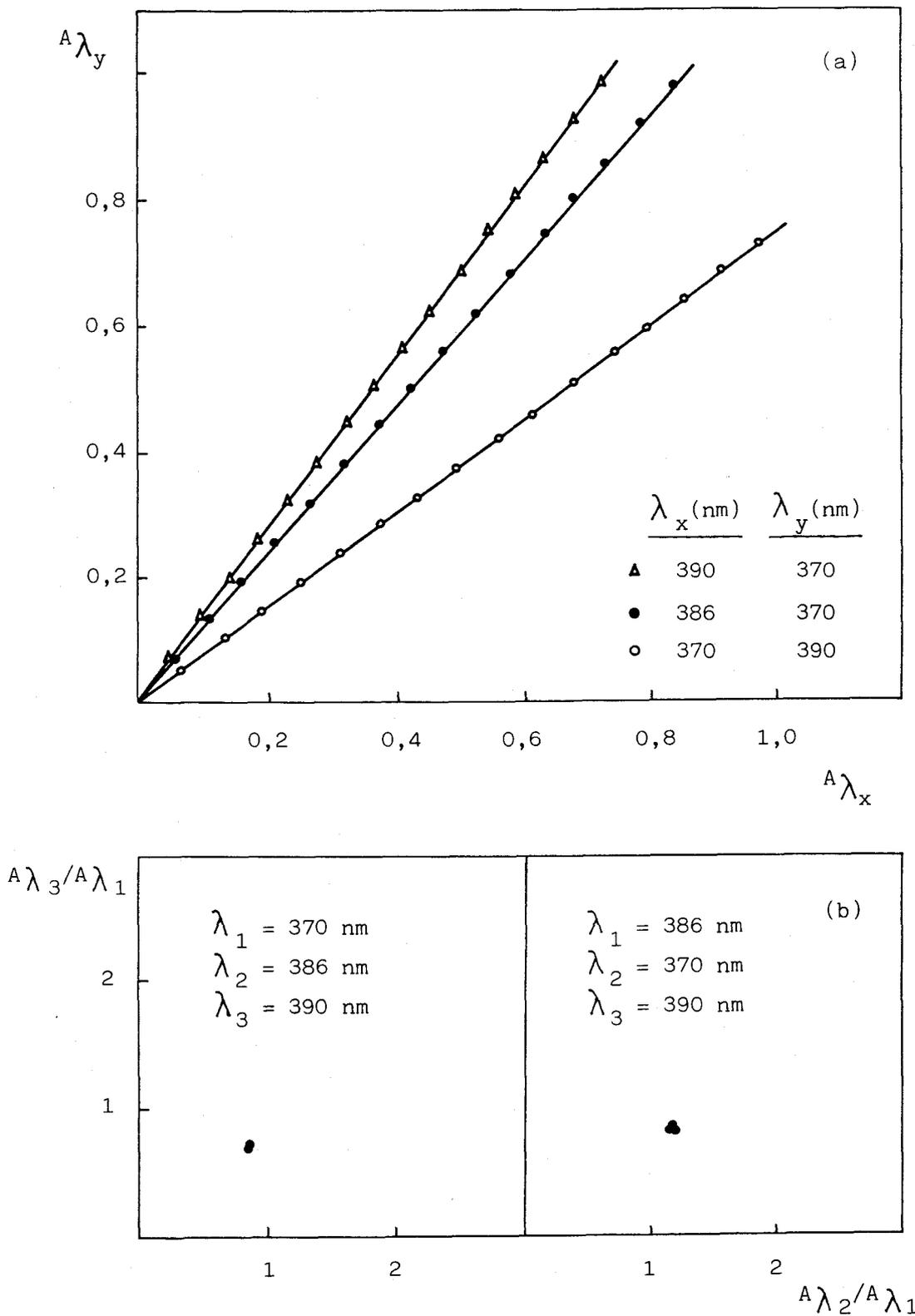
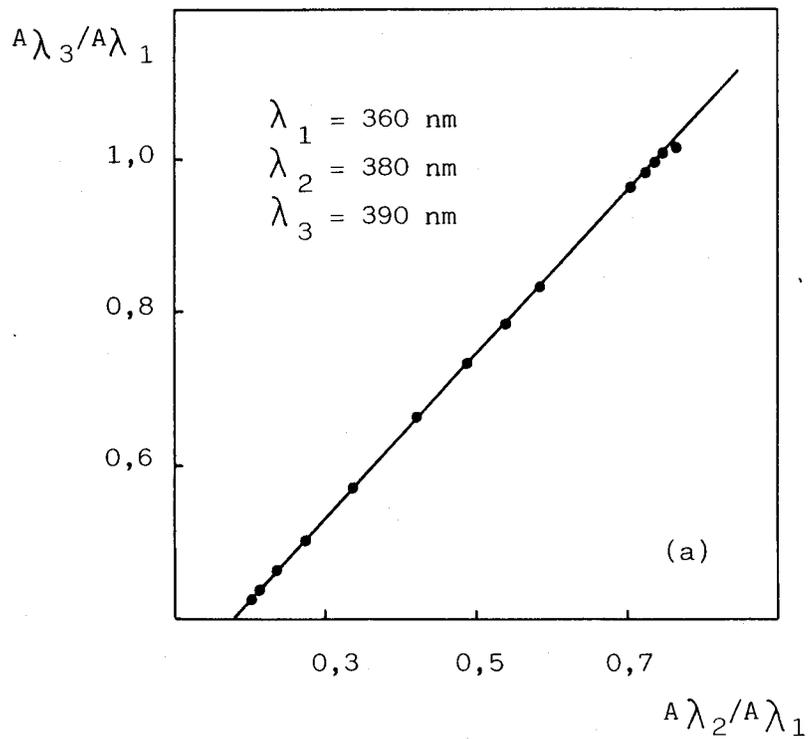


FIGURA 34 * Determinación del número de especies absorbentes en disolución a pH = 0,8 y |DPGPH| variable.
 (a) Una especie; (b) Dos especies.



$$\frac{A_{4g} A_{1a} - A_{4a} A_{1g}}{A_{2g} A_{1a} - A_{2a} A_{1g}}$$

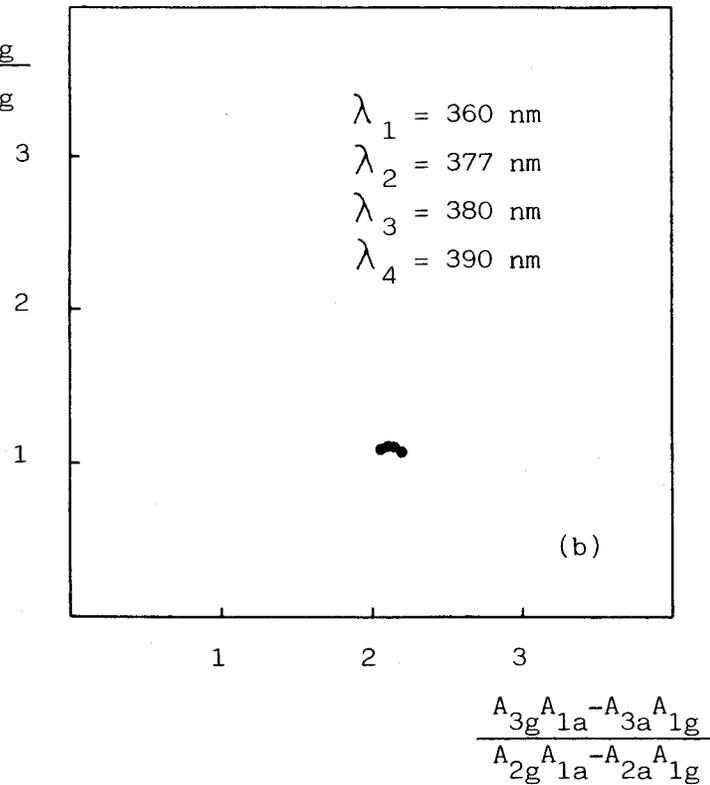


FIGURA 35 * Determinación del número de especies absorbentes en disolución en la zona de pH comprendida entre 1,65-3,82 a $|DPGPH|$ constante.
 (a) Dos especies; (b) Tres especies.

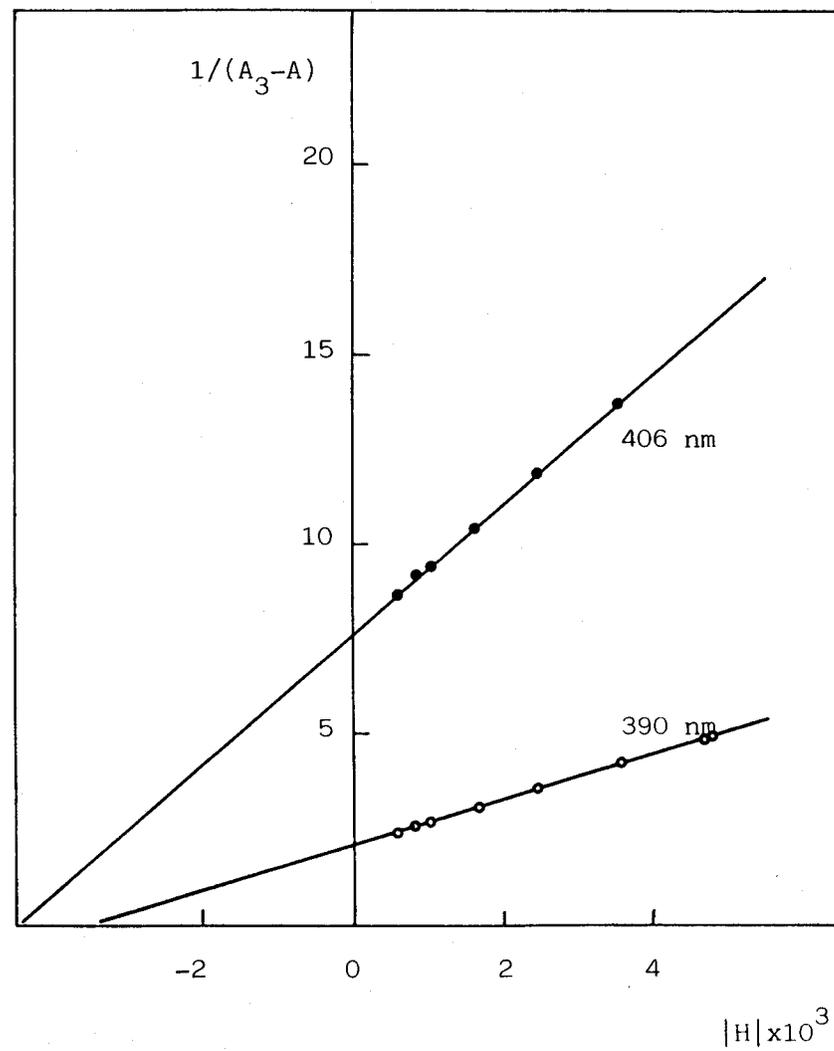
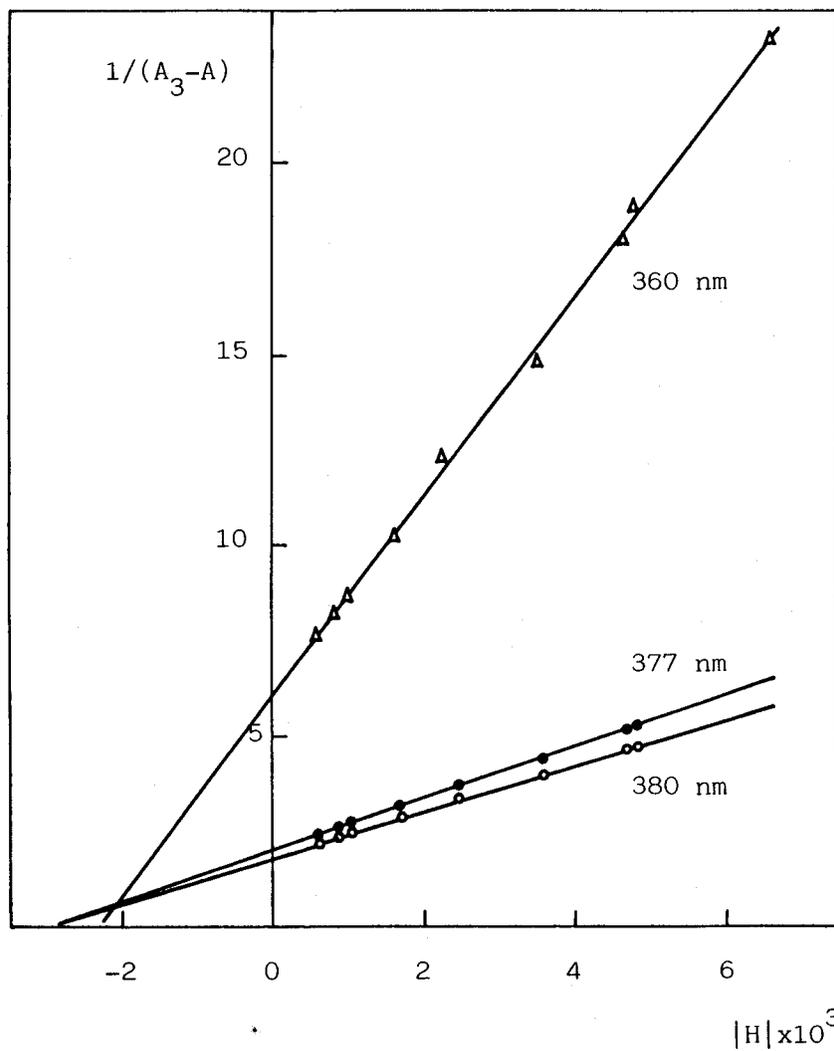


FIGURA 36 * Determinación del pK_{a3} de la DPGPH por el método de las rectas concurrentes.

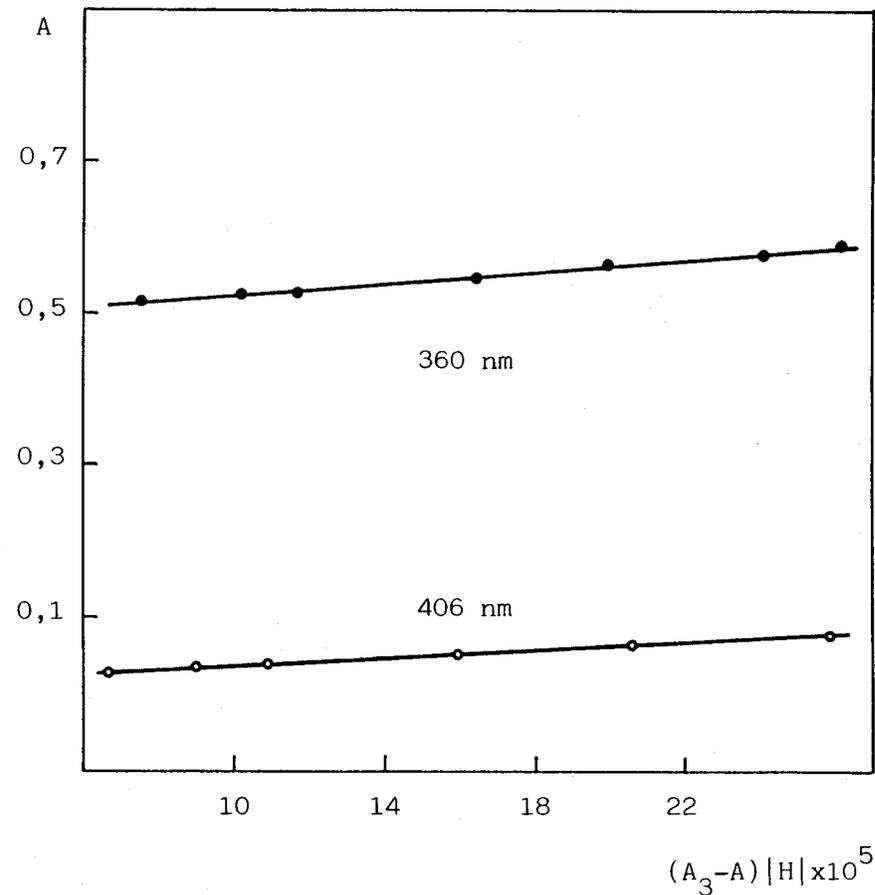
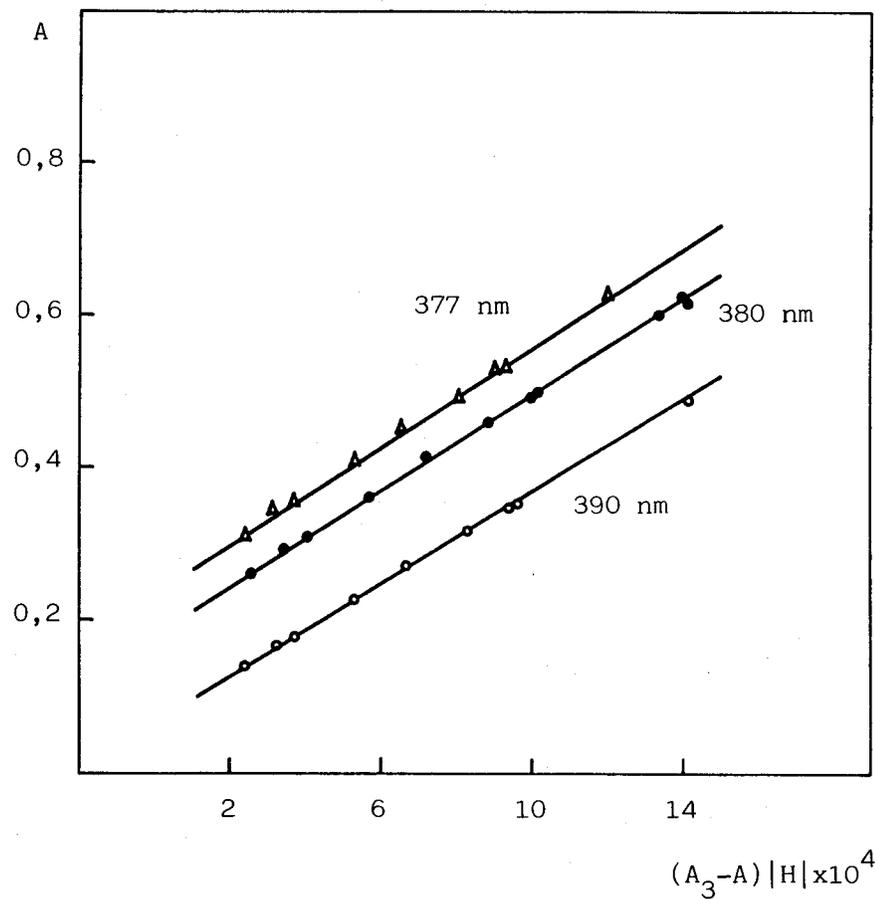


FIGURA 37 * Determinación del pK_{a3} de la DPGPH por el método de las rectas paralelas.

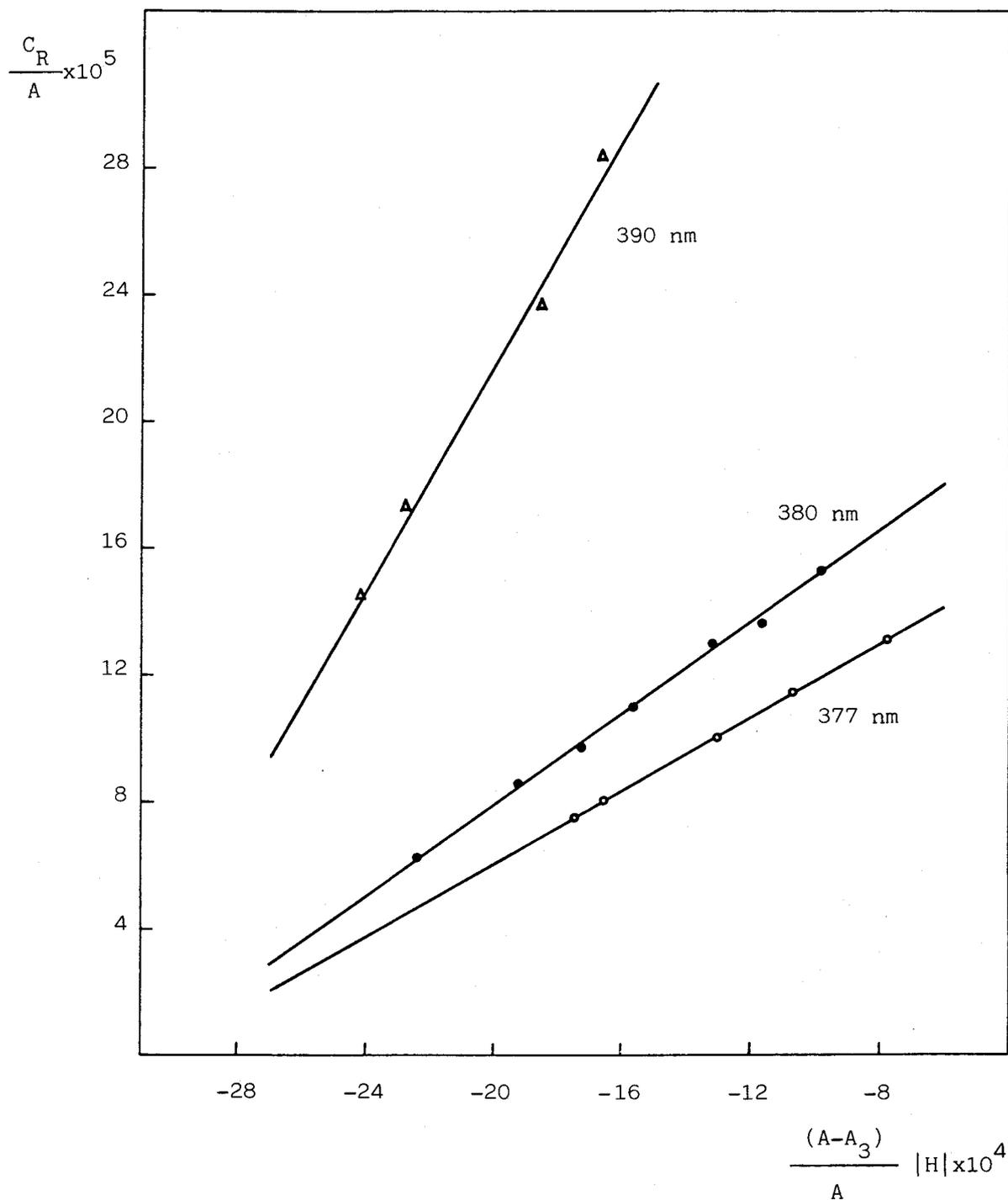


FIGURA 38 * Determinación del pK_{a3} de la DPGPH por el método de Agren-Sommer.

TABLA 29 * EVALUACION DEL pK_{a_3} DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION. METODO DE LAS RECTAS CONCURRENTES.

λ (nm)	A_3	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_2	pK_{a_3}
360	0,646	$Y = - 5,914 - 2,610 E03 X$	0,9988	9	0,477	2,645
376,6	0,724	$Y = - 2,070 - 6,562 E02 X$	0,9997	8	0,241	2,501
376,9	0,722	$Y = - 2,064 - 6,478 E02 X$	0,9997	8	0,237	2,497
377	0,720	$Y = - 2,081 - 6,483 E02 X$	0,9994	8	0,240	2,493
380	0,706	$Y = - 1,930 - 5,892 E02 X$	0,9996	8	0,188	2,485
390	0,548	$Y = - 2,139 - 5,984 E02 X$	0,9994	8	0,081	2,447
406	0,149	$Y = - 7,644 - 1,709 E03 X$	0,9979	6	0,018	2,349

TABLA 30 * EVALUACION DEL pK_{a_3} DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION. METODO DE LAS RECTAS PARALELAS.

λ (nm)	A_3	Ecuacion de la Recta	Coficiente Correlación	n	A_2	pK_{a_3}
360	0,646	$Y = 0,483 + 4,038 \text{ E } 02 \text{ X}$	0,9980	7	0,483	2,606
376,6	0,724	$Y = 0,239 + 3,211 \text{ E } 02 \text{ X}$	0,9993	9	0,239	2,507
376,9	0,722	$Y = 0,233 + 3,219 \text{ E } 02 \text{ X}$	0,9992	9	0,233	2,508
377	0,720	$Y = 0,234 + 3,214 \text{ E } 02 \text{ X}$	0,9981	9	0,234	2,507
380	0,706	$Y = 0,184 + 3,119 \text{ E } 02 \text{ X}$	0,9994	11	0,184	2,494
390	0,548	$Y = 0,076 + 2,880 \text{ E } 02 \text{ X}$	0,9990	9	0,076	2,459
406	0,149	$Y = 0,018 + 2,225 \text{ E } 02 \text{ X}$	0,9945	6	0,018	2,347

TABLA 31 * EVALUACION DEL pK_{a_3} DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION. METODO DE AGREN-SOMMER

λ (nm)	A_3	Ecuacion de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_2	pK_{a_3}
360	0,646	$Y= 8,328 E-05 + 3,529 E-02 X$	0,9947	9	0,480	2,627
376,6	0,724	$Y= 1,678 E-04 + 5,394 E-02 X$	0,9973	9	0,238	2,507
376,9	0,722	$Y= 1,707 E-04 + 5,445 E-02 X$	0,9962	8	0,234	2,504
377	0,720	$Y= 1,742 E-04 + 5,618 E-02 X$	0,9993	6	0,230	2,508
380	0,706	$Y= 2,202 E-04 + 6,983 E-02 X$	0,9958	7	0,182	2,501
390	0,548	$Y= 5,668 E-04 + 1,743 E-01 X$	0,9942	4	0,071	2,488
406	0,149	$Y= 8,241 E-04 + 8,918 E-02 X$	0,9934	6	0,049	2,034

Se observa una excelente concordancia entre los valores de pK_{a_3} obtenidos a diversas longitudes de onda y con los distintos métodos aplicados. Asimismo, los valores de A_2 calculados a partir de A_1 conocido presentan una gran semejanza con los evaluados de esta manera, o sea conocido A_3 ; tal como puede comprobarse mediante la comparación de los datos incluidos en las Tablas 26 y 32.

Se han evaluado los pK_{a_4} y pK_{a_3} de la DPGPH considerando los equilibrios simultáneos de protonación $HR+H \rightleftharpoons H_2R$ y $H_2R+H \rightleftharpoons H_3R$. Para ello, aprovechando que la curva absorbancia-pH a una serie de longitudes de onda muestra un valor mínimo, se han aplicado las variantes de los métodos de las rectas concurrentes, paralelas y de Agren-Sommer descritas en las ecuaciones (I), (II) y (III), respectivamente (Tabla 33).

Resulta interesante destacar que, aunque de cara a la aplicación de estos métodos mencionados es imprescindible que la curva absorbancia-pH muestre un valor mínimo (o máximo), no es necesario el conocimiento del valor de pH mínimo o máximo.

La estrategia seguida ha sido la siguiente: en primer lugar, conocida A_1 , la absorbancia experimental constante en el rango de pH 7-9 (absorbancia límite de la especie HR), se seleccionan trios de datos (A, pH_1, pH_2), que tratados de acuerdo con las transformaciones (I), (II) y (III) conducen a valores de pK_{a_4} y A_2 . A continuación, ya conocido el valor de la absorbancia límite de la especie H_2R, A_2 , se aplican las mismas transformaciones a los mismos datos (A, pH_1, pH_2), obteniéndose de esta manera los valores de pK_{a_3} y A_3 .

Las representaciones gráficas correspondientes se muestran en las Figuras 39-41 en el caso del pK_{a_4} y en las Figuras 42-44 en el caso del pK_{a_3} . Asimismo, las ecuaciones de las rectas obtenidas a las diferentes longitudes de onda utilizadas, así como los valores de sus coeficientes de correlación y número de puntos de cada línea recta, junto con los resultados de pK_a y absorbancias límites se encuentran recopilados en las Tablas 34-35 (pK_{a_4}) y 36-37 (pK_{a_3}).

Un resumen de los resultados obtenidos en la evaluación de pK_{a_4} y pK_{a_3} , considerando tanto los equilibrios de protonación simultáneos, como sencillos, se encuentran en la Tabla 38.

TABLA 33 * METODOS DE LAS RECTAS CONCURRENTES (I), PARALELAS (II) Y AGREN-SOMMER (III)
 (A_{N-n} CONOCIDO; ACIDO DIPROTICO)

	Ecuación de la Recta	Ordenada	Abscisa
(I)	$\frac{1}{A - A_{N-n}} = \frac{1}{A_{N+1-n} - A_{N-n}} + \frac{1}{A_{N+1-n} - A_{N-n}} \frac{K_{a_n}}{T}$	$\frac{1}{A - A_{N-n}}$	$\frac{1}{T}$
(II)	$A = A_{N+1-n} + (A_{N-n} - A) \frac{K_{a_n}}{T}$	A	$(A_{N-n} - A) T$
(III)	$\frac{C_R}{A} = \frac{1}{\xi_{N+1-n}} + \frac{A - A_{N-n}}{AT} \frac{K_{a_n}}{\xi_{N+1-n}}$	$\frac{C_R}{A}$	$\frac{A - A_{N-n}}{AT}$

$$\begin{aligned}
 N &= 5 \\
 n &= 4 & T = P &= \frac{|H|_1 |H|_2}{|H|_1 + |H|_2} \\
 n &= 3 & T = Q &= |H|_1 + |H|_2
 \end{aligned}$$

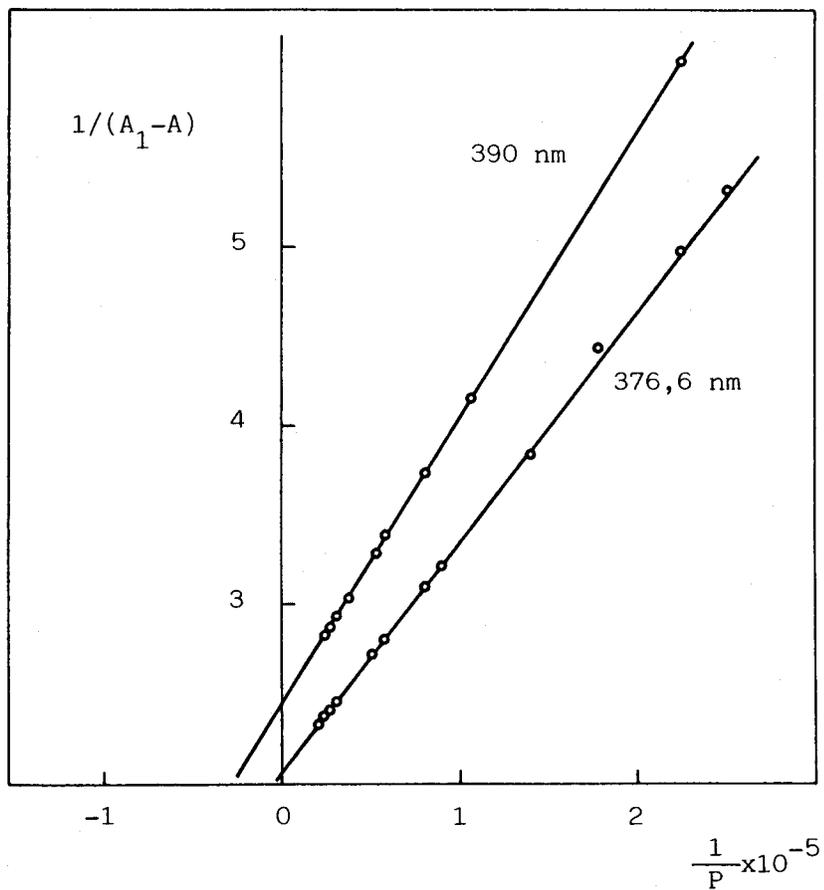


FIGURA 39 * Determinación del pKa₄ de la DPGPH por el método de las rectas concurrentes. (Acido diprótico).

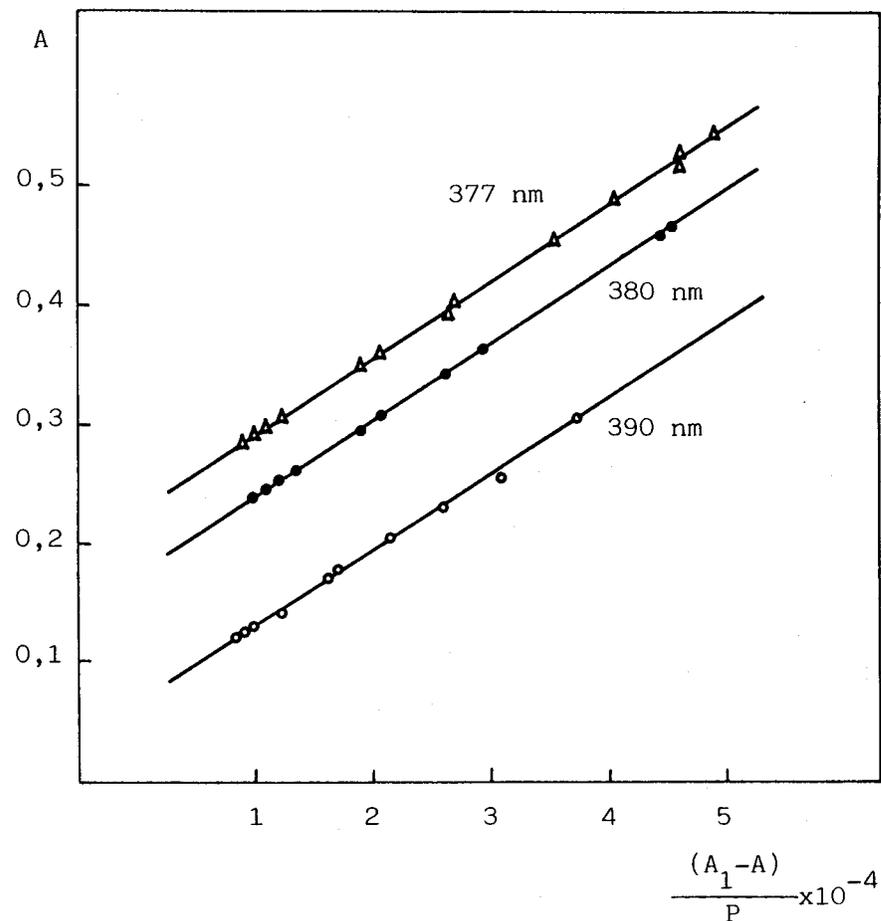


FIGURA 40 * Determinación del pKa₄ de la DPGPH por el método de las rectas paralelas (Acido diprótico).

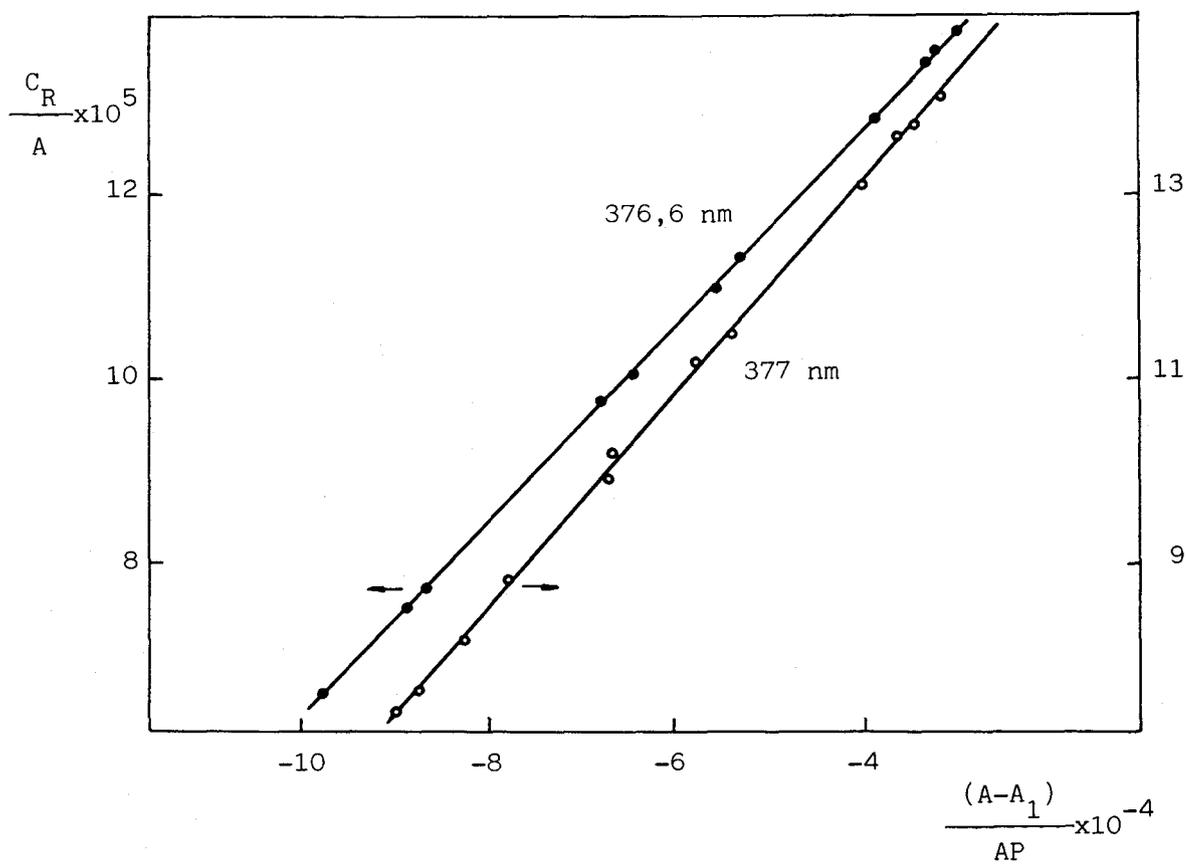
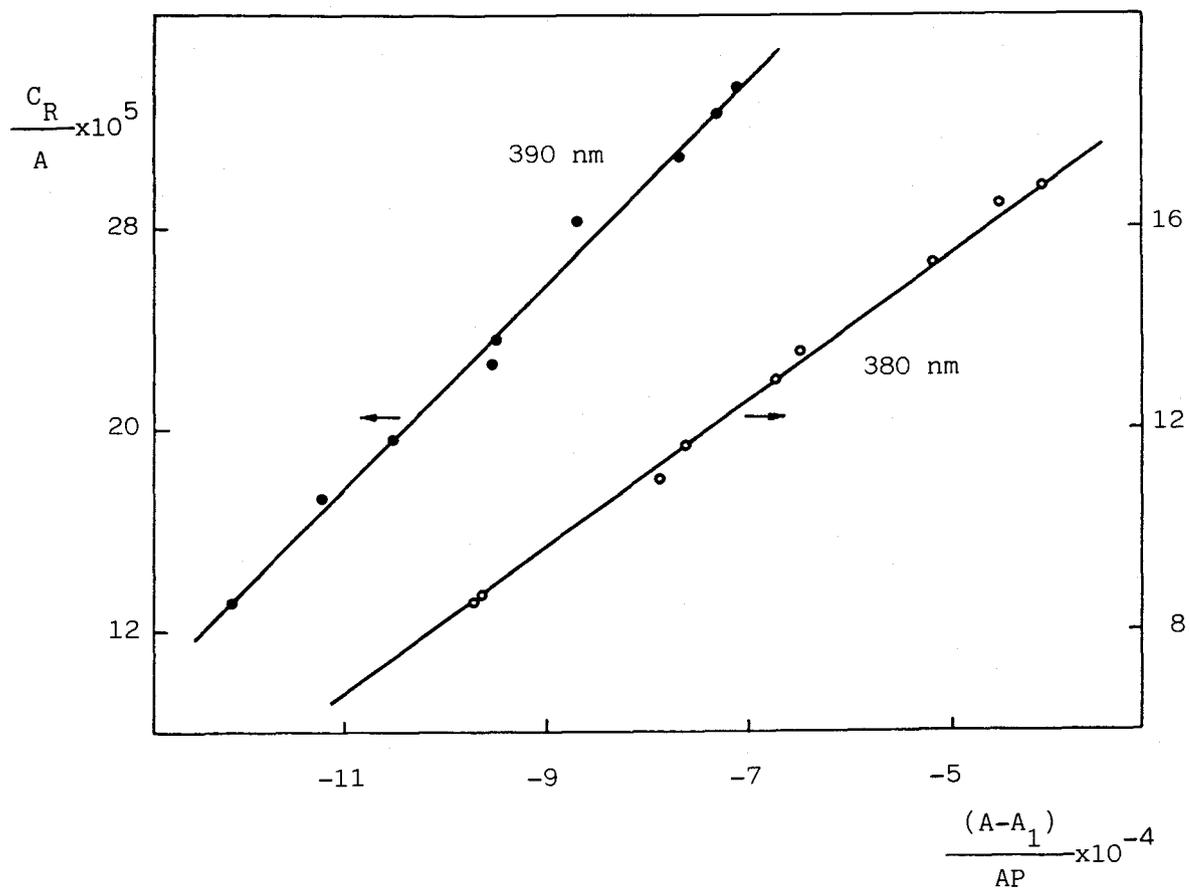


FIGURA 41 * Determinación del pK_{a4} de la DPGPH por el método de Agren-Sommer (Acido diprótico).

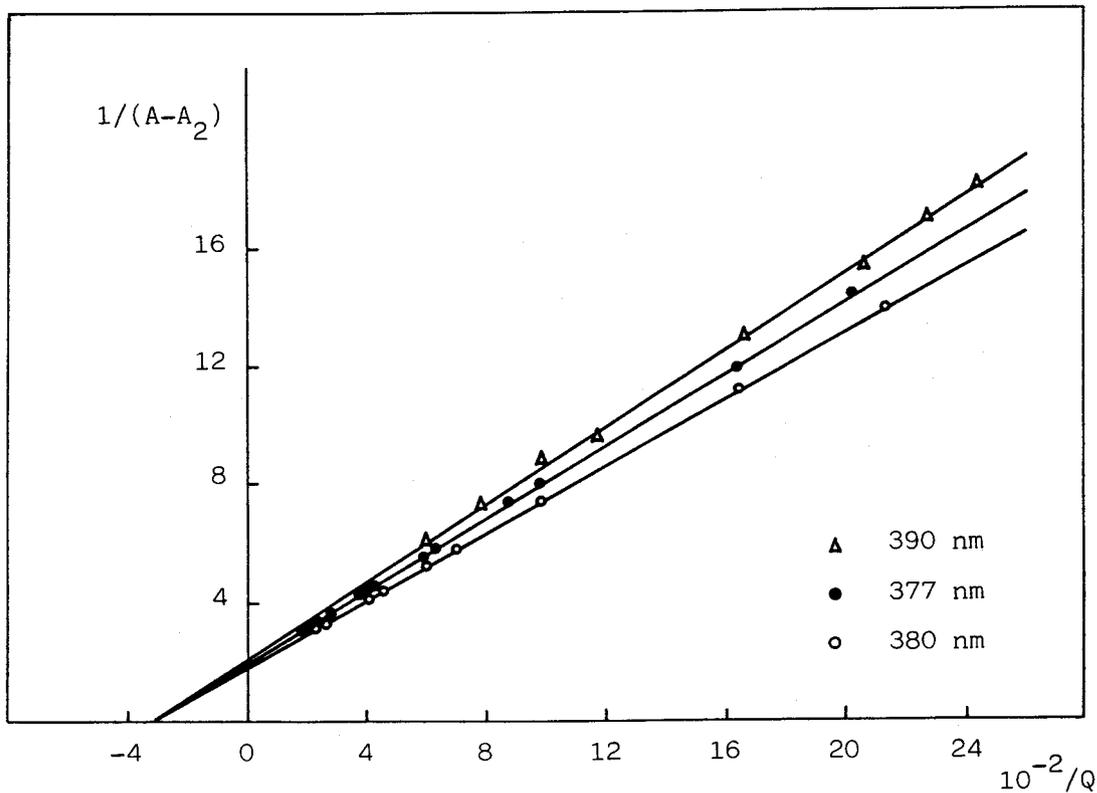


FIGURA 42 * Determinación del pK_{a3} de la DPGPH por el método de las rectas concurrentes (Acido diprótico).

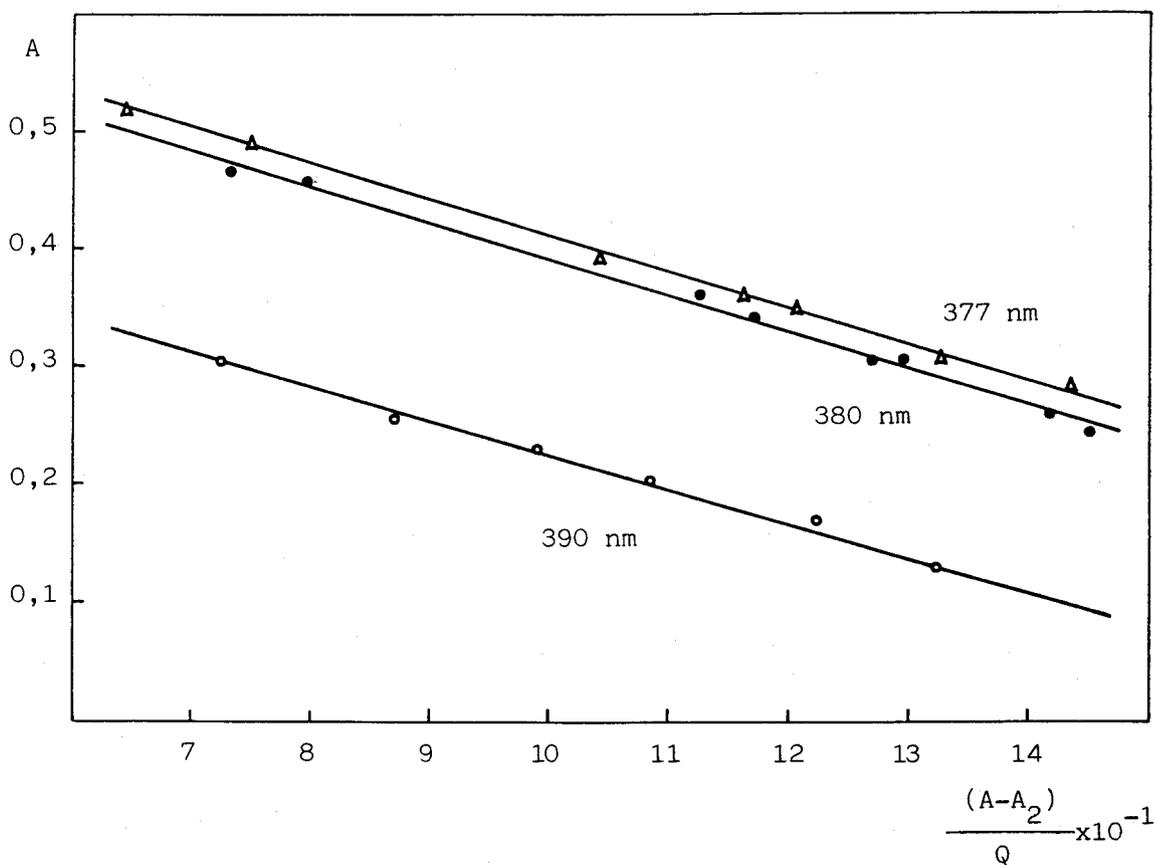


FIGURA 43 * Determinación del pK_{a3} de la DPGPH por el método de las rectas paralelas (Acido diprótico).

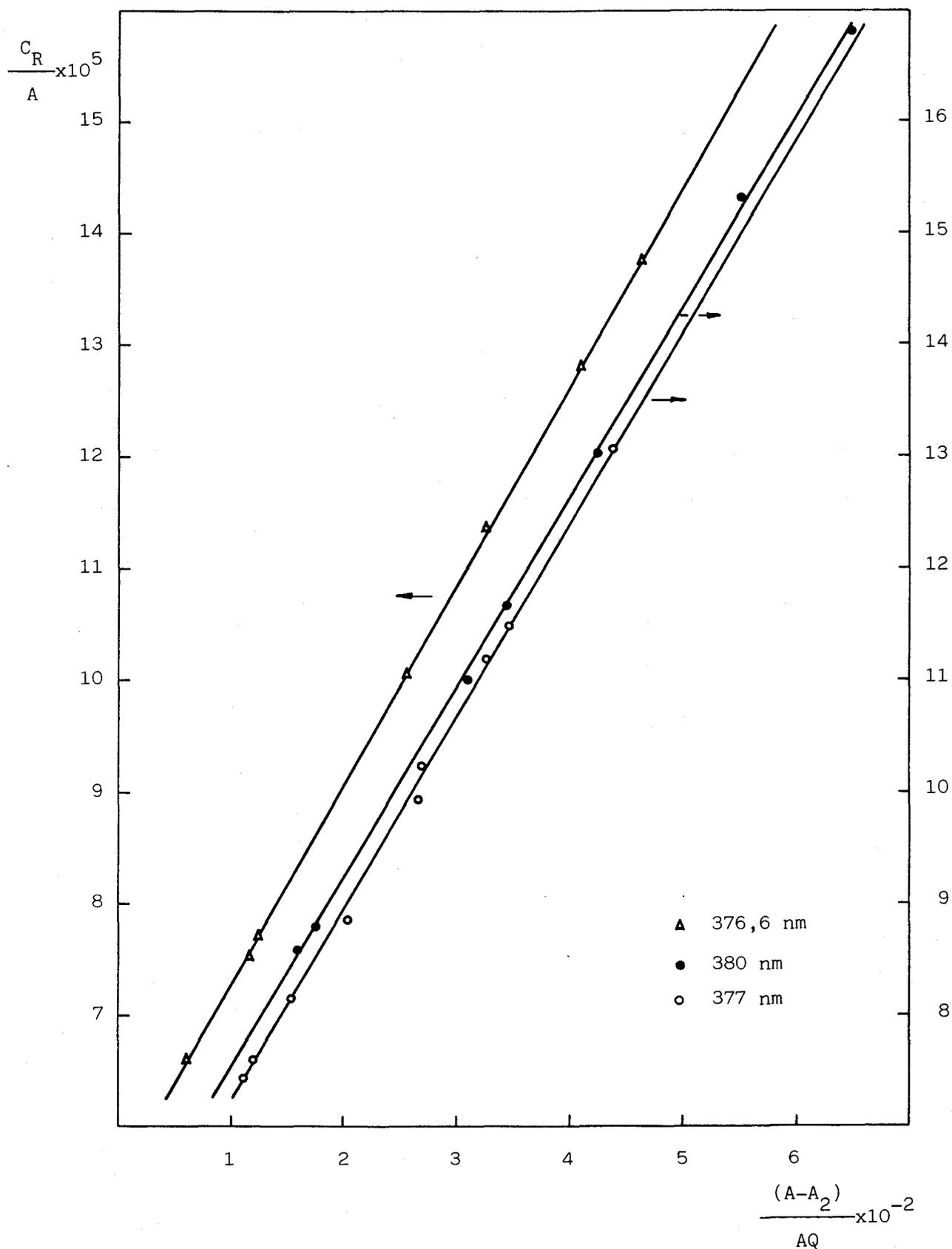


FIGURA 44 * Determinación del pKa₃ de la DPGPH por el método de Agren-Sommer (Acido diprótico).

TABLA 34 * EVALUACION DEL pK_{a4} DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION.

A) CONCURRENTES; B) PARALELAS (ACIDO DIPROTICO).

λ (nm)	A_1	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_2	pK_{a4}
376,6	0,720	$Y = - 2,058 - 1,303 E-05 X$	0,9995	12	0,234	5,198
376,9	0,717	$Y = - 2,048 - 1,284 E-05 X$	0,9988	13	0,229	5,203
A) 377	0,719	$Y = - 2,011 - 1,304 E-05 X$	0,9986	15	0,222	5,188
380	0,669	$Y = - 2,001 - 1,312 E-05 X$	0,9993	13	0,171	5,185
390	0,472	$Y = - 2,452 - 1,592 E-05 X$	0,9999	9	0,064	5,188
376,6	0,720	$Y = 0,235 + 6,283 E-06 X$	0,9987	12	0,235	5,202
376,9	0,717	$Y = 0,230 + 6,287 E-06 X$	0,9999	12	0,230	5,202
B) 377	0,719	$Y = 0,225 + 6,455 E-06 X$	0,9994	13	0,225	5,190
380	0,669	$Y = 0,175 + 6,373 E-06 X$	0,9996	11	0,175	5,196
390	0,472	$Y = 0,066 + 6,317 E-06 X$	0,9980	10	0,066	5,200

TABLA 35 * EVALUACION DEL pKa₄ DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION. METODO DE AGREN-SOMMER
(ACIDO DIPROTICO)

λ (nm)	A ₁	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A ₂	pKa ₄
376,6	0,720	Y= 1,700 E-04 + 1,067 E-09 X	0,9998	11	0,235	5,202
376,9	0,717	Y= 1,735 E-04 + 1,087 E-09 X	0,9998	13	0,230	5,202
377	0,719	Y= 1,780 E-04 + 1,157 E-09 X	0,9993	12	0,225	5,187
380	0,669	Y= 2,301 E-04 + 1,473 E-09 X	0,9996	9	0,174	5,194
390	0,472	Y= 6,237 E-04 + 4,050 E-09 X	0,9953	9	0,064	5,188

TABLA 36 * EVALUACION DEL pK_{a3} DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION.

A) CONCURRENTES; B) PARALELAS (ACIDO DIPROTICO)

λ (nm)	A_2	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_3	pK_{a3}
376,6	0,234	$Y = 1,929 + 6,64 E-03 X$	0,9996	12	0,752	2,463
376,9	0,229	$Y = 1,920 + 6,57 E-03 X$	0,9994	13	0,750	2,465
A) 377	0,222	$Y = 1,965 + 6,13 E-03 X$	0,9997	13	0,731	2,506
380	0,171	$Y = 1,883 + 5,62 E-03 X$	0,9998	10	0,702	2,525
390	0,064	$Y = 2,081 + 6,51 E-03 X$	0,9985	8	0,544	2,504
376,6	0,235	$Y = 0,746 + 3,384 E-03 X$	0,9965	7	0,746	2,471
376,9	0,230	$Y = 0,744 + 3,413 E-03 X$	0,9991	9	0,744	2,467
B) 377	0,225	$Y = 0,710 + 3,015 E-03 X$	0,9981	7	0,710	2,521
380	0,175	$Y = 0,700 + 3,091 E-03 X$	0,9962	8	0,700	2,510
390	0,066	$Y = 0,505 + 2,795 E-03 X$	0,9957	6	0,505	2,554

TABLA 37 * EVALUACION DEL pK_{a_3} DE LA DPGPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION. METODO DE AGREN-SOMMER (ACIDO DIPROTICO).

λ (nm)	A_2	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_3	pK_{a_3}
376,6	0,235	$Y= 5,459 E-05 + 1,801 E-07 X$	0,9999	7	0,733	2,481
376,9	0,230	$Y= 5,364 E-05 + 1,828 E-07 X$	0,9991	12	0,746	2,467
377	0,225	$Y= 5,437 E-05 + 1,756 E-07 X$	0,9987	9	0,736	2,491
380	0,174	$Y= 5,826 E-05 + 1,699 E-07 X$	0,9995	7	0,686	2,535
390	0,064	$Y= 7,323 E-05 + 2,321 E-07 X$	0,9998	6	0,545	2,500

T A B L A 3 8

	MONOPROTICO		DIPROTICO	
	$pK_{a_4} \pm S$	$pK_{a_3} \pm S$	$pK_{a_4} \pm S$	$pK_{a_3} \pm S$
(a)	$5,19 \pm 0,01$	$2,49 \pm 0,09$	$5,19 \pm 0,01$	$2,49 \pm 0,03$
(b)	$5,25 \pm 0,01$	$2,49 \pm 0,08$	$5,20 \pm 0,01$	$2,50 \pm 0,04$
(c)	$5,21 \pm 0,01$	$2,52 \pm 0,05$	$5,19 \pm 0,01$	$2,49 \pm 0,03$

(a) Concurrentes; (b) Paralelas; (c) Agren-Sommer

Se observa una excelente concordancia entre los resultados obtenidos.

El valor medio y desviación estándar de la absorbancia límite de la especie H_3R , A_3 , encontrados a distintas longitudes de onda, se recogen en la Tabla 39.

T A B L A 3 9

λ (nm)	376,6	376,9	377	380	390
A_3	0,744	0,747	0,726	0,696	0,531
S	0,010	0,003	0,014	0,009	0,023

Estos valores difieren de los valores asignados a A_3 , a partir de la curva absorbancia-pH en unas 0,016 unidades de absorbancia como media. La menor discrepancia se obtiene a 377 nm (0,006) y 380 nm (0,010).

A la vista de los resultados experimentales obtenidos y de la forma de las curvas absorbancia-concentración de ácido perclórico, que más adelante comentaremos (Figura 48), es admisible concluir que los equilibrios de protonación: $H_2R + H \rightleftharpoons H_3R$ y $H_3R + H \rightleftharpoons H_4R$ son independientes.

Evaluación de las constantes de acidez a partir de los puntos singulares de la curva A-pH (aplicación a la evaluac. de pKa₄ y pKa₃)

En la sección que sigue vamos a emplear un método completamente diferente en el cálculo de los valores de pKa₄ y pKa₃, cuya teoría vamos a detallar a continuación.

La relación existente entre la absorbancia y la composición de una disolución dada de un ácido diprótico es:

$$A = \sum A_j f_j = A_0 f_0 + A_1 f_1 + A_2 f_2 \quad (1)$$

donde f_j es la fracción de molaridad de la especie j -ésima:

$$f_j = \frac{|H_j R|}{C_R} \quad (2)$$

y C_R la concentración total de reactivo:

$$C_R = |R| + |HR| + |H_2R| \quad (3)$$

La diferenciación de la expresión (1) con respecto al pH origina:

$$\frac{dA}{d(\text{pH})} = -2,303 |H| \frac{dA}{d|H|} = -2,303 |H| \sum A_j \frac{df_j}{d|H|} \quad (4)$$

Si se tiene en cuenta las expresiones (3) y (4), y que los valores de las constantes de estabilidad global de los diversos complejos protonados vienen dados por:

$$\beta_j = \frac{|H_j R|}{|H|^j |R|} \quad (j = 0, 1, 2) \quad (5)$$

Con $\beta_0=1$ por definición, se obtiene para la fracción de molaridad de la especie j -ésima la expresión:

$$f_j = \frac{\beta_j |H|^j}{1 + \beta_1 |H| + \beta_2 |H|^2} \quad (6)$$

que diferenciada con respecto a $|H|$ da lugar a:

$$\frac{df_j}{d|H|} = j f_o \beta_j |H|^{j-1} + \beta_j |H|^j \frac{df_o}{d|H|} \quad (7)$$

y por tanto:

$$\frac{df_j}{d|H|} = \frac{1}{|H|} f_j [j - (f_1 + f_2)] \quad (8)$$

Sustituyendo esta expresión para $j = 0, 1, 2$:

$$\frac{df_o}{d|H|} = \frac{-1}{|H|} (f_1 + 2f_2) f_o \quad (9)$$

$$\frac{df_1}{d|H|} = \frac{1}{|H|} (f_o - f_2) f_1 \quad (10)$$

$$\frac{df_2}{d|H|} = \frac{1}{|H|} (2f_o + f_1) f_2 \quad (11)$$

En la ecuación (4) se obtiene, tras un reordenamiento apropiado, que:

$$\frac{dA}{d(\text{pH})} = -2,303 \left[(A_1 - A_o) f_1 f_o + 2(A_2 - A_o) f_2 f_o + (A_2 - A_1) f_1 f_2 \right] \quad (12)$$

Con objeto de poder manejar mejor las expresiones, en adelante haremos las sustituciones siguientes:

$$X = (A_1 - A_o) f_1 f_o \quad (13)$$

$$Y = 2(A_2 - A_o) f_2 f_o \quad (14)$$

$$Z = (A_2 - A_1) f_1 f_2 \quad (15)$$

con lo que la pendiente de la representación gráfica absorbancia frente a pH vendrá dada por:

$$\frac{dA}{d(\text{pH})} = -2,303 (X + Y + Z) \quad (16)$$

Si se diferencia esta expresión con respecto al pH, se obtiene:

$$\frac{d^2A}{d(\text{pH})^2} = (2,303)^2 |H| \left[\frac{dX}{d|H|} + \frac{dY}{d|H|} + \frac{dZ}{d|H|} \right] \quad (17)$$

Por otra parte, la diferenciación de X, Y y Z con respecto a la concentración de iones hidrógeno, origina las siguientes expresiones:

$$\frac{dX}{d|H|} = (A_1 - A_0) \left[f_1 \frac{df_0}{d|H|} + f_0 \frac{df_1}{d|H|} \right] = \frac{1}{|H|} X(f_0 - f_1 - 3f_2) \quad (18)$$

$$\frac{dY}{d|H|} = 2(A_2 - A_0) \left[f_2 \frac{df_0}{d|H|} + f_0 \frac{df_2}{d|H|} \right] = \frac{1}{|H|} 2Y(f_0 - f_2) \quad (19)$$

$$\frac{dZ}{d|H|} = (A_2 - A_1) \left[f_1 \frac{df_2}{d|H|} + f_2 \frac{df_1}{d|H|} \right] = \frac{1}{|H|} Z(3f_0 + f_1 - f_2) \quad (20)$$

con lo que introduciendo las expresiones (18), (19) y (20) en la ecuación (17), se obtiene:

$$\frac{d^2A}{d(\text{pH})^2} = (2,303)^2 \left[X(f_0 - f_1 - 3f_2) + 2Y(f_0 - f_2) + Z(3f_0 + f_1 - f_2) \right] \quad (21)$$

$$\frac{d^2A}{d(\text{pH})^2} = (2,303)^2 \left[(A_1 - A_0) f_1 f_0 (f_0 - f_1 - 3f_2) + (A_2 - A_1) f_1 f_2 (3f_0 + f_1 - f_2) + 4(A_2 - A_0) f_2 f_0 (f_0 - f_2) \right] \quad (22)$$

Con objeto de manejar más fácilmente las expresiones, podemos hacer:

$$a = 3f_0 + f_1 - f_2 \quad (23)$$

$$h = f_0 - f_1 - 3f_2 \quad (24)$$

con lo que:

$$(a + h) = 4(f_0 - f_2) \quad (25)$$

$$\begin{aligned} \frac{d^2A}{d(\text{pH})^2} &= (2,303)^2 \left[(A_2 - A_0) f_2 f_0 (a+h) + (A_2 - A_1) f_1 f_2 a + (A_1 - A_0) f_0 f_1 h \right] = \\ &= (2,303)^2 \left[f_2 a \left[(A_2 - A_0) f_0 + (A_2 - A_1) f_1 \right] + f_0 h \left[(A_1 - A_0) f_1 + (A_2 - A_0) f_2 \right] \right] \end{aligned} \quad (26)$$

y teniendo en cuenta que:

$$\begin{aligned} \left[(A_2 - A_0) f_0 + (A_2 - A_1) f_1 \right] &= A_2 f_0 - A_0 f_0 + A_2 f_1 - A_1 f_1 = \\ &= A_2 f_2 - A_0 f_0 + A_2 f_1 = A_2 (f_2 + f_0 + f_1) - A_0 = A_2 - A_0 \end{aligned} \quad (27)$$

y

$$\begin{aligned} \left[(A_1 - A_0) f_1 + (A_2 - A_0) f_2 \right] &= A_1 f_1 - A_0 f_1 + A_2 f_2 - A_0 f_2 = \\ &= A_1 - A_0 f_2 - A_0 f_0 - A_0 f_1 + A_2 f_2 = A - A_0 (f_0 + f_1 + f_2) = A - A_0 \end{aligned} \quad (28)$$

junto con los valores de a y h se tiene finalmente, para la derivada segunda de la absorbancia con respecto al pH , la expresión:

$$\frac{d^2A}{d(\text{pH})^2} = (2,303)^2 \left[f_2 (3f_0 + f_1 - f_2) (A_2 - A_0) + f_0 (f_0 - f_1 - 3f_2) (A - A_0) \right] \quad (29)$$

Los puntos de inflexión de la curva absorbancia- pH vendrán dados por la condición $d^2A/d(\text{pH})^2 = 0$. En estos casos, a partir de la ecuación (29) y dividiendo por f_0^2 , se tiene:

$$(A_2 - A_0) \frac{f_2}{f_0} \left[\frac{-f_2}{f_0} + 3 + \frac{f_1}{f_0} \right] + (A - A_0) \left[1 - \frac{3f_2}{f_0} - \frac{f_1}{f_0} \right] = 0 \quad (30)$$

A partir de la expresión (6), se tiene:

$$\frac{f_j}{f_0} = \beta_j |H|^j \quad (31)$$

y por tanto la ecuación (30) se transforma en:

$$(A_2 - A'')\beta_2 |H''|^2 (-\beta_2 |H''|^2 + 3 + \beta_1 |H''|) + (A'' - A_0)(1 - 3\beta_2 |H''|^2 - \beta_1 |H''|) = 0 \quad (32)$$

y sacando factor común $\beta_1 |H''|$:

$$\beta_1 |H''| \left[(A_2 - A'')\beta_2 |H''|^2 + (A_0 - A'') \right] + (A_2 - A'')\beta_2 |H''|^2 (-\beta_2 |H''|^2 + 3) + (A_0 - A'')(-1 + 3\beta_2 |H''|^2) = 0 \quad (33)$$

con lo que teniendo en cuenta las relaciones:

$$\beta_1 = \frac{1}{Ka_2} \quad (34)$$

$$\beta_2 = \frac{1}{Ka_2 Ka_1} \quad (35)$$

se tiene:

$$Ka_2 = |H''| \frac{(A_2 - A'') \frac{|H''|^2}{Ka_1 Ka_2} + (A_0 - A'')}{(A_2 - A'') \left[\left(\frac{|H''|^2}{Ka_1 Ka_2} \right)^2 - 3 \frac{|H''|^2}{Ka_1 Ka_2} \right] + (A_0 - A'') \left[1 - 3 \frac{|H''|^2}{Ka_1 Ka_2} \right]} \quad (36)$$

Reescribiendo la ecuación que suministra el valor de la absorbancia para el punto (pH', A') y despejando a continuación A_1 , se tiene:

$$A_1 = (A' - A_0) \frac{Ka_2}{|H'|} + A' + (A' - A_2) \frac{|H'|}{Ka_1} \quad (37)$$

En este punto (pH', A') se satisface la condición $dA/dpH = 0$ y, por tanto, a partir de las expresiones (12), (31), (34) y (35), tenemos:

$$(A_1 - A_0)Ka_2 Ka_1 + 2(A_2 - A_0)|H'|Ka_2 + (A_2 - A_1)|H'|^2 = 0 \quad (38)$$

Introduciendo el valor de A_1 , expresado en función de A' y $|H'|$, en esta última relación, se tiene:

$$W^2 + \left[Ka_1 + (1-b)|H'| \right] |H'|W - b(Ka_1 + |H'|) |H'|^3 = 0 \quad (39)$$

donde por razones de claridad hemos hecho:

$$b = \frac{A' - A_2}{A' - A_0} \quad (40)$$

$$W = Ka_1 Ka_2 \quad (41)$$

La raíz real positiva de la ecuación (39) es:

$$W = |H'|^2 b = Ka_1 Ka_2 \quad (42)$$

Sustituyendo por tanto en la ecuación (36) el valor de $Ka_1 Ka_2$ dado por la ecuación (42):

$$Ka_2 = |H''| \frac{c \frac{|H''|^2}{|H'|^2} + 1}{c \left[\left(\frac{|H''|^2}{|H'|^2 b} \right)^2 - 3 \frac{|H''|^2}{|H'|^2 b} \right] + 1 - 3 \frac{|H''|^2}{|H'|^2 b}} \quad (43)$$

donde b tiene el mismo significado que antes (ecuación (40)) y c viene dado por:

$$c = \frac{A_2 - A''}{A_0 - A''} \quad (44)$$

Resulta por tanto posible el cálculo de las constantes de disociación de un ácido diprótico, a partir de las coordenadas del punto mínimo (ó máximo) de la curva A - pH y de uno de los puntos de inflexión. Estos puntos pueden obtenerse representando:

$$\frac{\Delta A}{\Delta pH} = \frac{A_{n+1} - A_n}{pH_{n+1} - pH_n} \quad (45)$$

frente a $(\text{pH}_{n+1} + \text{pH}_n)/2$. Los puntos máximo y mínimo de esta representación coinciden con los puntos de inflexión, y el punto para el cual $\Delta A/\Delta \text{pH} = 0$ con el mínimo (ó máximo) de la curva.

Si se elige una longitud de onda a la cual $A_0 = A_2$ se tiene entonces que $b = c = 1$, y la expresión (43) se convierte en una previamente dada por Irving, Rossotti y Harris (256).

- o -

En nuestro caso, en el intervalo de pH de 0,8-8, la ecuación (1) se transforma en:

$$A = A_1 f_1 + A_2 f_2 + A_3 f_3 = \frac{A_1 + A_2 \frac{|\text{H}|}{K_{a_4}} + A_3 \frac{|\text{H}|^2}{K_{a_4} K_{a_3}}}{1 + \frac{|\text{H}|}{K_{a_4}} + \frac{|\text{H}|^2}{K_{a_4} K_{a_3}}} \quad (46)$$

puesto que, según se ha visto, los equilibrios de protonación $\text{HR} + \text{H} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{R}$ y $\text{H}_2\text{R} + \text{H} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{R}$ son simultáneos, pero independientes a su vez de los equilibrios $\text{HR} \rightleftharpoons \text{H} + \text{R}$ y $\text{H}_3\text{R} + \text{H} \rightleftharpoons \text{H}_4\text{R}$.

Asímismo, en la ecuación (43) K_{a_2} es en este caso K_{a_4} y los valores de b y c vienen dados por:

$$b = \frac{A' - A_3}{A' - A_1} \quad (47)$$

$$c = \frac{A'' - A_3}{A'' - A_1} \quad (48)$$

Una vez evaluado K_{a_4} a partir de los puntos singulares de la curva, se calcula K_{a_3} a partir de la ecuación (42) que ahora toma la forma:

$$K_{a_4} K_{a_3} = |\text{H}'|^2 b \quad (49)$$

Los valores de las absorbancias límites de las especies H_3R y HR a las diferentes longitudes de onda, se hallan en la Tabla 40,

TABLA 40 * VALORES DE LOS PUNTOS SINGULARES DE LA CURVA ABSORBANCIA-pH DE LA DPGPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA

$\lambda(\text{nm})$	A_3	A_1	pH'	A'	pH'' _I	A'' _I	pH'' _{II}	A'' _{II}
360	0,646	0,802	3,64	0,505	2,33	0,590	5,13	0,633
376,6	0,724	0,720	3,86	0,275	2,25	0,550	5,18	0,475
376,9	0,722	0,717	3,83	0,270	2,25	0,547	5,18	0,470
377	0,720	0,719	3,86	0,268	2,25	0,545	5,18	0,470
380	0,706	0,669	3,74	0,220	2,25	0,510	5,18	0,422
390	0,548	0,472	3,80	0,102	2,25	0,370	5,82	0,395
406	0,179	0,149	3,60	0,025	1,77	0,110	5,18	0,097

junto con los valores de absorbancia y pH del mínimo y de los puntos de inflexión de la curva. Estos últimos valores se han determinado a partir de una representación gráfica de:

$$\frac{\Delta A}{\Delta \text{pH}} = \frac{A_{n+1} - A_n}{\text{pH}_{n+1} - \text{pH}_n}$$

frente a $(\text{pH}_{n+1} + \text{pH}_n)/2$, donde A_n y pH_n son los valores de absorbancia y pH, respectivamente, en la disolución n.

Se ha elaborado un programa* de cálculo escrito en FORTRAN 77, para uso en ordenador modelo HP-21MX con plotter que permite la representación gráfica de los resultados.

Representaciones típicas obtenidas con este programa se muestran en las Figuras 45-46.

Conviene resaltar que los pKa pueden evaluarse bien a partir de los datos (A, pH) correspondientes al primer punto de inflexión (pH_I'' , A_I''), o bien a partir de los datos (A, pH) del segundo punto de inflexión (pH_{II}'' , A_{II}''). En la Tabla 41 se encuentran los resultados obtenidos al aplicar las ecuaciones (43) y (42) adaptadas a nuestro caso según se indica en las ecuaciones (46) y (49).

T A B L A 4 1

λ (nm)	pKa_3 (I)	pKa_4 (I)	pKa_3 (II)	pKa_4 (II)
360	2,34	5,26	2,47	5,12
376,6	2,25	5,46	2,54	5,17
376,9	2,25	5,40	2,48	5,17
377	2,25	5,46	2,54	5,17
380	2,25	5,19	2,27	5,17
390	2,25	5,26		
406		5,33		5,17
$\bar{X} \pm S$	$2,27 \pm 0,04$	$5,34 \pm 0,11$	$2,46 \pm 0,11$	$5,16 \pm 0,02$

(*) Agradecemos a D. J.J.Gil Martínez la elaboración y ejecución de este programa.

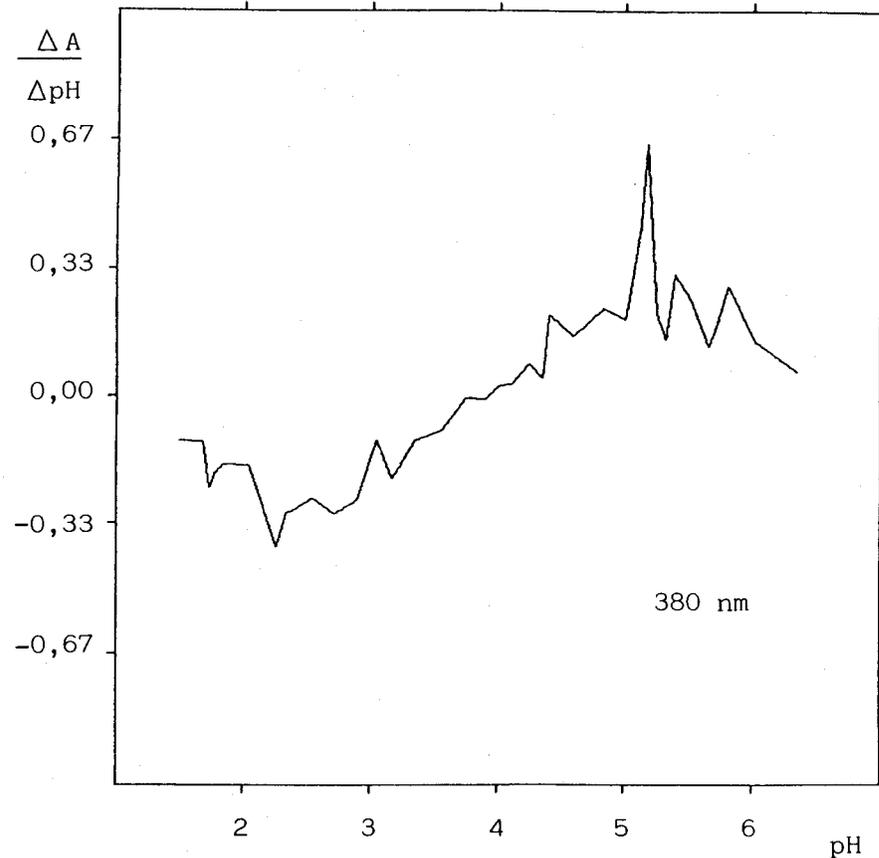
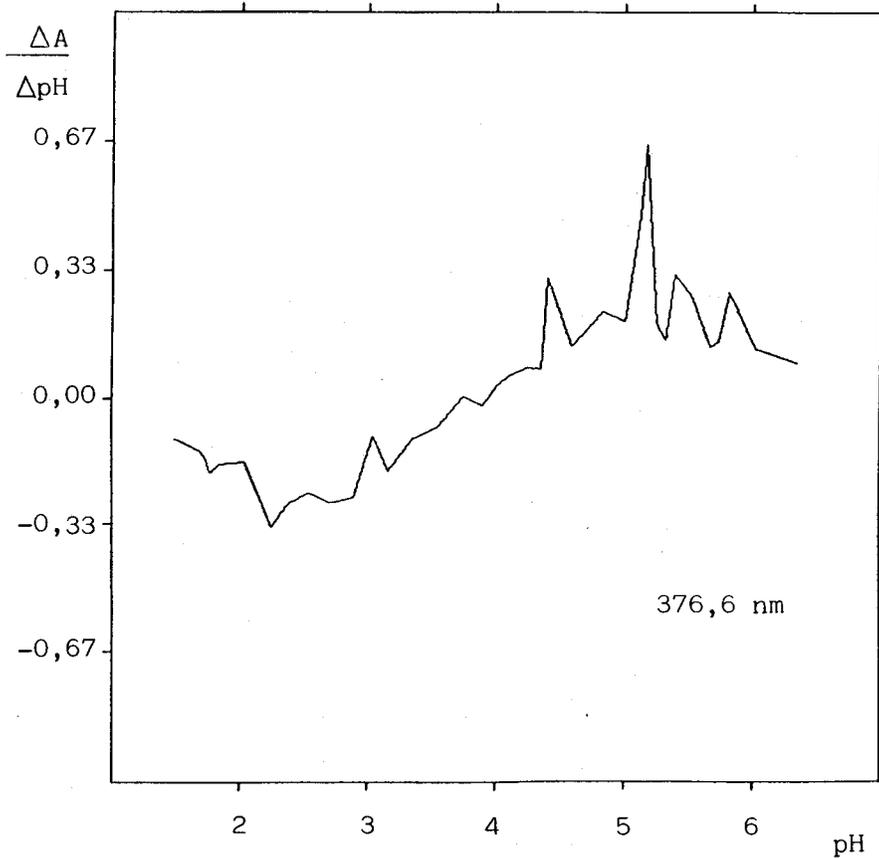


FIGURA 45 * Curvas primera derivada correspondientes a los datos absorbancia-pH de la DPGPH

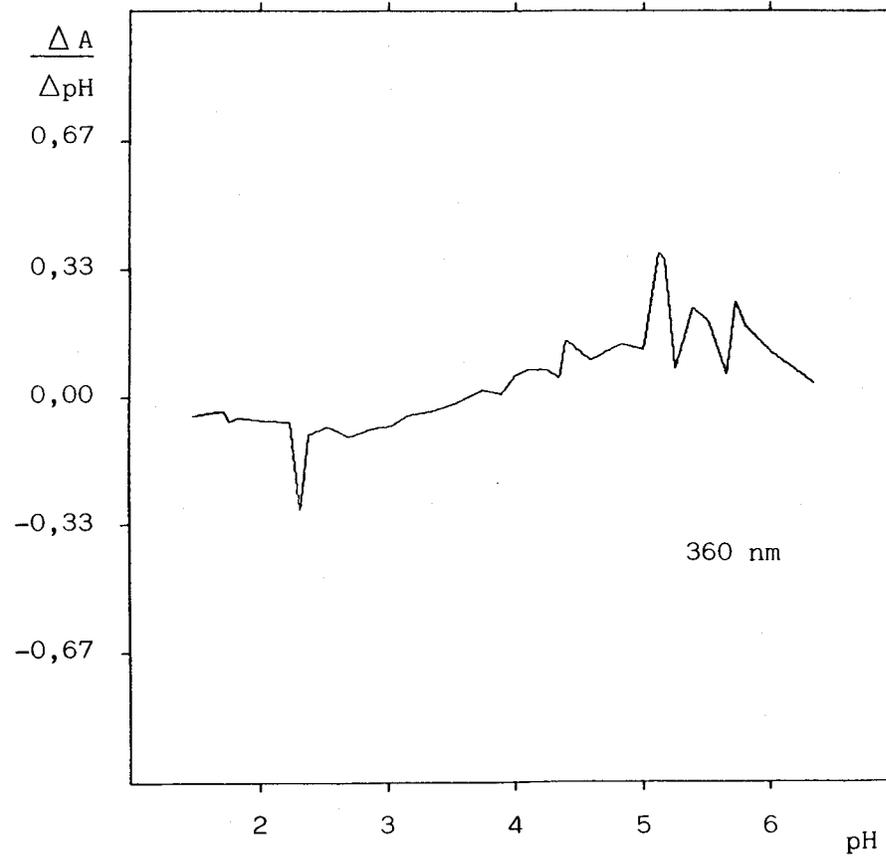
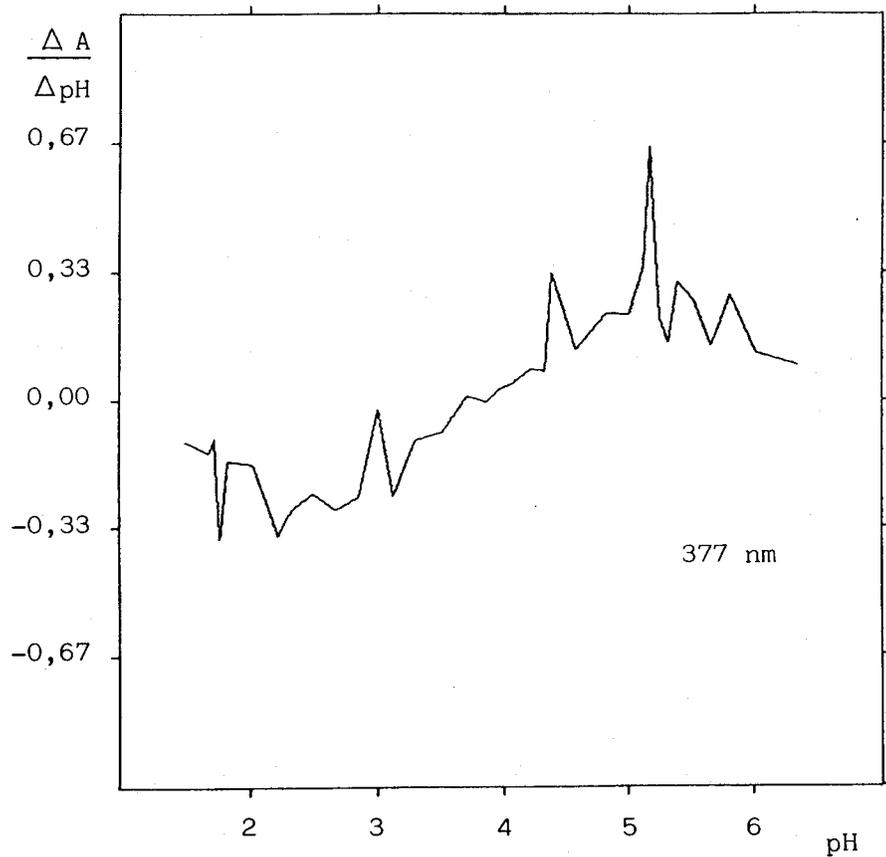


FIGURA 46 * Curvas primera derivada correspondientes a los datos absorbancia-pH de la DPGPH

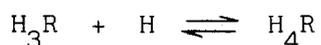
Se observa una excelente concordancia entre los valores de pKa obtenidos a distintas longitudes de onda e incluso entre los valores de pKa evaluados, bien a partir del primer punto de inflexión, o a partir del segundo punto de inflexión, sobre todo si se tiene en cuenta que el método aplicado es numérico, que utiliza una mínima cantidad de datos y que existe un error inherente en la diferenciación gráfica, que se propaga evidentemente en los valores de pKa.

Equilibrios de protonación de la DPGPH en ácido perclórico concentrado

Se han registrado los espectros UV-V de la DPGPH a una concentración de 8×10^{-5} M, en medio acuoso, y a distintas concentraciones de ácido perclórico, tal como se observa en la Figura 47. Se ha seguido la estabilidad de las muestras, comprobándose que los espectros no sufren variación alguna durante, al menos, veinte días.

A partir de la forma de las curvas se han seleccionado cinco longitudes de onda, realizándose medidas de absorbancia a distintas concentraciones de ácido perclórico a longitud de onda fija. Los resultados obtenidos se encuentran recogidos en la Tabla 42 y representados gráficamente en la Figura 48.

La forma de las curvas a 260 y 266 nm sugiere la existencia de dos equilibrios de protonación simultáneos en medio fuertemente ácido:



No obstante, los datos (absorbancia, concentración de ácido), no se ajustan al modelo de ácido diprótico de Thamer (257), de una parte debido a que la adición de ácido perclórico no consigue una acidez suficiente como para permitir el conocimiento de la absorbancia límite de la especie H_5R , y de otra debido a la variación drástica que sufre el medio conforme aumenta la concentración de ácido.

Finalmente, en la Figura 49 se recogen los espectros UV-V de la DPGPH a una concentración de 4×10^{-5} M y en un medio con un 4% de etanol a valores de pH o de concentración de ácido o base a los cuales se presenta mayoritariamente una forma determinada del reactivo.

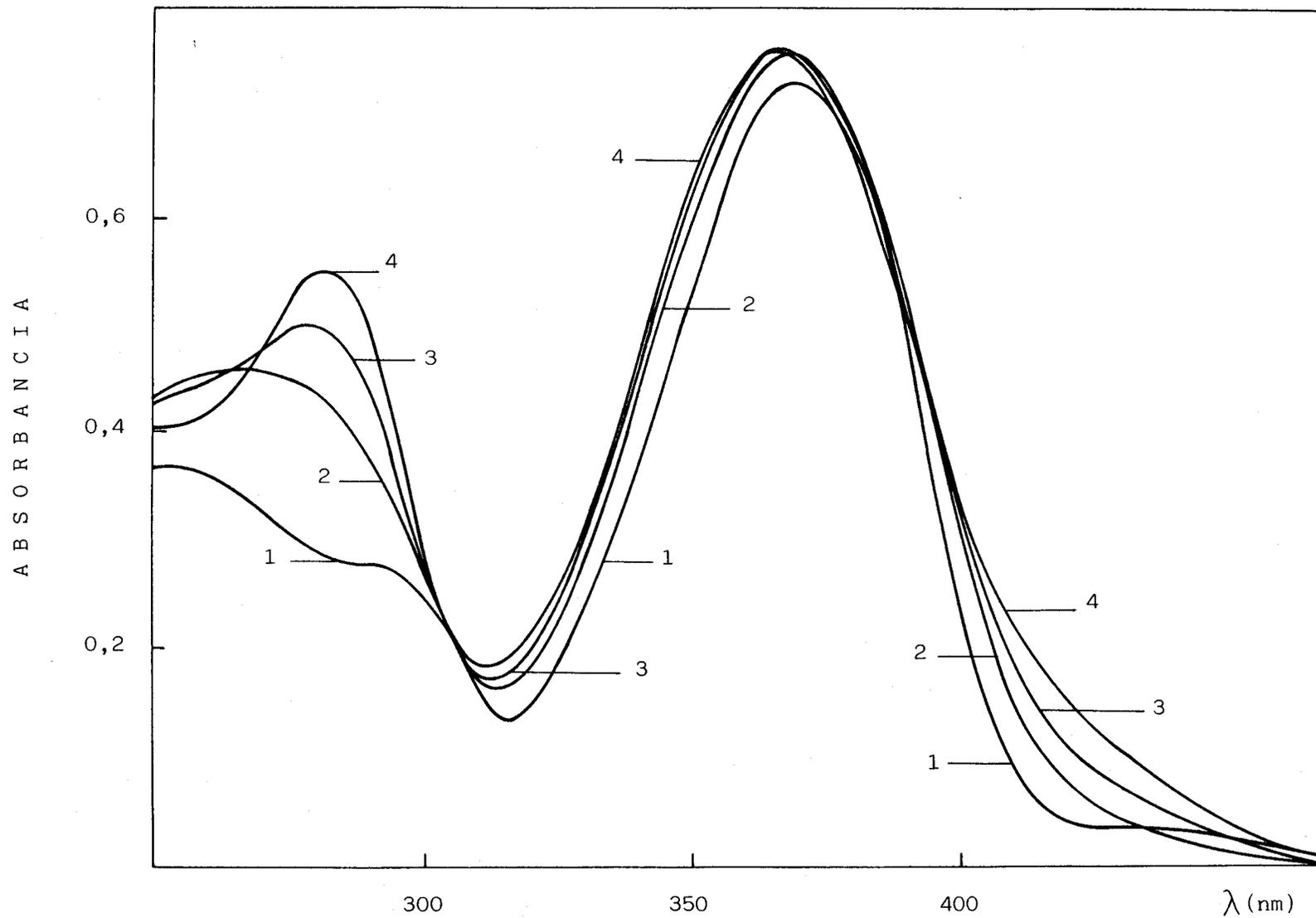


FIGURA 47 * Espectros UV-V de la DPGPH a distintas concentraciones de HClO_4
 ($C_R = 8 \times 10^{-5}$ M, medio acuoso). Volumen de HClO_4 al 70% añadido:
 (1) 1 ml; (2) 8 ml; (3) 13 ml; (4) 20 ml.

TABLA 42 * INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE HClO_4 SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA DPGPH ($C_R = 8 \times 10^{-5}$ M, MEDIO ACUOSO).

$V_{\text{HClO}_4}^*$	$-\lg \text{ClO}_4^- $	λ (nm)				
		260	266	272	278	286
0,05	1,64	0,660	0,642	0,604	0,580	0,542
0,125	1,24	0,660	0,638	0,595	0,565	0,526
0,25	0,94	0,664	0,639	0,594	0,562	0,528
0,5	0,64	0,680	0,655	0,607	0,573	0,528
0,75	0,46	0,703	0,677	0,629	0,592	0,545
1	0,34	0,717	0,691	0,643	0,603	0,552
1,5	0,16	0,754	0,732	0,683	0,637	0,580
2	0,04	0,795	0,777	0,728	0,678	0,614
2,5	-0,06	0,826	0,811	0,764	0,711	0,643
3	-0,14	0,849	0,838	0,794	0,740	0,669
3,5	-0,21	0,870	0,865	0,820	0,772	0,695
4	-0,26	0,878	0,874	0,838	0,788	0,715
5	-0,36	0,895	0,898	0,871	0,830	0,757
5,5	-0,40	0,905	0,914	0,891	0,852	0,779
6	-0,44	0,904	0,913	0,896	0,863	0,793
7	-0,51	0,905	0,918	0,907	0,885	0,820
8	-0,57	0,900	0,917	0,916	0,903	0,842
9	-0,62	0,901	0,922	0,926	0,928	0,873
10	-0,66	0,894	0,922	0,940	0,950	0,904
11	-0,70	0,888	0,918	0,947	0,969	0,929
12	-0,74	0,880	0,915	0,951	0,984	0,953
13	-0,78	0,869	0,903	0,945	0,987	0,959
14	-0,81	0,857	0,897	0,934	0,991	0,983
15	-0,84	0,856	0,891	0,946	0,998	1,003
16	-0,87	0,848	0,889	0,956	1,026	1,025
17	-0,89	0,842	0,886	0,954	1,035	1,044
18	-0,92	0,838	0,883	0,957	1,044	1,059
19	-0,94	0,837	0,880	0,953	1,039	1,061
20	-0,96	0,827	0,872	0,947	1,037	1,059
25	-1,06	0,825	0,869	0,950	1,040	1,063

(*) Volumen en ml.

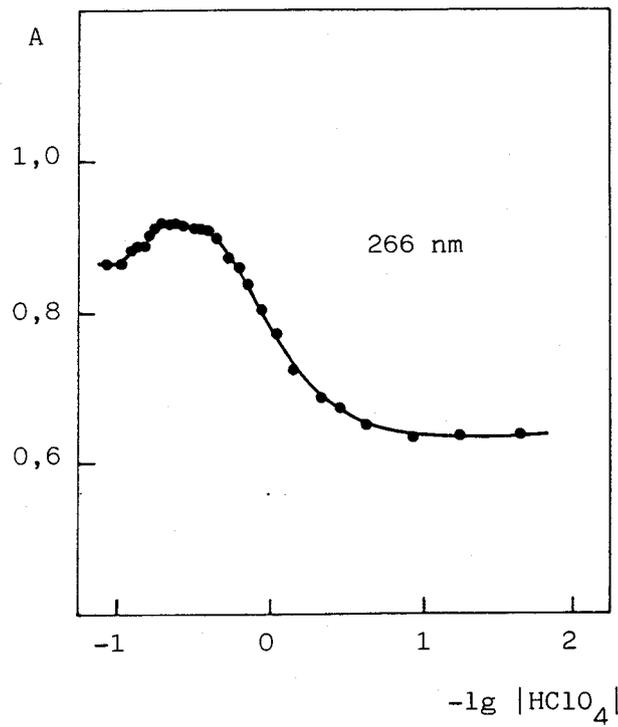
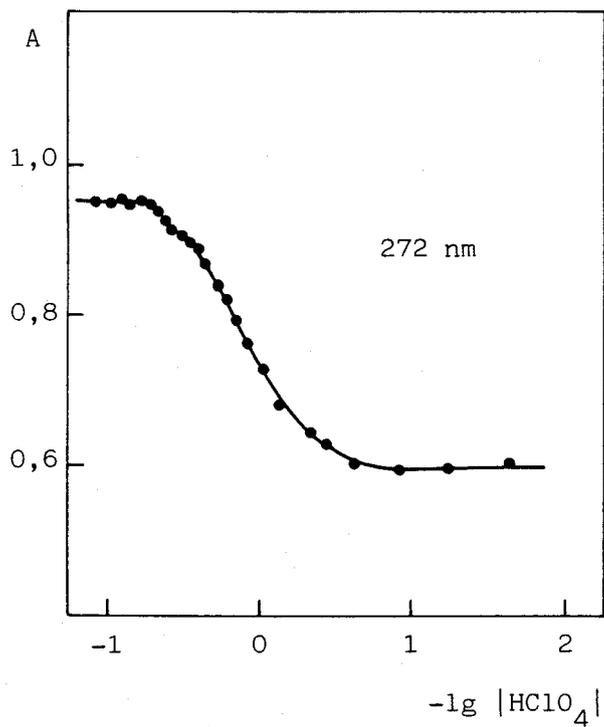
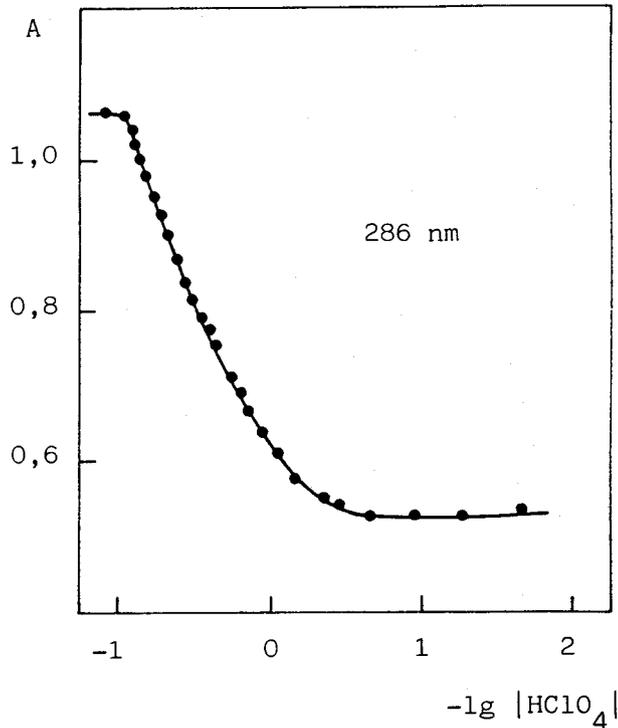
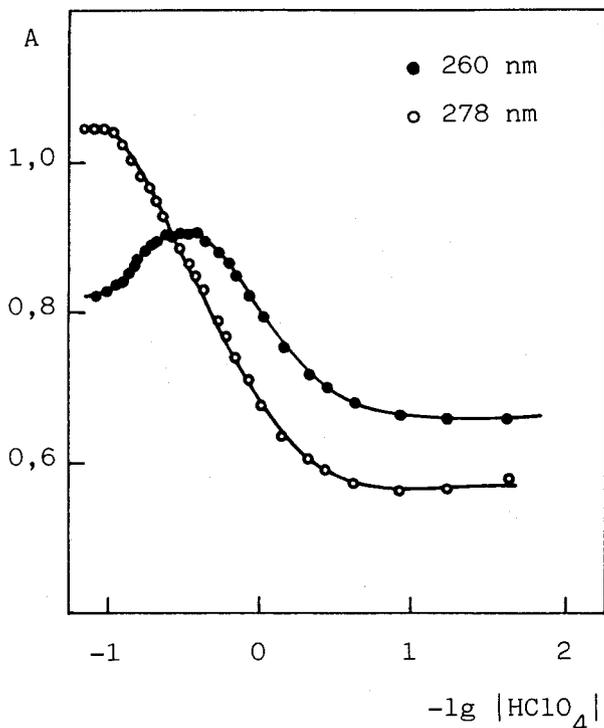
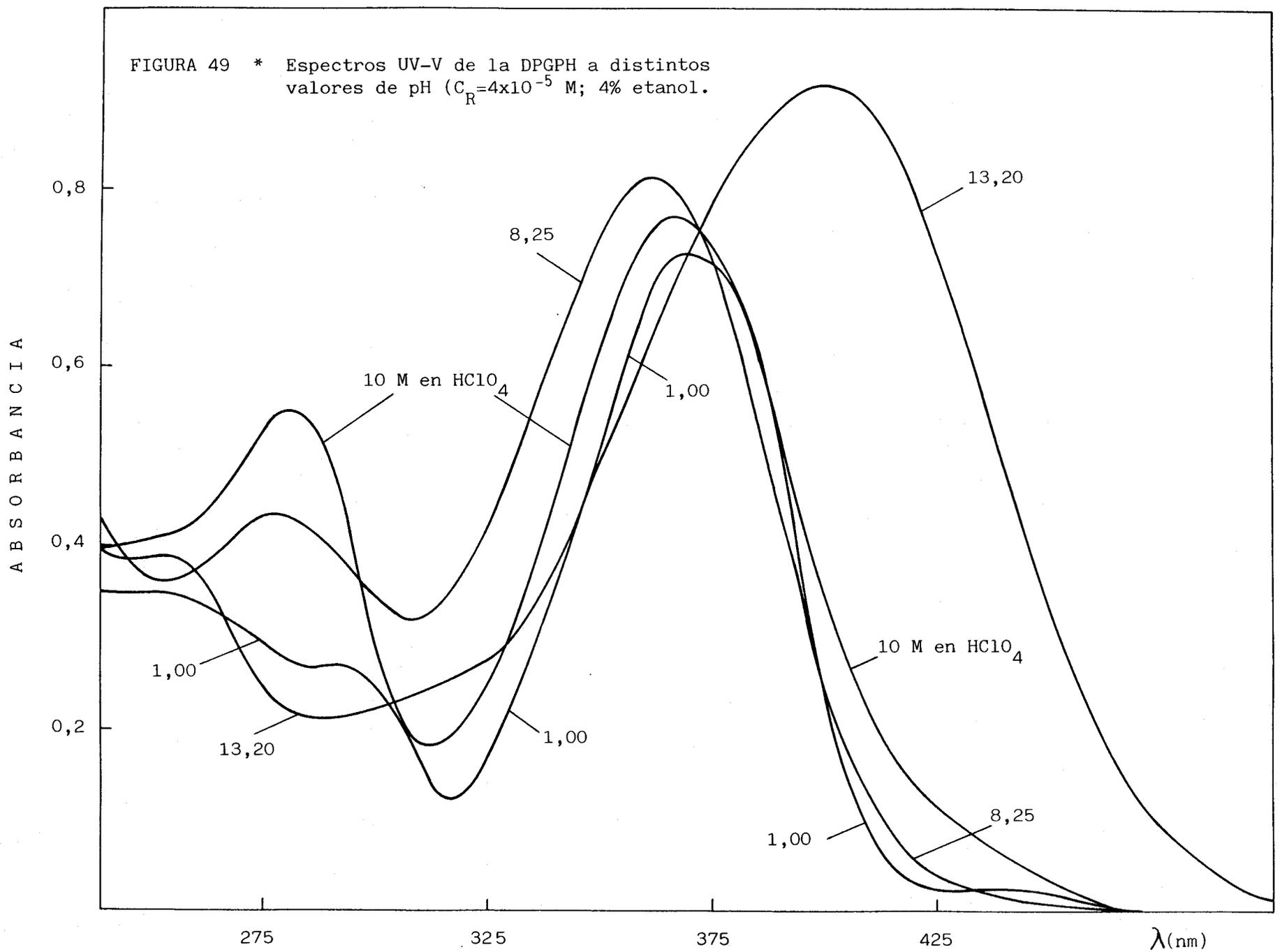


FIGURA 48 * Influencia de la concentración de $HClO_4$ sobre la absorbancia de la DPGPH ($C_R = 8 \times 10^{-5}$ M; medio acuoso).

FIGURA 49 * Espectros UV-V de la DPGPH a distintos valores de pH ($C_R=4 \times 10^{-5}$ M; 4% etanol).



II.7.3.- Evaluación espectrofotométrica de las constantes de acidez de la FGMPH.-

La molécula de FGMPH es más sencilla que la de la DPGPH; la ausencia de nitrógenos protonables en el resto del compuesto dicarbo-nílico de partida hace que la variación de los espectros UV con el pH (Figura 17) sea menos notable, y más fácil, por consiguiente, de interpretar que los de la DPGPH.

Se han realizado medidas de absorbancia de disoluciones de la FGMPH (4×10^{-5} M), en un medio con un 20% de etanol en volumen a diez longitudes de onda, en el intervalo de pH de 1,41 á 12,74 (Tabla 43), obteniéndose las representaciones gráficas recogidas en las Figuras 50-52. Se observa en las mismas una zona de absorbancia prácticamente constante, correspondiente a la forma neutra HR del reactivo, en el rango de pH de 6 á 10. A valores de pH superiores a 10 comienza la desprotonación del hidrógeno imínico del resto piridilhidracínico de la molécula de FGMPH que, como indicamos en la sección II.6, es la causa del efecto batocrómico que se observa en los espectros UV de absorción cuando el medio se hace progresivamente alcalino. Esto origina un aumento considerable de la absorbancia en las curvas A-pH a 430-450 nm, así como la disminución consiguiente a longitudes de onda inferiores (364-380 nm). A valores de pH inferiores a 6 comienza la protonación del átomo de nitrógeno piridínico, lo que se traduce en este caso en un cambio poco acentuado de la absorbancia conforme el pH disminuye hasta aproximadamente 3.

Por este motivo se han registrado las curvas A-pH en este rango de pH a una concentración 2,5 veces superior (10^{-4} M), como se verá más adelante.

Sin embargo, en este último caso la forma neutra de la molécula precipita en el medio de reacción que sólo contiene un 20% de etanol en volumen, por lo que de cara a la evaluación del pK_{a1} de la molécula no podrá emplearse el método clásico de la recta única, sino métodos gráficos de extrapolación lineal; por ejemplo, los vistos en la sección anterior en el caso de la DPGPH.

Se ha comprobado que la forma neutra del reactivo cumple la ley de Beer, según se observa en la Figura 53, en el intervalo de concentración de 1 á 12 ppm ($4,44 \times 10^{-6}$ - $5,33 \times 10^{-5}$ M) a pH = 8,2. En

la Tabla 44 se recogen los datos de la ley de Beer a distintas longitudes de onda, y en la Tabla 45 se encuentran las ecuaciones de las líneas rectas obtenidas mediante análisis de regresión sencilla junto con los coeficientes de correlación, número de pares de puntos (ppm, A) empleados, valores de desviaciones estándar de la ordenada en el origen, de la pendiente y la covarianza entre la ordenada en el origen y la pendiente.

La aplicación de los test gráficos de Budesinsky (253) (Figura 54), indican también la existencia de una única especie absorbente en disolución, pues se obtienen líneas rectas en la representación de la absorbancia a una longitud de onda frente a la absorbancia a otra longitud de onda, mientras que cuando se supone la existencia de dos especies, se obtiene un punto mal definido, de acuerdo con lo esperable a partir de la teoría.

Evaluación de la constante de acidez del nitrógeno imínico.-

Se han aplicado los métodos de las rectas concurrentes (Figuras 55-56), de las rectas paralelas (Figura 57) y de Agren-Sommer (Figura 58), observándose lo siguiente:

En el primer método de los citados se obtienen líneas rectas definidas (Figura 55) a las longitudes de onda de 340, 352, 362 y 364 nm, pero en cambio, a longitudes de onda superiores tal como 430, 440 ó 450 nm, se obtienen en realidad líneas curvas (Figura 56), a partir de las cuales se pueden diferenciar dos rectas para cada longitud de onda.

Algo análogo ocurre cuando se aplica el método de las rectas paralelas: a 340, 352 y 362 nm se obtienen líneas rectas definidas tal como se observa en la Figura 57(a), pero en cambio a longitudes de onda superiores, se observan en realidad líneas curvas (Figura 57(b)) en las que se pueden diferenciar dos líneas rectas en cada caso.

Estas curvas se observan (Figura 58) en cambio en el método de Agren Sommer en todo el rango de longitudes de onda empleadas.

¿Cómo pueden interpretarse estos datos experimentales?.

Evidentemente hay que descartar cualquier problema en la selección de la absorbancia límite dada la forma de las curvas absorbancia-pH en la región en donde predomina la especie neutra del reactivo, HR.

TABLA 43 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA FGMPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M, 20% ETANOL)

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a									
	280	340	352	362	364	430	435	440	445	450
1,41	0,432	0,694	0,820	0,780	0,755	0,016	0,011	0,007	0,004	0,002
1,67	0,428	0,695	0,821	0,777	0,754	0,014	0,009	0,004	0,002	0,001
1,84	0,429	0,695	0,822	0,778	0,754	0,012	0,009	0,005	0,003	0,002
2,44	0,434	0,688	0,817	0,772	0,747	0,015	0,013	0,009	0,006	0,005
2,98	0,434	0,695	0,827	0,777	0,750	0,011	0,008	0,005	0,002	0,002
3,20	0,432	0,688	0,818	0,770	0,745	0,011	0,009	0,006	0,004	0,003
3,65	0,411	0,666	0,799	0,764	0,743	0,020	0,015	0,009	0,005	0,003
3,75	0,402	0,658	0,804	0,778	0,750	0,031	0,024	0,016	0,010	0,006
4,08	0,386	0,667	0,798	0,771	0,752	0,032	0,031	0,018	0,010	0,006
4,18	0,379	0,648	0,780	0,768	0,754	0,047	0,035	0,024	0,017	0,012
4,45	0,360	0,642	0,773	0,771	0,760	0,052	0,038	0,026	0,017	0,011
4,74	0,342	0,635	0,763	0,771	0,764	0,060	0,044	0,030	0,020	0,013
5,42	0,330	0,623	0,751	0,771	0,768	0,079	0,057	0,040	0,027	0,019
6,04	0,327	0,625	0,752	0,772	0,767	0,068	0,050	0,035	0,025	0,019
6,56	0,328	0,602	0,735	0,761	0,758	0,083	0,064	0,049	0,038	0,030
6,76	0,330	0,622	0,748	0,767	0,764	0,071	0,052	0,037	0,027	0,020
7,08	0,328	0,613	0,740	0,761	0,758	0,087	0,069	0,055	0,046	0,039
8,90	0,330	0,617	0,741	0,761	0,758	0,087	0,070	0,058	0,048	0,042
10,16	0,334	0,621	0,742	0,761	0,758	0,089	0,073	0,060	0,050	0,044
10,49	0,326	0,603	0,720	0,737	0,745	0,104	0,088	0,078	0,070	0,064

TABLA 43 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA FGMPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M, 20% ETANOL) -CONTINUACION-

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a									
	280	340	352	362	364	430	435	440	445	450
10,65	0,331	0,596	0,716	0,736	0,735	0,132	0,121	0,108	0,107	0,103
10,74	0,335	0,596	0,714	0,737	0,734	0,144	0,125	0,118	0,105	0,097
10,99	0,333	0,552	0,690	0,697	0,715	0,207	0,185	0,165	0,192	0,167
11,16	0,327	0,562	0,678	0,704	0,702	0,196	0,207	0,183	0,171	0,184
11,31	0,328	0,550	0,660	0,687	0,686	0,232	0,245	0,212	0,203	0,220
11,33	0,331	0,529	0,641	0,672	0,672	0,272	0,270	0,268	0,265	0,261
11,38	0,322	0,537	0,648	0,676	0,675	0,245	0,235	0,226	0,216	0,260
11,54	0,332	0,509	0,617	0,650	0,649	0,325	0,322	0,320	0,317	0,312
11,60	0,331	0,486	0,588	0,622	0,632	0,345	0,345	0,343	0,339	0,333
11,67	0,327	0,478	0,570	0,616	0,617	0,370	0,369	0,367	0,362	0,354
11,75	0,318	0,468	0,555	0,605	0,608	0,398	0,395	0,388	0,378	0,363
11,83	0,320	0,452	0,550	0,588	0,593	0,436	0,434	0,428	0,418	0,402
12,00	0,310	0,406	0,499	0,545	0,550	0,504	0,505	0,499	0,487	0,469
12,13	0,310	0,381	0,471	0,519	0,525	0,559	0,561	0,558	0,547	0,529
12,21	0,308	0,362	0,451	0,500	0,507	0,601	0,604	0,602	0,591	0,571
12,30	0,305	0,317	0,400	0,453	0,481	0,665	0,677	0,675	0,672	0,652
12,45	0,296	0,297	0,380	0,439	0,445	0,723	0,735	0,733	0,722	0,700
12,52	0,309	0,284	0,361	0,418	0,428	0,750	0,763	0,767	0,759	0,741
12,56	0,309	0,276	0,353	0,413	0,423	0,779	0,804	0,807	0,796	0,773
12,74	0,326	0,238	0,310	0,376	0,389	0,851	0,877	0,883	0,874	0,853

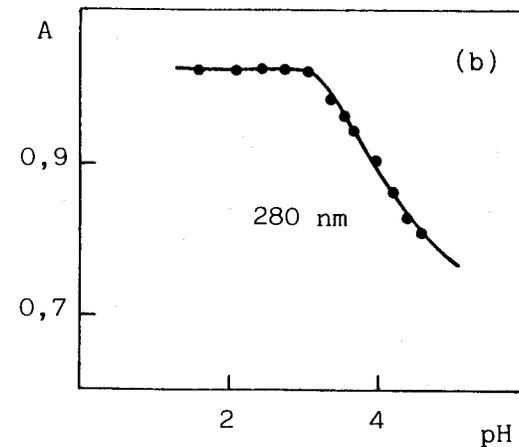
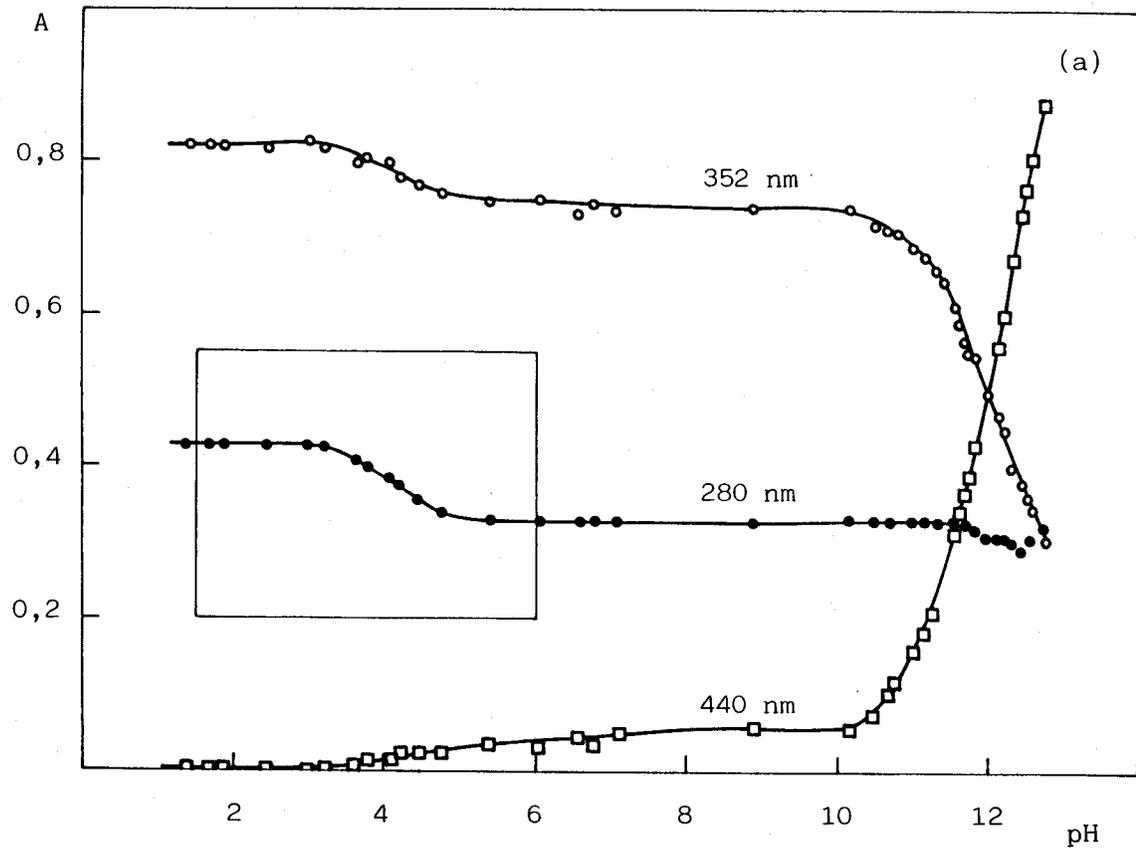


FIGURA 50 * Curvas absorbancia-pH de la FGMPH (20% etanol).

(a) $C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; (b) $C_R = 10^{-4}$ M.

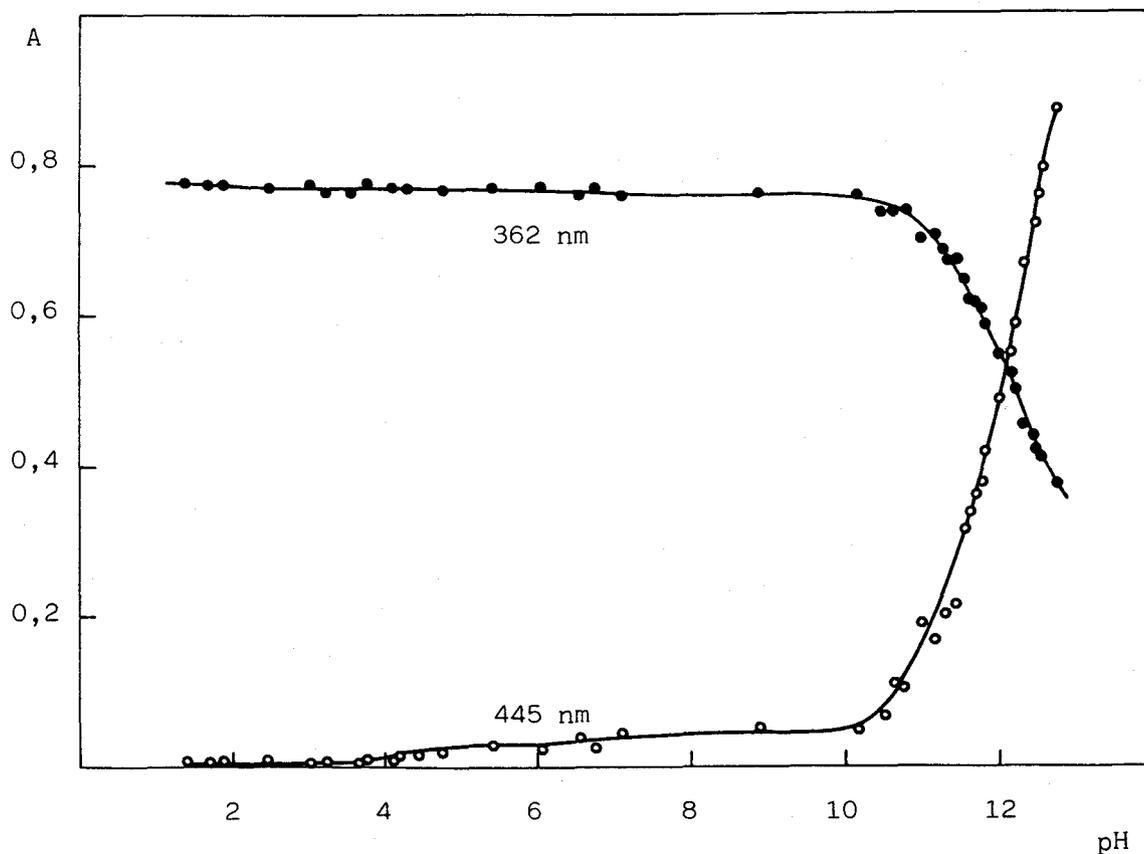
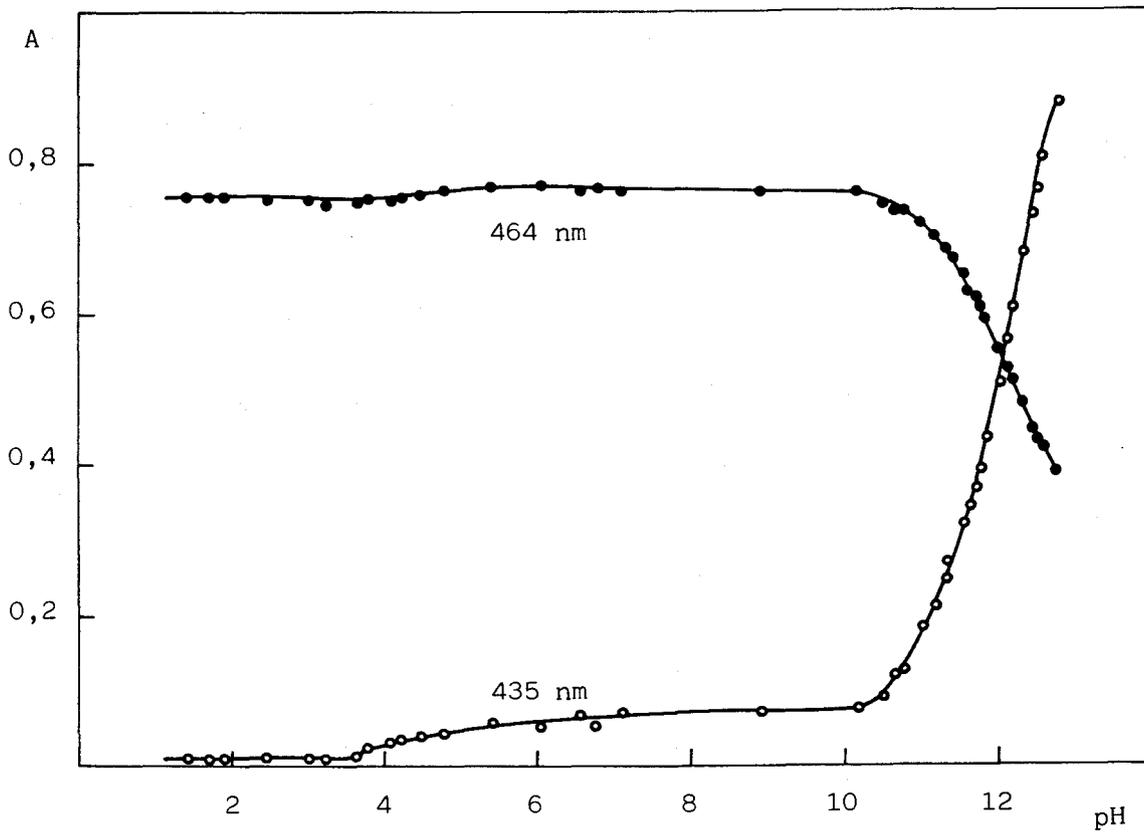


FIGURA 51 * Curvas absorbancia-pH de la FGMPH
($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 20% etanol).

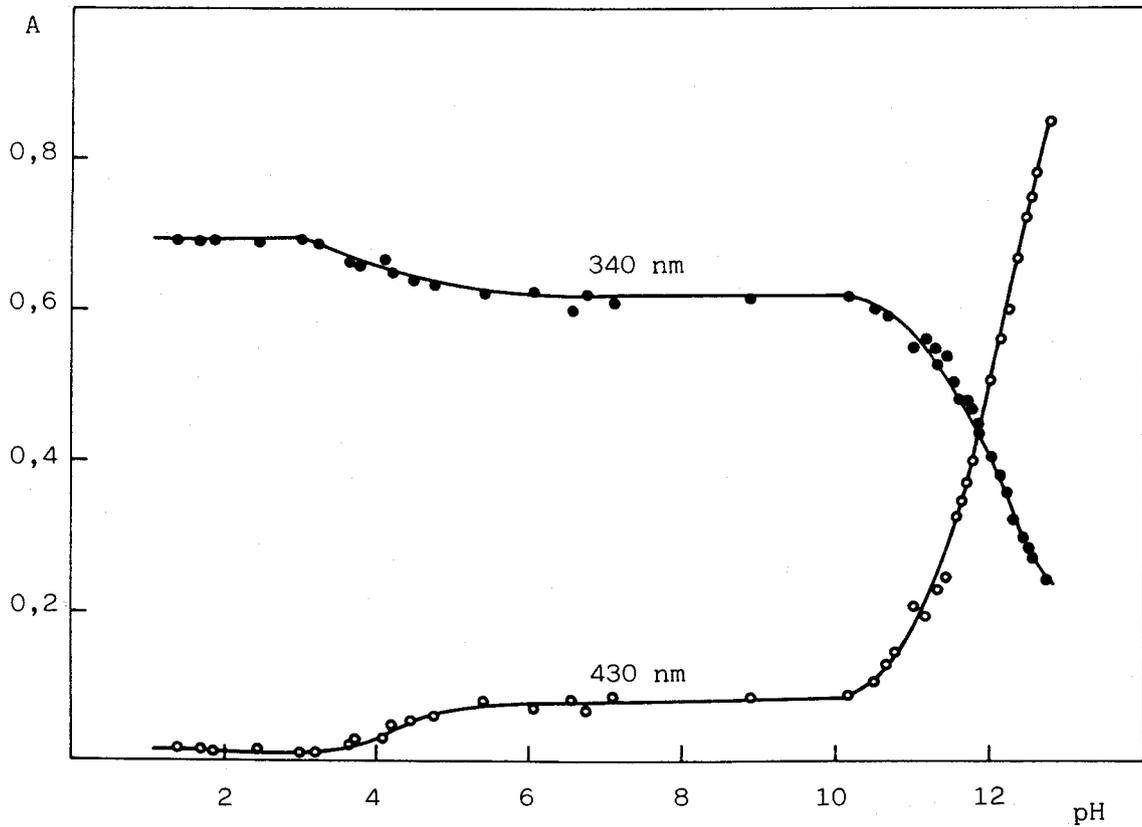
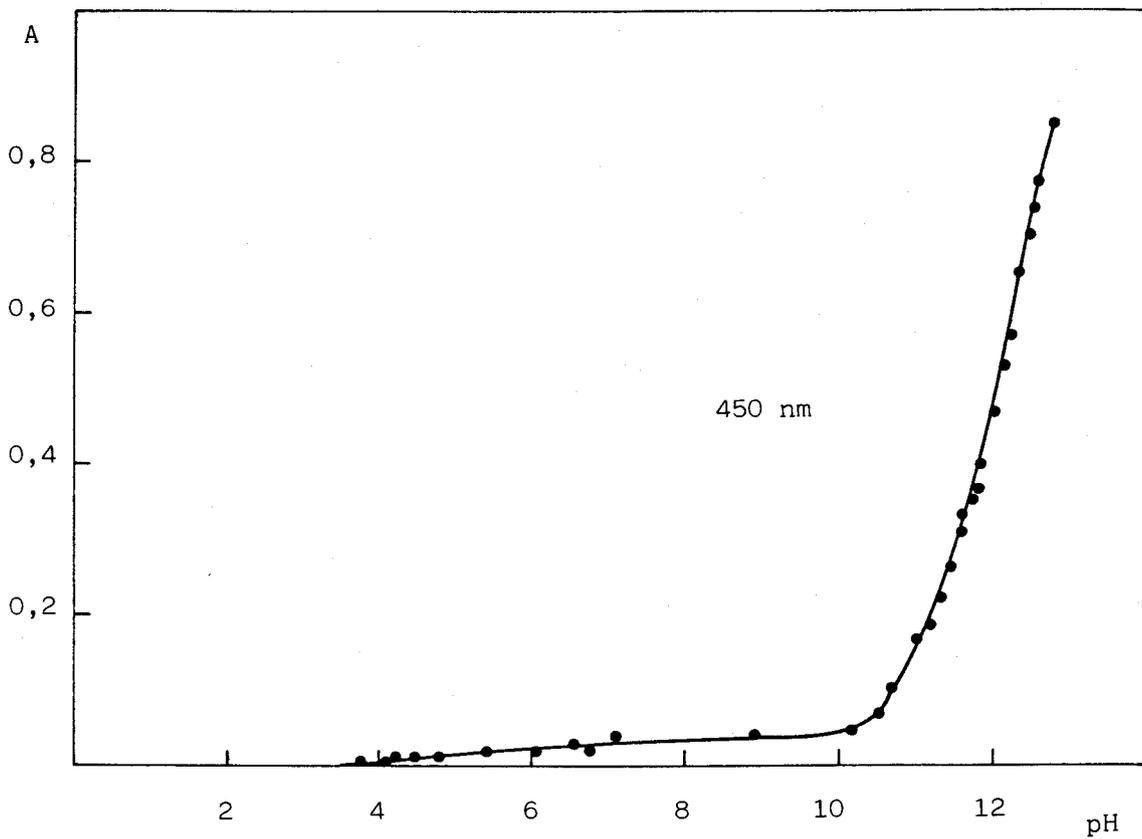


FIGURA 52 * Curvas absorbancia-pH de la FGMPH
($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 20% etanol).

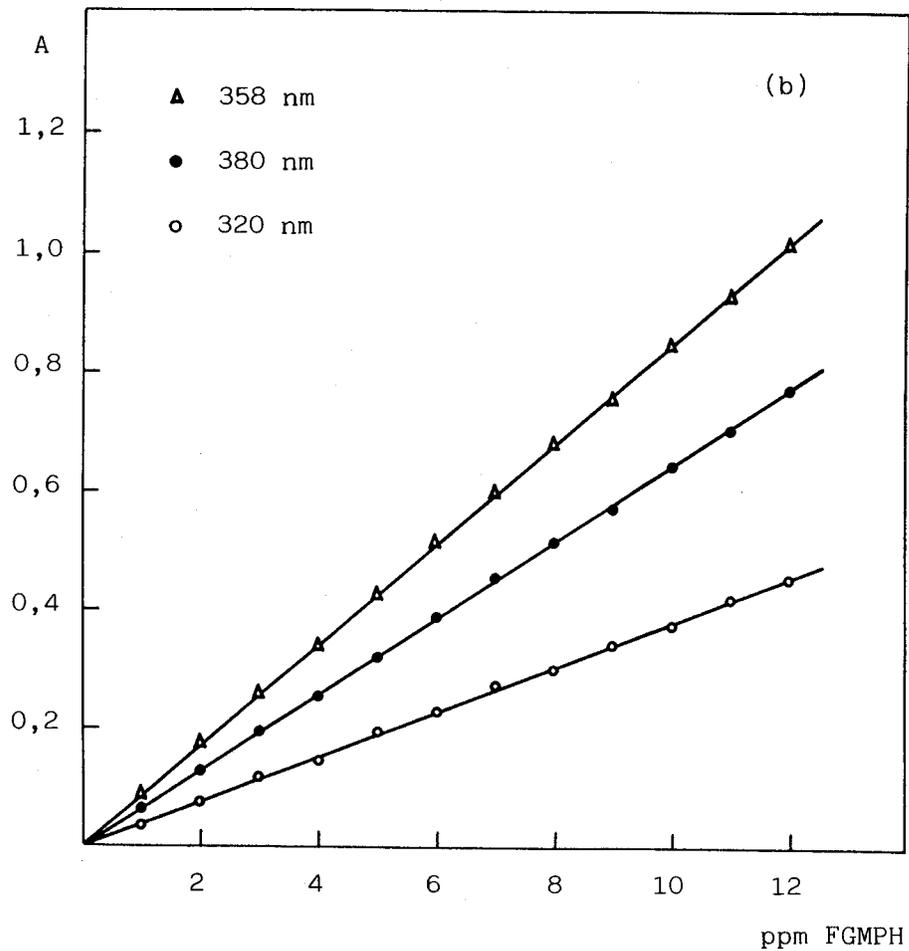
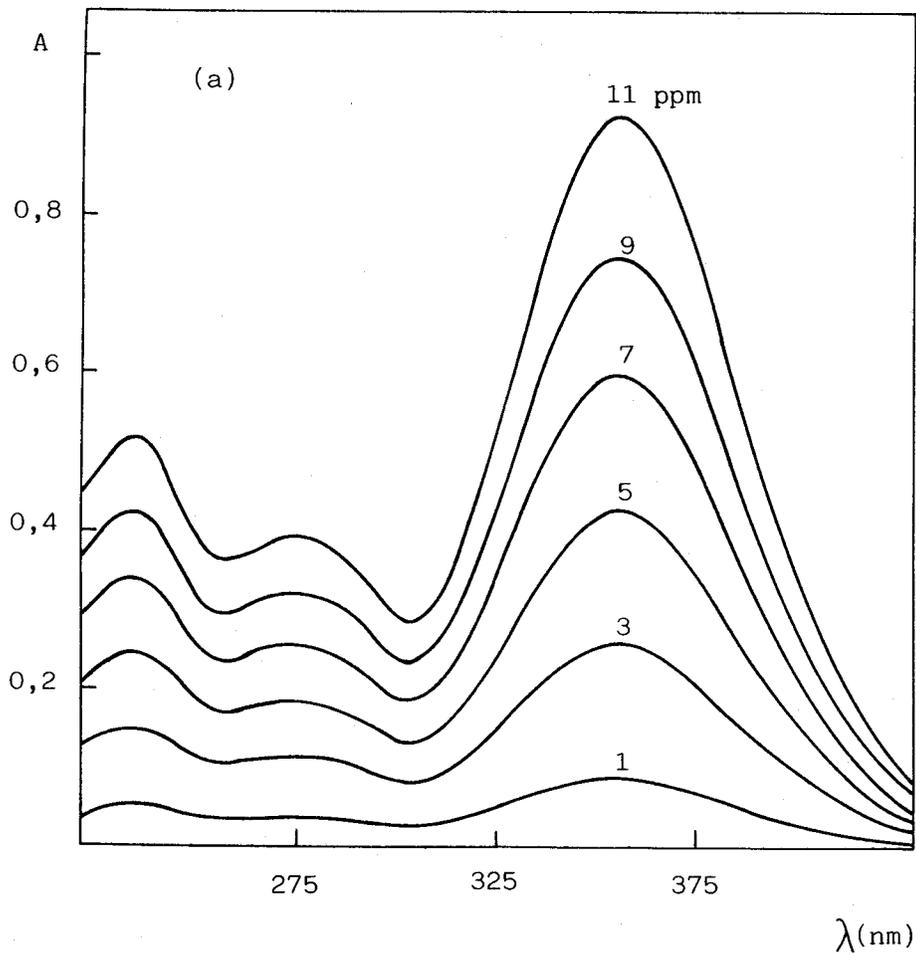


FIGURA 53 * (a) Espectros UV de la FGMPH a pH $\sim 8,2$ y C_R variable. (b) Ley de Beer a pH $\sim 8,2$.

TABLA 44 * LEY DE BEER DE LA FGMPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~8,2

ppm FGMPH	A b s o r b a n c i a							
	320	330	340	350	358	365	370	380
1	0,040	0,056	0,074	0,084	0,088	0,084	0,080	0,065
2	0,080	0,112	0,145	0,168	0,175	0,168	0,159	0,130
3	0,120	0,168	0,218	0,252	0,259	0,251	0,237	0,195
4	0,143	0,210	0,277	0,325	0,337	0,327	0,309	0,253
5	0,194	0,273	0,355	0,410	0,427	0,413	0,392	0,323
6	0,229	0,325	0,426	0,495	0,516	0,500	0,473	0,390
7	0,275	0,387	0,502	0,580	0,602	0,584	0,553	0,456
8	0,301	0,427	0,560	0,653	0,680	0,661	0,626	0,517
9	0,345	0,484	0,630	0,725	0,752	0,730	0,693	0,572
10	0,376	0,536	0,702	0,817	0,849	0,826	0,782	0,646
11	0,422	0,593	0,773	0,894	0,927	0,899	0,854	0,705
12	0,454	0,642	0,842	0,980	1,018	0,991	0,937	0,774

TABLA 45 * RECTAS DE REGRESION CORRESPONDIENTES A LA LEY DE BEER DE LA FGMPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~8,2

λ (nm)	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	S _A	S _B	S _{y/x}	Cov(A,B)
320	Y = 0,0028 + 0,0378 X	0,9994	12	0,0097	0,0004	0,0051	-1,1927 E-06
330	Y = 0,0046 + 0,0533 X	0,9998	12	0,0083	0,0004	0,0044	-8,8947 E-07
340	Y = 0,0054 + 0,0697 X	0,9999	12	0,0076	0,0003	0,0041	-7,4804 E-07
350	Y = 0,0056 + 0,0810 X	0,9999	12	0,0087	0,0004	0,0046	-9,6741 E-07
358	Y = 0,0060 + 0,0841 X	0,9999	12	0,0097	0,0004	0,0052	-1,1209 E-06
365	Y = 0,0038 + 0,0819 X	0,9999	12	0,0100	0,0004	0,0053	-1,2741 E-06
370	Y = 0,0034 + 0,0776 X	0,9999	12	0,0081	0,0004	0,0043	-8,3703 E-07
380	Y = 0,0012 + 0,0642 X	0,9999	12	0,0071	0,0003	0,0038	-6,4136 E-07

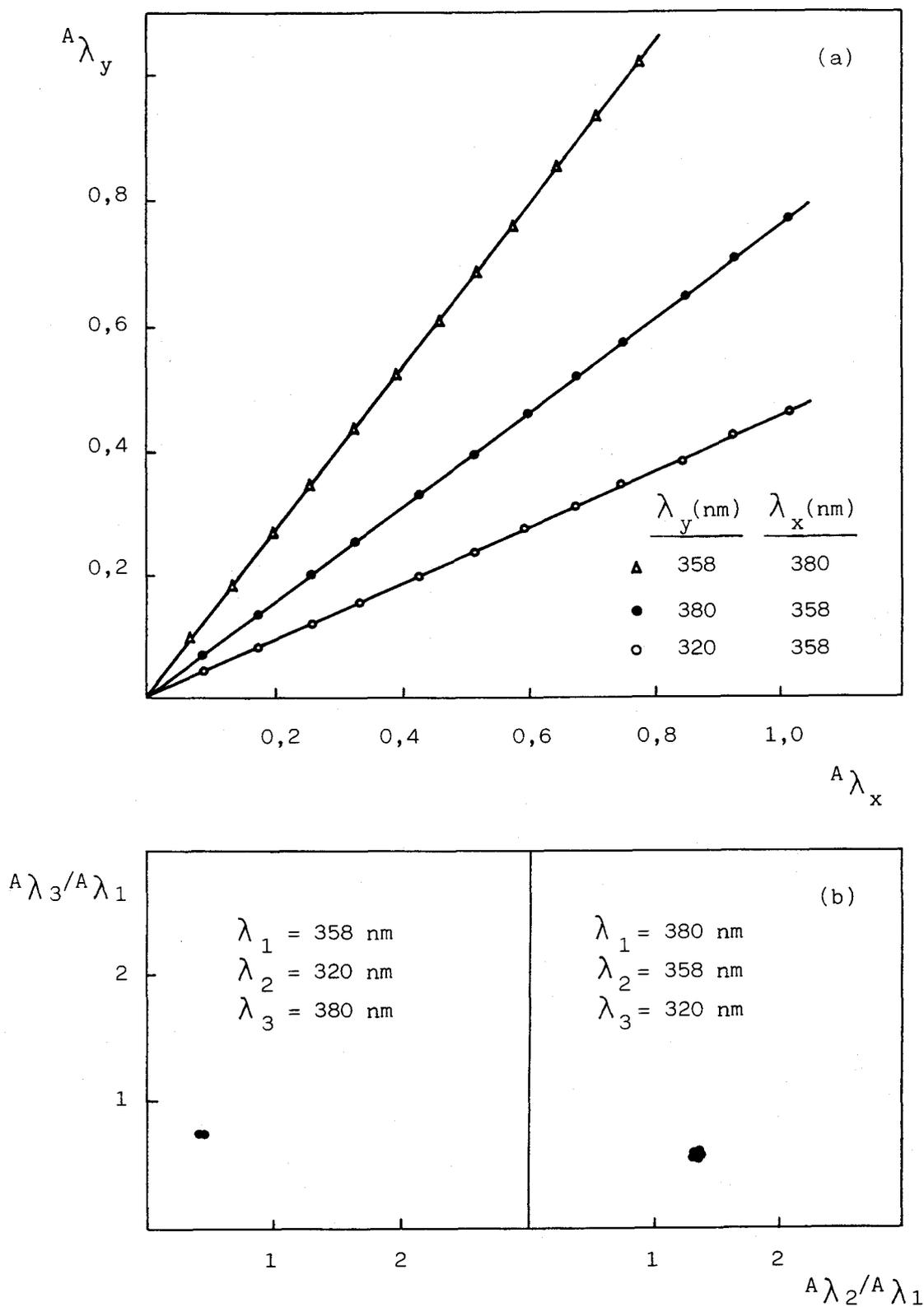


FIGURA 54 * Determinación del número de especies absorbentes en disolución a pH = 8,2 y [FGMPH] variable. (a) Una especie; (b) Dos especies.

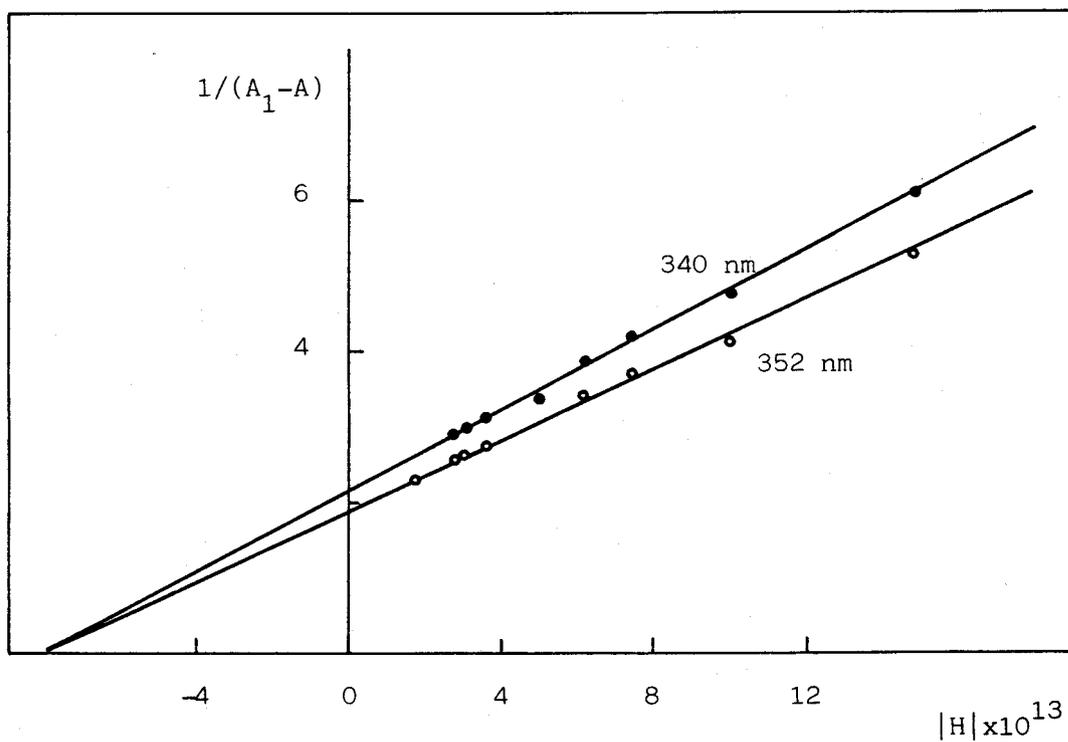
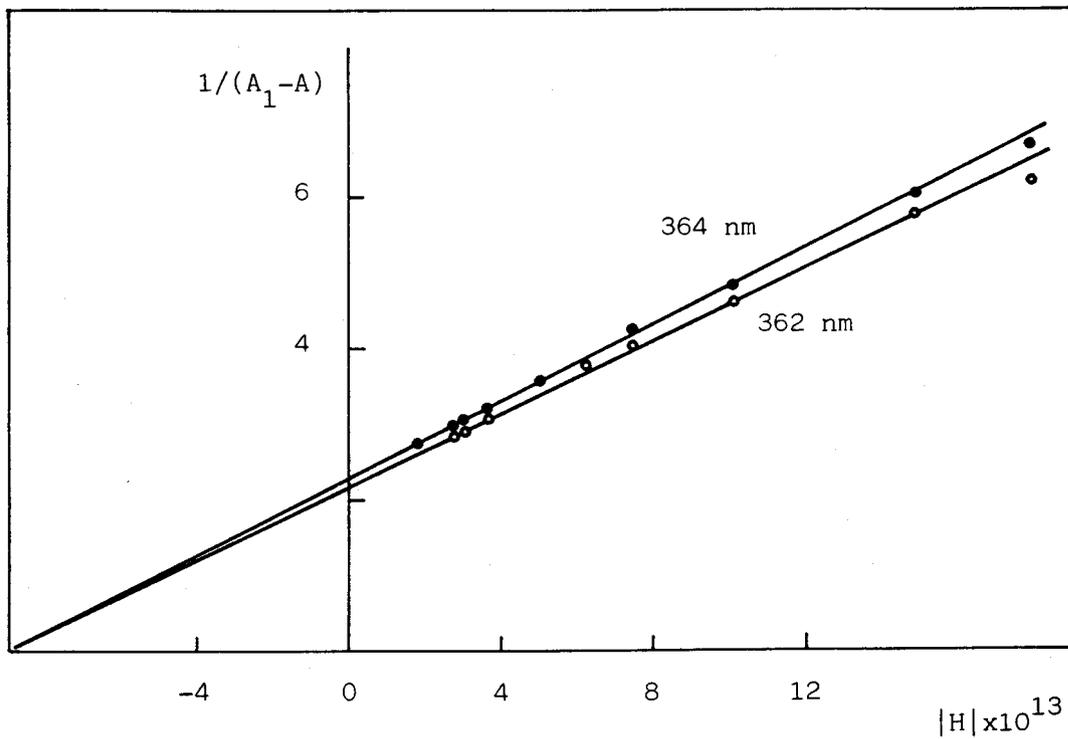


FIGURA 55 * Determinación del pK_{a2} de la FGMPH por el método de las rectas concurrentes.

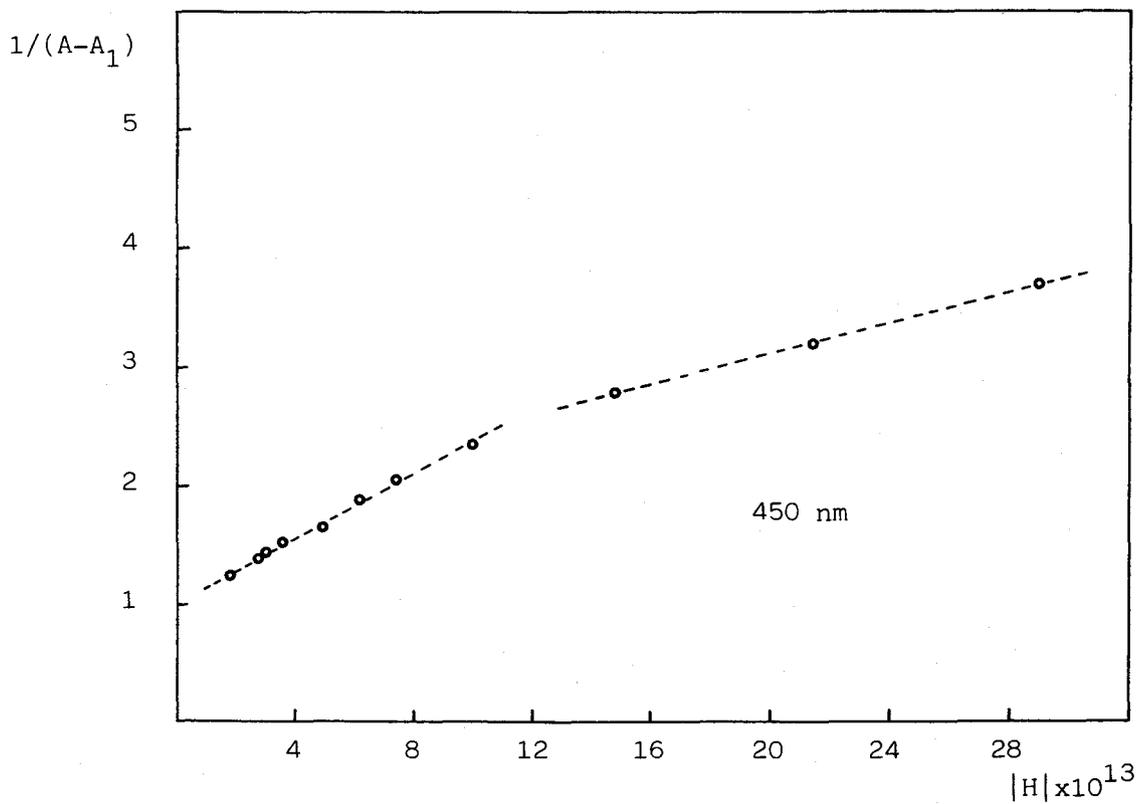
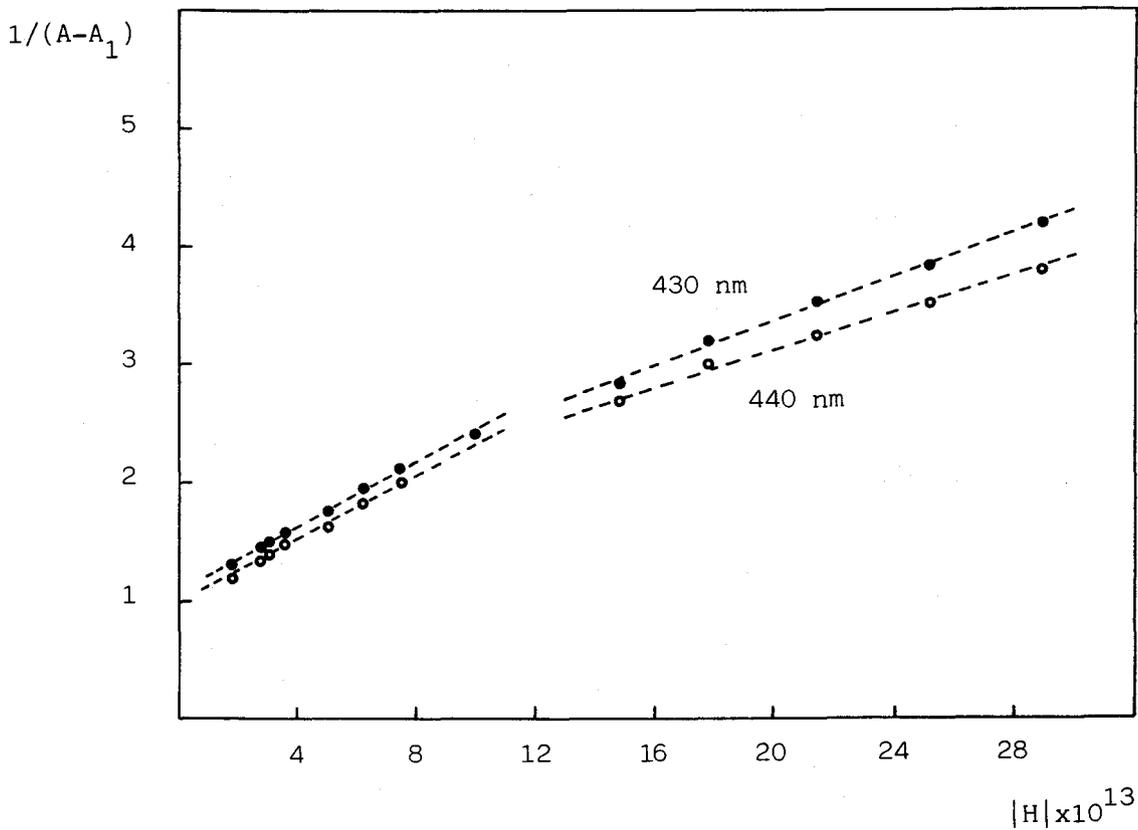


FIGURA 56 * Determinación del pK_{a2} de la FGMPH por el método de las rectas concurrentes.

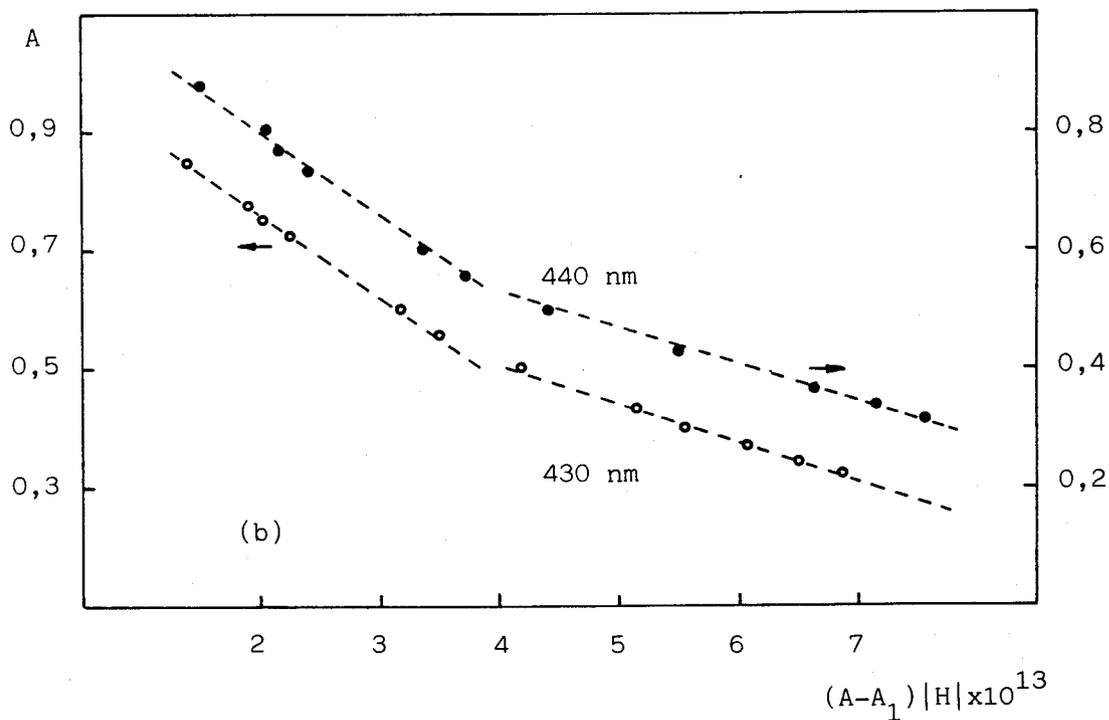
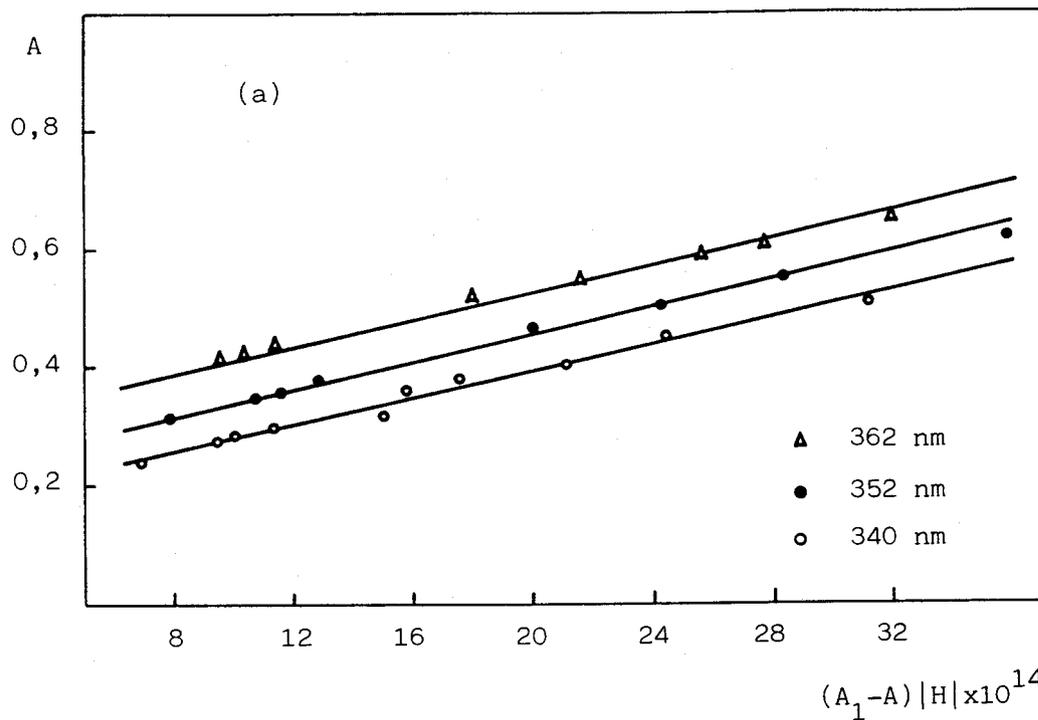


FIGURA 57 * Determinación del pK_{a2} de la FGMPH por el método de las rectas paralelas.

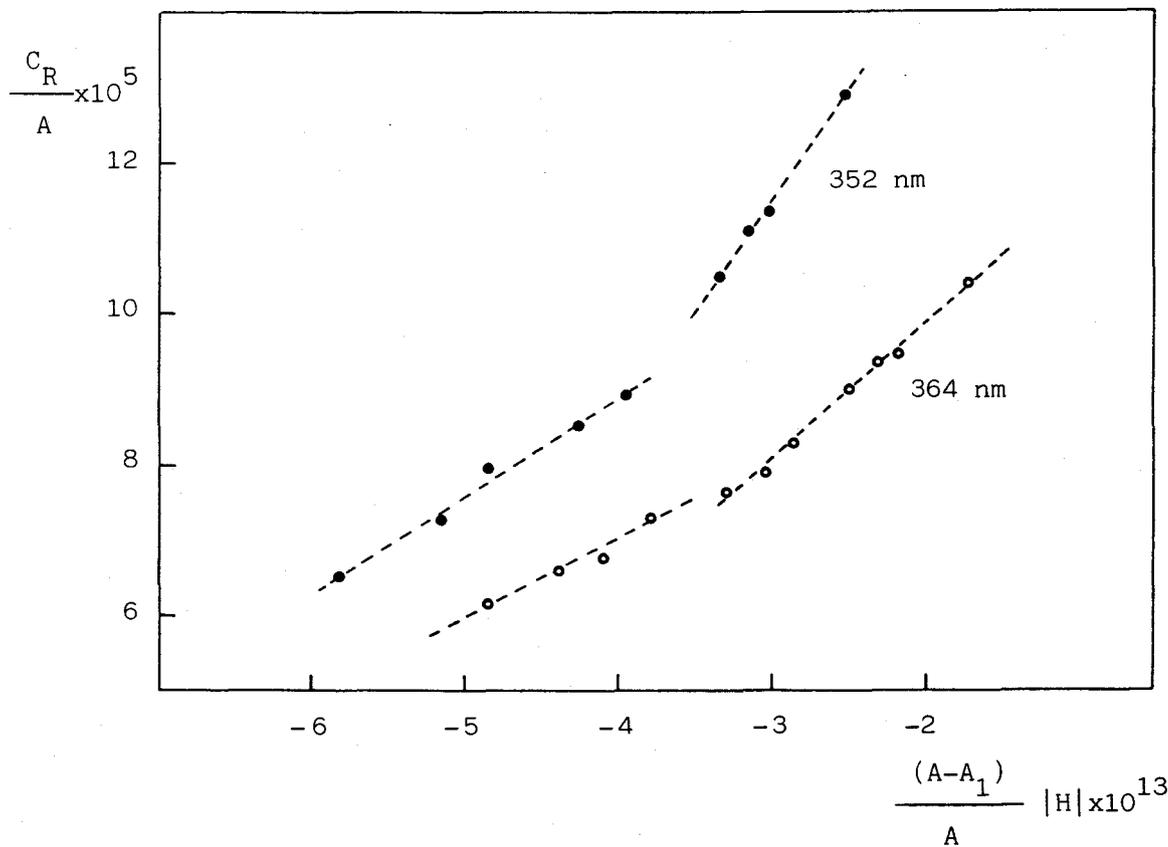
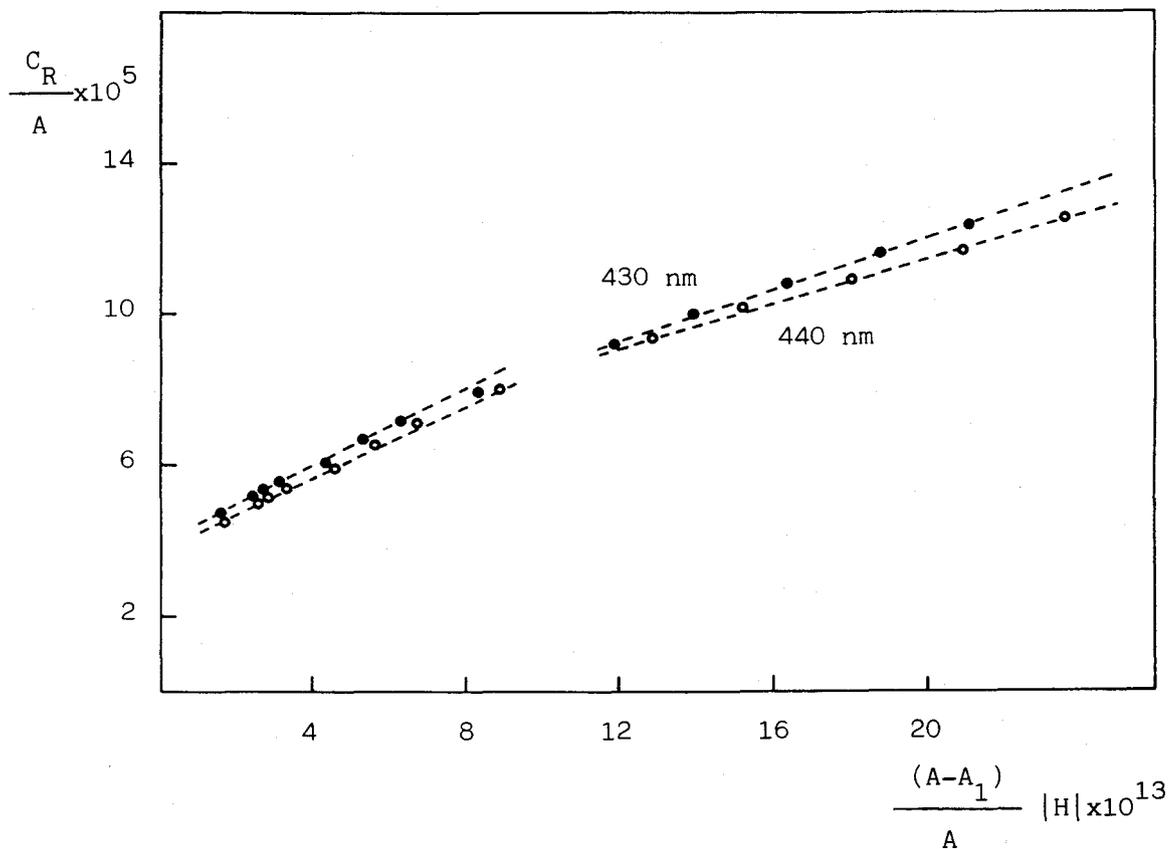


FIGURA 58 * Determinación del pK_{a2} de la FGMPH por el método de Agren-Sommer.

En las Tablas 46-48 se recogen los datos encontrados en el análisis de regresión lineal sencilla de las diferentes líneas rectas obtenidas en cada caso, según los distintos métodos de cálculo.

Aun cuando no existen grandes discrepancias en cuanto a los resultados de pKa evaluados según una u otra línea recta (Tablas 46-48), la diferencia entre los valores de absorbancia límite de cada caso es sustancial. A este respecto conviene mencionar que se ha empleado hidróxido de potasio en el ajuste del pH del medio, que el electrodo Ingold empleado posee un rango de uso de 0-14, y que no se han advertido problemas en la evaluación de las constantes de acidez del nitrógeno imínico de la DPGPH y de la BMPH (ver más adelante), no siendo por tanto la desviación de la conducta lineal de las curvas atribuibles al error alcalino del electrodo de vidrio. Una posible explicación a esta conducta, aparentemente anómala, es que, al producirse la desprotonación del nitrógeno imínico, el reactivo pase de una forma a otra (isomería) que posea características absorbentes distintas.

Análogas dificultades se han observado en la evaluación del pKa correspondiente al nitrógeno piridínico de la BMPH, tal como se verá en la sección correspondiente.

Evaluación de la constante de acidez del nitrógeno piridínico.-

Aparentemente, y puesto que se conocen las absorbancias límites de las formas ácida, H_2R , y neutra, HR , del reactivo, la evaluación del pKa no presenta dificultades y puede efectuarse, en principio, de acuerdo con el método clásico de la recta única. Ahora bien, dada la escasa diferencia de absorbancia existente entre las formas ácida y básica, H_2R y HR , respectivamente, a la concentración de 4×10^{-5} M, se han realizado de nuevo las curvas absorbancia-pH en el rango de pH 1,62-4,58 a concentración 2,5 veces mayor (Tabla 49, Figura 59).

Sin embargo, aun cuando ya las absorbancias muestran unas diferencias apreciables, a los distintos valores de pH, se introduce una dificultad adicional, a saber, que la forma límite de la especie neutra precipita en el medio de reacción a esta concentración de reactivo, por lo que hemos de emplear métodos gráficos en los que no sea necesario conocer la absorbancia límite, A_1 .

TABLA 46 * EVALUACION DEL pKa DEL NITROGENO IMINICO DE LA FGMPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION.
METODO DE LAS RECTAS CONCURRENTES.

λ (nm)	A_1	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_0	pKa ₂
a)	340	Y= - 2,201 - 2,608 E12 X	0,9964	8	0,163	12,074
	352	Y= - 1,980 - 2,218 E12 X	0,9981	8	0,236	12,049
	362	Y= - 2,282 - 2,355 E12 X	0,9986	8	0,323	12,014
	364	Y= - 2,317 - 2,495 E12 X	0,9990	9	0,326	12,032
b)	430	Y= 1,057 + 1,423 E12 X	0,9976	7	1,033	12,129
	435	Y= 0,989 + 1,406 E12 X	0,9961	7	1,081	12,153
	440	Y= 0,967 + 1,390 E12 X	0,9965	7	1,093	12,158
	445	Y= 0,963 + 1,394 E12 X	0,9945	7	1,086	12,160
	450	Y= 0,977 + 1,444 E12 X	0,9945	7	1,065	12,169
c)	430	Y= 1,461 + 9,603 E11 X	0,9990	6	0,771	11,818
	435	Y= 1,456 + 8,765 E11 X	0,9984	6	0,757	11,779
	440	Y= 1,615 + 7,619 E11 X	0,9961	5	0,677	11,674
	445	Y= 1,554 + 7,538 E11 X	0,9990	5	0,691	11,686
	450	Y= 1,699 + 6,959 E11 X	0,9904	5	0,631	11,612

(a) Todos los puntos; (b) pH más alcalinos; (c) pH menos alcalinos.

TABLA 47 * EVALUACION DEL pKa DEL NITROGENO IMINICO DE LA FGMPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION.
METODO DE LAS RECTAS PARALELAS.

λ (nm)	A_1	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_0	pK_{a2}
a)	340	$Y = 0,169 + 1,126 E12 X$	0,9909	10	0,169	12,052
	352	$Y = 0,236 + 1,093 E12 X$	0,9967	8	0,236	12,039
	362	$Y = 0,316 + 1,056 E12 X$	0,9974	8	0,316	12,024
	364	$Y = 0,327 + 1,061 E12 X$	0,9960	10	0,327	12,026
b)	430	$Y = 1,041 + 1,397 E12 X$	0,9974	5	1,041	12,145
	435	$Y = 1,094 + 1,477 E12 X$	0,9985	5	1,094	12,170
	440	$Y = 1,107 + 1,521 E12 X$	0,9938	5	1,107	12,182
	445	$Y = 1,101 + 1,539 E12 X$	0,9949	5	1,101	12,187
c)	430	$Y = 0,798 + 7,017 E11 X$	0,9969	7	0,798	11,846
	435	$Y = 0,773 + 6,239 E11 X$	0,9986	5	0,773	11,795
	440	$Y = 0,770 + 6,035 E11 X$	0,9957	6	0,770	11,781
	445	$Y = 0,734 + 5,468 E11 X$	0,9919	6	0,734	11,738

(a) Todos los puntos; (b) pH más alcalinos; (c) pH menos alcalinos.

TABLA 48 * EVALUACION DEL pKa DEL NITROGENO IMINICO DE LA FGMPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION.
METODO DE AGREN-SOMMER.

λ (nm)	A_1	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_0	pKa ₂
352	0,741	Y= 1,041 E-04 + 1,313 E08 X	0,9996	4	0,284	11,970
362	0,761	Y= 1,141 E-04 + 1,056 E08 X	0,9957	6	0,350	11,966
364	0,758	Y= 1,085 E-04 + 9,730 E07 X	0,9949	6	0,369	11,953
430	0,087	Y= 5,171 E-05 + 3,417 E07 X	0,9988	6	0,774	11,820
a) 435	0,070	Y= 5,274 E-05 + 3,189 E07 X	0,9980	6	0,758	11,781
440	0,058	Y= 5,539 E-05 + 2,972 E07 X	0,9959	6	0,722	11,730
445	0,048	Y= 5,780 E-05 + 2,809 E07 X	0,9989	5	0,692	11,687
450	0,042	Y= 6,336 E-05 + 2,602 E07 X	0,9988	5	0,631	11,613
352	0,741	Y= 1,933 E-04 + 2,596 E08 X	0,9960	6	0,207	12,128
362	0,761	Y= 1,396 E-04 + 1,828 E08 X	0,9941	5	0,286	12,117
364	0,758	Y= 1,322 E-04 + 1,700 E08 X	0,9988	6	0,302	12,109
430	0,087	Y= 3,872 E-05 + 5,210 E07 X	0,9973	7	1,033	12,129
b) 435	0,070	Y= 3,701 E-05 + 5,258 E07 X	0,9957	7	1,081	12,152
440	0,058	Y= 3,662 E-05 + 5,262 E07 X	0,9962	7	1,092	12,158
445	0,048	Y= 3,779 E-05 + 5,042 E07 X	0,9956	8	1,058	12,125
450	0,042	Y= 3,854 E-05 + 5,258 E07 X	0,9957	8	1,038	12,135

(a) pH menos alcalinos; (b) pH más alcalinos.

TABLA 49 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA FGMPH ($C_R = 1 \times 10^{-4}$ M, 20% ETANOL)

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a				
	270	275	280	285	290
1,62	0,880	0,966	1,022	1,012	0,934
2,08	0,874	0,964	1,024	1,016	0,942
2,45	0,865	0,959	1,022	1,014	0,943
2,75	0,857	0,957	1,024	1,013	0,944
3,05	0,846	0,947	1,022	1,014	0,942
3,35	0,835	0,927	0,986	0,986	0,922
3,55	0,820	0,907	0,966	0,966	0,906
3,66	0,816	0,896	0,945	0,939	0,888
3,97	0,795	0,862	0,906	0,903	0,449
4,21	0,786	0,838	0,865	0,856	0,805
4,38	0,767	0,817	0,829	0,817	0,769
4,58	0,767	0,799	0,813	0,798	0,751

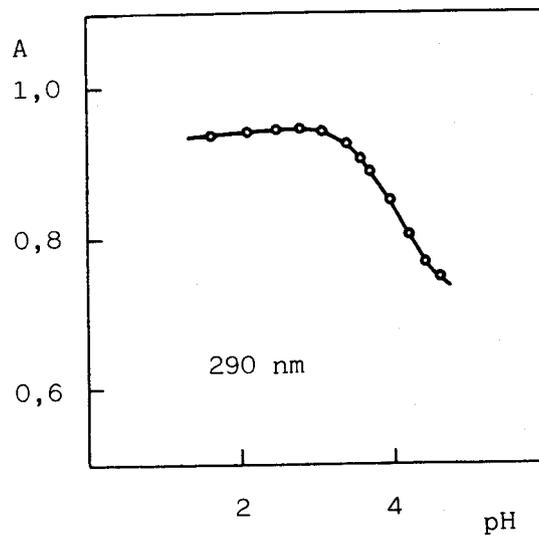
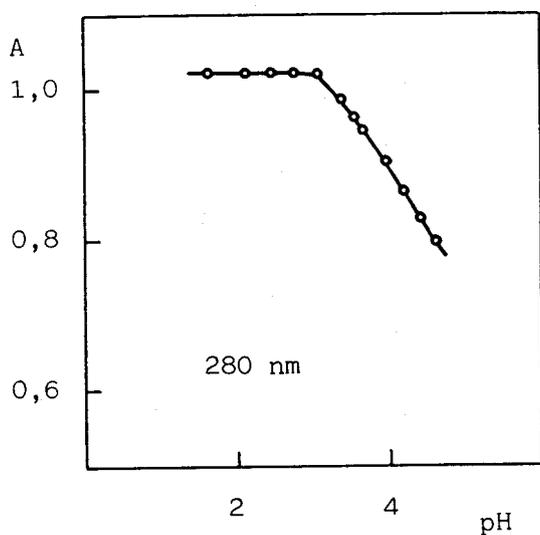
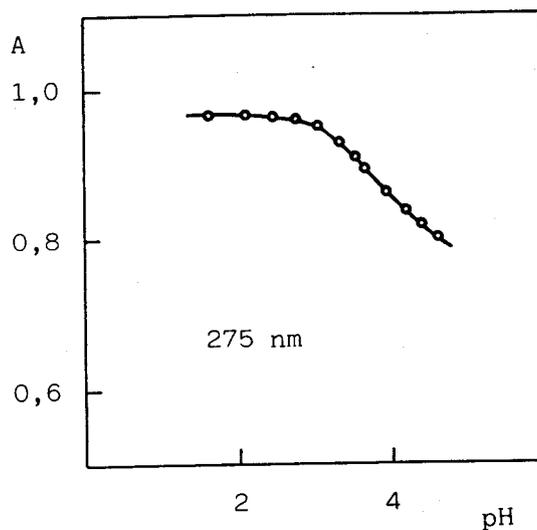
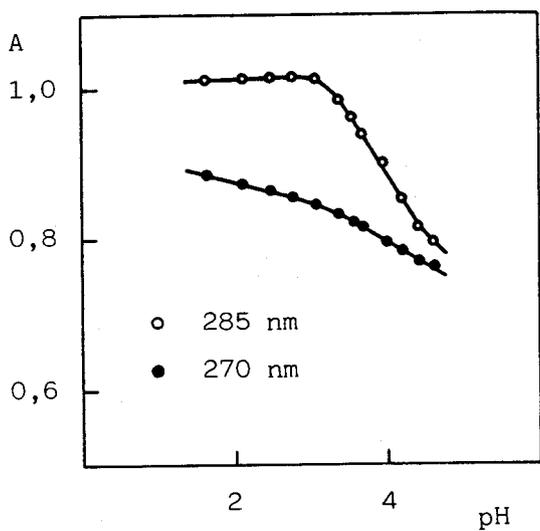


FIGURA 59 * Curvas absorbancia-pH de la FGMPH ($C_R = 10^{-4}$ M; 20% etanol)

Se ha comprobado que el reactivo cumple la ley de Beer a pH 2,1 (Figura 60 y Tablas 50-51), obteniéndose en los test indicativos del número de especies (n) en disolución líneas rectas (Figura 61(a)) que concurren en el origen de coordenadas (n=1) en la representaciones de la absorbancia a una longitud de onda frente a la absorbancia a longitudes de onda diferentes. Cuando se supone que n=2 se obtienen puntos mal definidos (Figura 61(b)) en lugar de líneas rectas (que no deben pasar por el origen de coordenadas), por lo que esta suposición es incorrecta.

Los resultados obtenidos cuando se aplican los métodos de las rectas concurrentes, paralelas y de Agren-Sommer a los datos absorbancia-pH recogidos en la Tabla 49, se encuentran representados en las Figuras 62, 63 y 64, respectivamente. Asimismo, en la Tabla 52 se recogen los análisis de regresión lineal sencilla correspondientes a las diferentes líneas rectas obtenidas. Se observa una buena concordancia entre los valores de pKa, dentro de los límites del error experimental, dado el comportamiento del sistema y la forma de las curvas absorbancia-pH.

II.7.4.- Evaluación espectrofotométrica de las constantes de acidez de la BMPH.-

La bencil mono(2-piridil)hidrazona, al igual que la fenilgloxal mono(2-piridil)hidrazona, es un reactivo de tipo HR, con dos constantes de acidez, las correspondientes a los nitrógenos piridínicos e imínicos.

Evaluación del pKa del nitrógeno piridínico

La influencia del pH sobre la absorbancia de la BMPH en el rango de pH de 1,11 á 12,70, a una concentración de 4×10^{-4} M y en un medio conteniendo un 40% de etanol en volumen, a nueve diferentes longitudes de onda, se encuentra recogida en la Tabla 53. La forma de las curvas, cuya representación se muestra en la Figura 65, depende de la longitud de onda en el rango de pH de 2 á 6, observándose en el intervalo de pH de 6 á 8 una cierta dispersión de las medidas de absorbancia. A partir de pH 10 se produce una leve disminución de las absorbancias, para sufrir después un incremento pronunciado a pH supe-

riores a 12. Esta conducta anómala debe estar relacionada con la presencia simultánea en disolución de los isómeros "sin" y "anti", que deben poseer características absorbentes diferentes en el UV.

El sistema cumple la ley de Beer a pH 0,9 según se observa en la Figura 66 y se comprueba en las Tablas 54-55, indicando el test gráfico de Budesinsky la existencia de una sola especie absorbente en disolución a este valor de pH (Figura 67).

A la vista de las curvas absorbancia-pH obtenidas, es necesario concluir que el pKa del nitrógeno piridínico no es evaluable sólo a partir de medidas espectrofotométricas.

Evaluación de la constante de acidez del grupo imínico

Debido al pronunciado salto de pH que se obtiene en las medidas de absorbancia a valores de pH fuértemente alcalinos, se han registrado las curvas A-pH a siete longitudes de onda diferentes, a una concentración diez veces menor, de 4×10^{-5} M, y en un medio conteniendo tan sólo un 20% de etanol en volumen. Los datos experimentales obtenidos (Tabla 56), se encuentran representados en la Figura 68.

La disminución tanto en la concentración de reactivo como en el porcentaje de etanol, ejerce un efecto pronunciado sobre las curvas A-pH que alcanzan ahora un valor constante en el rango de pH 9-11, aproximadamente. Dichas curvas, a diferentes longitudes de onda, presentan una forma sigmoide típica, que indica la presencia de un equilibrio sencillo de desprotonación.

El sistema cumple la ley de Beer a pH 8,5, de acuerdo con los datos recogidos en las Tablas 57-58, y en la Figura 69; indicando el test gráfico de Budesinsky la existencia de una sólo especie absorbente en disolución a este valor de pH (Figura 70).

Los datos obtenidos cuando se aplican los métodos de las rectas concurrentes, paralelas y de Agren-Sommer (A_1 conocido), se encuentran representados en las Figuras 71, 72 y 73, respectivamente. En las Tablas 59-60 se encuentran las ecuaciones de las líneas rectas obtenidas mediante la aplicación de los diferentes métodos, junto con los coeficientes de correlación, número de puntos empleados y valores de absorbancia límite y pKa₂ evaluados. Se obtiene un rango de valores de

pKa₂ de 13,31 á 13,38 (19 estimaciones). La media obtenida con los diferentes métodos es de:

Concurrentes: 13,32 ± 0,02
 Paralelas: 13,36 ± 0,02
 Agren-Sommer: 13,34 ± 0,02

Los valores encontrados en cambio para la absorbancia límite de la especie R, muestran cierta dispersión, tal como se comprueba en la Tabla 61.

T A B L A 6 1

λ (nm)	342	350	400	410	420	430	440
\bar{A}_O	0,133	0,182	1,050	1,167	1,236	1,196	1,076
S	0,013	0,029	0,041	0,049	0,054	0,054	0,046

* * * * *
 * * * * *

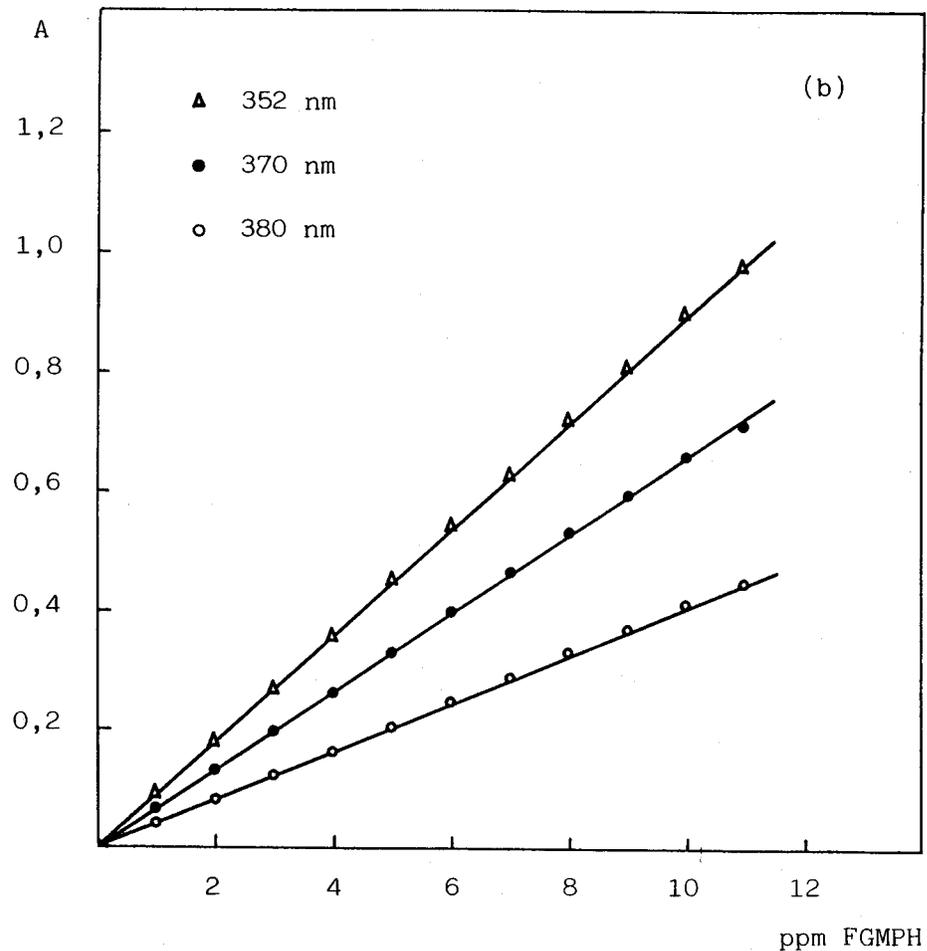
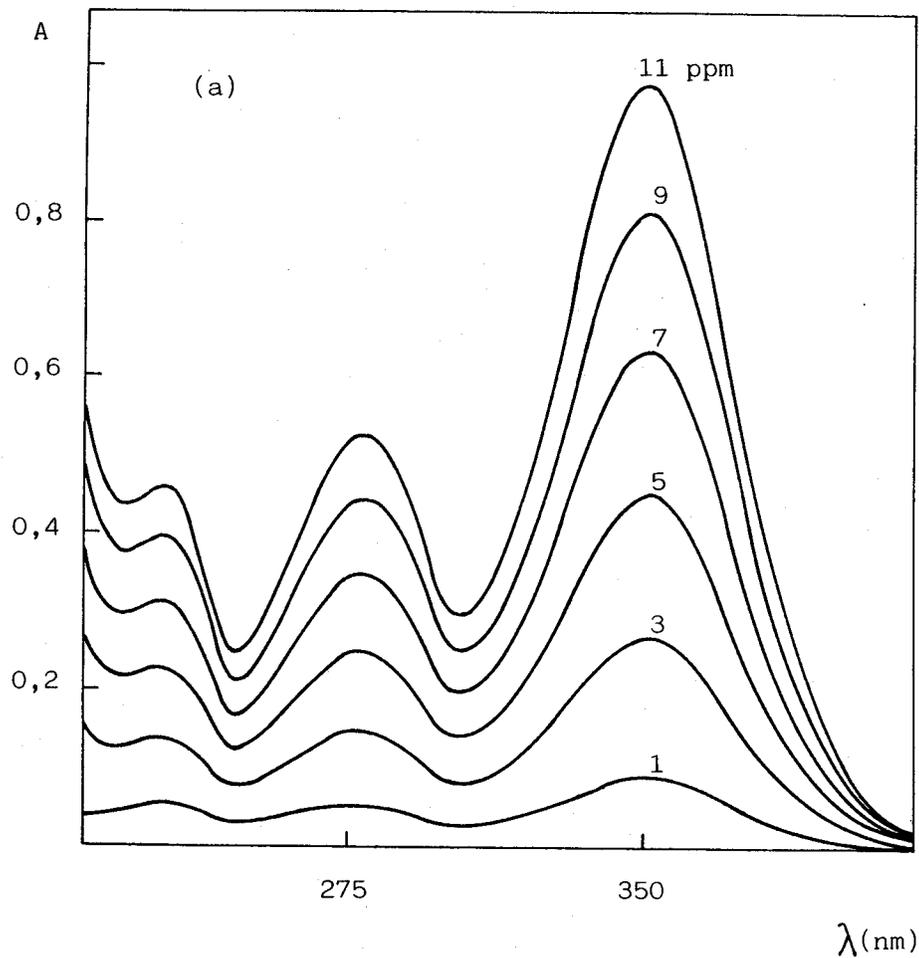


FIGURA 60 * (a) Espectros UV de la FGMPH a pH $\sim 2,1$ y C_R variable. (b) Ley de Beer a pH $\sim 2,1$.

TABLA 50 * LEY DE BEER DE LA FGMPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~2,1

ppm FGMPH	A b s o r b a n c i a							
	320	330	340	346	352	362	370	380
1	0,039	0,056	0,077	0,087	0,090	0,082	0,065	0,040
2	0,076	0,112	0,152	0,169	0,177	0,164	0,130	0,080
3	0,118	0,169	0,229	0,253	0,267	0,244	0,195	0,120
4	0,150	0,220	0,301	0,334	0,354	0,325	0,259	0,159
5	0,200	0,289	0,386	0,427	0,450	0,413	0,330	0,206
6	0,236	0,343	0,462	0,515	0,543	0,502	0,400	0,249
7	0,278	0,404	0,542	0,602	0,631	0,581	0,463	0,288
8	0,311	0,453	0,612	0,685	0,720	0,667	0,531	0,330
9	0,355	0,516	0,695	0,770	0,810	0,743	0,593	0,368
10	0,387	0,565	0,765	0,854	0,901	0,830	0,660	0,410
11	0,430	0,627	0,843	0,933	0,977	0,895	0,711	0,446

TABLA 51 * RECTAS DE REGRESION CORRESPONDIENTES A LA LEY DE BEER DE LA FGMPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~2,1

λ (nm)	Ecuación de la Recta	Coficiente Correlación	n	S_A	S_B	$S_{y/x}$	Cov(A,B)
320	$Y = -0,0005 + 0,0392 X$	0,9997	11	0,0068	0,0003	0,0036	-6,9752 E-07
330	$Y = -0,0018 + 0,0572 X$	0,9998	11	0,0072	0,0004	0,0041	-9,0242 E-07
340	$Y = -0,0010 + 0,0769 X$	0,9999	11	0,0062	0,0003	0,0033	-5,8931 E-07
346	$Y = -0,0009 + 0,0854 X$	0,9999	11	0,0075	0,0004	0,0039	-8,4386 E-07
352	$Y = -0,0003 + 0,0898 X$	0,9999	11	0,0087	0,0004	0,0046	-1,1576 E-06
362	$Y = -0,0001 + 0,0825 X$	0,9998	11	0,0115	0,0006	0,0061	-2,0020 E-06
370	$Y = 0,0004 + 0,0656 X$	0,9997	11	0,0099	0,0005	0,0052	-1,4809 E-06
380	$Y = -0,0013 + 0,0411 X$	0,9998	11	0,0053	0,0003	0,0028	-4,2623 E-07

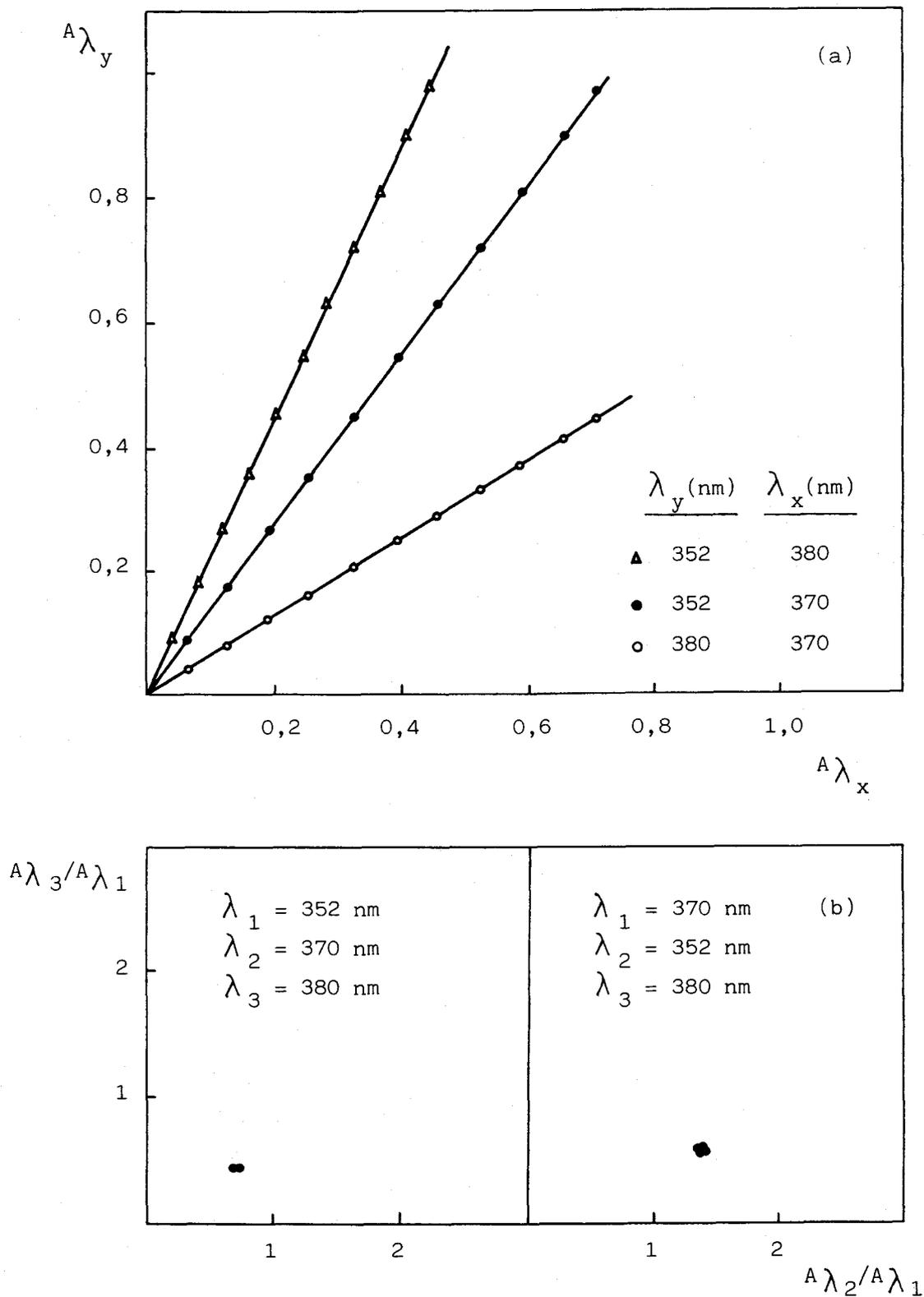


FIGURA 61 * Determinación del número de especies absorbentes en disolución a pH = 2,1 y [FGMPH] variable. (a) Una especie; (b) Dos especies.

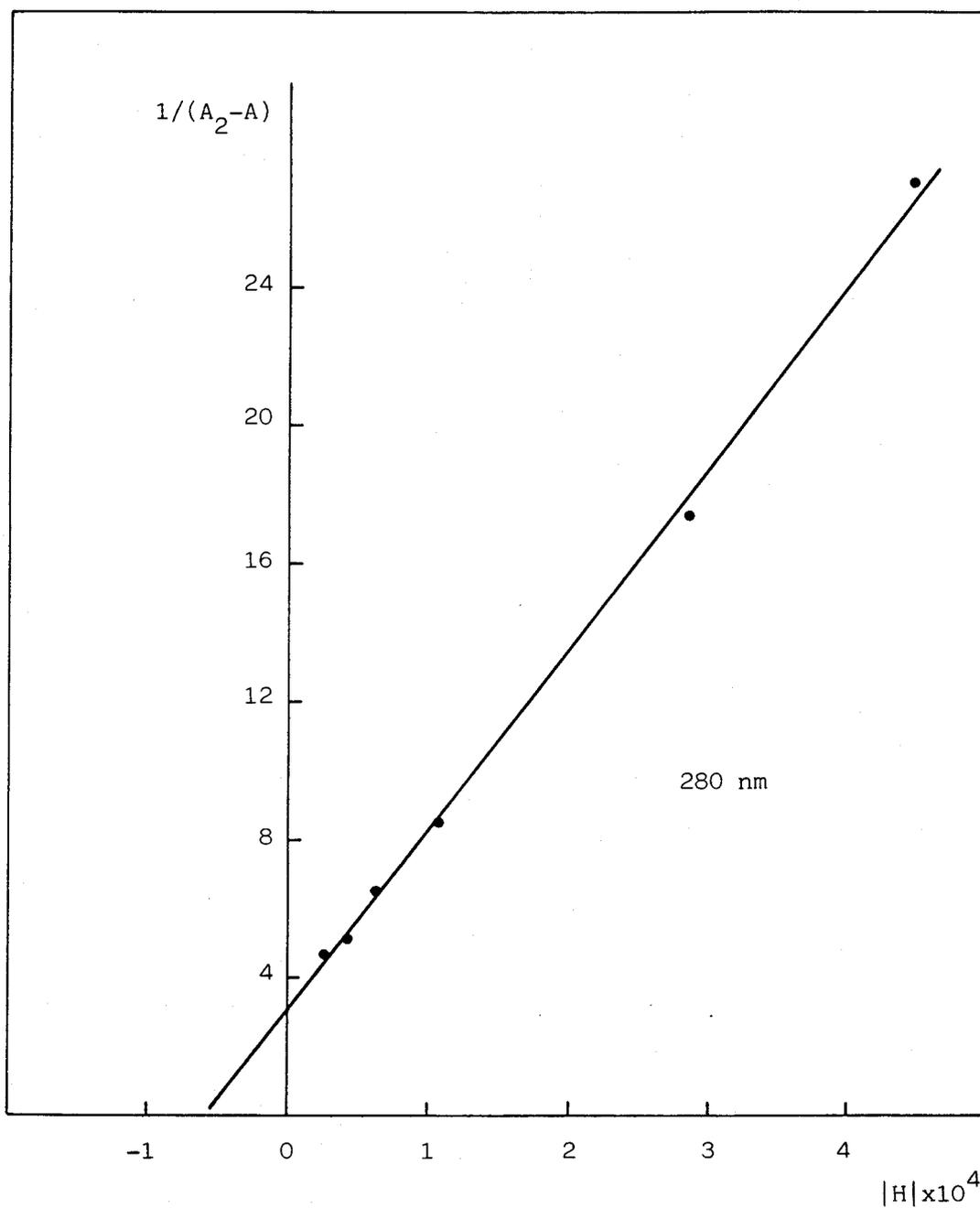


FIGURA 62 * Determinación del pK_{a1} de la FGMPH por el método de las rectas concurrentes.

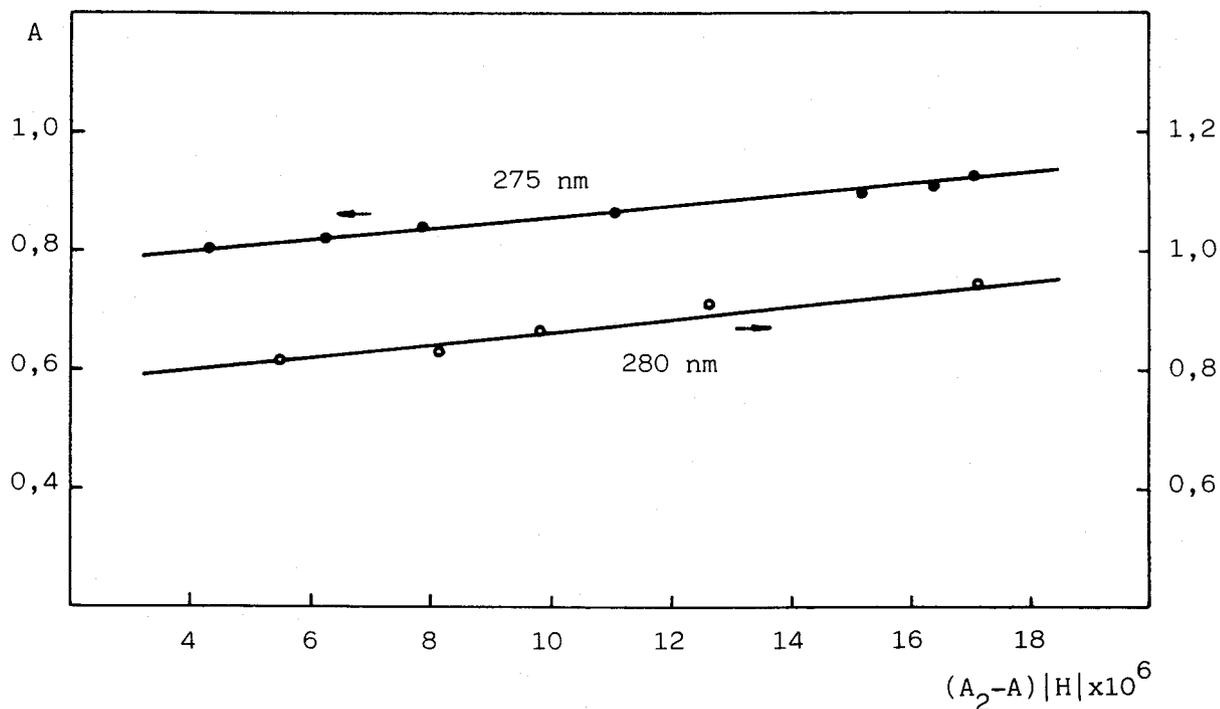


FIGURA 63 * Determinación del pK_{a1} de la FGMPH por el método de las rectas paralelas.

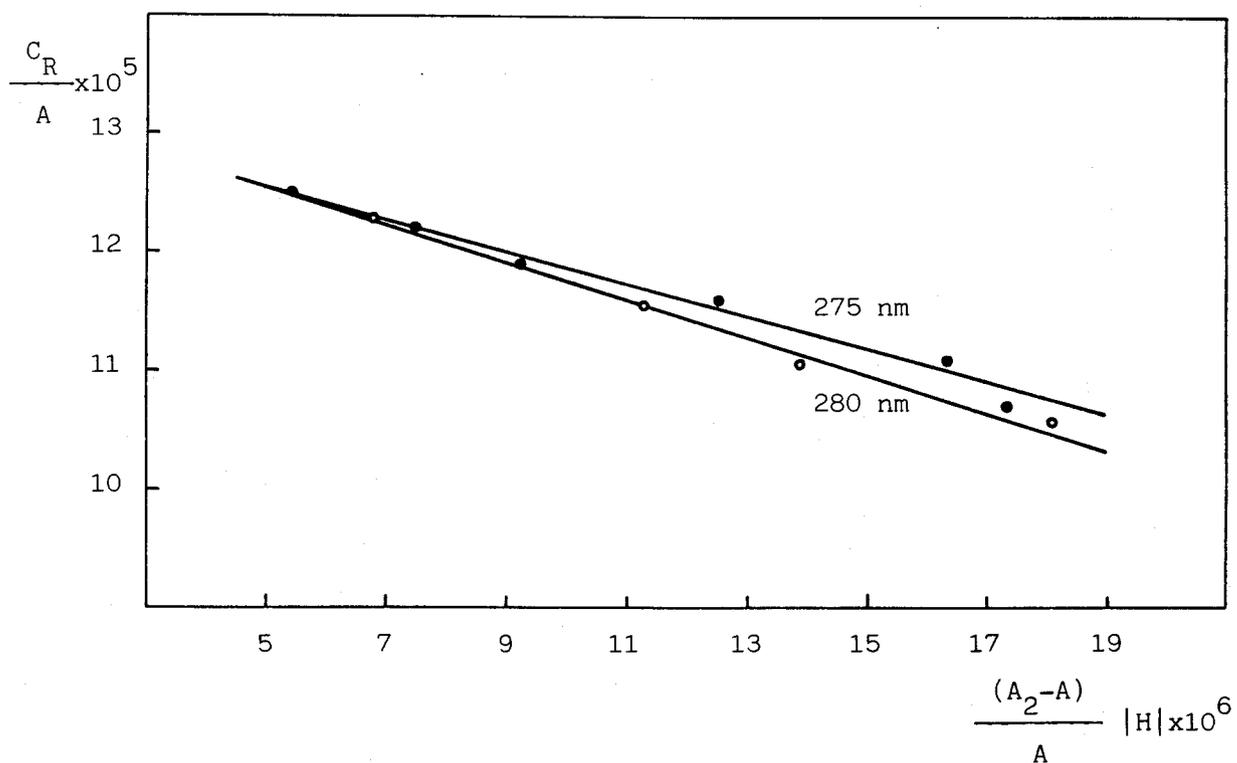


FIGURA 64 * Determinación del pK_{a1} de la FGMPH por el método de Agren-Sommer.

TABLA 52 * EVALUACION DEL pKa DEL NITROGENO PIRIDINICO DE LA FGMPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION.

A) CONCURRENTES; B) PARALELAS; C) AGREN-SOMMER.

λ (nm)	A_2	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_1	pKa ₁
A)	275	Y= - 5,005 - 4,557 E04 X	0,9998	6	0,763	3,959
	280	Y= - 3,021 - 5,308 E04 X	0,9995	6	0,692	4,245
B)	275	Y= 0,758 + 9,854 E03 X	0,9920	7	0,758	3,994
	280	Y= 0,743 + 1,214 E04 X	0,9870	5	0,743	4,084
C)	275	Y= 1,323 E-04 + 1,338 X	0,9915	6	0,756	4,005
	280	Y= 1,331 E-04 + 1,553 X	0,9929	4	0,751	4,067

TABLA 53 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA BMPH ($C_R = 4 \times 10^{-4}$ M, 40 % ETANOL)

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a								
	396	400	406	410	416	420	425	430	434
1,11	0,314	0,201	0,100	0,063	0,027	0,015	0,005	0,000	0,001
1,21	0,315	0,203	0,102	0,065	0,031	0,017	0,007	0,005	0,004
1,40	0,313	0,201	0,101	0,069	0,032	0,016	0,007	0,003	0,004
1,60	0,317	0,205	0,106	0,064	0,030	0,017	0,007	0,003	0,003
1,99	0,330	0,213	0,109	0,071	0,034	0,020	0,010	0,003	0,004
2,28	0,342	0,221	0,114	0,074	0,036	0,021	0,011	0,006	0,006
2,72	0,380	0,247	0,128	0,084	0,042	0,026	0,014	0,007	0,007
2,93	0,406	0,265	0,140	0,094	0,049	0,031	0,018	0,010	0,010
3,25	0,442	0,295	0,162	0,108	0,054	0,037	0,023	0,015	0,014
3,50	0,472	0,316	0,175	0,117	0,065	0,043	0,026	0,017	0,015
3,87	0,518	0,358	0,204	0,145	0,087	0,063	0,045	0,033	0,031
4,25	0,577	0,412	0,254	0,194	0,132	0,105	0,082	0,066	0,058
4,69	0,655	0,498	0,344	0,283	0,216	0,183	0,151	0,125	0,109
4,96	0,712	0,552	0,397	0,335	0,264	0,226	0,190	0,159	0,139
5,32	0,799	0,642	0,488	0,422	0,346	0,304	0,258	0,217	0,190
5,61	0,844	0,687	0,532	0,466	0,387	0,342	0,291	0,248	0,217
5,73	0,875	0,712	0,551	0,480	0,402	0,353	0,300	0,247	0,215
6,30	0,940	0,768	0,600	0,524	0,436	0,386	0,329	0,276	0,240
6,53	0,912	0,751	0,590	0,517	0,431	0,383	0,329	0,274	0,239
6,65	0,885	0,732	0,574	0,502	0,420	0,373	0,318	0,265	0,230

- CONTINUACION -

TABLA 53 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA BMPH ($C_R = 4 \times 10^{-4}$ M, 40 % ETANOL)

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a								
	396	400	406	410	416	420	425	430	434
6,71	0,878	0,715	0,558	0,488	0,402	0,354	0,301	0,254	0,223
6,96	0,896	0,750	0,598	0,531	0,447	0,397	0,340	0,290	0,254
6,95	0,861	0,700	0,541	0,473	0,390	0,344	0,292	0,247	0,217
7,55	0,893	0,746	0,598	0,532	0,447	0,397	0,340	0,287	0,250
7,64	0,925	0,765	0,605	0,535	0,451	0,401	0,345	0,290	0,253
7,69	0,877	0,731	0,583	0,512	0,431	0,382	0,328	0,276	0,240
7,84	0,880	0,730	0,577	0,511	0,428	0,379	0,324	0,275	0,241
8,03	0,843	0,672	0,506	0,436	0,356	0,312	0,267	0,224	0,196
8,20	0,826	0,669	0,515	0,447	0,367	0,321	0,272	0,230	0,200
8,47	0,824	0,670	0,519	0,449	0,370	0,326	0,278	0,234	0,204
9,26	0,835	0,680	0,522	0,456	0,379	0,335	0,287	0,243	0,214
9,99	0,815	0,655	0,500	0,427	0,350	0,303	0,260	0,224	0,200
10,40	0,841	0,655	0,477	0,403	0,323	0,282	0,239	0,203	0,180
10,76	0,790	0,616	0,449	0,378	0,301	0,261	0,221	0,185	0,163
11,21	0,760	0,605	0,450	0,382	0,309	0,270	0,230	0,196	0,173
12,10	0,830	0,675	0,527	0,464	0,396	0,360	0,321	0,286	0,261
12,15	0,842	0,688	0,541	0,480	0,412	0,375	0,336	0,300	0,274
12,50	0,924	0,780	0,645	0,580	0,528	0,493	0,453	0,414	0,384
12,70	0,989	0,849	0,720	0,668	0,612	0,578	0,541	0,501	0,469
> 12,70	1,093	0,967	0,852	0,808	0,759	0,729	0,690	0,646	0,606

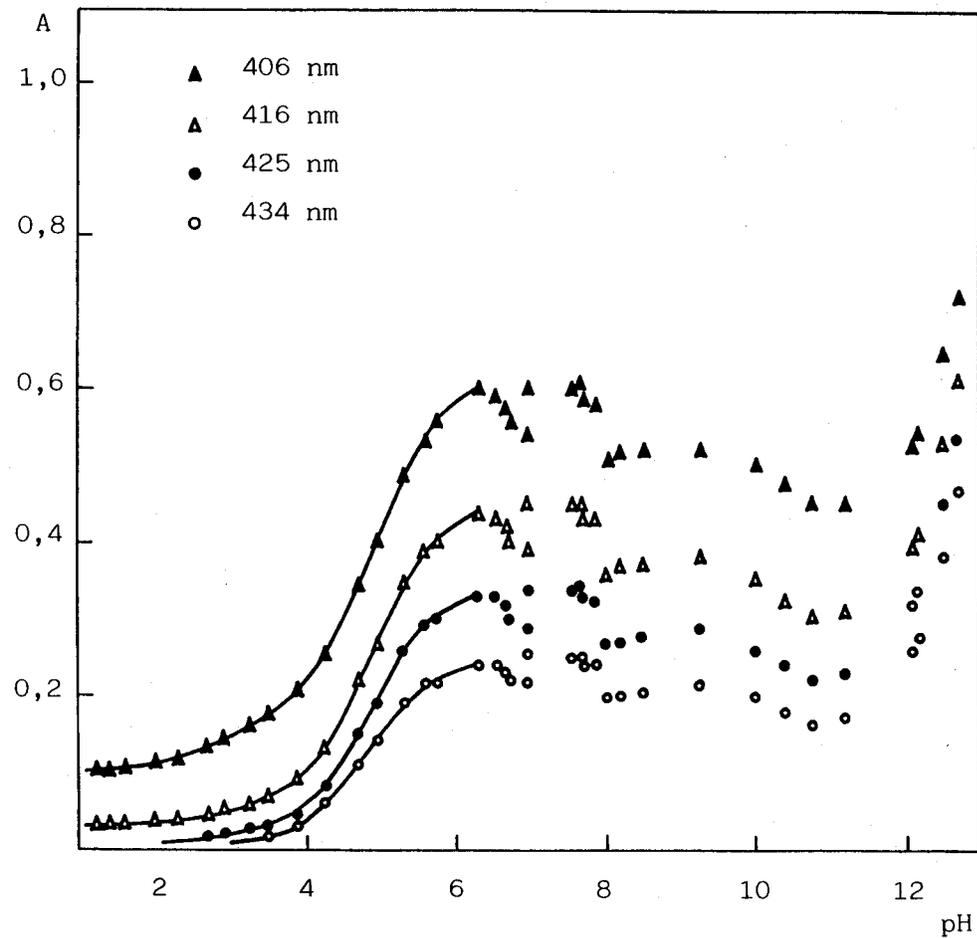
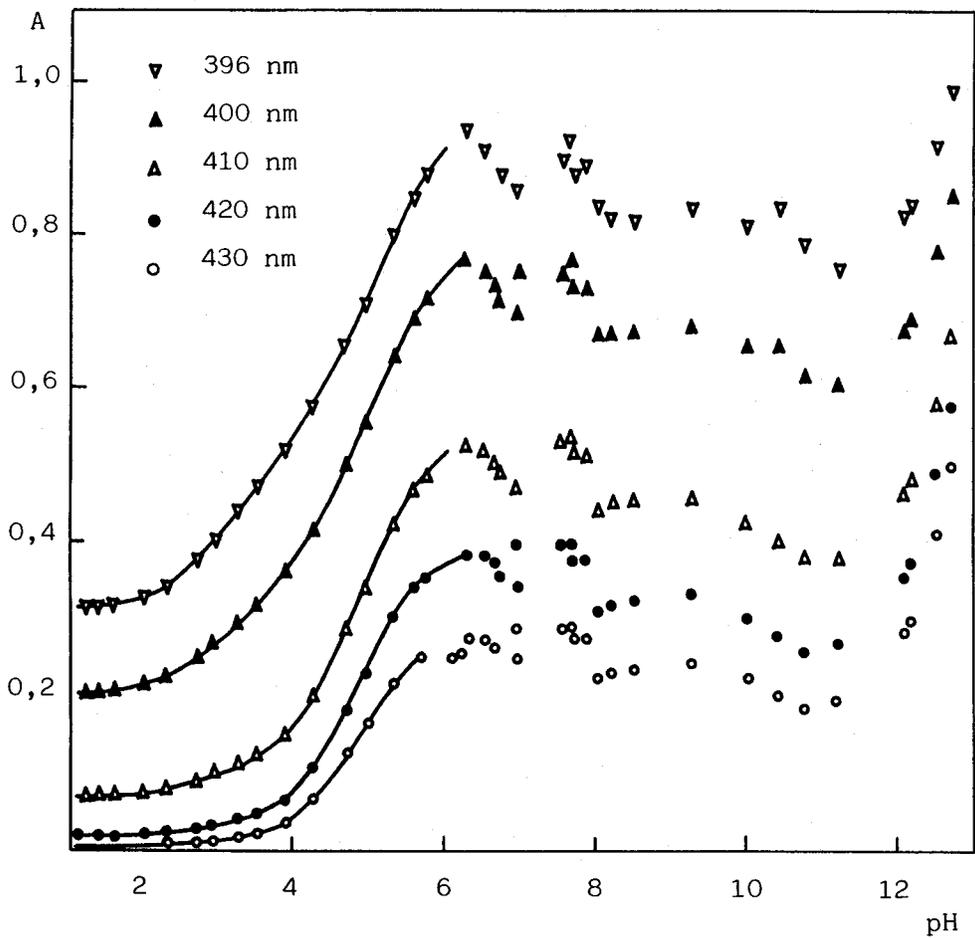


FIGURA 65 * Curvas absorbancia-pH de la BMPH ($C_R = 4 \times 10^{-4}$ M; 40% etanol).

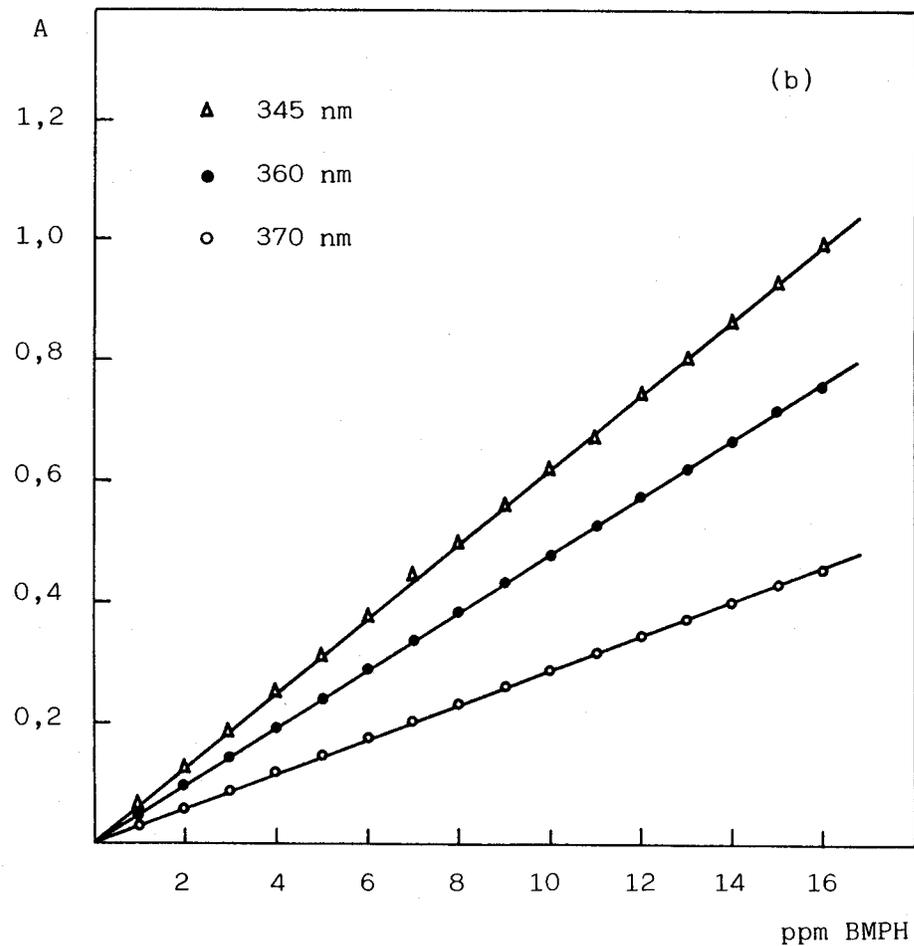
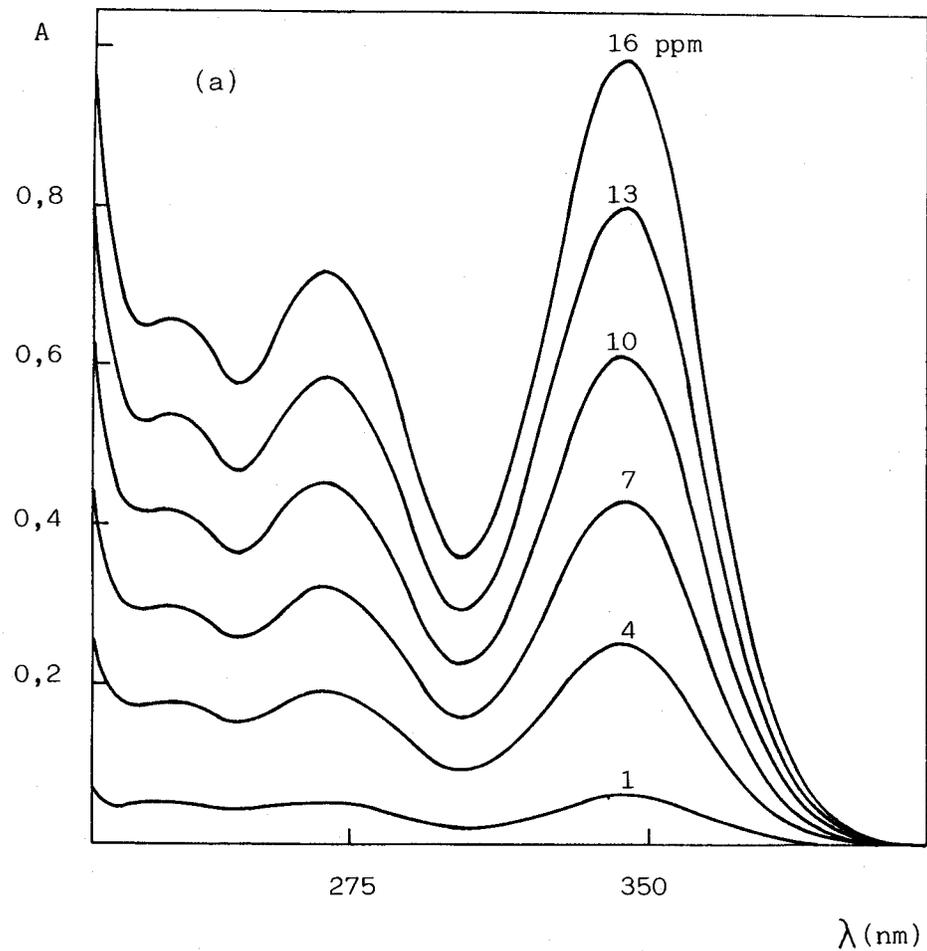


FIGURA 66 * (a) Espectros UV de la BMPH a pH $\sim 0,9$ y C_R variable. (b) Ley de Beer a pH $\sim 0,9$.

TABLA 54 * LEY DE BEER DE LA BMPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~0,9

ppm BMPH	A b s o r b a n c i a						
	320	330	340	345	350	360	370
1	0,035	0,049	0,061	0,062	0,060	0,048	0,029
2	0,070	0,100	0,122	0,125	0,120	0,097	0,058
3	0,101	0,147	0,180	0,186	0,182	0,145	0,088
4	0,143	0,200	0,246	0,253	0,245	0,195	0,119
5	0,175	0,247	0,303	0,313	0,304	0,243	0,147
6	0,206	0,297	0,366	0,378	0,368	0,295	0,177
7	0,244	0,344	0,425	0,438	0,427	0,340	0,206
8	0,279	0,392	0,483	0,498	0,485	0,387	0,235
9	0,312	0,443	0,544	0,562	0,547	0,436	0,264
10	0,337	0,484	0,599	0,618	0,605	0,483	0,290
11	0,382	0,537	0,660	0,672	0,667	0,530	0,321
12	0,406	0,585	0,721	0,748	0,728	0,581	0,350
13	0,450	0,632	0,782	0,805	0,788	0,625	0,377
14	0,485	0,682	0,839	0,866	0,845	0,672	0,404
15	0,505	0,727	0,900	0,930	0,910	0,725	0,435
16	0,556	0,794	0,970	0,998	0,965	0,761	0,455

TABLA 55 * RECTAS DE REGRESION CORRESPONDIENTES A LA LEY DE BEER DE LA BMPH A DISTINTAS
LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~0,9

λ (nm)	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	S_A	S_B	$S_{y/x}$	Cov(A,B)
320	$Y = 0,0021 + 0,0342 X$	0,9996	16	0,0091	0,0003	0,0049	-6,0728 E-07
330	$Y = 0,0021 + 0,0487 X$	0,9998	16	0,0080	0,0002	0,0044	-4,7519 E-07
340	$Y = 0,0026 + 0,0600 X$	0,9999	16	0,0058	0,0002	0,0031	-2,4632 E-07
345	$Y = 0,0024 + 0,0619 X$	0,9999	16	0,0076	0,0002	0,0041	-4,2376 E-07
350	$Y = 0,0018 + 0,0604 X$	1,0000	16	0,0039	0,0001	0,0021	-1,1151 E-07
360	$Y = 0,0034 + 0,0479 X$	0,9999	16	0,0058	0,0002	0,0032	-2,4965 E-07
370	$Y = 0,0033 + 0,0287 X$	0,9998	16	0,0050	0,0002	0,0027	-1,8450 E-07

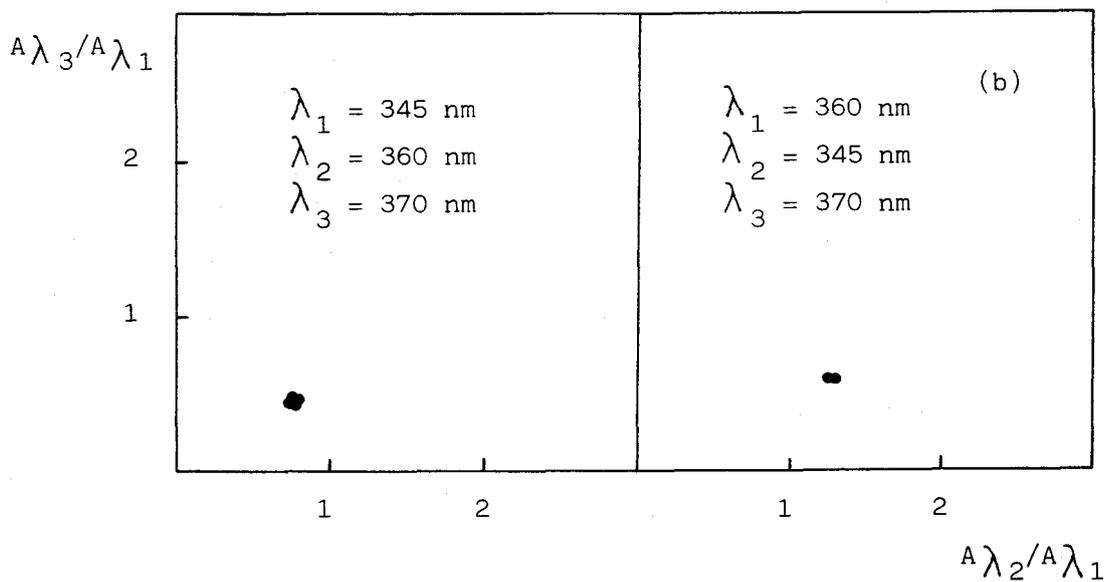
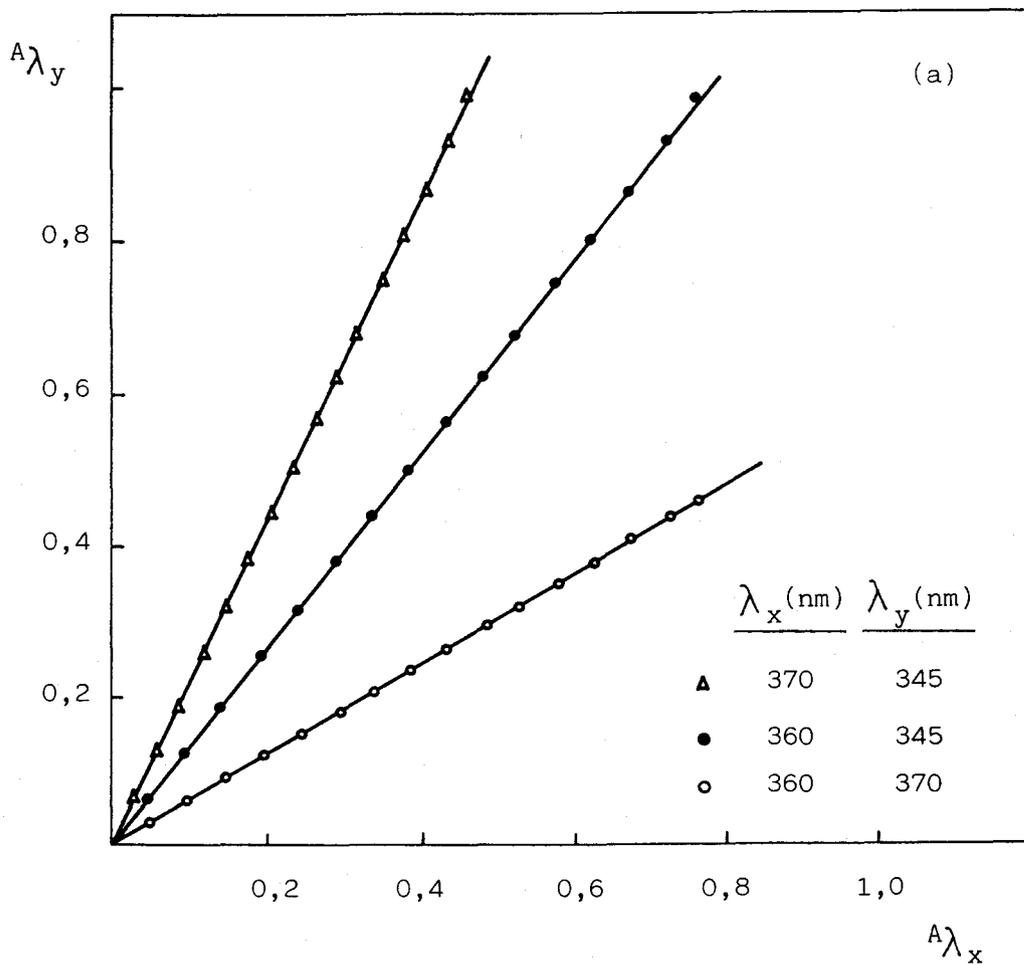


FIGURA 67 * Determinación del número de especies absorbentes en disolución a pH = 0,9 y |BMPH| variable. (a) Una especie; (b) Dos especies.

TABLA 56 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DE LA BMPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M, 20 % ETANOL).

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a						
	342	350	400	410	420	430	440
8,87	0,736	0,746	0,087	0,048	0,032	0,027	0,028
10,12	0,741	0,751	0,085	0,046	0,031	0,026	0,025
10,55	0,744	0,756	0,089	0,049	0,034	0,028	0,027
10,85	0,741	0,751	0,092	0,055	0,041	0,036	0,038
11,30	0,741	0,751	0,103	0,067	0,052	0,046	0,044
11,39	0,707	0,719	0,136	0,107	0,096	0,088	0,080
12,33	0,671	0,685	0,180	0,159	0,152	0,143	0,127
12,56	0,644	0,661	0,221	0,208	0,205	0,194	0,170
12,71	0,619	0,637	0,261	0,256	0,256	0,244	0,216
12,78	0,603	0,614	0,294	0,294	0,297	0,283	0,248
12,95	0,556	0,580	0,364	0,378	0,388	0,371	0,324
13,12	0,504	0,531	0,448	0,476	0,494	0,474	0,414
13,22	0,467	0,496	0,482	0,519	0,540	0,519	0,453
13,40	0,414	0,448	0,572	0,625	0,654	0,628	0,547

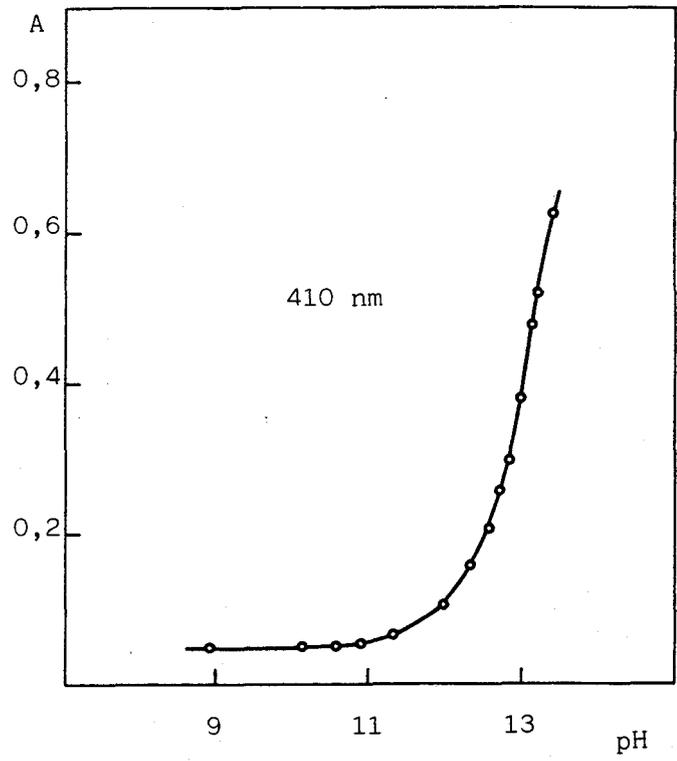
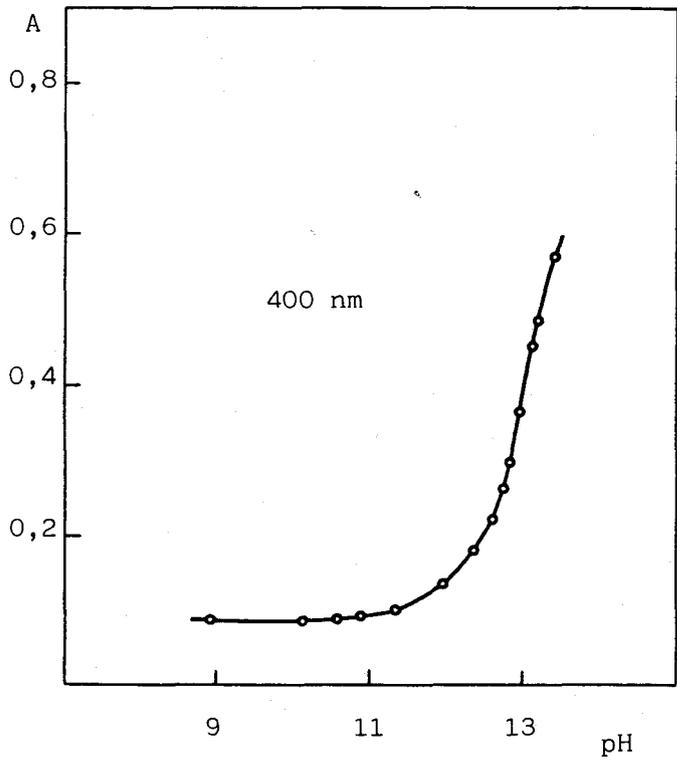
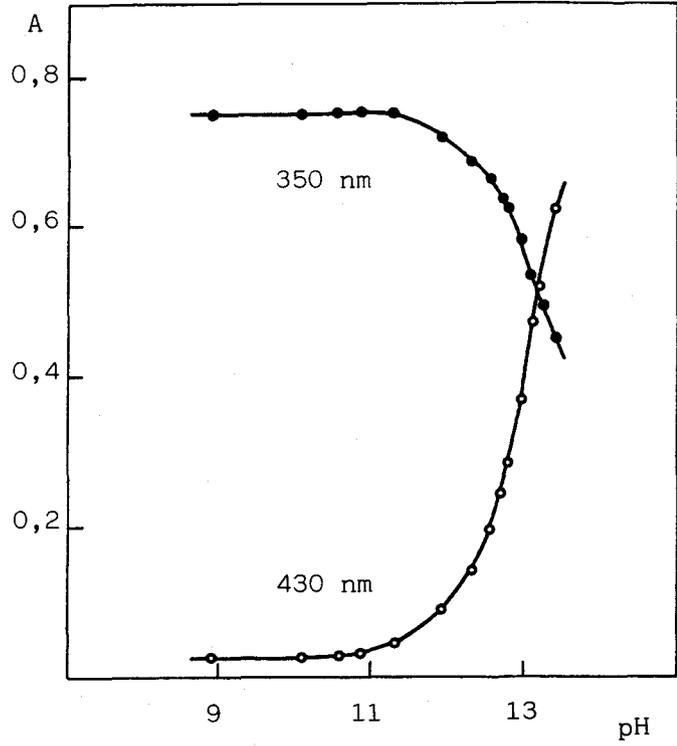
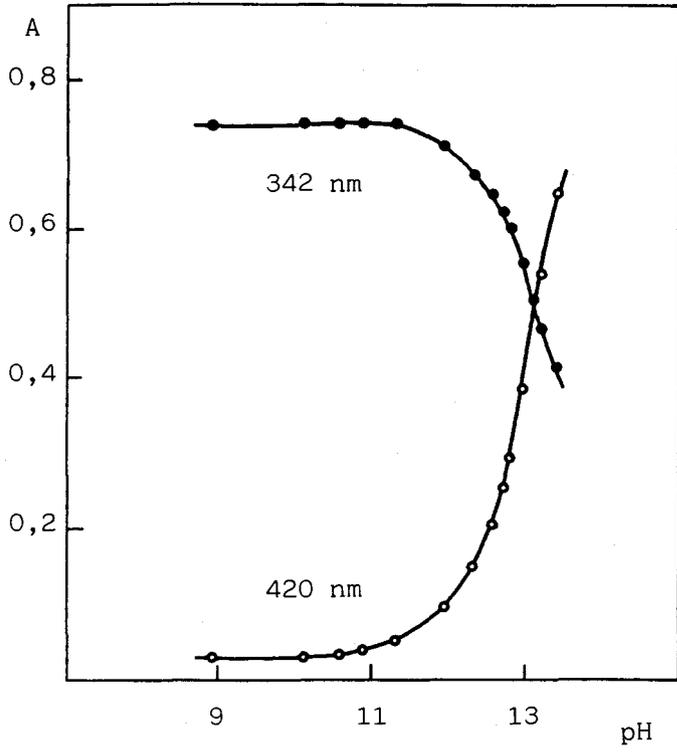


FIGURA 68 * Curvas absorbancia-pH de la BMPH ($C_R = 4 \times 10^{-5}$ M; 20% etanol).

TABLA 57 * LEY DE BEER DE LA BMPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~8,5

ppm BMPH	A b s o r b a n c i a						
	320	330	340	346	352	360	370
1	0,043	0,055	0,066	0,067	0,066	0,057	0,042
2	0,082	0,125	0,130	0,134	0,130	0,115	0,084
3	0,123	0,164	0,193	0,200	0,197	0,172	0,126
4	0,157	0,212	0,252	0,262	0,253	0,224	0,163
5	0,203	0,270	0,320	0,329	0,320	0,280	0,206
6	0,235	0,318	0,379	0,392	0,380	0,335	0,245
7	0,274	0,368	0,437	0,451	0,438	0,384	0,280
8	0,309	0,419	0,500	0,516	0,502	0,442	0,322
9	0,353	0,473	0,562	0,580	0,562	0,494	0,362
10	0,380	0,517	0,617	0,638	0,620	0,546	0,398
11	0,430	0,582	0,686	0,703	0,682	0,597	0,435
12	0,455	0,620	0,739	0,762	0,742	0,654	0,476
13	0,502	0,677	0,803	0,827	0,802	0,706	0,516
14	0,528	0,719	0,859	0,887	0,862	0,759	0,554
15	0,580	0,787	0,929	0,955	0,925	0,807	0,588

TABLA 58 * RECTAS DE REGRESION CORRESPONDIENTES A LA LEY DE BEER DE LA BMPH A DISTINTAS
LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~8,5

λ (nm)	Ecuación de la Recta	Coficiente Correlación	n	S _A	S _B	S _{y/x}	Cov(A,B)
320	Y = 0,0082 + 0,0378 X	0,9996	15	0,0091	0,0003	0,0049	-6,9103 E-07
330	Y = 0,0111 + 0,0512 X	0,9997	15	0,0113	0,0036	0,0061	-1,0608 E-06
340	Y = 0,0092 + 0,0611 X	0,9999	15	0,0065	0,0002	0,0035	-3,5182 E-07
346	Y = 0,0103 + 0,0629 X	0,9999	15	0,0058	0,0002	0,0032	-2,8337 E-07
352	Y = 0,0108 + 0,0610 X	0,9999	15	0,0054	0,0002	0,0029	-2,4368 E-07
360	Y = 0,0099 + 0,0535 X	0,9999	15	0,0059	0,0002	0,0032	-2,8694 E-07
370	Y = 0,0078 + 0,0390 X	0,9999	15	0,0049	0,0002	0,0027	-2,0307 E-07

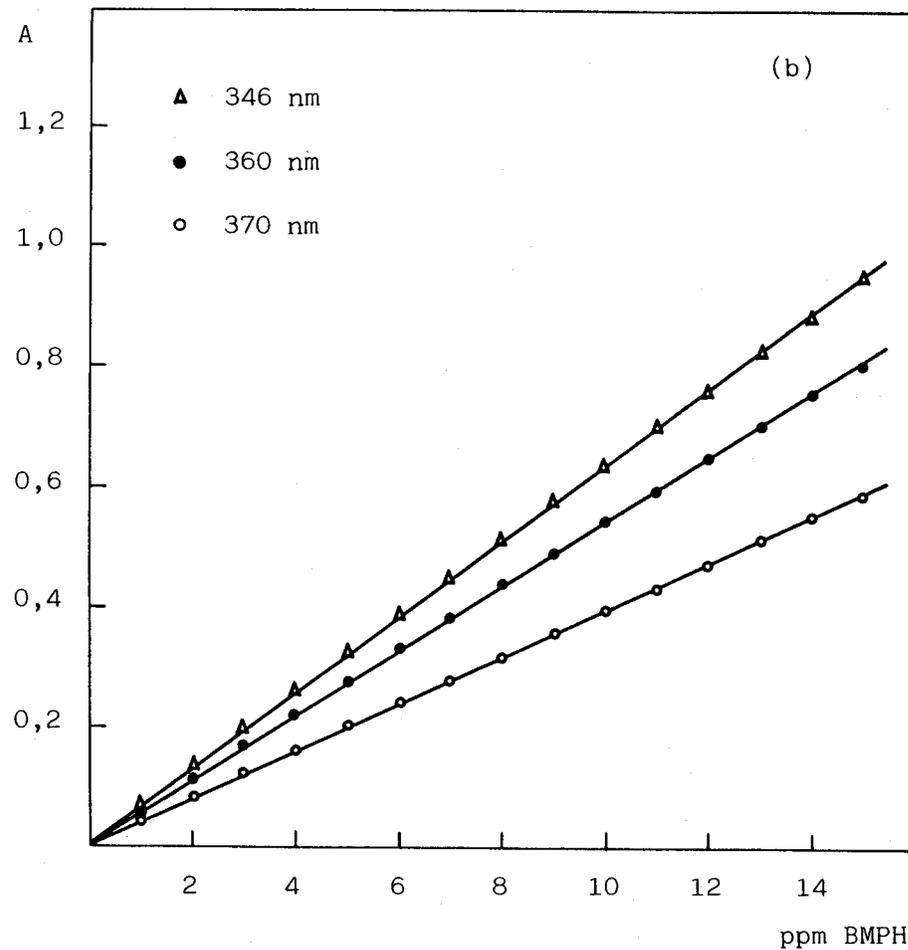
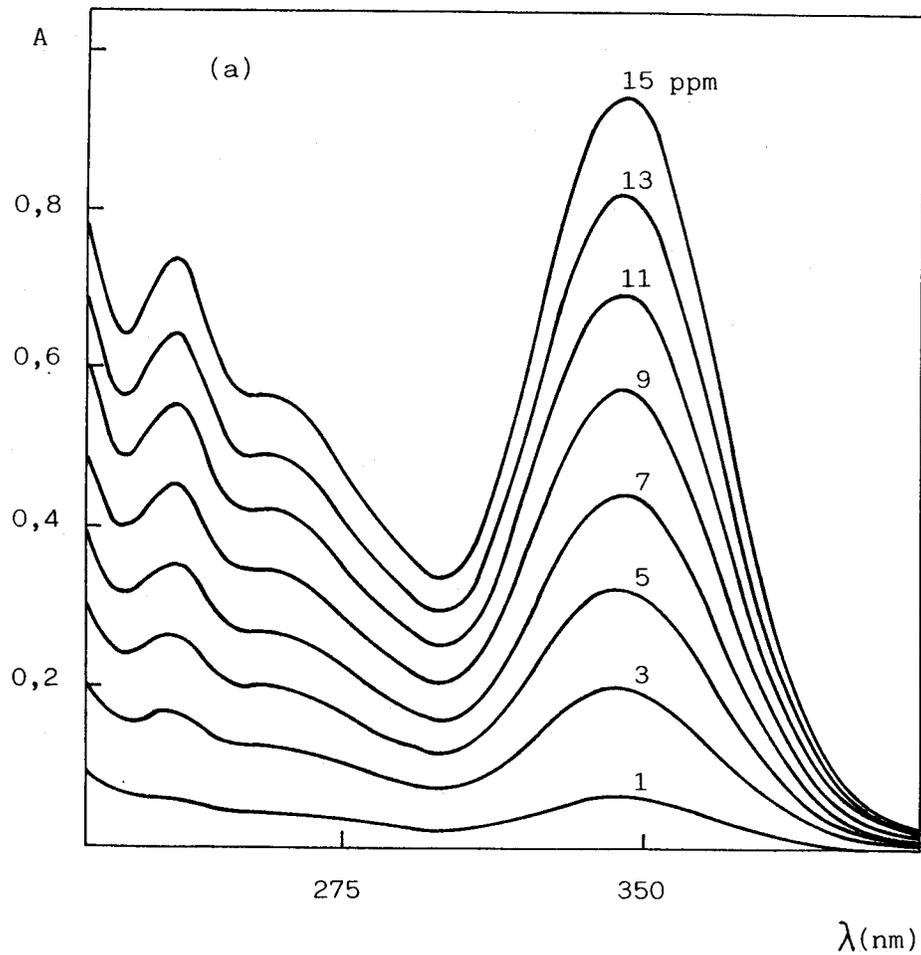


FIGURA 69 * (a) Espectros UV de la BMPH a pH $\sim 8,5$ y C_R variable. (b) Ley de Beer a pH $\sim 8,5$.

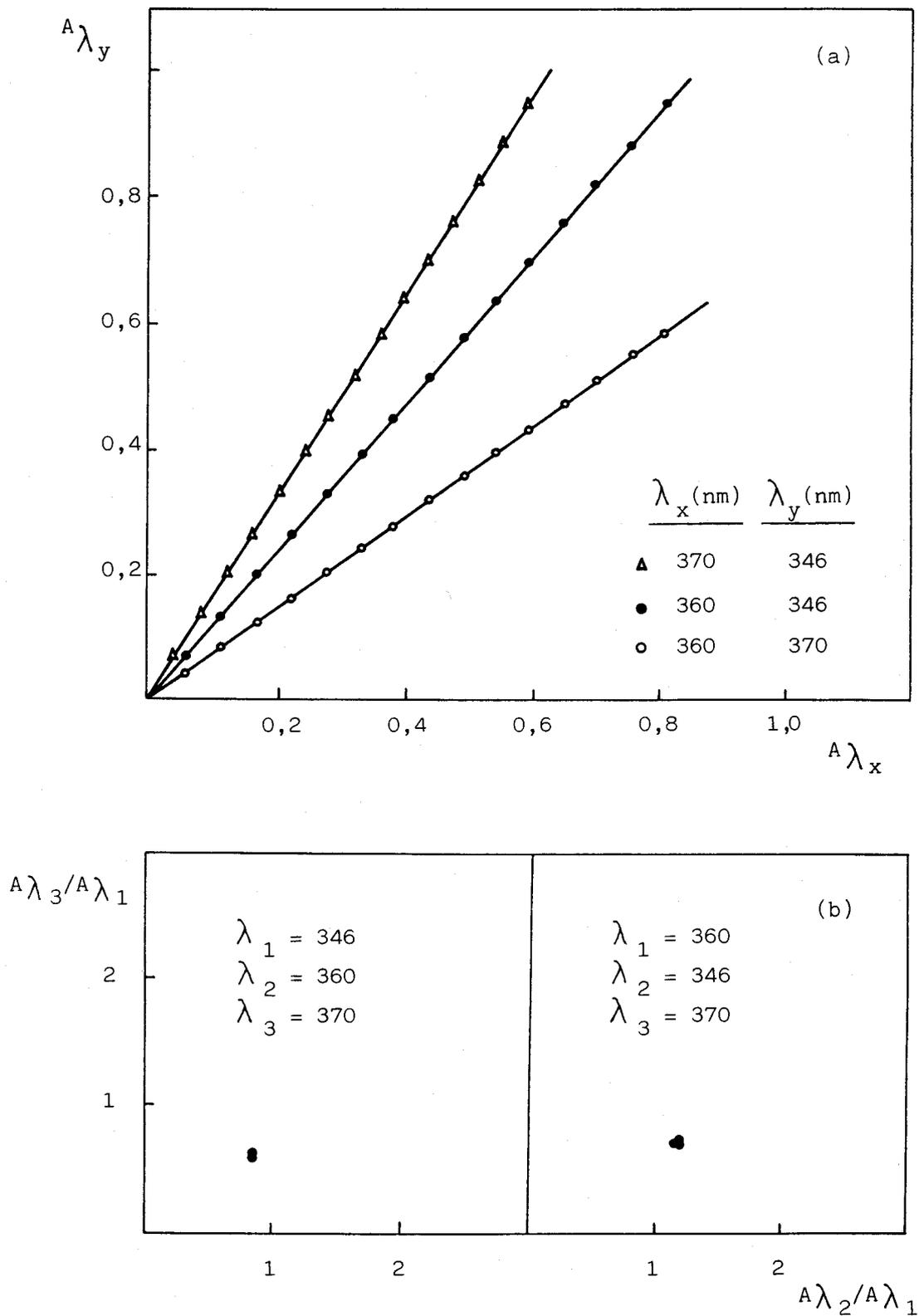


FIGURA 70 * Determinación del número de especies absorbentes en disolución a pH = 8,5 y [BMPH] variable. (a) Una especie; (b) Dos especies.

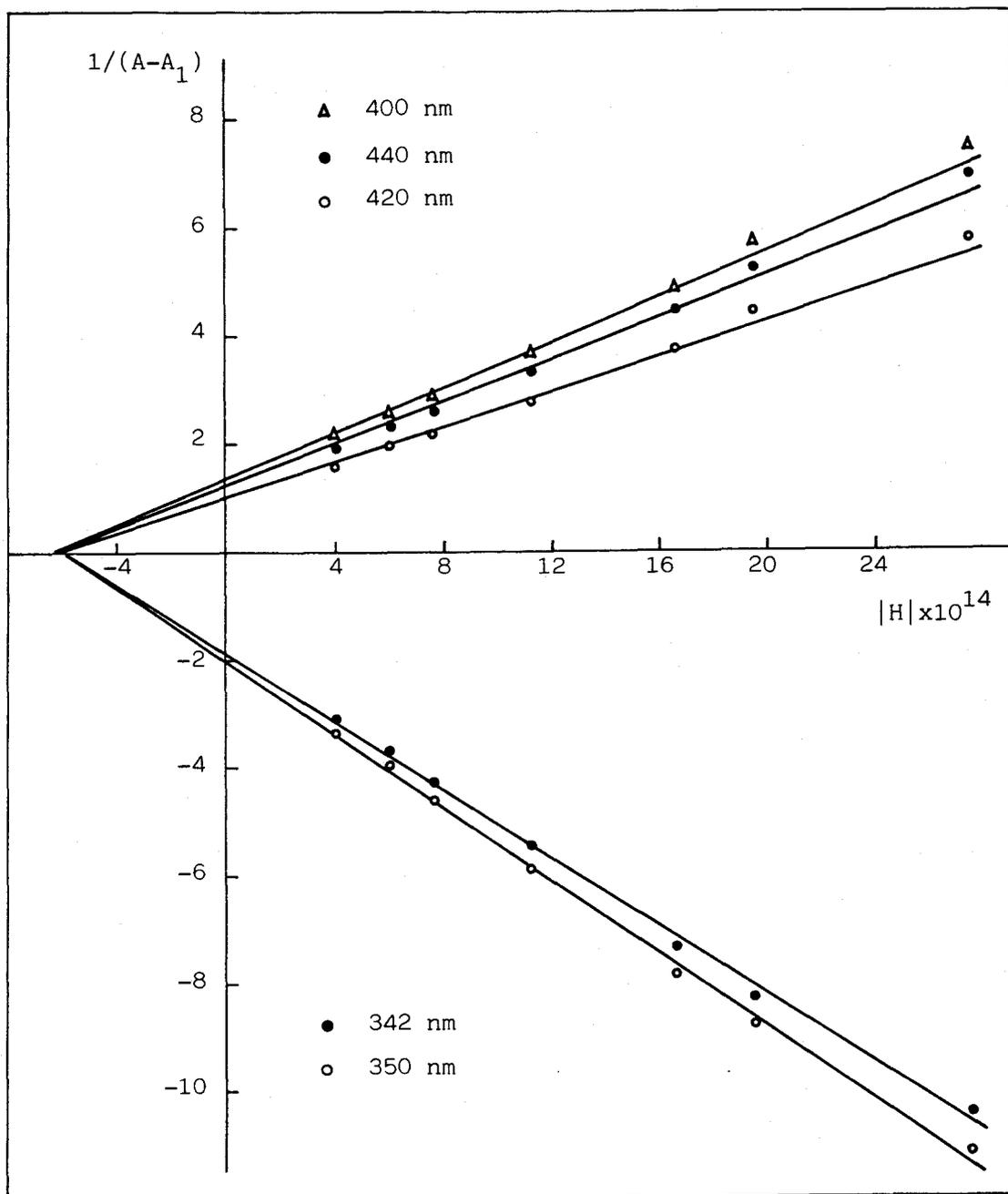


FIGURA 71 * Determinación del pK_{a2} de la BMPH por el método de las rectas concurrentes.

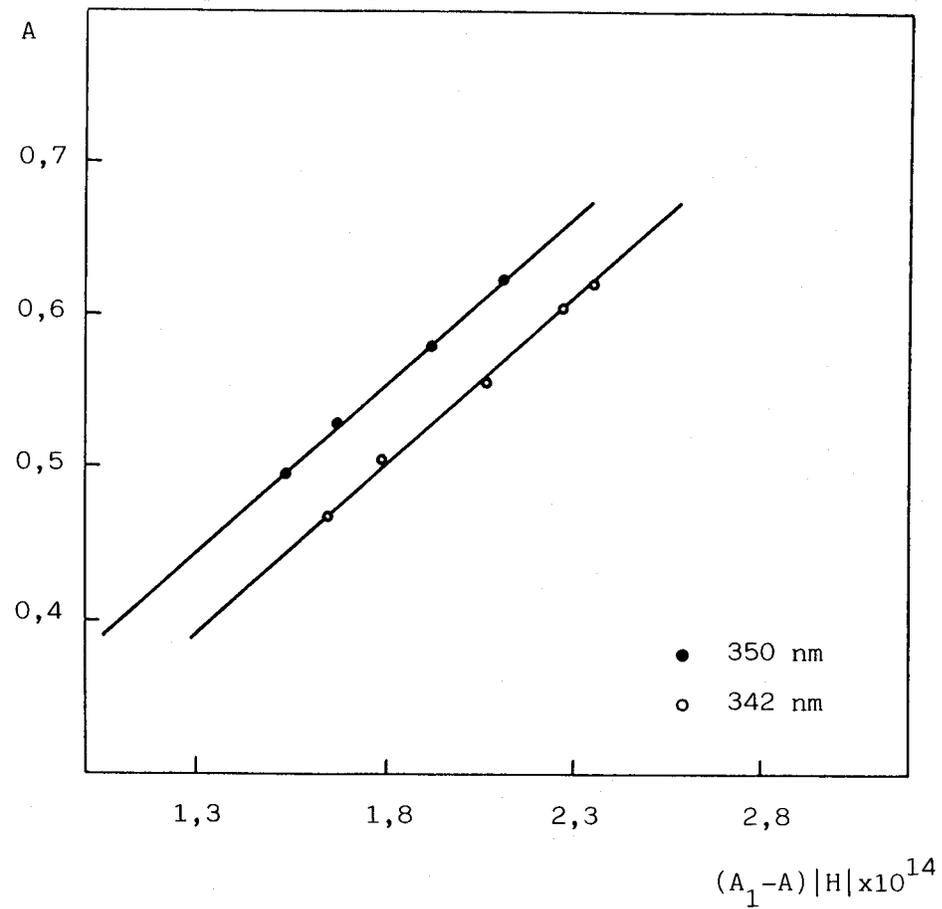
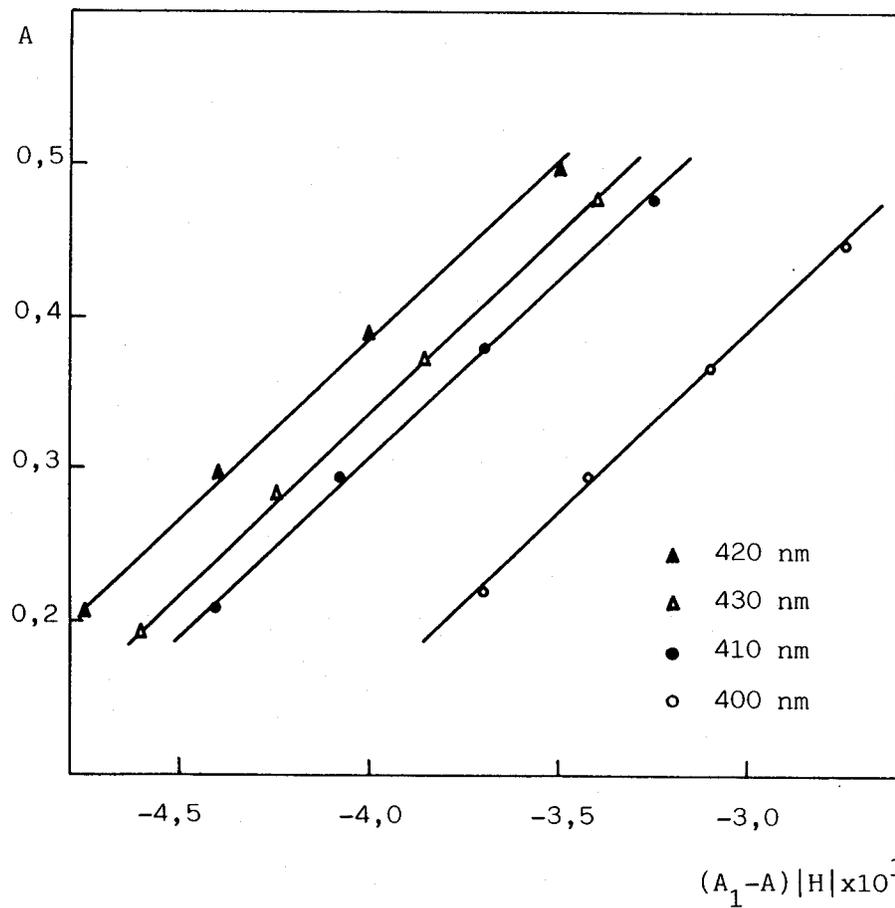


FIGURA 72 * Determinación del pK_{a2} de la BMPH por el método de las rectas paralelas.

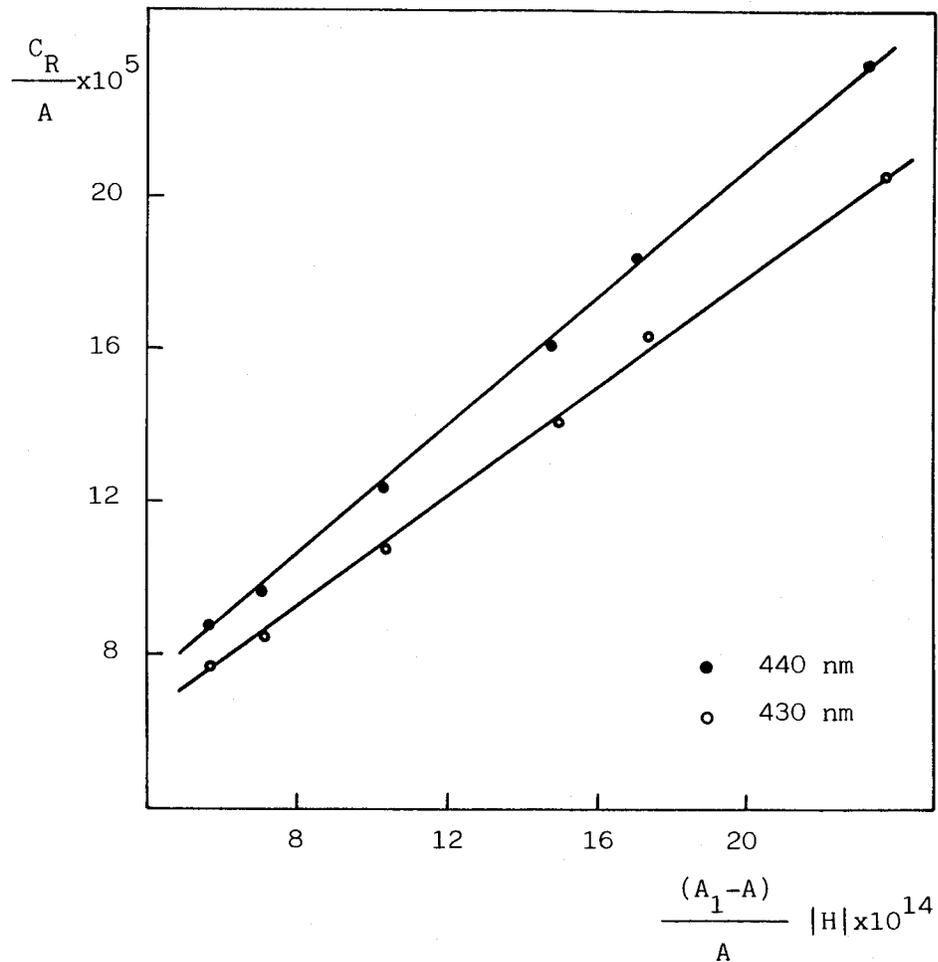
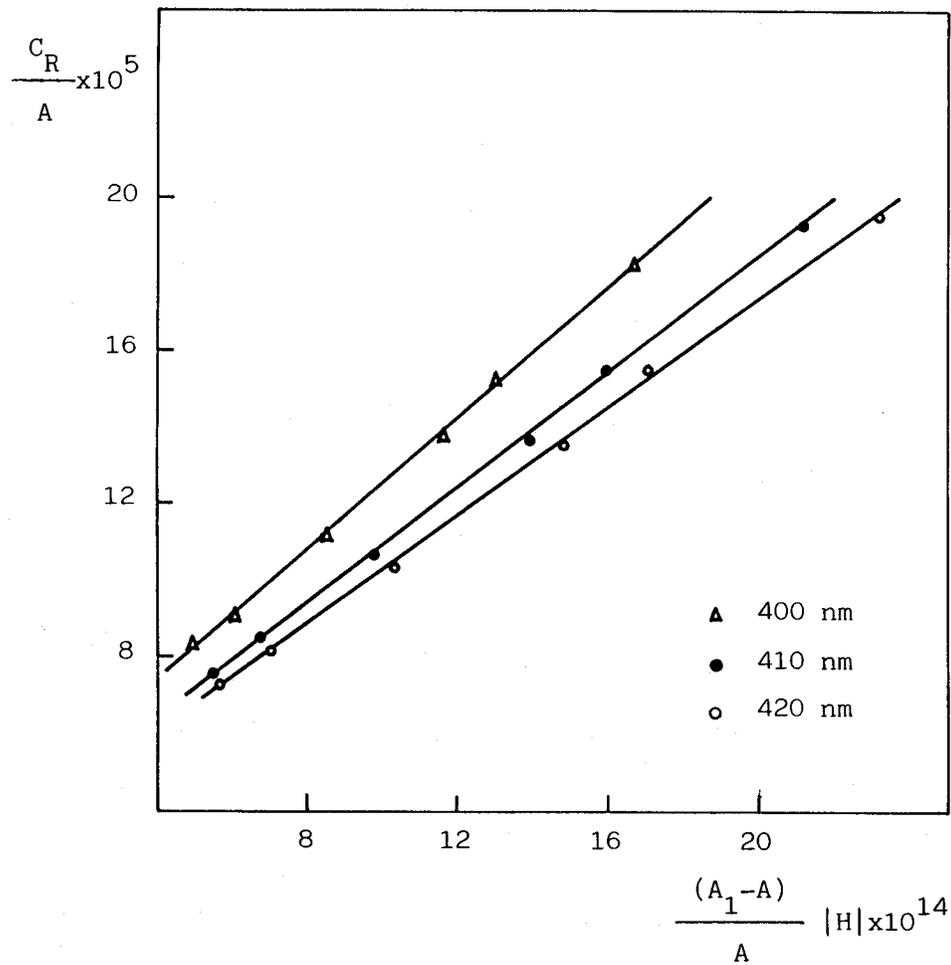


FIGURA 73 * Determinación del pK_{a2} de la BMPH por el método de Agren-Sommer.

TABLA 59 * EVALUACION DEL pKa DEL NITROGENO IMINICO DE LA BMPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION.
METODO DE LAS RECTAS CONCURRENTES.

λ (nm)	A_1	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_0	pKa ₂
342	0,740	Y= - 1,672 - 3,379 E13 X	0,9999	6	0,142	13,305
350	0,751	Y= - 1,822 - 3,594 E13 X	0,9996	6	0,202	13,295
400	0,087	Y= 1,078 + 2,322 E13 X	0,9990	7	1,014	13,333
410	0,048	Y= 0,915 + 1,941 E13 X	0,9992	7	1,141	13,327
420	0,032	Y= 0,852 + 1,796 E13 X	0,9992	7	1,206	13,324
430	0,027	Y= 0,878 + 1,860 E13 X	0,9992	7	1,166	13,326
440	0,027	Y= 0,995 + 2,170 E13 X	0,9994	7	1,032	13,338

TABLA 60 * EVALUACION DEL pKa DEL NITROGENO IMINICO DE LA BMPH A PARTIR DE LAS RECTAS DE REGRESION.

A) PARALELAS; B) AGREN-SOMMER

λ (nm)	A_1	Ecuacion de la Recta	Coefficiente Correlación	n	A_0	pKa ₂
342	0,740	Y= -0,123 + 2,104 E 13 X	0,9992	5	0,123	13,323
350	0,751	Y= 0,161 + 2,194 E 13 X	0,9988	4	0,161	13,341
400	0,087	Y= 1,094 + 2,349 E 13 X	0,9984	4	1,094	13,371
A) 410	0,048	Y= 1,224 + 2,292 E 13 X	0,9989	4	1,224	13,360
420	0,032	Y= 1,298 + 2,285 E 13 X	0,9994	4	1,298	13,359
430	0,027	Y= 1,259 + 2,307 E 13 X	0,9995	4	1,259	13,363
440	0,027	Y= 1,124 + 2,406 E 13 X	0,9985	4	1,124	13,381
400	0,087	Y= 3,837 E-05 + 8,566 E 08 X	0,9980	6	1,043	13,345
410	0,048	Y= 3,517 E-05 + 7,425 E 08 X	0,9989	7	1,137	13,325
B) 420	0,032	Y= 3,323 E-05 + 6,989 E 08 X	0,9989	7	1,204	13,323
430	0,027	Y= 3,436 E-05 + 7,264 E 08 X	0,9991	7	1,164	13,325
440	0,027	Y= 3,732 E-05 + 8,535 E 08 X	0,9993	6	1,072	13,359

III.1.- ESTUDIO DE LA REACCIONABILIDAD DE LA DPGPH CON LOS IONES METALICOS

Los espectros de absorción de la DPGPH a distintos valores de pH se encuentran recogidos en la Figura 49. Este reactivo existe como molécula neutra a valores de pH comprendidos entre 7 y 10, mientras que a valores de pH elevados, ($\text{pH} > 13$), se encuentra totalmente desprotonada. Los estudios realizados previamente han demostrado que la DPGPH posee cinco constantes de acidez: pKa_1 y $\text{pKa}_2 < 0,5$; $\text{pKa}_3 \sim 2,5$; $\text{pKa}_4 \sim 5,2$ y $\text{pKa}_5 \sim 11,5$. Aunque es soluble en medio ácido, la DPGPH se disuelve en etanol con vistas a su empleo en análisis, dado que en medio ácido la molécula pierde su capacidad de quelación con los iones metálicos, debido a la protonación de los nitrógenos piridínicos.

Se ha estudiado la reaccionabilidad que presenta la DPGPH con iones metálicos comunes de transición en dos medios de pH:

- a) añadiendo a las muestras 2 ml de tampón ácido acético/acetato sódico de pH 4,7, y
- b) en presencia de 1,5 ml de tampón ácido bórico/hidróxido sódico de pH 8,6.

En ambos casos se utilizaron 2,5 ml de disolución de DPGPH al 0,1% en etanol, por lo que el porcentaje final de éste en las muestras era de un 10% v/v.

Los espectros de absorción de las disoluciones coloreadas obtenidas se muestran en las Figuras 74-76. Resulta destacable la escasa absorción del reactivo a valores de longitudes de onda superiores a 500 nm; así como el gran desplazamiento batocrómico que se produce con la reacción de complejación. En medio acético/acetato, sólo Co(II), Cu(II), Pd(II), Fe(III) y Fe(II) originan una reacción apreciable con el reactivo. A valores de pH más alcalinos, se exalta la reactividad y otros iones, tales como Ni(II), Zn(II), Cd(II), Mn(II), Hg(II) y Pb(II) dan lugar a reacciones coloreadas. Las características espectrofotométricas de los complejos formados en cada medio de reacción se incluyen en las Tablas 62 y 63. Como regla general puede decirse que los complejos formados son extraíbles en cloroformo.

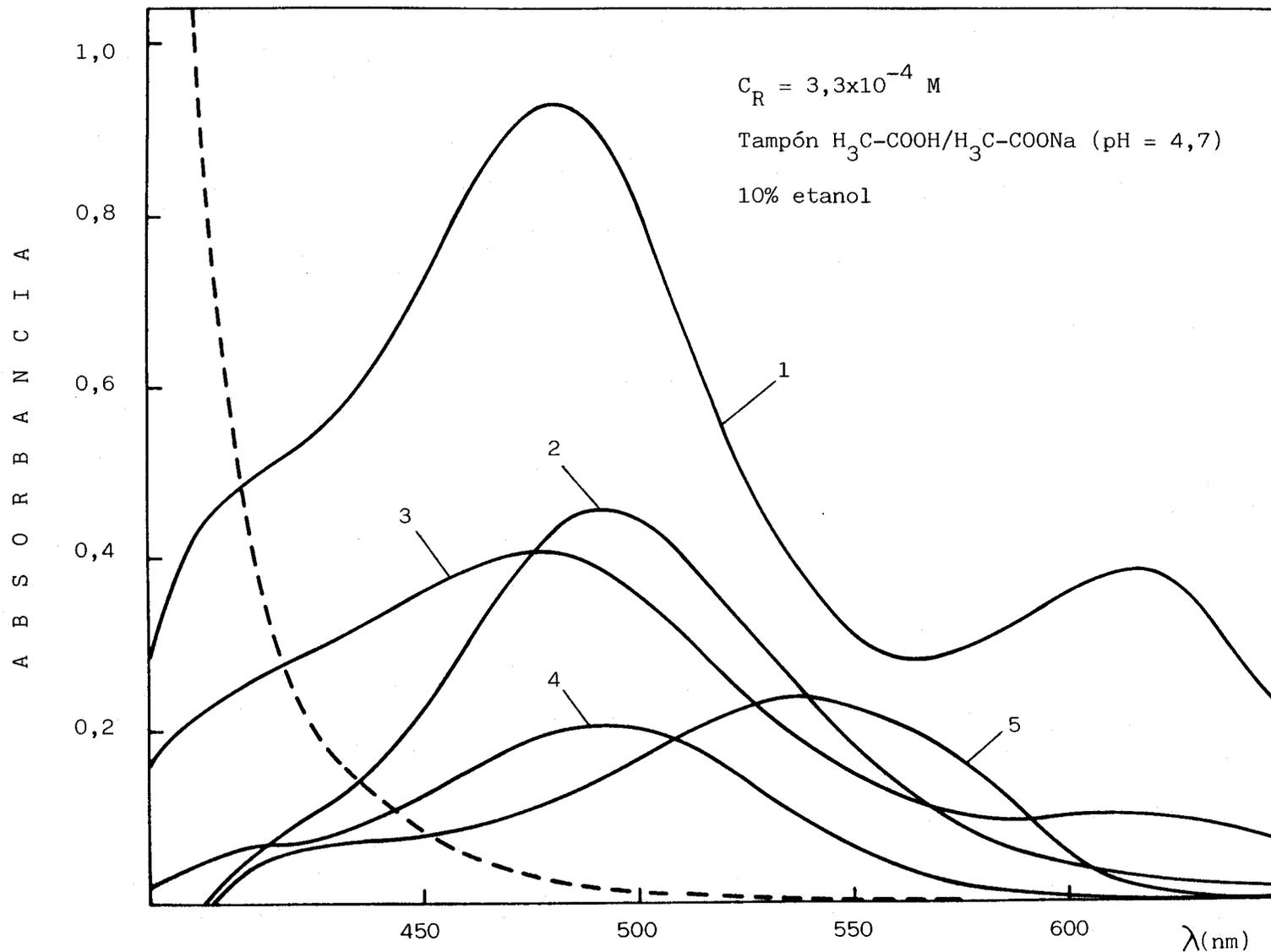


FIGURA 74 * Espectros de absorción de los productos de reacción de la DPGPH con iones metálicos. (1) 2 ppm Fe(II); (2) 1 ppm Co(II); (3) 2 ppm Fe(III); (4) 1 ppm Cu(II); (5) 2 ppm Pd(II). A trazos el blanco de reactivo.

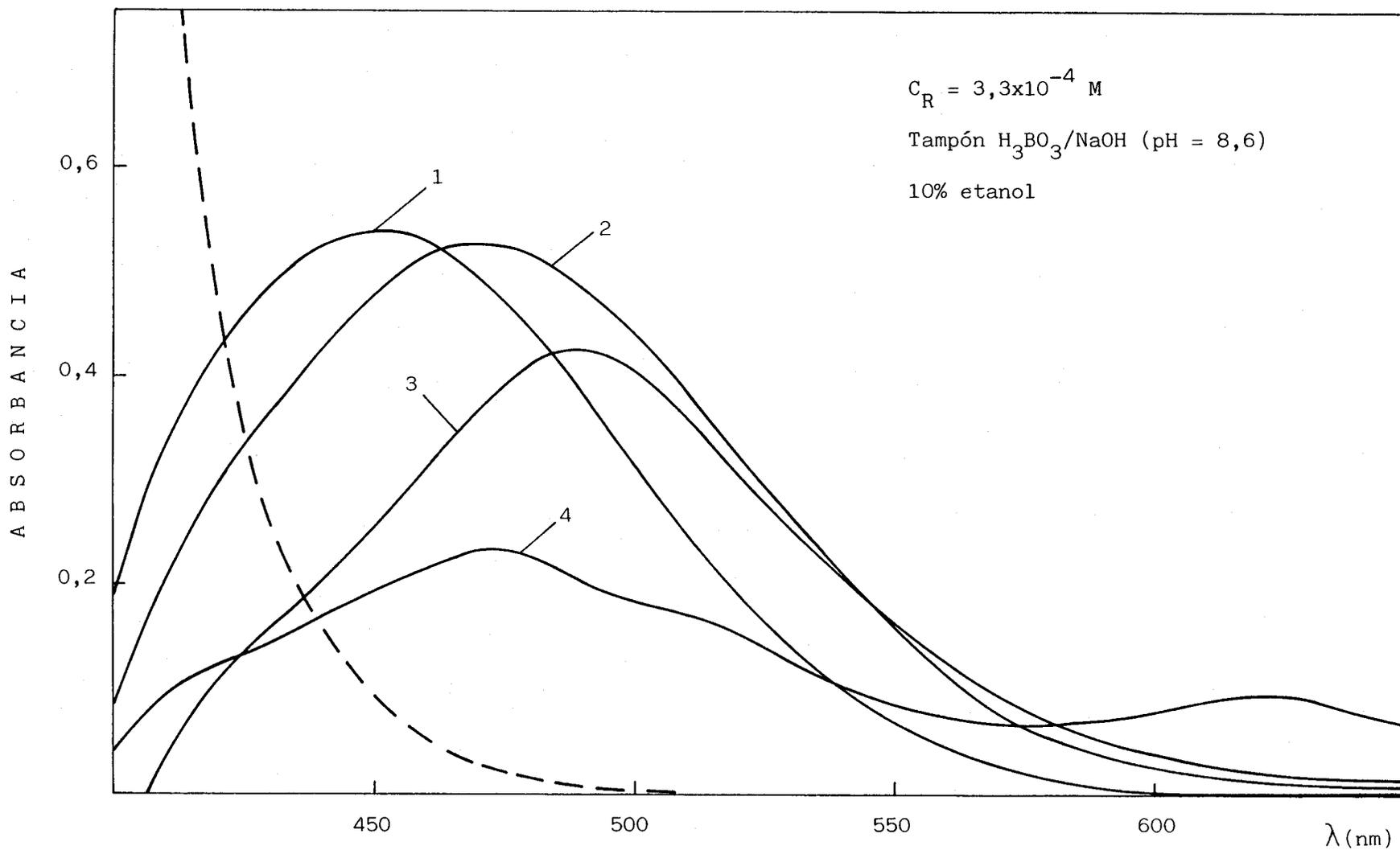


FIGURA 75 * Espectros de absorción de los productos de reacción de la DPGPH con iones metálicos.
 (1) 2 ppm de Cd(II); (2) 1 ppm Zn(II); (3) 1 ppm Co(II); (4) 1 ppm Fe(II).
 A trazos el blanco de reactivo.

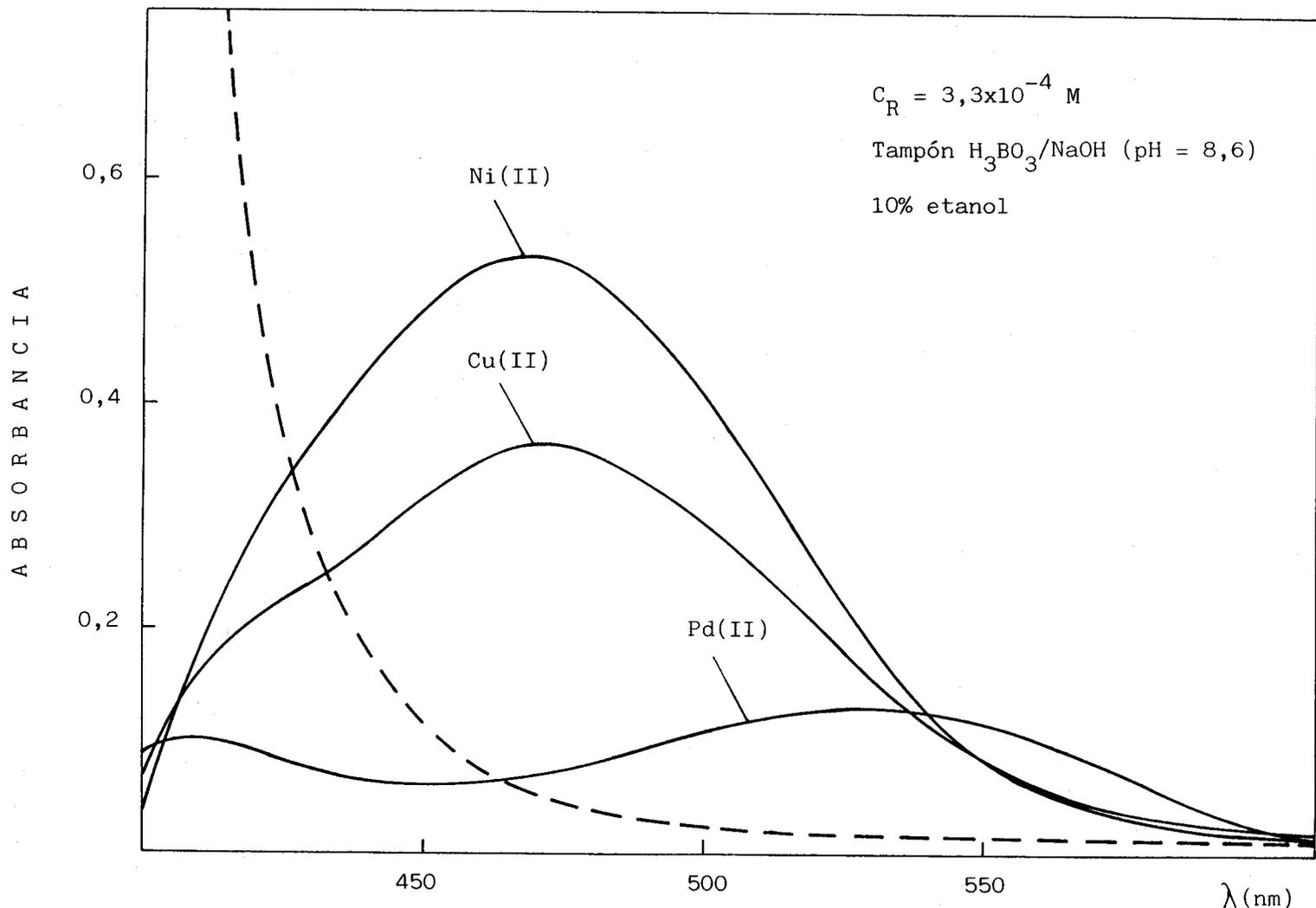


FIGURA 76 * Espectros de absorción de los productos de reacción de la DPGPH con iones metálicos (1 ppm). A trazos el blanco de reactivo.

TABLA 62 * REACCIONABILIDAD DE LA DPGPH EN TAMPON ACIDO ACETICO/ACETATO SODICO:
RESUMEN DE LAS CARACTERISTICAS ESPECTROFOTOMETRICAS DE LOS COMPLEJOS FORMADOS.

Cación	ppm	pH muestra	Color	λ máx.	Amáx.	ϵ ($l.mol^{-1}.cm^{-1}$)	Extr. $CHCl_3$
Co(II)	1	4,73	Naranja rojizo	492	0,451	26.600	Rosa oscuro
Cu(II)	1	4,73	Naranja	494	0,210	13.300	Rosa
Pd(II)	2	4,67	Púrpura claro	537	0,239	12.700	Violeta
Fe(III)	2	4,75	Verde aceitunado (pasa a marrón)	477 620*	0,408 0,100	11.400 2.800	Marrón claro
Fe(II)	2	4,76	Verde aceituna oscuro (tonalidad marrón)	482 620*	0,930 0,385	26.000 10.700	Marrón claro

(*) Máximo secundario

TABLA 63 * REACCIONABILIDAD DE LA DPGPH EN TAMPON ACIDO BORICO/HIDROXIDO SODICO:
RESUMEN DE LAS CARACTERISTICAS ESPECTROFOTOMETRICAS DE LOS COMPLEJOS FORMADOS

Cación	ppm	pH muestra	Color	λ máx.	A máx. ($l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)	ϵ	Extr. $CHCl_3$
Co(II)	1	9,30	Naranja rojizo	490	0,423	24.900	Naranja rojizo
Cu(II)	1	8,70	Naranja oscuro	471	0,364	23.100	Naranja oscuro
Pd(II)	1	8,20	Naranja rojizo	532	0,128	13.600	Rosado (púrpura)
Ni(II)	1	8,70	Naranja oscuro	468	0,528	31.000	Naranja oscuro
Zn(II)	1	10,00	Naranja oscuro	472	0,526	34.400	Naranja oscuro
Cd(II)	2	8,72	Naranja oscuro	450	0,548	30.800	Naranja oscuro
Fe(II)	1	8,00	Am.tostado (verd.)	472	0,242	13.500	Marrón claro
				620*	0,090	5.000	
Mn(II)	5	8,52	Am.anaranjado	458	0,192	2.100	Am.anaranjado
Hg(II)	5	8,73	Naranja	470**	0,177	7.100	Naranja
Pb(II)	3	8,80	Naranja claro	479	0,108	7.500	Naranja claro

(*) Máximo secundario; (**) Hombro

Es interesante resaltar que la selectividad de este reactivo es superior al de otras bases de Schiff derivadas de α -dicetonas, tales como ditiosemicarbazonas y difenil-tiosemicarbazonas, ya que la capacidad de quelación de los átomos de nitrógeno es inferior a la de los átomos de azufre. Otra característica notable de las reacciones que produce la DPGPH con los iones metálicos, es su elevada sensibilidad, lo que hace atractivo su estudio para determinaciones espectrofotométricas.

El complejo que forma el reactivo con el hierro presenta un pico de absorción secundario hacia 620 nm, característica que puede en principio utilizarse con vistas a su determinación espectrofotométrica pero, desgraciadamente, el estudio de la reacción del hierro con la DPGPH encierra serias dificultades dada la inestabilidad de las disoluciones coloreadas.

III.1.1.- Curvas absorbancia-pH.- Las curvas absorbancia-pH de los complejos de Co(II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) y Cd(II) están representadas en las Figuras 77-81. El complejo de cobalto comienza a formarse a un pH próximo a 2 (Figura 77), completándose prácticamente su formación a un pH = 3. La absorbancia permanece constante entre valores de pH 3-7, pero a valores de pH superiores a 7, la absorbancia de las muestras disminuye debido, probablemente, a la formación de complejos hidroxilados. Los datos absorbancia-pH correspondientes al sistema Co(II)-DPGPH se encuentran recogidos en la Tabla 64. Se ha seguido la estabilidad de las muestras a los diversos valores de pH, observándose que la formación del complejo se favorece, a la concentración a la que se han efectuado estas experiencias, si las muestras se dejan en reposo durante un cierto periodo de tiempo (~15 minutos).

El comportamiento del sistema Cu(II)-DPGPH, (Figura 82), es análogo al mostrado por el sistema biacetil mono(2-piridil)hidrazona-Cu(II). Este catión, junto con el Co(II), son los que muestran un pH aparente menor. La curva absorbancia-pH (Figura 78), muestra una zona, prácticamente constante, entre valores de pH 5-6,5, pero a valores de pH superiores a 6,5 se produce, a longitudes de onda menores de 510 nm, un incremento drástico de la absorbancia del medio. Esta conducta puede atribuirse en principio a la formación de un nuevo complejo de Cu(II) con más reactivo ligado.

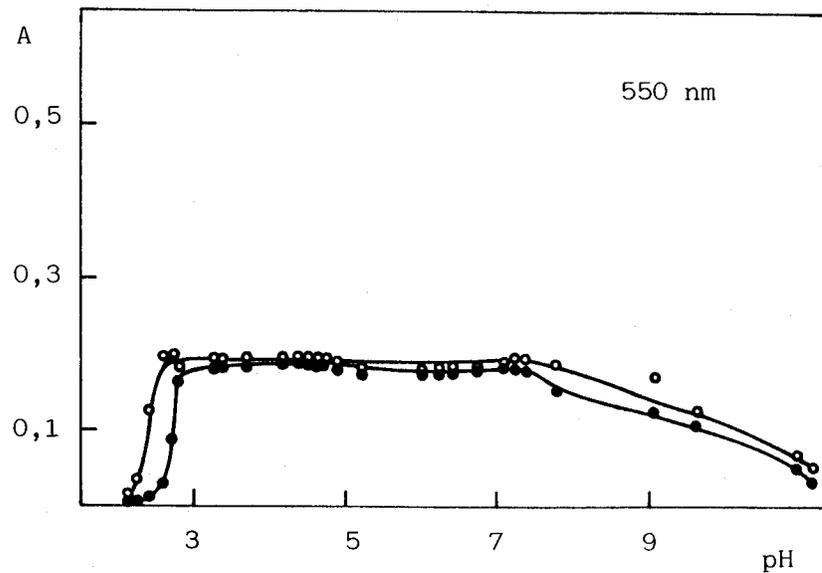
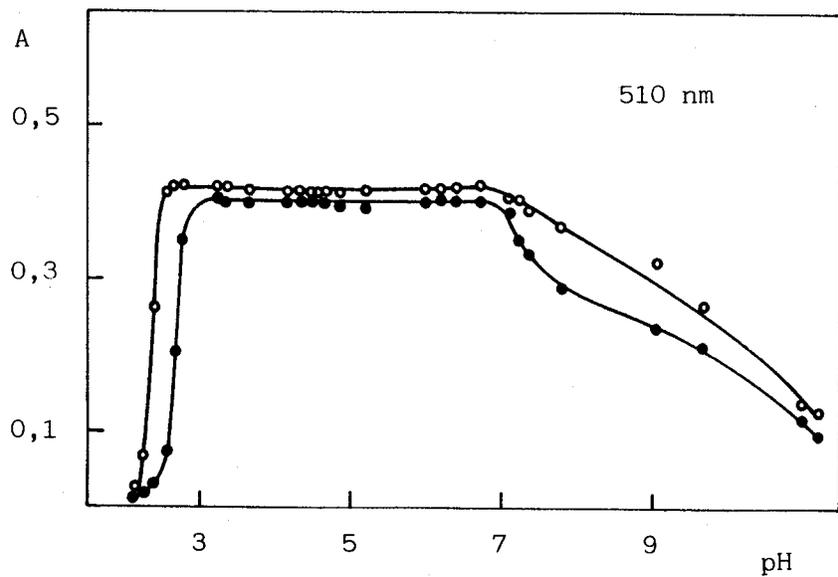
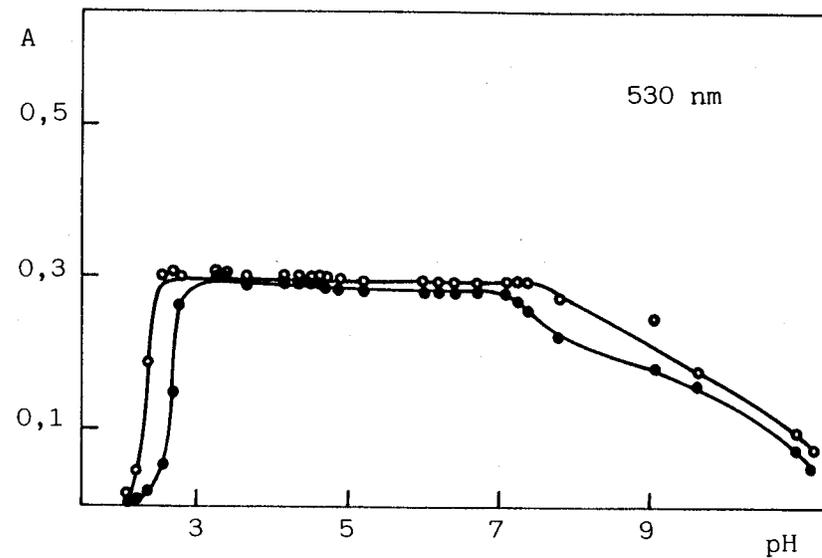
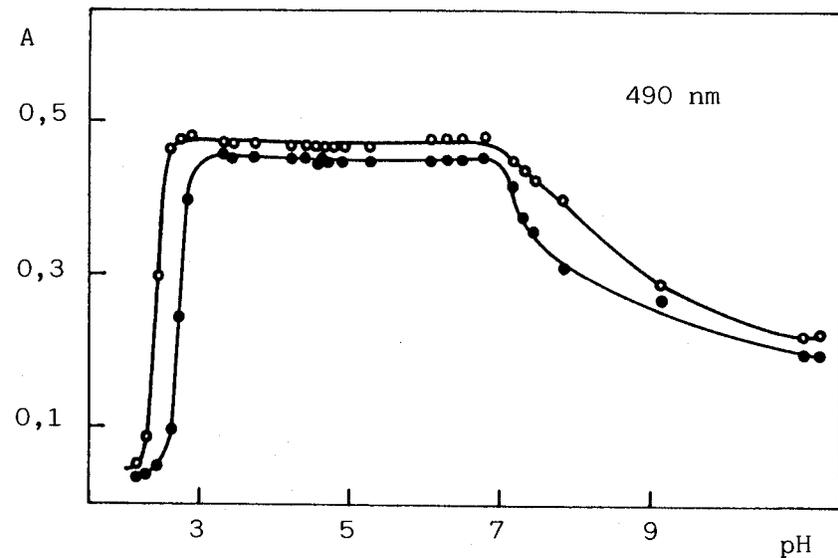


FIGURA 77 * Curva absorbancia-pH del complejo Co(II)-DPGPH. $[Co] = 1$ ppm; 10% etanol.

(●) Medidas inmediatamente; (●) A las dos horas.

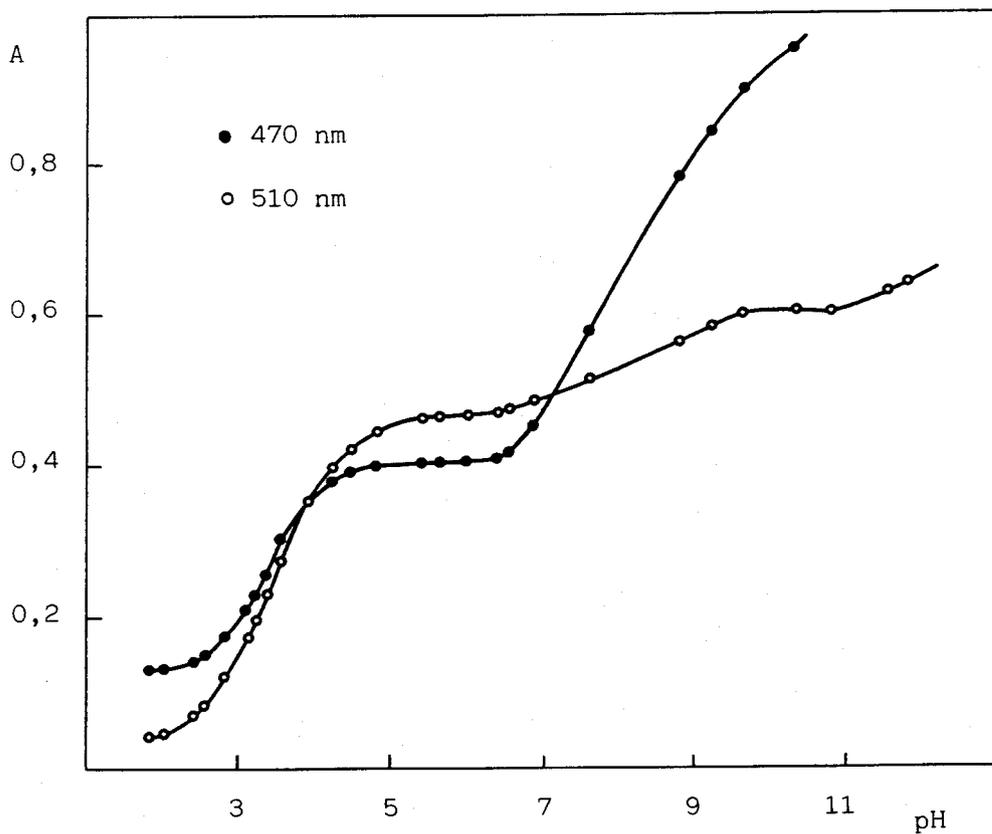
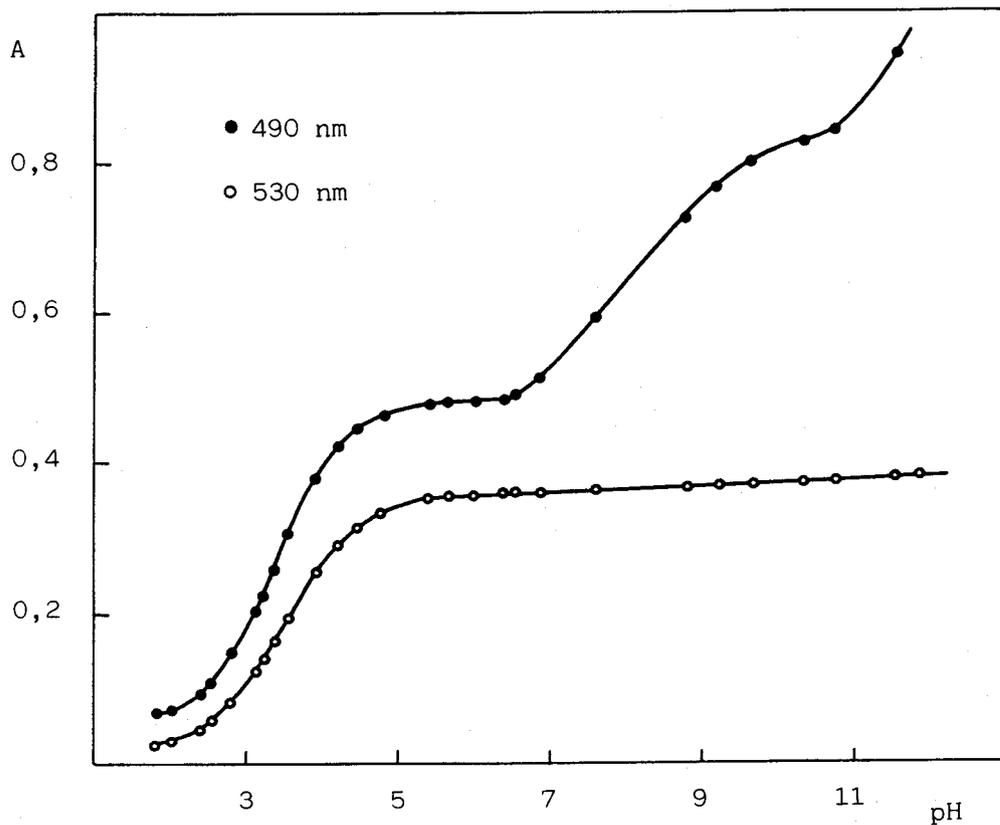


FIGURA 78 * Curva A-pH del complejo Cu(II)-DPGPH.
|Cu| = 2 ppm; 10% etanol.

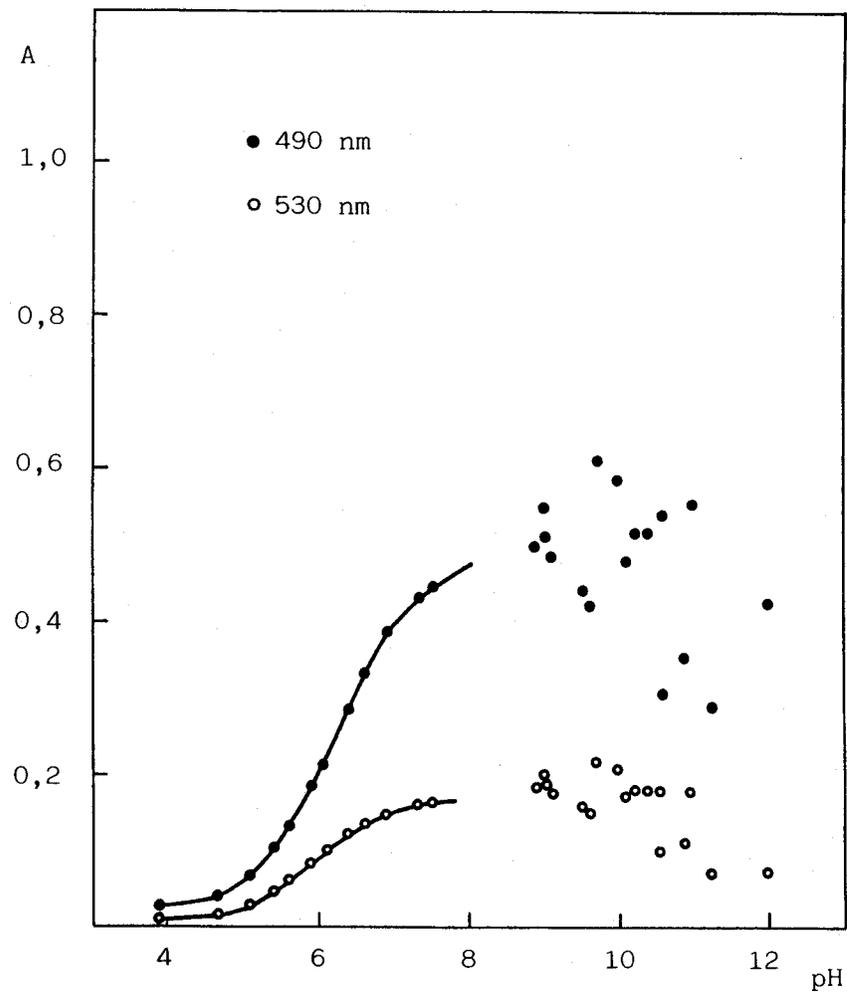
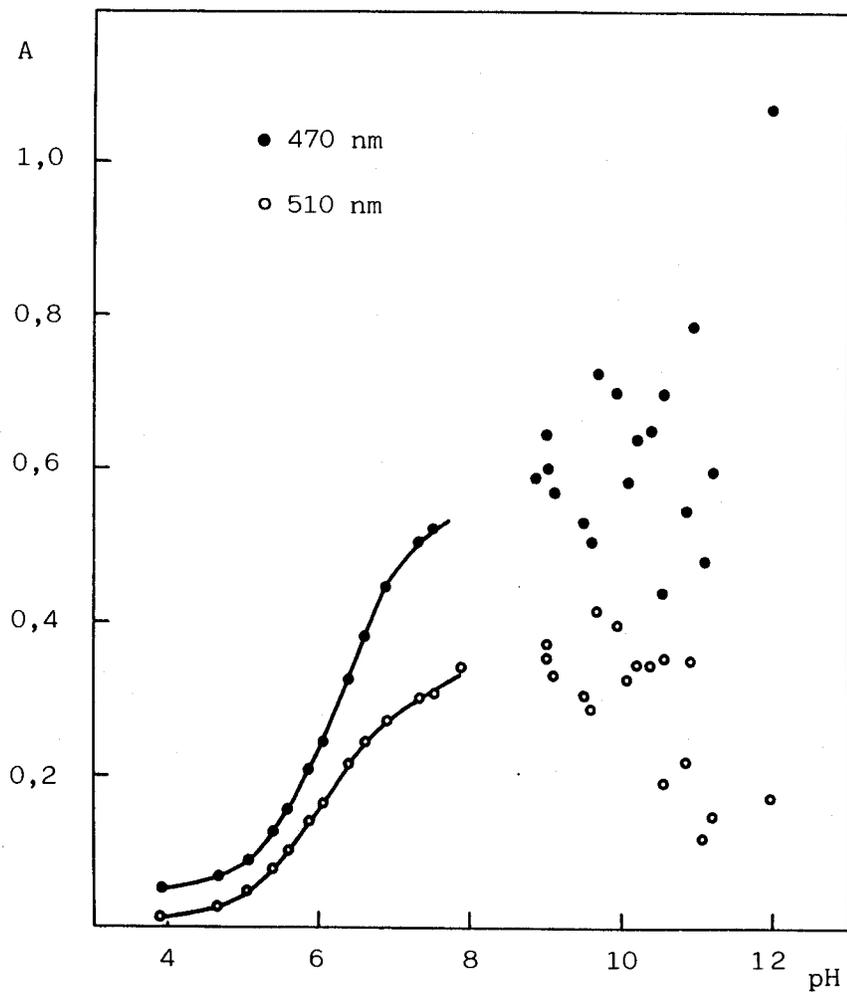


FIGURA 79 * Curva absorbancia-pH del complejo Ni(II)-DPGPH. $|\text{Ni}| = 1 \text{ ppm}$; 10% etanol.

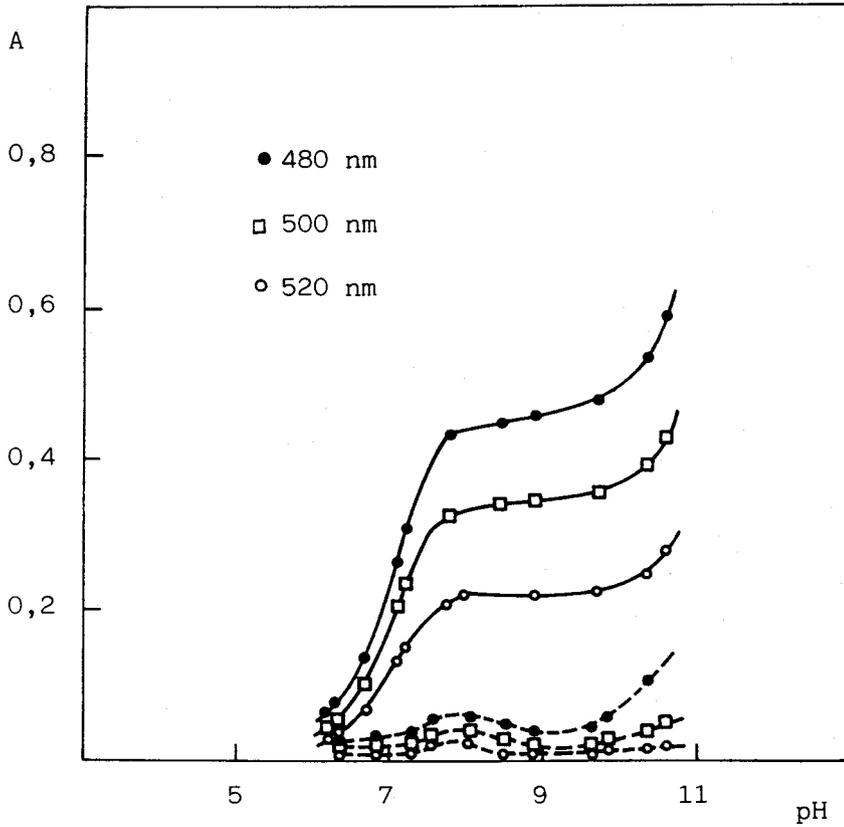


FIGURA 80 * Curva A-pH del complejo Zn(II)-DPGPH. $|\text{Zn}|=1$ ppm; 10% etanol. A trazos el blanco de reactivo.

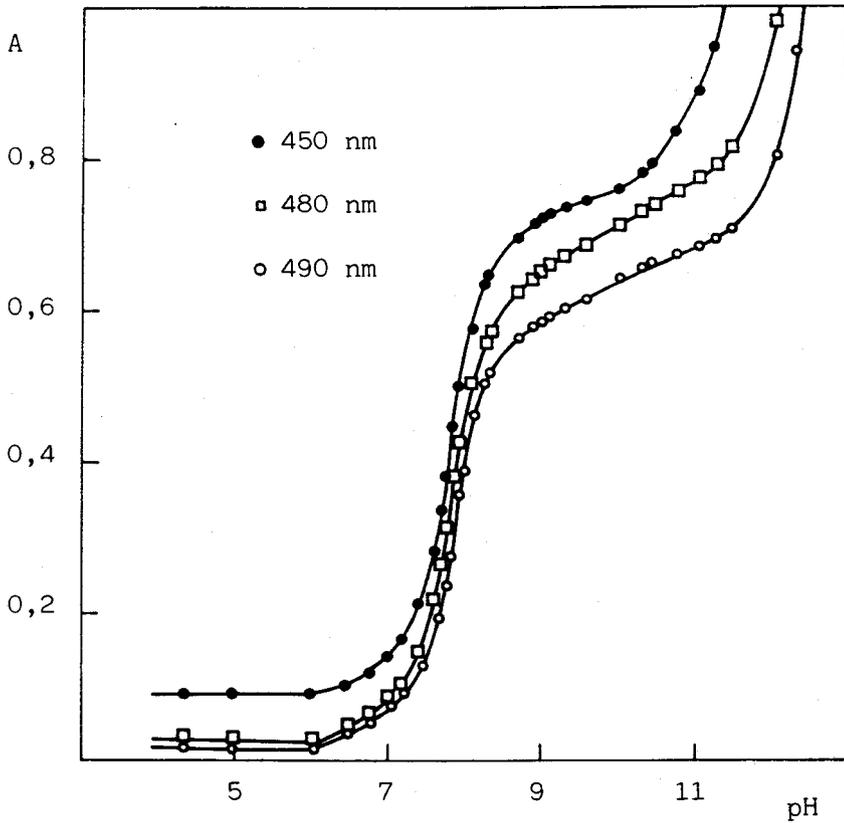


FIGURA 81 * Curva absorbancia-pH del complejo Cd(II)-DPGPH. $|\text{Cd}|=2$ ppm; 40% etanol.

TABLA 64 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DEL COMPLEJO Co(II) : DPGPH.

($C_{Co} = 1$ ppm; 10% ETANOL)

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a							
	490	490*	510	510*	530	530*	550	550*
2,15	0,038	0,047	0,017	0,027	0,009	0,018	0,006	0,014
2,23	0,041	0,092	0,020	0,069	0,012	0,050	0,008	0,034
2,42	0,050	0,302	0,030	0,262	0,021	0,196	0,014	0,127
2,58	0,097	0,470	0,076	0,416	0,055	0,309	0,035	0,198
2,73	0,245	0,482	0,207	0,426	0,148	0,306	0,090	0,202
2,80	0,397	0,483	0,354	0,424	0,266	0,299	0,170	0,185
3,31	0,460	0,471	0,413	0,420	0,306	0,309	0,193	0,196
3,36	0,454	0,472	0,404	0,419	0,300	0,308	0,189	0,195
3,69	0,453	0,467	0,400	0,412	0,296	0,303	0,184	0,189
4,20	0,456	0,471	0,406	0,418	0,298	0,305	0,189	0,193
4,38	0,456	0,471	0,406	0,417	0,297	0,304	0,188	0,191
4,53	0,452	0,470	0,406	0,417	0,297	0,303	0,189	0,190
4,62	0,456	0,470	0,406	0,417	0,297	0,302	0,188	0,189
4,68	0,450	0,470	0,398	0,416	0,290	0,302	0,183	0,189
4,90	0,448	0,473	0,396	0,416	0,286	0,303	0,178	0,189

TABLA 64 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DEL COMPLEJO Co(II) : DPGPH.

(C_{Co} = 1 ppm; 10% ETANOL) - CONTINUACION -

pH/ λ (nm)	A b s o r b a n c i a							
	490	490*	510	510*	530	530*	550	550*
5,23	0,449	0,471	0,395	0,414	0,285	0,297	0,175	0,183
6,04	0,457	0,483	0,402	0,420	0,284	0,299	0,175	0,185
6,23	0,458	0,482	0,405	0,420	0,285	0,298	0,176	0,183
6,46	0,458	0,479	0,404	0,421	0,285	0,294	0,179	0,181
6,76	0,460	0,485	0,405	0,426	0,287	0,297	0,179	0,183
7,12	0,420	0,452	0,388	0,411	0,285	0,294	0,188	0,189
7,24	0,374	0,443	0,348	0,405	0,269	0,303	0,183	0,199
7,40	0,360	0,429	0,335	0,395	0,260	0,299	0,178	0,200
7,82	0,315	0,403	0,292	0,369	0,226	0,279	0,154	0,187
9,08	0,273	0,352	0,242	0,324	0,187	0,251	0,130	0,175
9,66	0,254	0,293	0,214	0,264	0,160	0,179	0,108	0,129
10,65	0,128	0,154	0,078	0,113	0,052	0,084	0,036	0,060
11,02	0,198	0,222	0,116	0,141	0,078	0,098	0,054	0,069
11,20	0,201	0,229	0,095	0,125	0,054	0,080	0,035	0,055

(*) Absorbancia medida al cabo de 2 horas después de preparar la muestra.

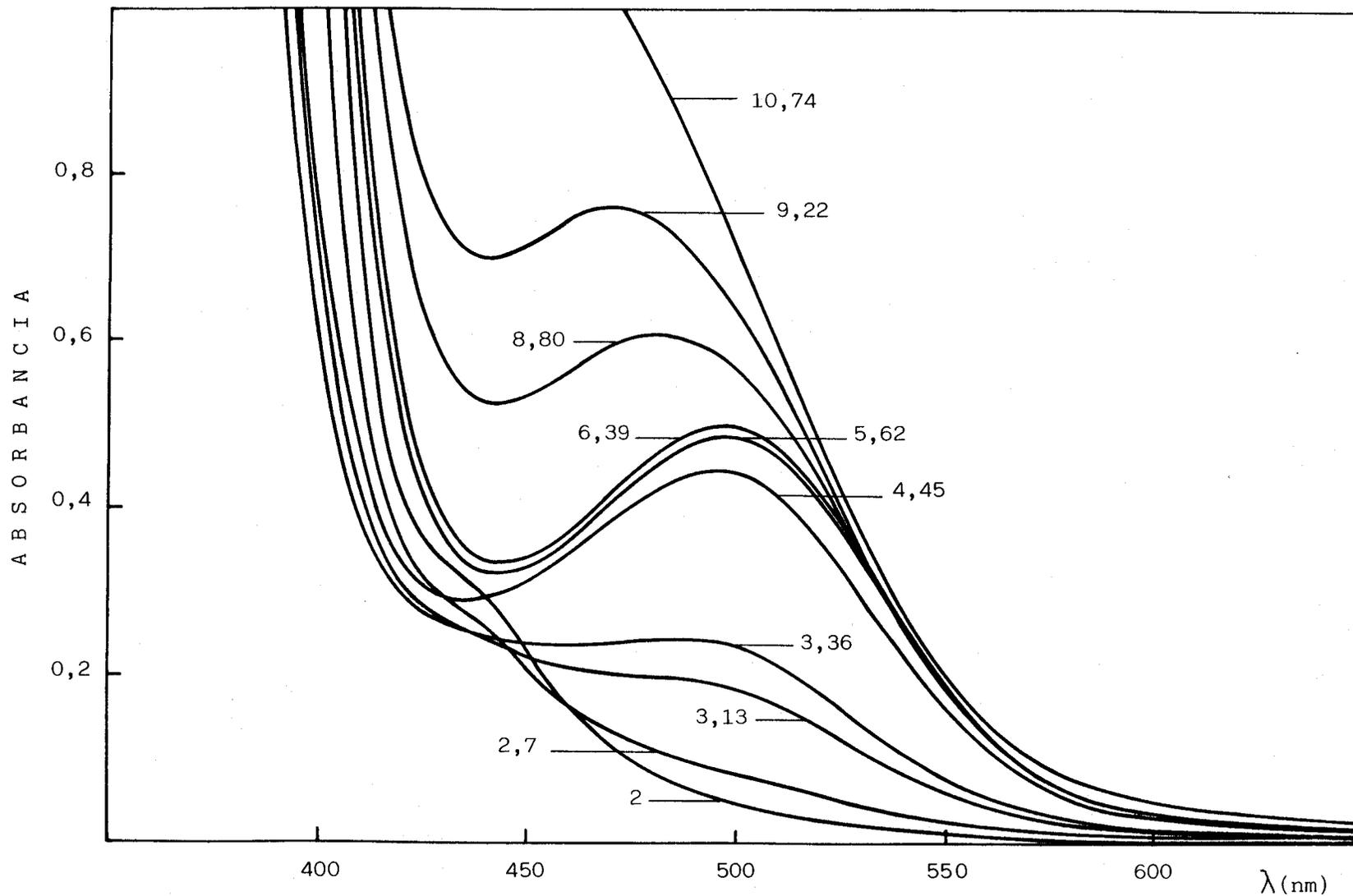


FIGURA 82 * Espectros de absorción del sistema Cu(II)-DPGPH a distintos valores de pH. $[\text{Cu}] = 2 \text{ ppm}$; 10% etanol. Blanco: disolvente.

Las curvas absorbancia-pH del sistema Ni(II)-DPGPH en un medio que contiene también un 10% de etanol, se recogen en la Figura 79. Se observa, a valores de pH superiores a 8, una gran dispersión en las medidas de las absorbancias a diferentes valores de pH, lo que hace inadecuado este sistema para su estudio espectrofotométrico en este medio.

Las curvas absorbancia-pH correspondientes a los sistemas Zn(II)-DPGPH y Cd(II)-DPGPH, están representadas en las Figuras 80-81. En el caso del zinc, se incluyen asimismo las medidas correspondientes a los blancos de reactivo (Figura 80). El pH aparente de formación de estos complejos es próximo a 9. El sistema Cd(II)-DPGPH precipita en un medio que contiene un 10-30% de etanol en volumen, por lo que las muestras, cuyas medidas se encuentran en la Figura 81, contienen un 40% de etanol en volumen. Los espectros del sistema Cd(II)-DPGPH en dicho medio, a distintos valores de pH, se recogen en la Figura 83.

III.1.2.- Estequiometrías de los complejos.- Se ha realizado un estudio de las estequiometrías de los complejos formados con los iones Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) y Cd(II). La razón de elegir estos cationes es que las reacciones dadas con la DPGPH presentan una gran sensibilidad. Las piridilhidrazonas son reactivos sensibles y selectivos de cobalto, y sensibles de zinc, por lo que nuestro equipo de trabajo está interesado en particular en estas dos reacciones.

El método de la razón molar aplicado al sistema Co(II)-DPGPH a pH 4,6, en un 10% de etanol en volumen, (Tabla 65), indica una estequiometría de 2:1 (DPGPH:Co(II)), tal como se observa en la Fig. 84.

Los espectros a distintas relaciones de reactivo a ión metálico ($|\text{Co}| = 2 \text{ ppm}$), (Figura 85), muestran la misma forma y el mismo máximo de absorción, indicando ésto la existencia de un único complejo en disolución.

Los espectros del sistema Ni(II)-DPGPH a distintas relaciones $|\text{DPGPH}|/|\text{Ni}|$, (Figura 86), a pH 8,55, en un medio con un 40% de etanol v/v, también son análogos en su forma, mostrando el mismo máximo, por lo que debe estar presente tan sólo una especie compleja en disolución. El método de la razón molar indica una relación

DPGPH:Ni de 2,5:1 (Figura 87), por lo que quizás la razón estequiométrica verdadera sea 2:1. Se ha comprobado que las muestras son estables durante al menos 20 horas.

Se han registrado los espectros de absorción del complejo Cu(II)-DPGPH a distintas relaciones de reactivo a ión metálico. Razones estequiométricas bajas indican la presencia de un complejo, dada la forma de los espectros (Figura 88). No obstante, cuando la razón $|\text{DPGPH}|/|\text{Cu}|$ supera el valor de 3, se observa la aparición de un punto de corte en los espectros, lo que indica la formación simultánea de un nuevo complejo, posiblemente con más reactivo ligado. Las medidas a longitud de onda fija a pH = 5,6 (Figura 89), indican la formación de un complejo 1:1, poco disociado, observándose que para las longitudes de onda de 490 nm y 470 nm, la absorbancia disminuye ligeramente conforme aumenta la relación $|\text{DPGPH}|/|\text{Cu}|$.

Los espectros de absorción del sistema Zn(II)-DPGPH a pH = 8,4, a distintas relaciones de reactivo a zinc, se incluyen en la Figura 90. Las medidas a longitudes de onda fijas para distintas relaciones $|\text{DPGPH}|/|\text{Zn}|$, incluidas en la Figura 91, indican una relación estequiométrica próxima a 2:1 (DPGPH:Zn), aunque el complejo se encuentra bastante disociado.

Se ha comprobado que las muestras, cuyas medidas se incluyen en la Figura 91, son estables durante al menos 19 horas.

Por último, los espectros del sistema Cd(II)-DPGPH a pH = 9,7 y distintos valores de la relación $|\text{DPGPH}|/|\text{Cd}|$, se muestran en la Figura 92. Las representaciones del método de la razón molar indican, en este caso, que el complejo se encuentra fuertemente disociado, no pudiendo por tanto asignarse con facilidad razón estequiométrica alguna a partir de los datos incluidos en la Figura 93.

A continuación se realiza un estudio destallado del sistema Co(II)-DPGPH con vistas a la puesta a punto de un método espectrofotométrico para la determinación de trazas de cobalto.

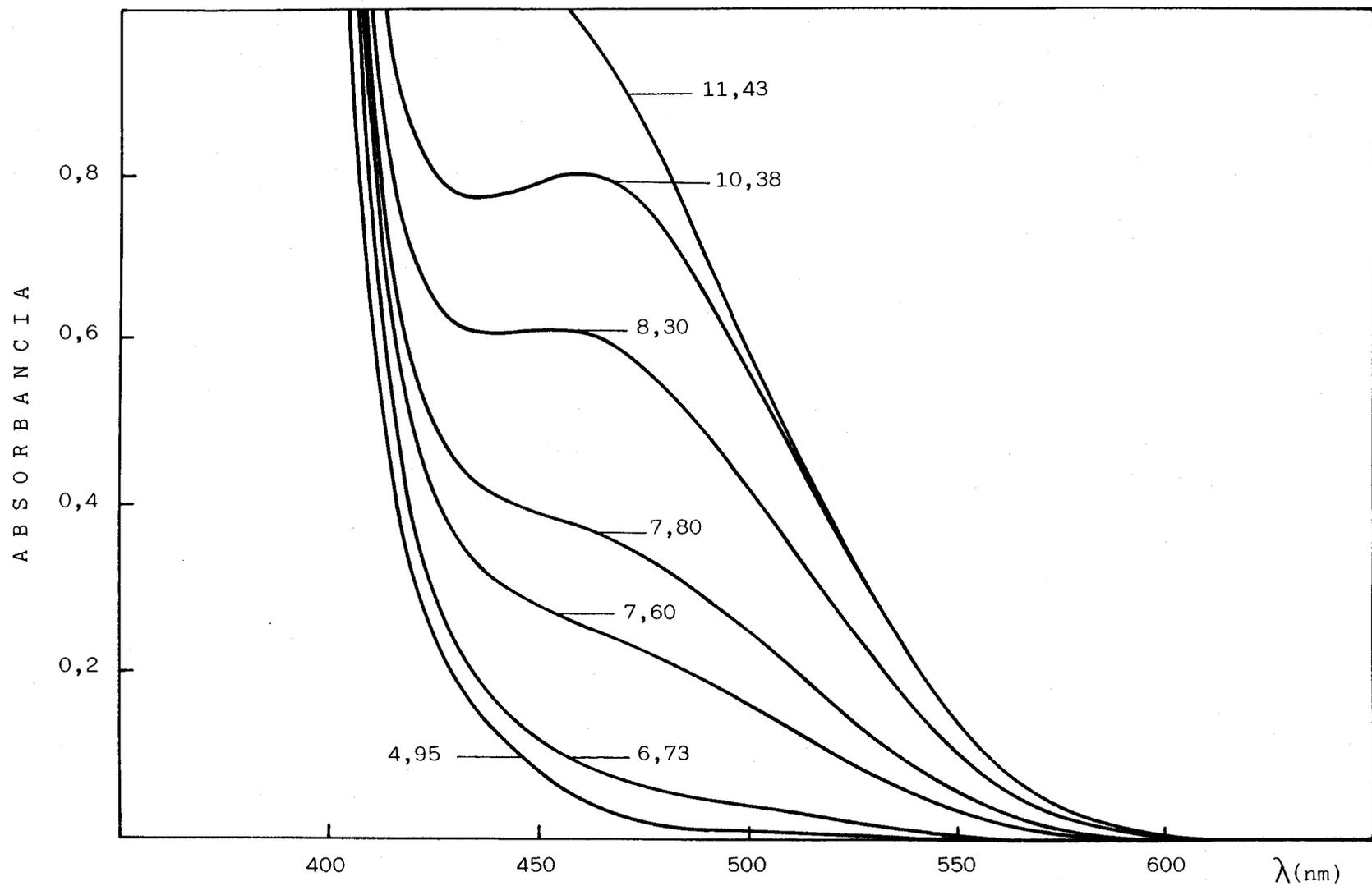


FIGURA 83 * Espectros de absorción del sistema Cd(II)-DPGPH a distintos valores de pH. $|\text{Cd}| = 2 \text{ ppm}$; 40% etanol. Blanco: disolvente.

TABLA 65 * RAZON MOLAR DEL COMPLEJO Co(II):DPGPH A pH = 4,6
($|\text{Co}| = 2 \text{ ppm}; 10\% \text{ etanol}$)

Razón $ \text{DPGPH} / \text{Co} $	A b s o r b a n c i a		
	510	510*	510**
0,2	0,069	0,089	0,091
0,4	0,137	0,172	0,171
0,6	0,231	0,257	0,258
0,8	0,306	0,343	0,342
1,0	0,381	0,425	0,426
1,2	0,460	0,506	0,516
1,4	0,541	0,592	0,598
1,6	0,598	0,665	0,671
1,8	0,660	0,739	0,752
2,0	0,703	0,791	0,833
2,2	0,745	0,790	0,844
2,4	0,755	0,795	0,849
2,6	0,756	0,795	0,850
2,8	0,758	0,794	0,846
3,4	0,761	0,795	0,860
4,0	0,771	0,806	0,857

(*) Absorbancia medida a los 30 minutos.

(**) Absorbancia medida a los 4 días.

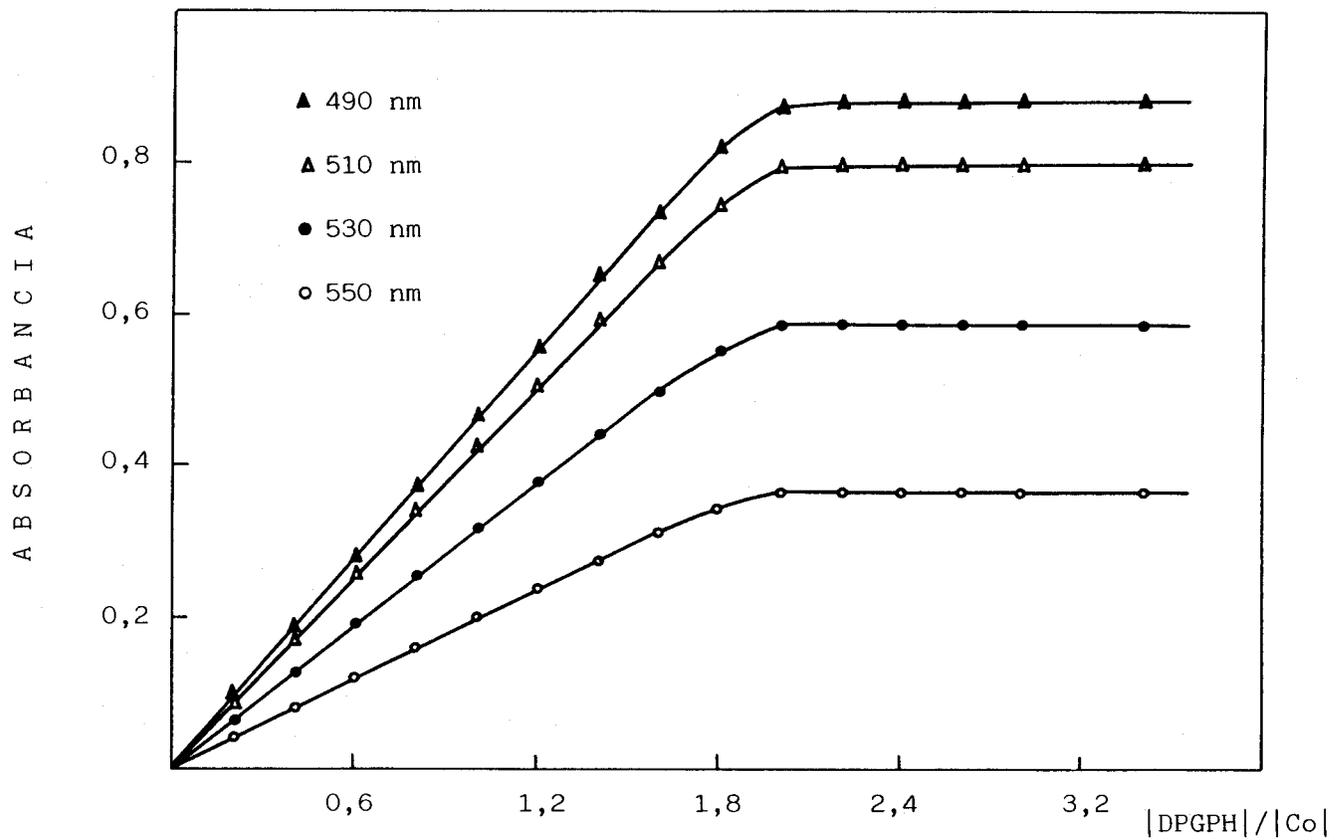


FIGURA 84 * Estequiometría del complejo Co(II)-DPGPH.
Método de la razón molar. $|Co| = 2$ ppm; pH = 4,6.

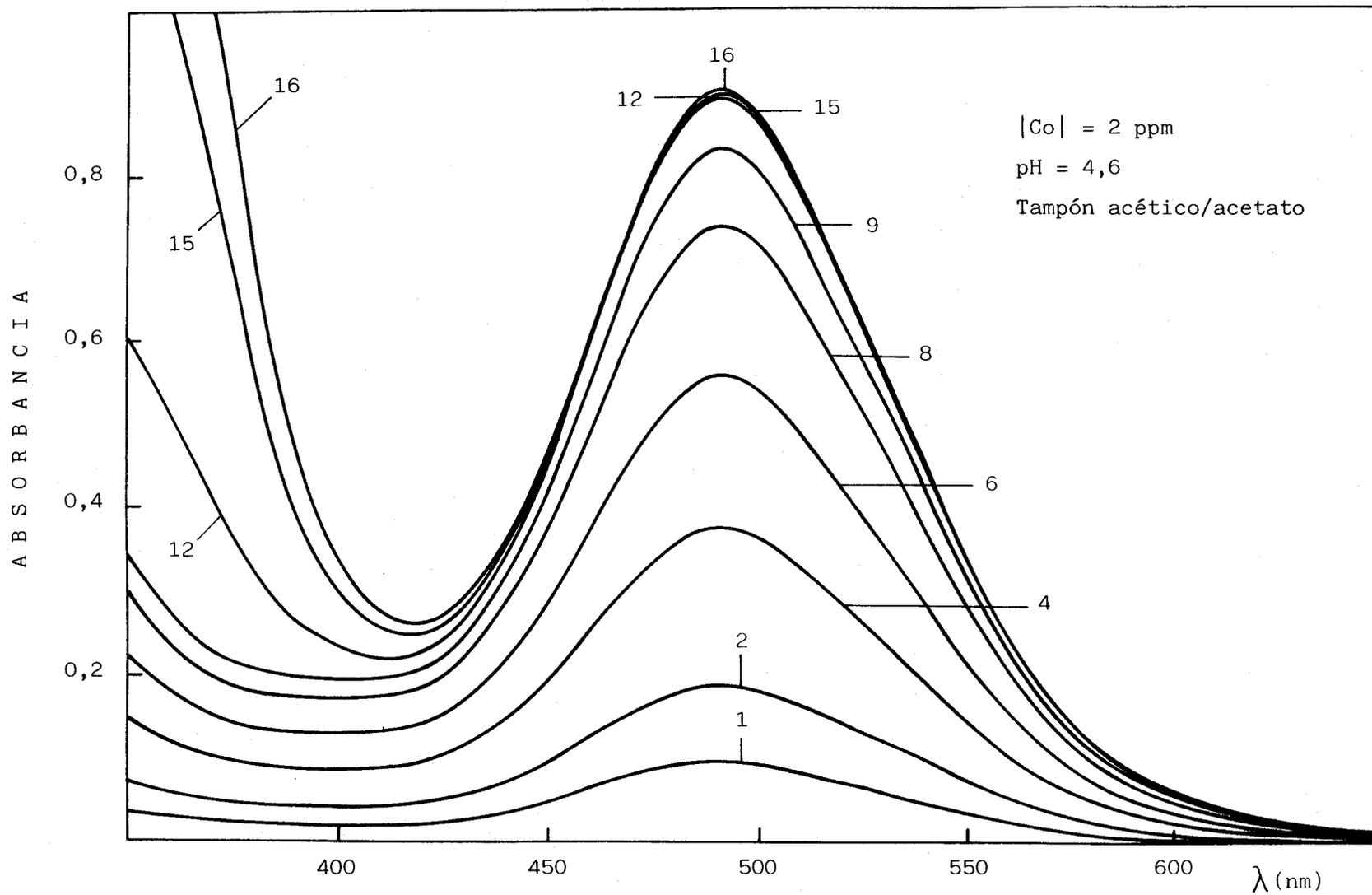


FIGURA 85 * Razón molar del sistema Co(II)-DPGPH ($|\text{DPGPH}|/|\text{Co}|$). Blanco: disolvente.

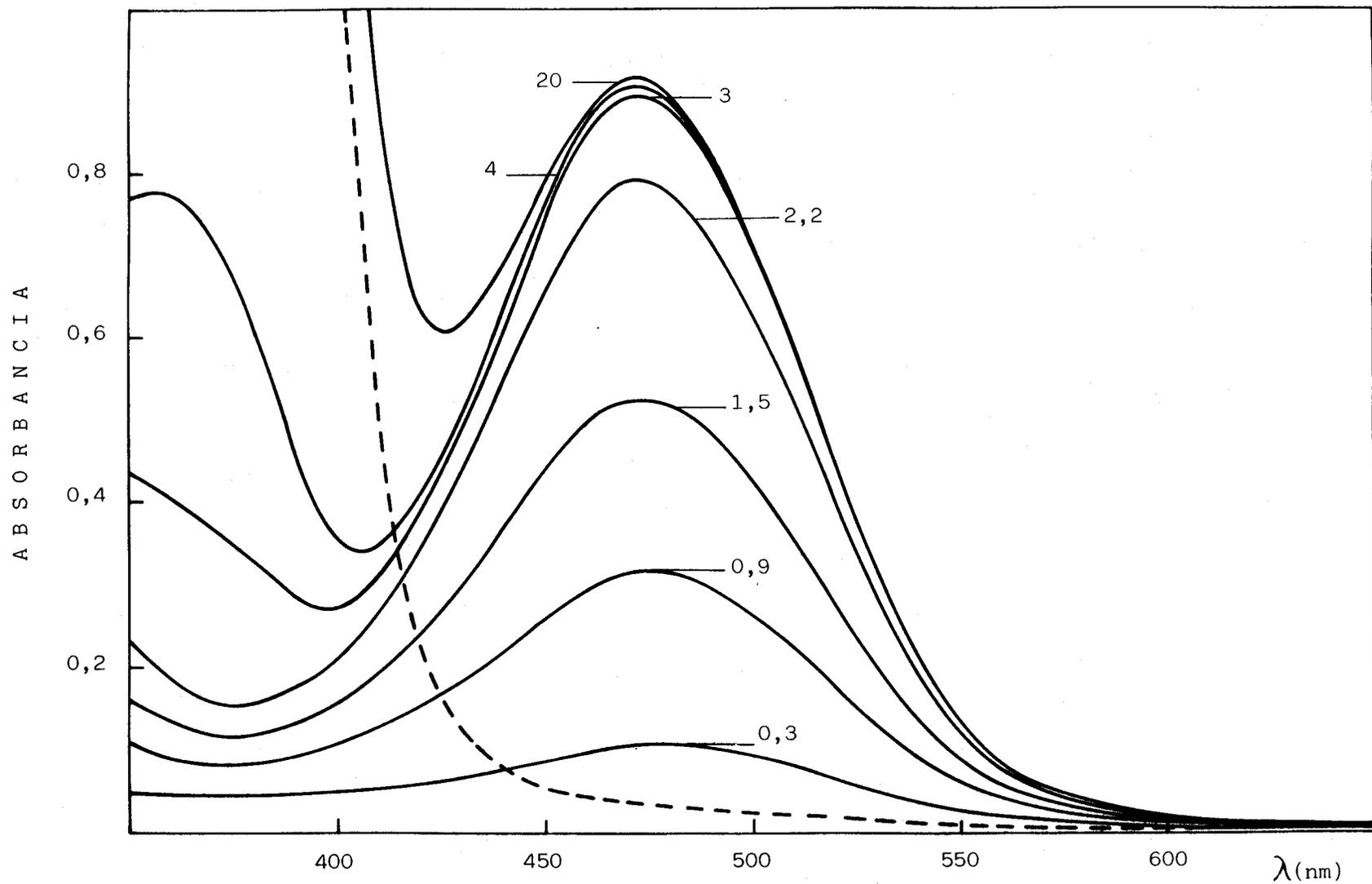


FIGURA 86 * Razón molar del sistema Ni(II)-DPGPH ($|\text{DPGPH}|/|\text{Ni}|$). $|\text{Ni}| = 1 \text{ ppm}$; $\text{pH} = 8,55$ (Tampón TRIS); 40% etanol. Blanco: disolvente.

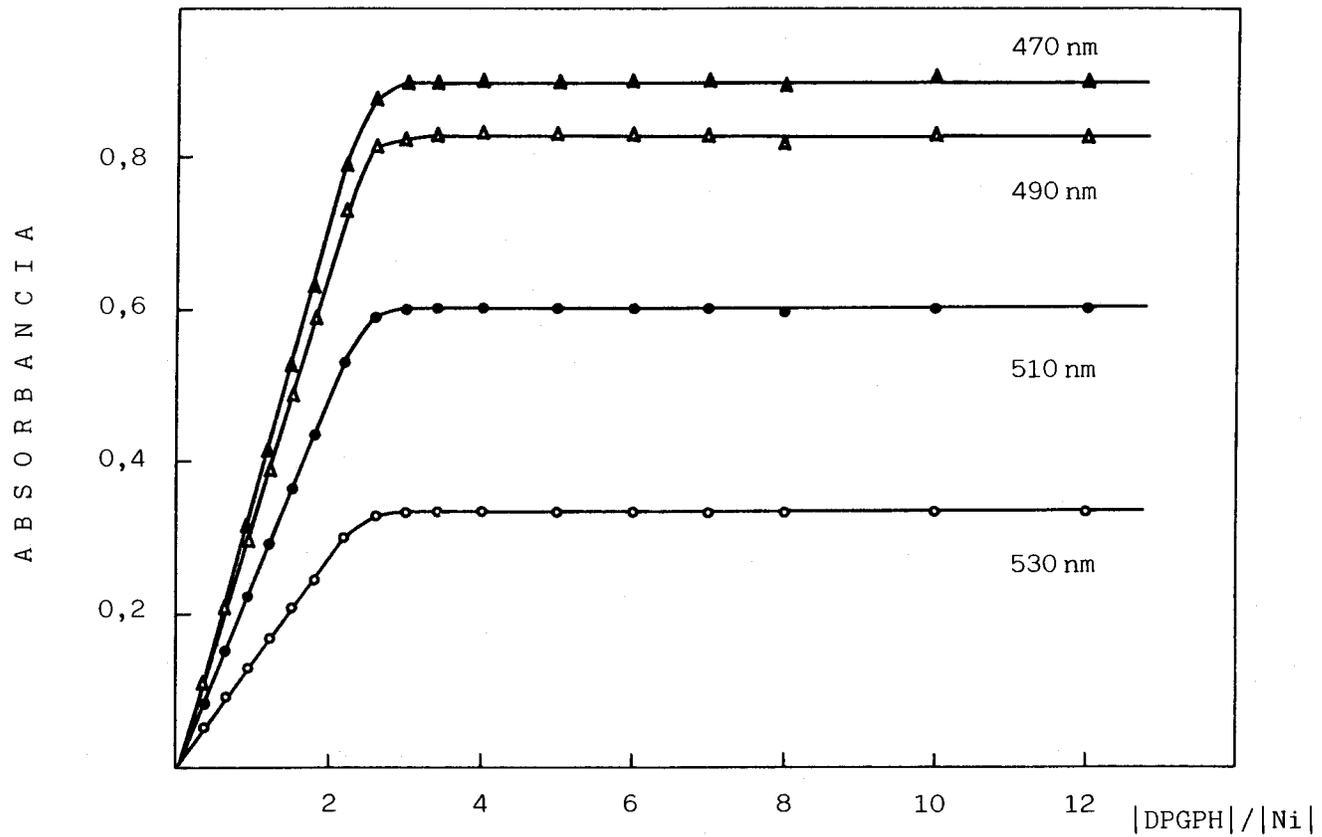


FIGURA 87 * Estequiometría del complejo Ni(II)-DPGPH.
 Método de la razón molar. $[Ni] = 1 \text{ ppm}$; $\text{pH} = 8,55$

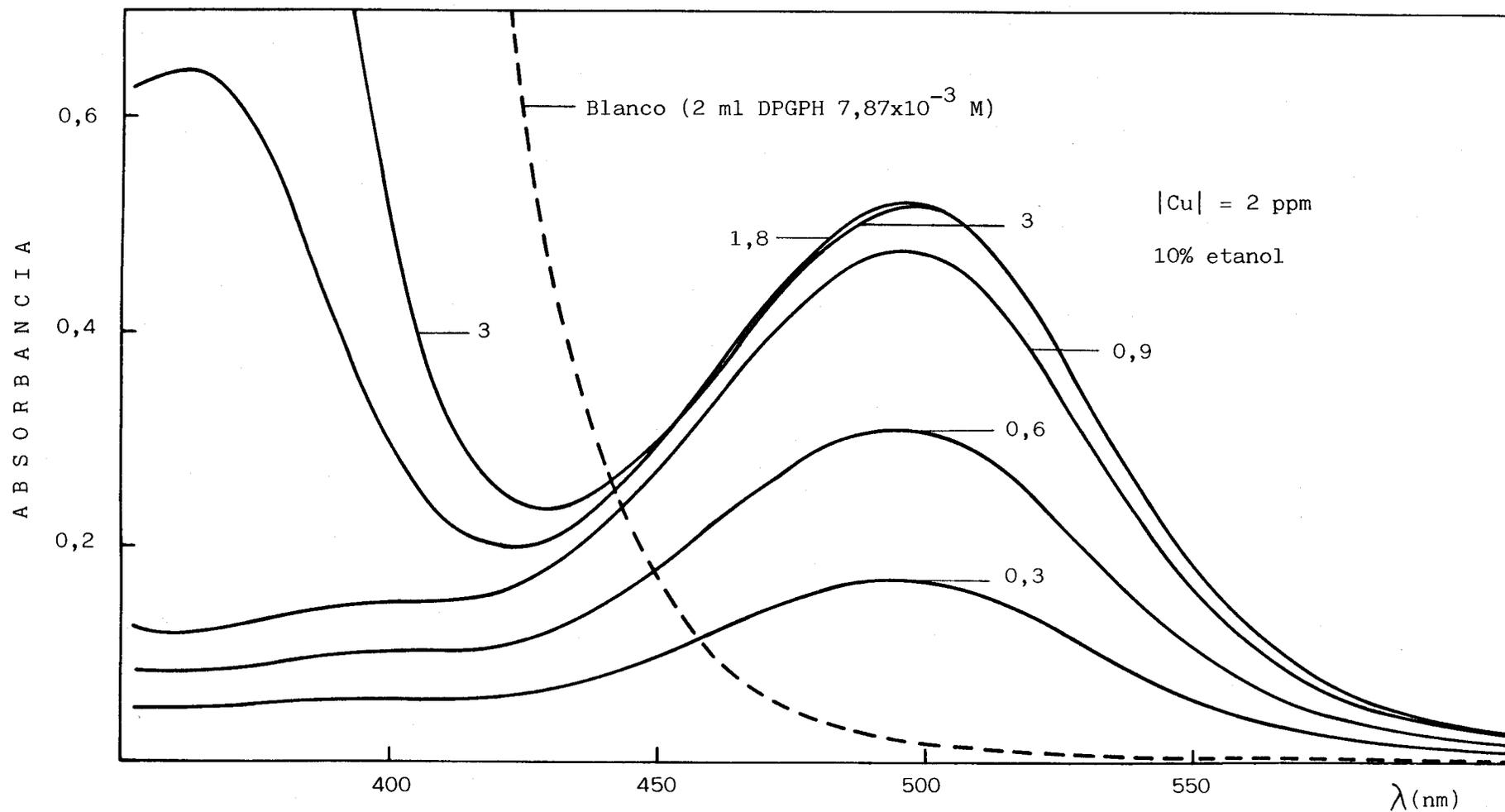


FIGURA 88 * Razón molar del sistema Cu(II)-DPGPH ($[\text{DPGPH}]/[\text{Cu}]$). Blanco: disolvente.
 pH = 5,6, Tampón ftalato potásico/hidróxido sódico.

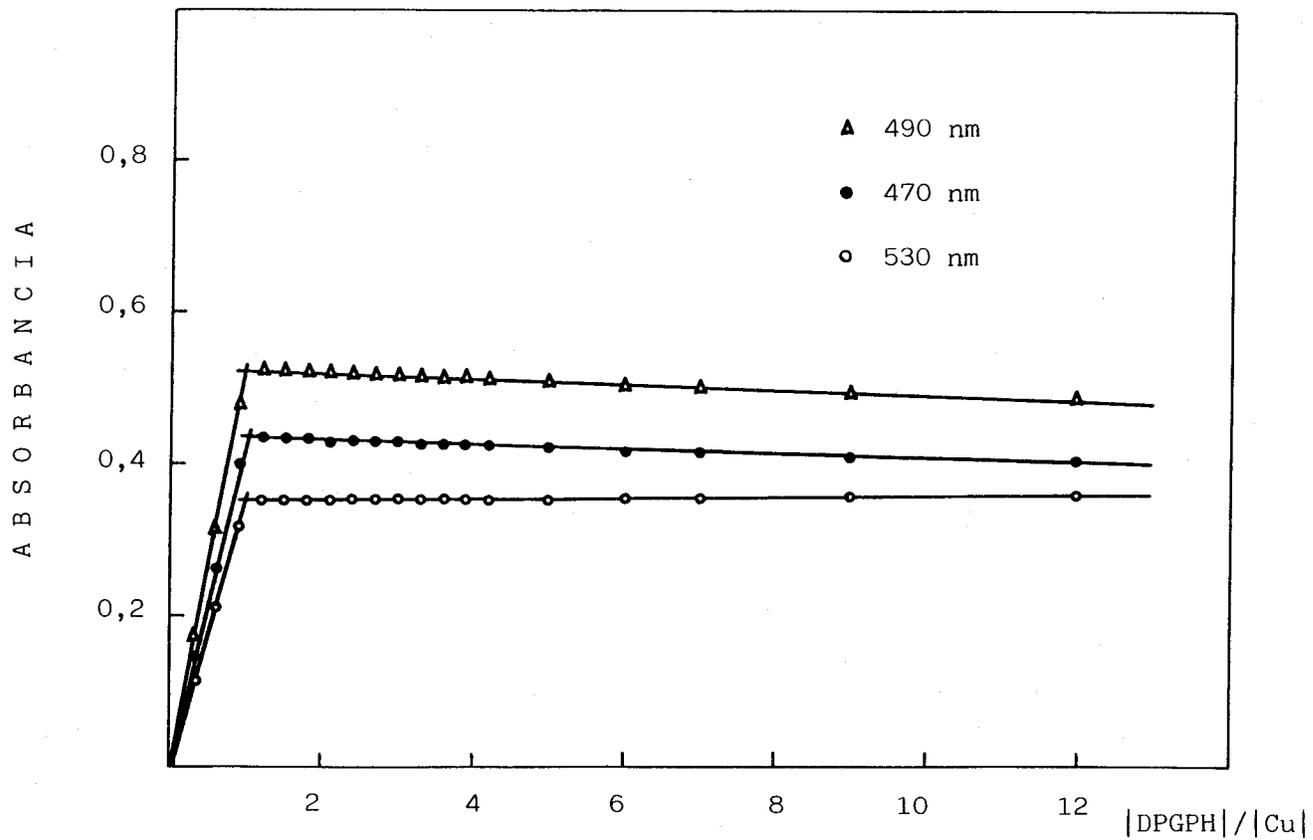


FIGURA 89 * Estequiometría del complejo Cu(II)-DPGPH.
 Método de la razón molar. $[Cu] = 2$ ppm; pH = 5,6

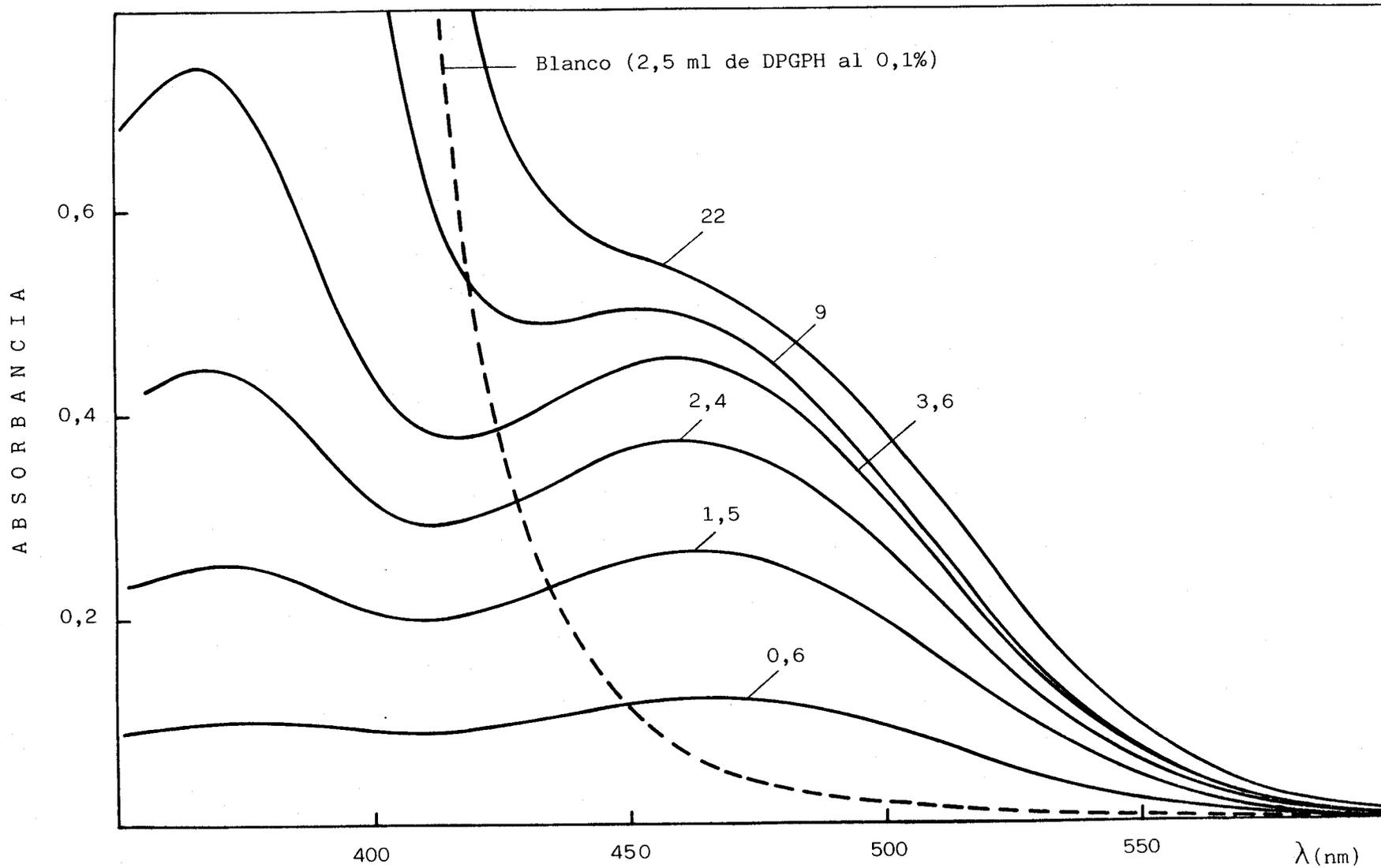


FIGURA 90 * Razón molar del sistema Zn(II)-DPGPH ($|\text{DPGPH}|/|\text{Zn}|$). $|\text{Zn}| = 1 \text{ ppm}$; $\text{pH} = 8,4$ (Tampón TRIS); 10% etanol. Blanco: disolvente.

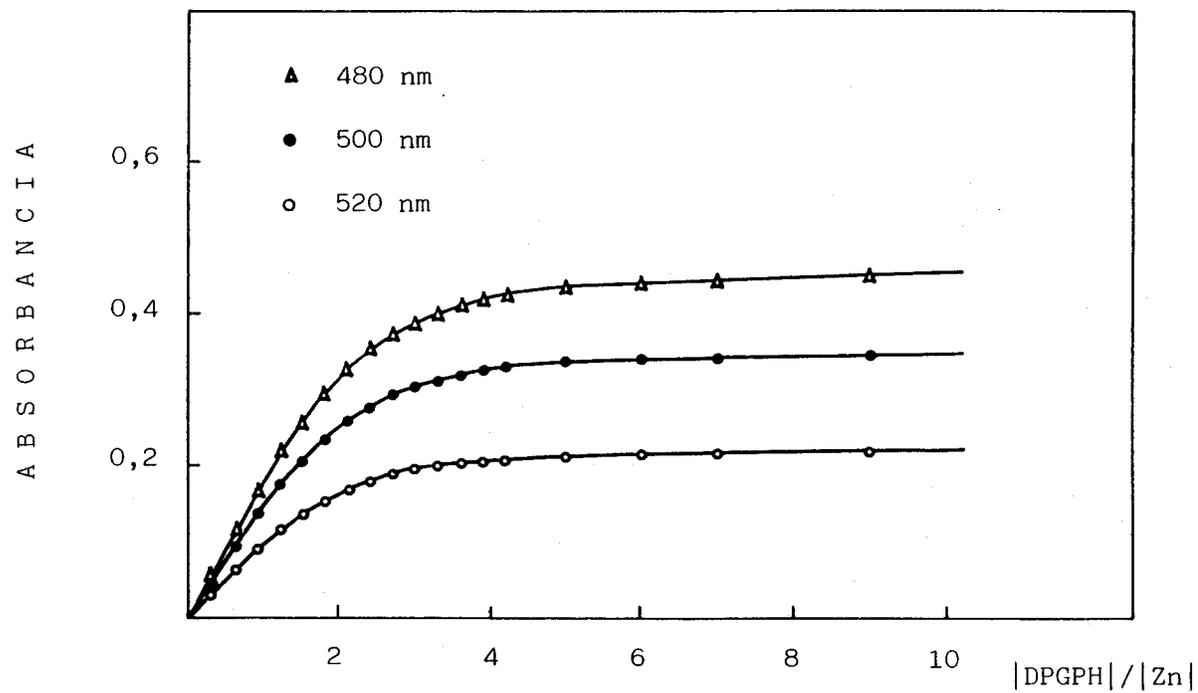


FIGURA 91 * Estequiometría del complejo Zn(II)-DPGPH.
Razón molar. $|Zn|=1$ ppm; pH=8,4.

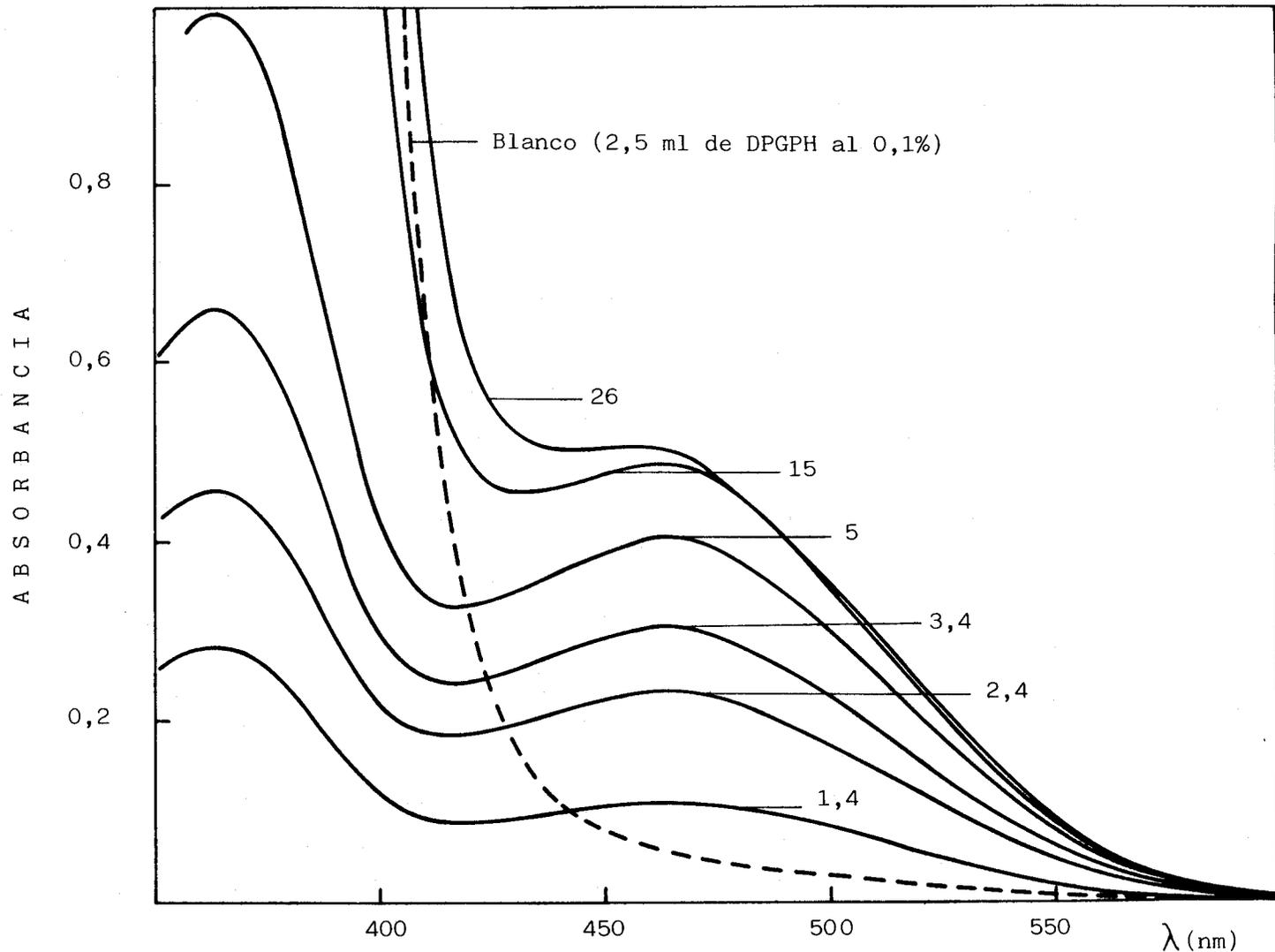


FIGURA 92 * Razón molar del sistema Cd(II)-DPGPH ($|DPGPH|/|Cd|$). Blanco: disolvente. 40% etanol; $|Cd| = 1,4$ ppm; pH = 9,7 (Tampón $Na_2B_4O_7/NaOH$).

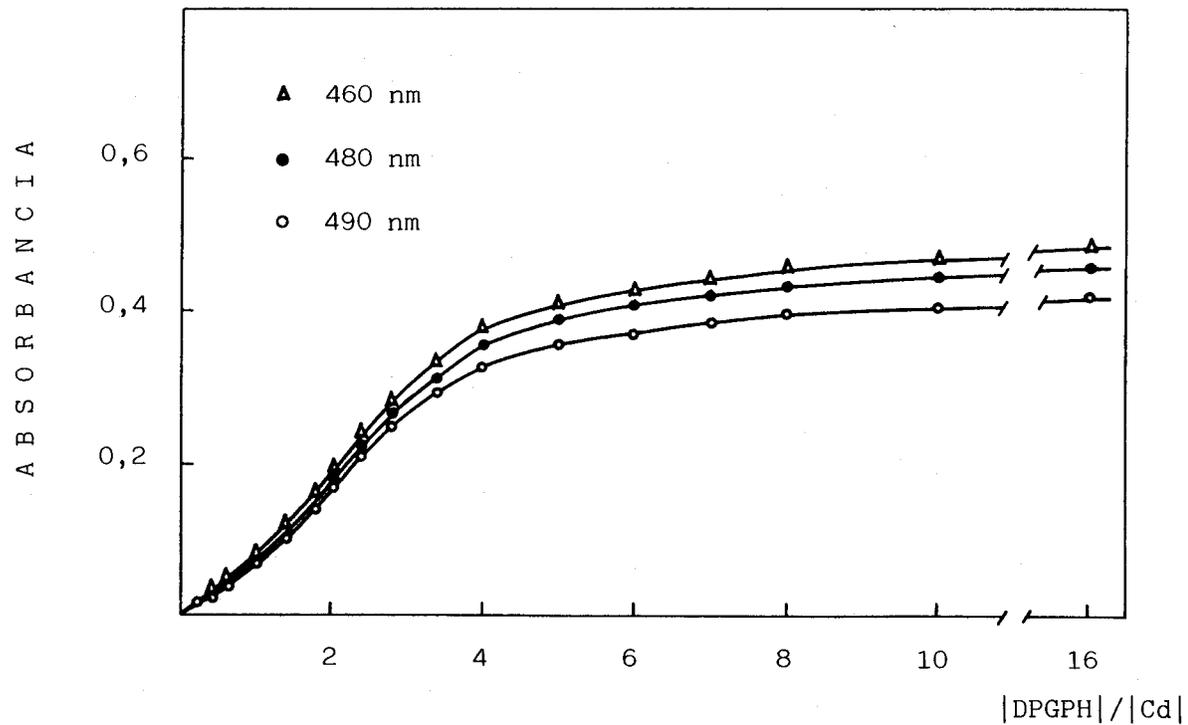


FIGURA 93 * Estequiometría del complejo Cd(II)-DPGPH.
 Razón molar. $[Cd] = 1,4$ ppm; pH = 9,7.

III.2.- DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE COBALTO CON LA DPGPH

Se estudian aquí aquellos parámetros que, influyendo sobre el desarrollo y formación del complejo Co(II)-DPGPH, permiten establecer una técnica espectrofotométrica adecuada para la determinación de trazas de cobalto.

III.2.1.- Espectro de absorción y efecto del pH.- Cuando se mezclan disoluciones diluidas de Co(II) con otras de DPGPH en etanol o en DMF, se observa, a cualquier valor de pH y en exceso de reactivo, la formación de una intensa coloración naranja-rojiza. A valores de pH 3-7, los espectros de absorción muestran un máximo a unos 492 nm (Figura 74). En medio básico el máximo de absorción también se encuentra situado a unos 490 nm (Figura 75), pero la absorbancia disminuye posiblemente debido a la formación de complejos hidroxilados de cobalto. La coloración no se forma si se añade ácido al cobalto antes que el reactivo ($\text{pH} < 2$), pero una vez formada, no se destruye mediante la adición de cantidades elevadas de ácido. Ahora bien, el máximo de absorción situado hacia 495 nm, tal como se observa en la Figura 94, sufre un ligero desplazamiento batocrómico hacia unos 505 nm conforme aumenta la acidez del medio, desde pH 4,20 hasta la adición de 8 ml de HClO_4 del 70% (llevados a 25 ml). Si se sigue aumentando la cantidad de ácido, las muestras sufren un nuevo desplazamiento hipsocrómico hacia 495 nm a la par que una disminución considerable de la absorbancia. Los espectros correspondientes a las muestras que contienen de 2 a 8 ml de HClO_4 concentrado, muestran un punto de corte a unos 510 nm, que se elige por tanto como longitud de onda analítica para llevar a cabo las determinaciones. En la Figura 94 se observa cómo los espectros del blanco varían apreciablemente cuando cambia la acidez del medio, poniendo de manifiesto los diferentes equilibrios protolíticos comentados en el Capítulo anterior.

Se ha realizado un estudio de la estabilidad sobre cuatro muestras que contenían 5, 10, 15 y 20 ml de ácido perclórico 1:1 (v/v). La longitud de onda de máxima absorción de éstas oscilaba desde 504 a 510 nm, y experimentaban una variación de absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción de 2,6%; 3,5%; 5,9% y 10,2%, respectivamente, en un periodo de tres días.

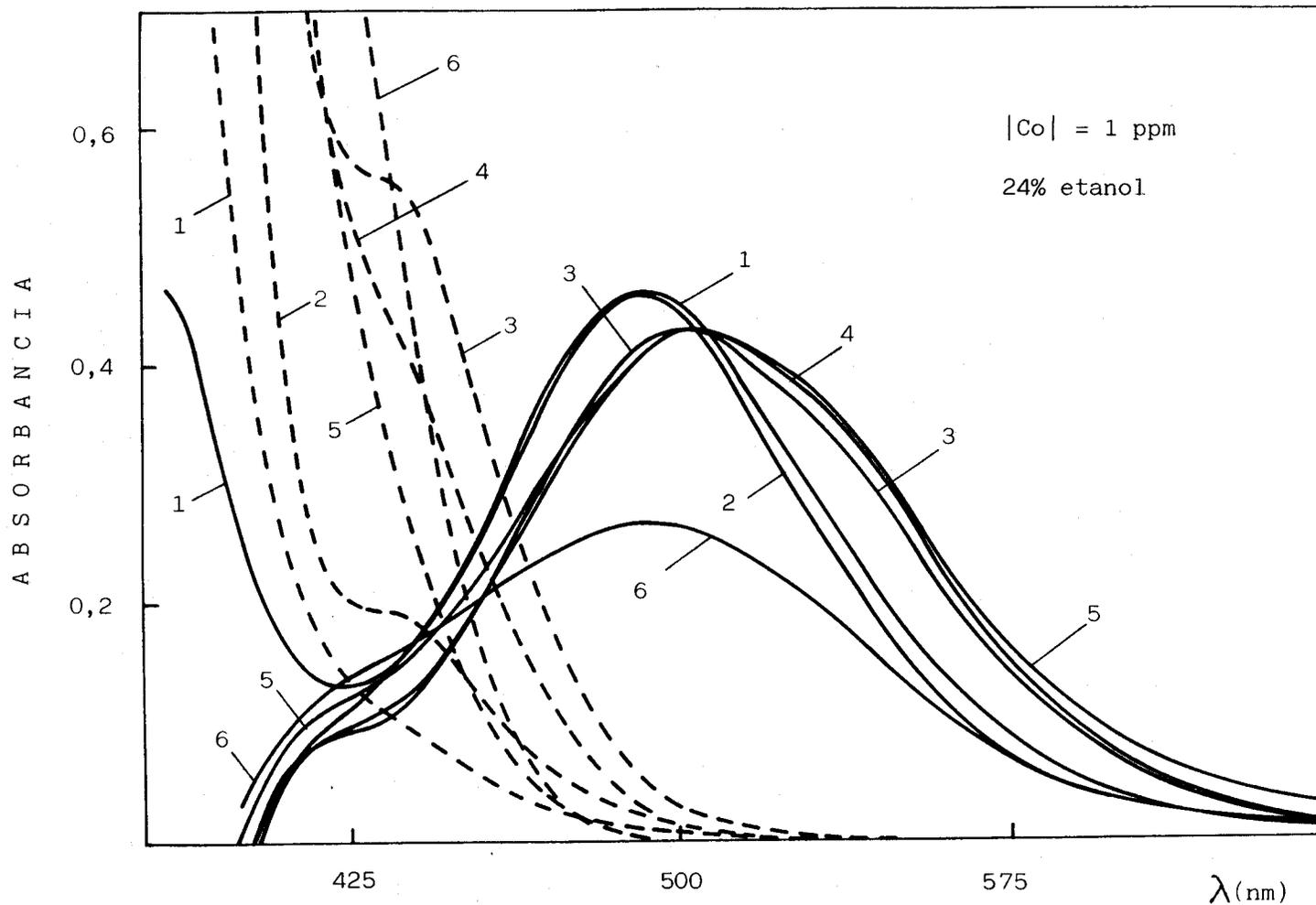


FIGURA 94 * Influencia del pH y de la cantidad de HClO₄ sobre el sistema Co(II)-DPGPH.
 1.- pH = 4,20; 2.- pH = 1,95; 3.- 2 ml. de HClO₄ al 70%; 4.- 5 ml; 5.- 8 ml;
 6.- 15 ml. A trazos los blancos correspondientes.

Se ha estudiado la influencia del pH y de la acidez del medio sobre el sistema Co(II)-DPGPH. Las muestras, al igual que las comentadas anteriormente, contienen un 24% de etanol en volumen. Se elige un medio con más contenido en etanol que el indicado en la reaccionabilidad con objeto de poder emplear en el futuro, si fuera necesario, cantidades más elevadas de reactivo. Los datos experimentales obtenidos, medidos frente a un blanco de disolvente, se encuentran recogidos en la Tabla 66 y representados en las Figuras 95-96, donde también se incluyen las medidas de absorbancia de los blancos de reactivo frente a un blanco de disolvente. Se observa cómo a 508-510 nm la diferencia entre la absorbancia del sistema Co(II)-DPGPH y la del blanco del reactivo puede considerarse prácticamente constante -dentro de los límites del error experimental-, entre pH 4 y una concentración en ácido perclórico en la disolución final de ~3,5 M. La absorbancia del blanco es despreciable a concentraciones de ácido superiores a 0,5 M. De todas formas, el valor máximo alcanzado por un blanco de reactivo, que se obtiene a pH ~0,9, es tan sólo de 0,031 y 0,029 unidades de absorbancia a 508 y 510 nm, respectivamente.

Con vistas a la determinación espectrofotométrica de cobalto, interesa desarrollar la coloración al pH más bajo compatible con el desarrollo completo del color, puesto que de esta manera se evita en parte la interferencia de iones extraños que forman complejos coloreados con el reactivo a valores de pH más elevados y la precipitación de hidróxidos o de sales básicas en el medio de reacción.

III.2.2.- Influencia del disolvente .- Se han estudiado las características absorbentes del sistema Co(II)-DPGPH en presencia de un 50% v/v de disolvente orgánico en la disolución final, que contenía además 1 ml de disolución de DPGPH al 0,25% p/v en etanol, 2,5 ml de disolución de NaClO₄ 1 M (para ajustar la fuerza iónica a 0,1), y 2 ml de tampón ácido acético/acetato sódico de pH 4,75. Los espectros de absorción correspondientes se encuentran en la Figura 97. Aunque la máxima absorbancia se consigue con dimetilsulfóxido, a la vista de los resultados obtenidos se elige etanol como disolvente dada su mayor disponibilidad y su menor toxicidad. De todas formas no se producen grandes variaciones en la sensibilidad de la reacción cuando se utiliza etanol, DMF, acetona o dimetilsulfóxido como disolvente (Tabla 67).

TABLA 66 * INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE HClO_4 SOBRE LA ABSORBANCIA DEL COMPLEJO Co(II) : DPGPH - ($C_{\text{Co}} = 1$ ppm; 24% etanol).

pH/ λ (nm)	490	495	500	508	510	530	550
4,20	0,469	0,472	0,465	0,433	0,422	0,304	0,191
3,55	0,474	0,475	0,467	0,435	0,425	0,304	0,191
3,20	0,477	0,478	0,469	0,436	0,425	0,303	0,190
2,80	0,482	0,482	0,471	0,437	0,425	0,301	0,186
2,60	0,482	0,481	0,471	0,436	0,425	0,303	0,190
2,10	0,489	0,486	0,474	0,436	0,426	0,297	0,180
1,85	0,492	0,489	0,476	0,438	0,427	0,301	0,186
1,65	0,490	0,486	0,474	0,437	0,426	0,299	0,185
1,20	0,495	0,492	0,482	0,450	0,437	0,326	0,216
0,90	0,477	0,477	0,473	0,454	0,447	0,362	0,264

$-\lg \text{ClO}_4^- $	490	495	500	508	510	530	550
- 0,14	0,459	0,462	0,464	0,456	0,451	0,393	0,302
- 0,21	0,446	0,452	0,459	0,447	0,447	0,390	0,301
- 0,27	0,437	0,447	0,453	0,440	0,442	0,391	0,300
- 0,36	0,421	0,430	0,437	0,435	0,433	0,386	0,299
- 0,44	0,406	0,424	0,430	0,427	0,430	0,382	0,297
- 0,51	0,396	0,409	0,419	0,421	0,420	0,376	0,291
- 0,62	0,365	0,377	0,388	0,391	0,390	0,350	0,268
- 0,71	0,343	0,353	0,360	0,362	0,360	0,317	0,236
- 0,78	0,305	0,309	0,313	0,309	0,307	0,260	0,184
- 0,84	0,270	0,267	0,264	0,254	0,250	0,199	0,133
- 0,90	0,243	0,232	0,221	0,201	0,196	0,138	0,085

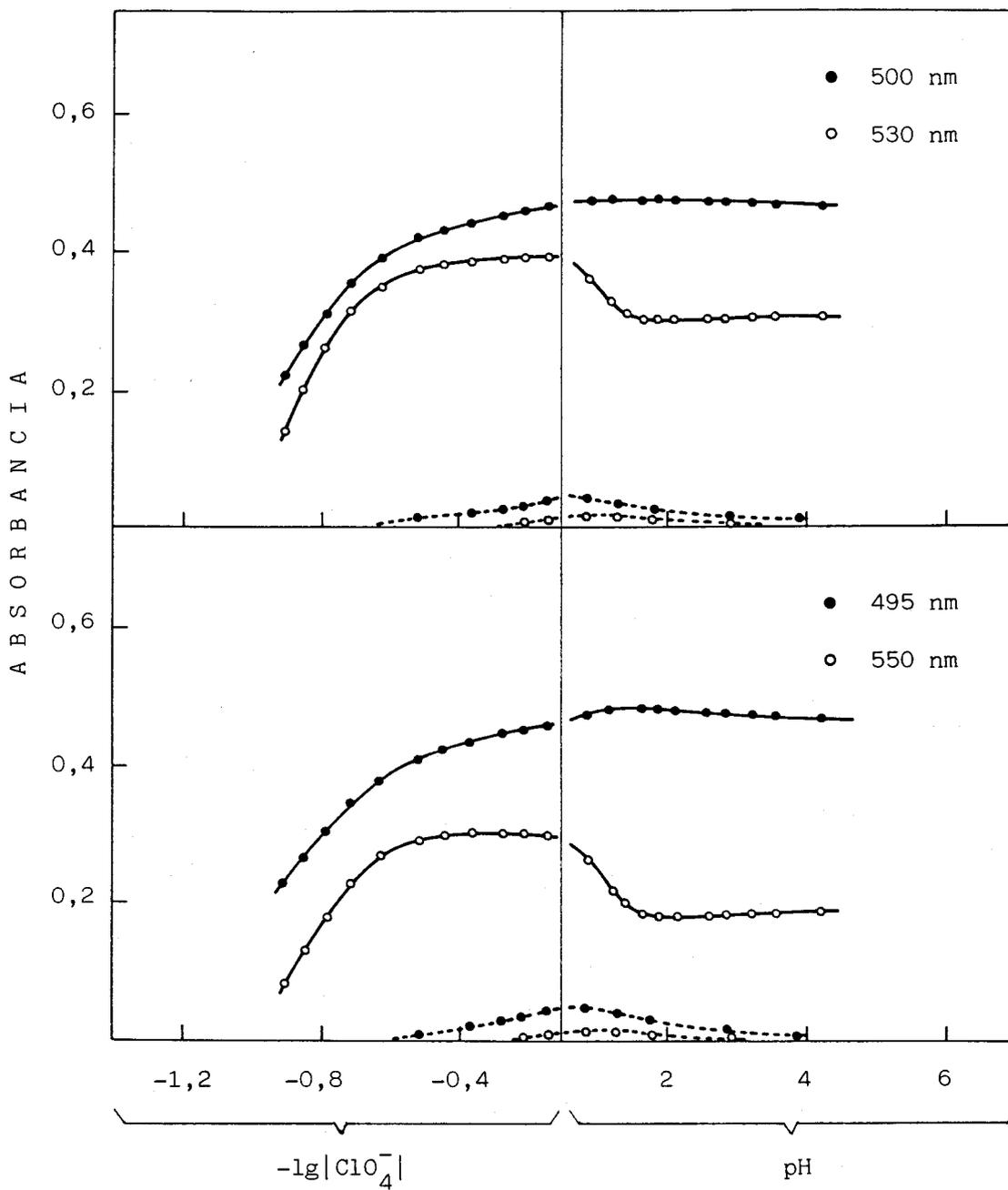


FIGURA 95 * Influencia de la cantidad de HClO_4 sobre la absorbancia del complejo Co(II)-DPGPH . $|\text{Co}| = 1 \text{ ppm}$; 24% etanol. A trazos el blanco de reactivo.

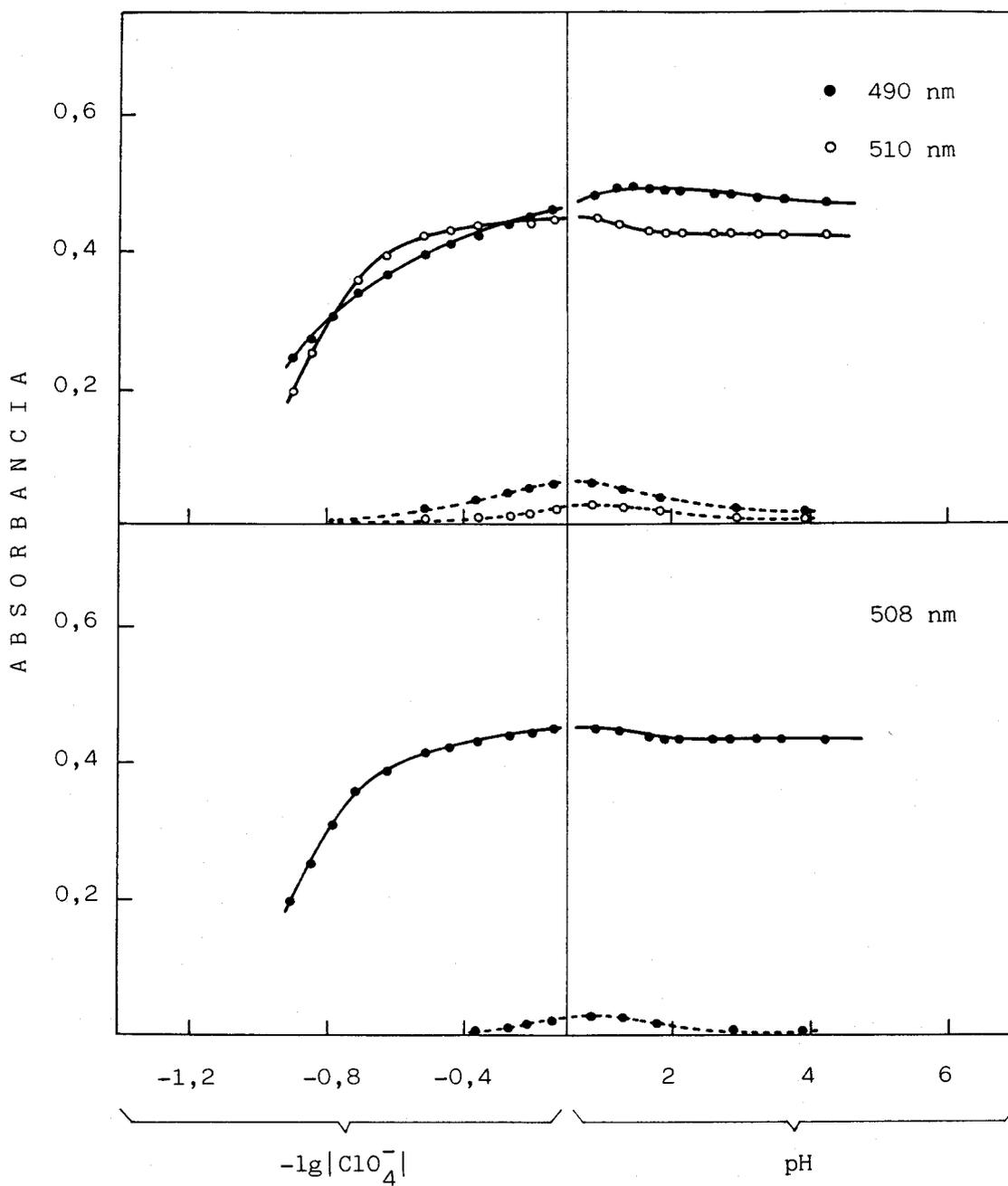


FIGURA 96 * Influencia de la cantidad de HClO_4 sobre la absorbancia del complejo Co(II)-DPGPH . $[\text{Co}] = 1 \text{ ppm}$; 24% etanol. A trazos el blanco de reactivo.

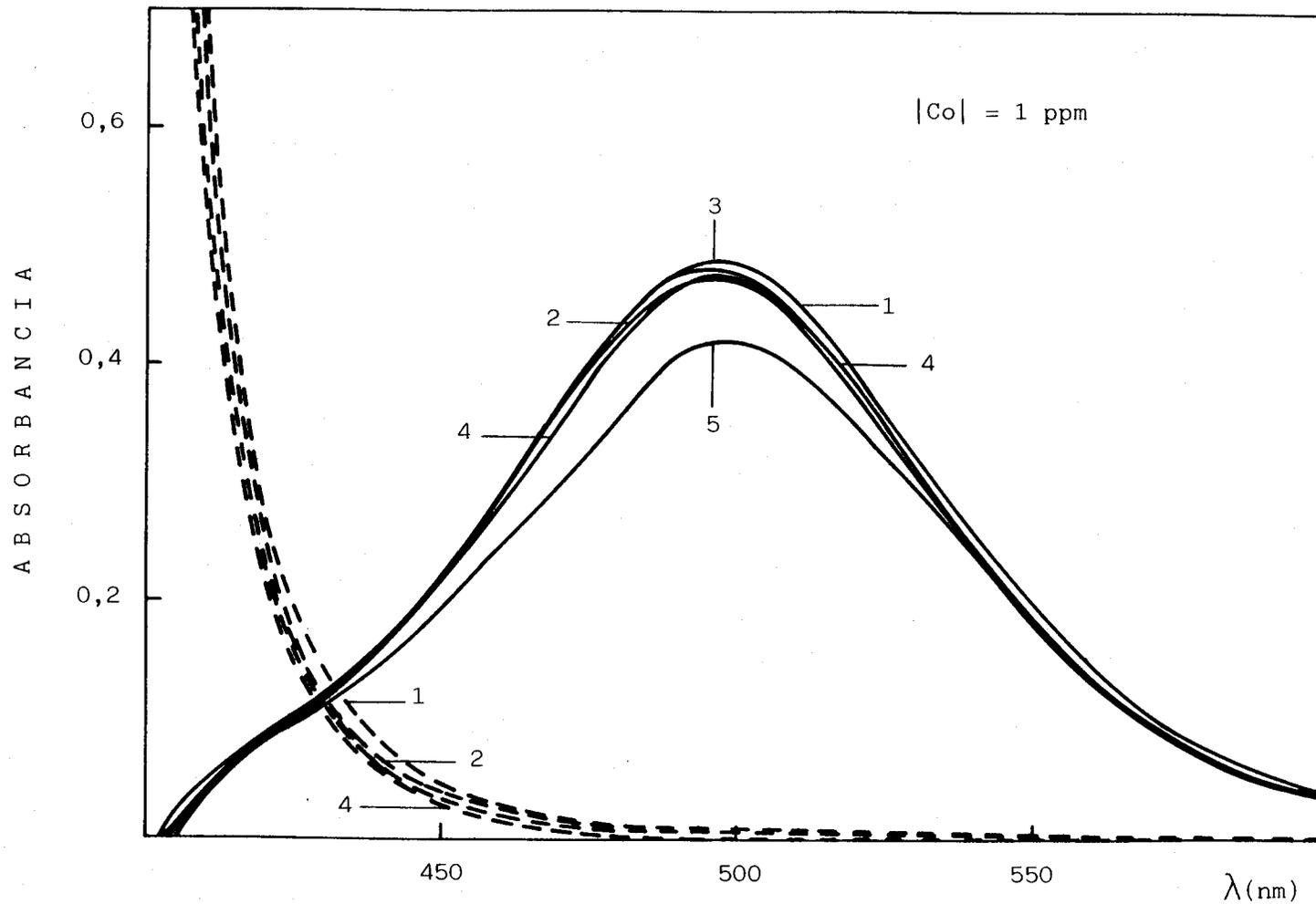


FIGURA 97 * Espectros de absorción del sistema Co(II)-DPGPH en distintos disolventes.
 1.- Dimetilsulfóxido; 2.- DMF; 3.- Etanol; 4.- Acetona; 5.- Dioxano.
 A trazos los blancos correspondientes.

TABLA 67 * CARACTERISTICAS FOTOMETRICAS Y ESTABILIDAD DEL SISTEMA Co(II)-DPGPH
 EN VARIOS DISOLVENTES ORGANICOS ($C_{Co} = 1 \text{ ppm}$)*

Disolvente	Constante dieléctrica (230)	%	pH	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	ϵ ($\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)	% variación de absorbancia	
						2 horas	3 días
Dimetilsulfóxido	46,7	50	6,28	496	28.800	1,2	8,2
Dimetilformamida	37,6	50	6,22	496	27.900	1,5	10,4
Etanol	24,3	54	5,54	496	28.500	1,9	7,9
Acetona	20,7	50	5,94	496	28.100	1,5	9,6
Dioxano	2,2	50	5,98	497	24.900	-0,2	-24,2

(*) Las muestras contienen 2 ml de tampón AcOH/AcONa de pH 4,74

En los disolventes últimamente citados, y también en dioxano, la estabilidad de las muestras puede considerarse aceptable puesto que se produce una variación de absorbancia inferior al 2% transcurridas 1,5 horas después de la primera medida de las muestras, que se hace entre 15-30 minutos después de preparadas. Ahora bien, con el tiempo (3 días), se produce un aumento apreciable de las absorbancias a la longitud de onda de máxima absorción en el caso de etanol, DMF, acetona y dimetilsulfóxido, que es menor de un 10% en todos los casos; mientras que en el caso del dioxano se produce una disminución considerable.

Elegido el etanol como disolvente, se ha realizado un estudio en el cual se mantienen constantes todas las variables experimentales salvo la cantidad de etanol que se adiciona a distintas muestras. Los espectros de absorción obtenidos se encuentran en la Figura 98. La absorbancia es prácticamente constante cuando el contenido de etanol oscila entre un 20 y un 30% v/v en la disolución final. Asimismo, las muestras son muy estables puesto que se produce una disminución en las absorbancias inferior al 3,5% al cabo de 1,5 horas después de la primera medida, a 510 nm. Las características espectrofotométricas (longitud de onda de máxima absorción y coeficiente de absorptividad molar) del sistema Co(II)-DPGPH en los diferentes porcentajes de etanol estudiados se muestran en la Tabla 68.

TABLA 68 * CARACTERISTICAS FOTOMETRICAS Y ESTABILIDAD DEL SISTEMA Co(II)-DPGPH EN DISTINTOS PORCENTAJES DE ETANOL*

% Etanol	pH	$\lambda_{\text{máx}}$	ξ ($l \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	% variación de absorbancia	
				2 horas	1 día
10	4,66	492	27.300	3,3	5,2
20	4,80	493	28.000	2,8	5,3
30	5,02	494	27.600	2,1	4,5
40	5,24	495	28.400	2,8	6,6

(*) Las muestras contienen 2 ml de tampón AcH/AcNa de pH 4,74
|Co| = 1 ppm

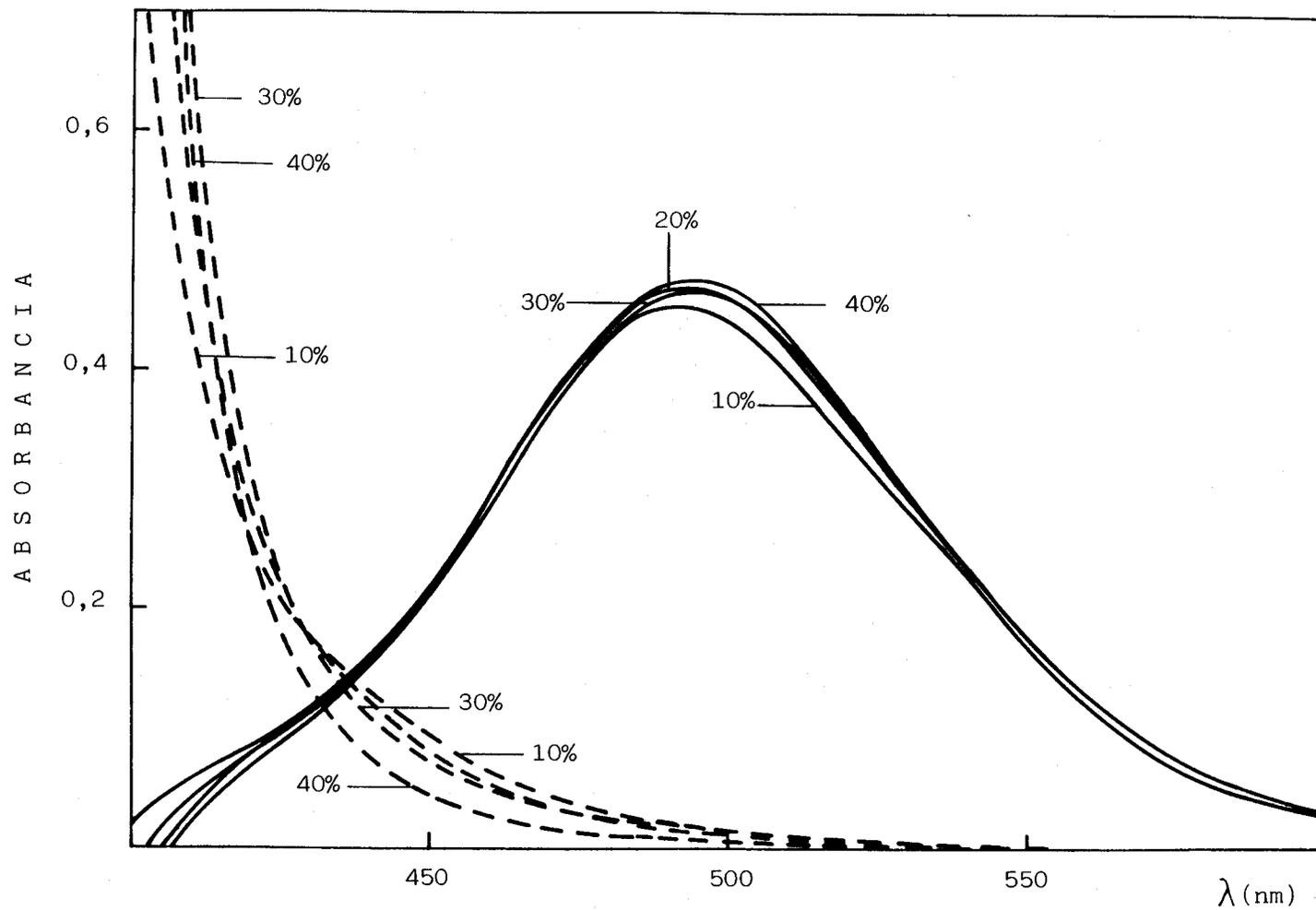


FIGURA 98 * Espectros de absorción del sistema Co(II)-DPGPH en diferentes porcentajes de etanol. $|\text{Co}| = 1 \text{ ppm}$. A trazos los blancos correspondientes.

III.2.3.- Cantidad óptima de reactivo.- Tal como se comprueba en la Figura 99 o en la Tabla 69, la absorbancia de disoluciones que contienen una cantidad fija de cobalto igual a 2 ppm, y cantidades variables de reactivo en un medio con un 10% de etanol en volumen, permanece constante -dentro de los límites del error experimental- para relaciones de DPGPH a Co(II) superiores a 2,4, cuando la concentración de ácido perclórico final en el medio es del orden de 1,9 M. Se ha comprobado que la absorbancia de las muestras incluidas en la Figura 99, cuyas razones $|DPGPH|/|Co|$ oscilan entre 0,2 y 3,6, pueden considerarse estables durante al menos 24 horas, desde un punto de vista práctico (Tabla 69).

A partir de la Figura 99 se comprueba asimismo cómo el complejo Co(II)-DPGPH muestra una razón estequiométrica 2:1 (DPGPH:Co) en este medio, al igual que en tampón ácido acético-acetato sódico (Figura 84), y que el complejo se encuentra escasamente disociado.

Indudablemente, el desplazamiento batocrómico (de 490 á 510 nm) que sufre el complejo de cobalto cuando aumenta la concentración de ácido perclórico en el medio, se debe a su protonación en dicho medio, dado que el quelato no cambia de estequiometría. Un argumento a favor de esta hipótesis viene dado por el hecho de que el complejo es extraíble en cloroformo en medio acético/acetato, pero no en medio ácido. Sin embargo, cuando se añade $NaClO_4$ el complejo es extraíble a partir de disoluciones ácidas, indicando que estaba cargado positivamente.

Es interesante comentar que elevadas cantidades de reactivo (5 ml de disolución de DPGPH al 0,25% p/v en etanol) no ejercen un efecto adicional sobre la absorbancia de las muestras.

III.2.4.- Efecto de la fuerza iónica, del orden de adición y del tiempo de mezcla de los reactivos.- Se ha comprobado que la presencia en el medio de reacción de cantidades de KCl 1 M, que oscilan entre 0 y 5 ml, no ejercen efecto sobre la formación del color naranja-rojizo (Tabla 70).

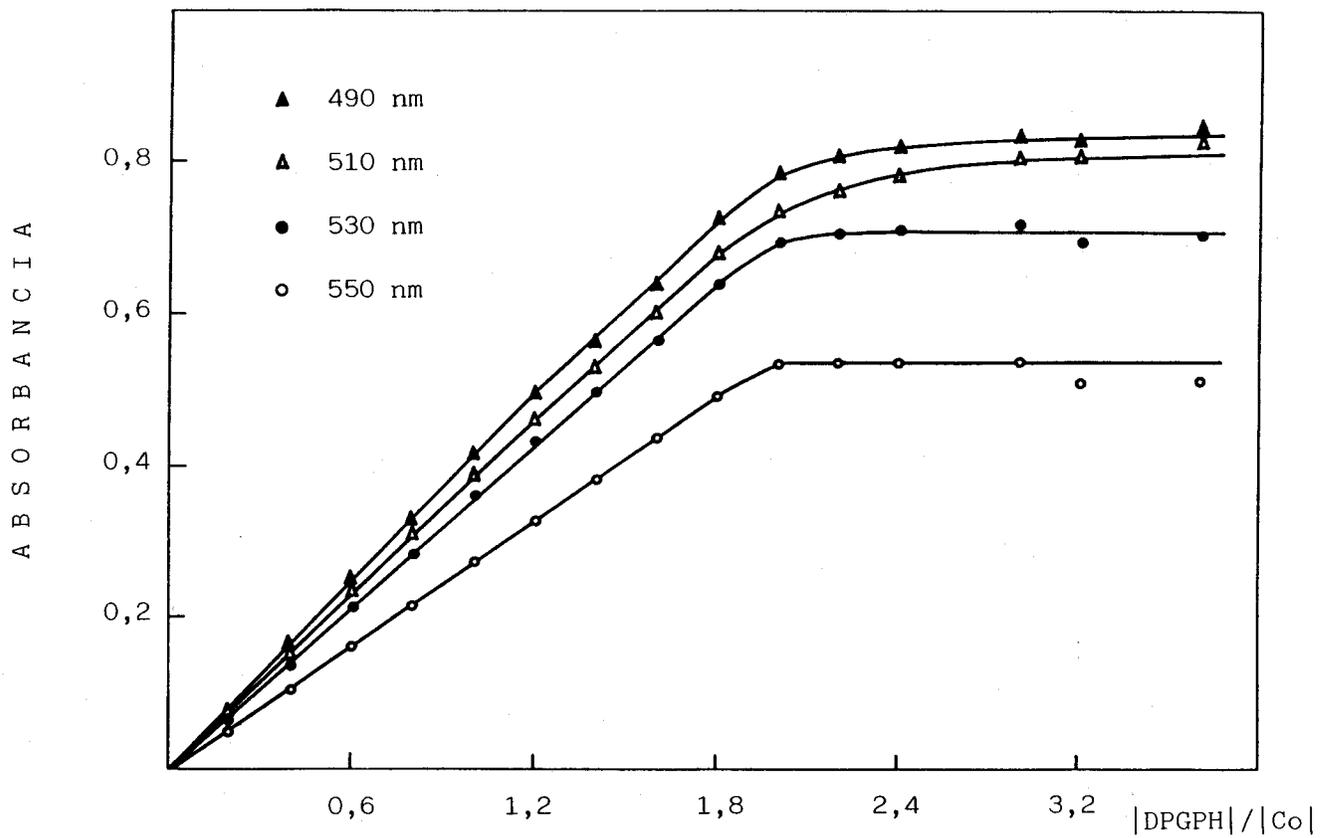


FIGURA 99 * Razón molar del complejo Co(II)-DPGPH en $HClO_4$ $\sim 1,9$ M.
 $|Co| = 2$ ppm.

TABLA 69 * RAZON MOLAR DEL COMPLEJO Co(II):DPGPH EN MEDIO FUERTE-
 MENTE ACIDO (4 ml HClO_4 ~ 12 F)
 ($|\text{Co}| = 2$ ppm ; 10% etanol)

Razón $ \text{DPGPH} / \text{Co} $	Absorbancia		
	510	510*	510**
0,2	0,071	0,074	0,069
0,4	0,156	0,156	0,150
0,6	0,248	0,252	0,240
0,8	0,328	0,328	0,323
1,0	0,412	0,413	0,402
1,2	0,493	0,491	0,480
1,4	0,561	0,563	0,546
1,6	0,637	0,628	0,618
1,8	0,729	0,725	0,705
2,0	0,784	0,777	0,762
2,2	0,803	0,801	0,782
2,4	0,820	0,821	0,800
2,8	0,836	0,835	0,842
3,2	0,819	0,813	0,791
3,6	0,838	0,833	0,814

(*) Absorbancia medida a las 3 horas.

(**) Absorbancia medida a las 24 horas.

TABLA 70 * INFLUENCIA DE LA FUERZA IONICA SOBRE LA ABSORBANCIA DEL COMPLEJO Co(II)-DPGPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA

V _{KCl} ^{**}	pH muestra	A b s o r b a n c i a *			
		490	510	530	550
0	4,62	0,474	0,431	0,304	0,185
1	4,85	0,472	0,428	0,302	0,184
2	4,60	0,477	0,431	0,302	0,182
3	4,94	0,476	0,432	0,306	0,187
4	4,73	0,476	0,432	0,306	0,187
5	4,95	0,478	0,435	0,308	0,189

(*) 1 ppm de Co(II); 24% etanol - (**) volumen de KCl 1 M (en ml)

Por otra parte, el tipo de electrolito indiferente empleado en el ajuste de la fuerza iónica del medio, (KCl, NaClO₄, KNO₃ y Na₂SO₄; 2,5 ml de disolución 1 M/25 ml), tampoco influye apreciablemente sobre la absorbancia de las muestras (Tabla 71).

TABLA 71 * INFLUENCIA DEL TIPO DE ELECTROLITO SOBRE LA ABSORBANCIA DEL COMPLEJO Co(II)-DPGPH A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA

Electrolito	pH muestra	A b s o r b a n c i a °			
		490	510	530	550
KCl	4,66	0,482	0,437	0,312	0,193
NaClO ₄	4,43	0,470	0,428	0,305	0,187
KNO ₃	4,95	0,474	0,431	0,305	0,186
Na ₂ SO ₄	5,15	0,481	0,436	0,306	0,186

(°) 1 ppm Co(II): 24% etanol

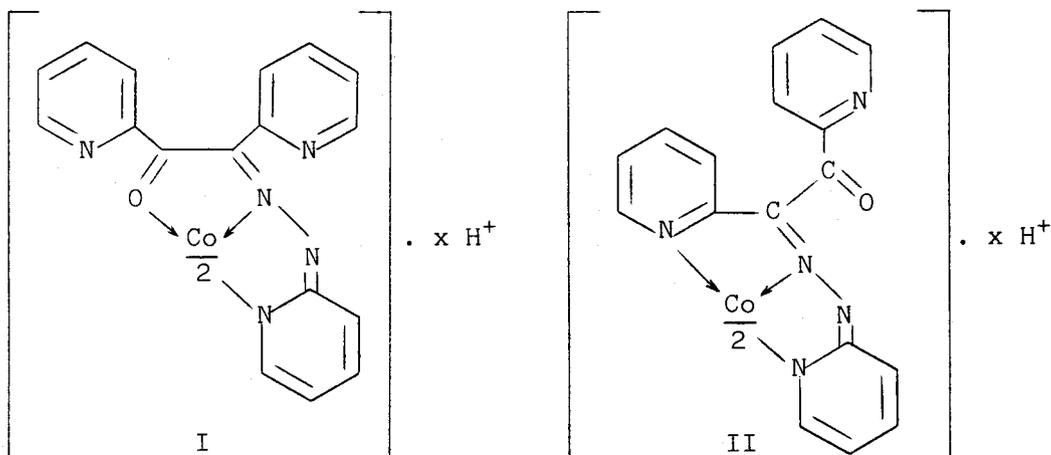
Se ha comprobado que cuando el pH del medio de reacción es superior a 3, el desarrollo de la coloración naranja-rojiza es independiente del orden de adición seguido. En cambio, cuando se trabaja en medio fuertemente ácido, es necesario añadir el reactivo antes que el ácido para que el complejo Co(II)-DPGPH pueda formarse.

Estudios de estabilidad mostraron que el tiempo necesario para la reacción completa -antes de la adición de ácido, en su caso-, es de unos 15 minutos.

III.2.5.- Estequiometría y estructura.- Se ha aplicado el método de las variaciones continuas, a pH 4,68 (tampón acético/acetato), a una serie de disoluciones en las que la concentración total de reactante (cobalto+DPGPH) era constante e igual a $7,92 \times 10^{-4}$ M, pero la fracción molar de cobalto era variable. Los espectros de absorción para las distintas fracciones molares ensayadas se muestran en la Figura 100 e indican la formación de un único complejo. Los resultados experimentales obtenidos a 510 nm se recogen en la Tabla 72, a partir de la cual se deduce que las muestras son estables durante al menos 24 horas. En la Figura 101(a) se representan las curvas de las variaciones continuas a diferentes longitudes de onda, que indican claramente la formación de un complejo 2:1 DPGPH:Co, poco disociado.

Se ha realizado un estudio análogo al anteriormente indicado a pH 4,68, pero en un medio con una concentración final de ácido perclórico igual a 1 M. En la Figura 102 se muestran los espectros de absorción para las distintas relaciones $|\text{Co}|/|\text{Co}|+|\text{DPGPH}|$ empleadas. Los resultados experimentales obtenidos a 510 nm, junto con su evolución con el tiempo, se recogen en la Tabla 73, y en la Figura 101(b) se muestran las curvas típicas de las variaciones continuas. De nuevo se observa, al igual que en el caso anterior, la formación de un único complejo 2:1 DPGPH:Co, también poco disociado en este medio.

Dos posibles estructuras pueden asignarse al complejo naranja-rojizo de cobalto:



De las dos estructuras, la segunda (II) puede considerarse más probable si se tiene en cuenta que los complejos de cobalto de la biacetil mono(2-piridil)hidrazona (22) y de la bencil mono(2-piridil)hidrazona (12) no sufren desplazamiento alguno en sus máximos de absorción cuando aumenta la acidez en el medio, lo contrario de lo que ocurre a los complejos de cobalto de la di-2-piridilcetona 2-piridilhidrazona (13) y di-2-piridilcetona 2-quinolilhidrazona (18), que sufren un desplazamiento batocrómico de aproximadamente 20 nm conforme aumenta la acidez del medio.

El complejo es inerte y, una vez formado, no es destruido si se añaden al medio de reacción cantidades elevadas de AEDT.

III.2.6.- Procedimiento recomendado para la determinación espectrofotométrica de cobalto con DPGPH.- A la vista de los resultados experimentales recogidos en los apartados anteriores, se propone el siguiente procedimiento:

En matraces aforados de 25 ml se añade un volumen de disolución que contenga de 4 á 40 μg de Co(II), 3,5 ml de etanol, 1 gota de HClO_4 0,1 M (para llevar el pH hasta ~ 4), agua destilada hasta completar ~ 20 ml, 2,5 ml de disolución de DPGPH al 0,1% p/v en etanol. Se añaden 2,15 ml de HClO_4 del 70% (concentración final en $\text{HClO}_4 \approx 1$ M) y se enrasa con agua destilada. Homogeneizar la muestra y medir la absorbancia a 510 nm frente a un blanco de reactivo.

Se calcula la concentración desconocida de Co(II) en la muestra a partir de una recta de calibrado trazada de acuerdo con el procedimiento recomendado, o bien haciendo uso de una ecuación empírica.

III.2.7.- Ley de Beer. Reproducibilidad.- Se ha comprobado que el sistema Co(II)-DPGPH cumple la ley de Beer a un pH $\sim 4,1$ en un medio con un 24% de etanol en volumen, a varias longitudes de onda. En la Figura 103 se recoge una serie de espectros típicos para diferentes concentraciones de cobalto, mostrando todos el mismo máximo y la misma forma, mientras que en la Figura 104(a) se representan los resultados obtenidos a longitud de onda fija.

Se han realizado experiencias análogas a las anteriores, desarrollando las coloraciones a un pH ~ 4 , dejando las muestras en reposo

unos 15 minutos y añadiendo posteriormente ácido perclórico al medio de reacción, de tal manera que la concentración final en ácido sea igual a 1 M. Los espectros de tres muestrás representativas medidas frente a blancos de reactivo y frente a un blanco de disolvente, se encuentran en la Figura 105. Asimismo, en la Figura 104 (b) se representan los resultados obtenidos en la medida de las absorbancias de disoluciones que contienen cantidades diferentes de cobalto, a diversas longitudes de onda, comprobándose cómo se cumple la Ley de Beer entre 0,15 y 1,75 ppm de Co(II).

Por último, las ecuaciones de las líneas rectas obtenidas en todos los casos mediante análisis de regresión sencilla, junto con los coeficientes de correlación, número de puntos empleados, desviación estándar de la ordenada en el origen (S_A), de la pendiente (S_B), de la regresión ($S_{y/x}$) y covarianza entre la ordenada en el origen y la pendiente $Cov(A,B)$, se encuentran recogidas en la Tabla 74. En todos los casos las rectas de calibrado poseen ordenadas en el origen próximas a cero. De todas formas, la única longitud de onda que es independiente de la acidez del medio dentro de amplios límites, es la de 510 nm. No obstante en el estudio de las interferencias se efectuarán medidas a diversas longitudes de onda con objeto de adquirir información acerca de la naturaleza de la interferencia estudiada, pero el cálculo de las ppm de cobalto encontradas se referirá a la longitud de onda de 510 nm.

La zona de mínimo error, a 510 nm, obtenida a partir del gráfico de Ringbom (Figura 106), se encuentra situada entre 0,25-1,75 ppm a pH = 4,1 y entre 0,25-1,50 ppm en ácido perclórico 1 M.

Los coeficientes de absortividad molar en cada medio de reacción evaluados a partir de la pendiente de las rectas de calibrado, presentan un valor de $27000 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, a 490 nm y pH = 4,1 y de $26000 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ á 510 nm en HClO_4 1 M.

En orden a establecer la precisión de las medidas de absorbancia a distintas longitudes de onda, se efectuaron los correspondientes ensayos de reproducibilidad de las muestrás, que contenían 0,5 ppm de cobalto. Estos ensayos se realizaron en un mismo día (7 muestrás), y a lo largo de distintos días (38 muestrás). En la Tabla 75 se

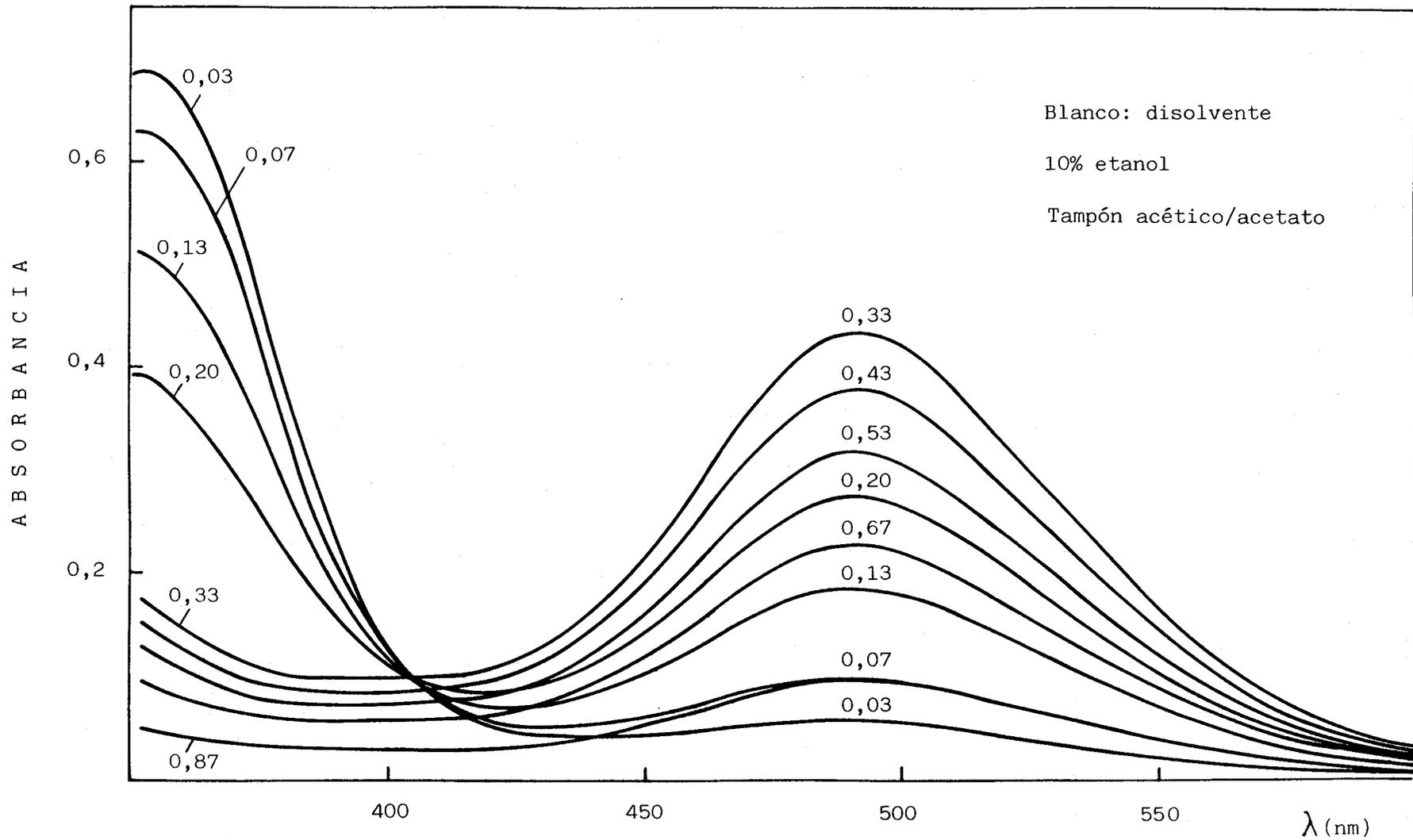


FIGURA 100 * Variaciones continuas del sistema Co(II)-DPGPH ($|Co|/|Co|+|DPGPH|$) a pH = 4,68.

TABLA 72 * VARIACIONES CONTINUAS DEL COMPLEJO Co(II):DPGPH A
pH = 4,68 (10% etanol)

ml de Co $7,92 \times 10^{-4}$ M	ml de DPGPH $7,92 \times 10^{-4}$ M	Relación $ Co / (Co + DPGPH)$	Absorbancia	
			510*	510**
0,05	1,45	0,03	0,055	0,054
0,10	1,40	0,07	0,091	0,096
0,20	1,30	0,13	0,172	0,175
0,30	1,20	0,20	0,250	0,255
0,40	1,10	0,27	0,333	0,336
0,50	1,00	0,33	0,392	0,398
0,60	0,90	0,40	0,363	0,366
0,65	0,85	0,43	0,343	0,347
0,70	0,80	0,47	0,322	0,323
0,75	0,75	0,50	0,302	0,305
0,80	0,70	0,53	0,287	0,293
0,85	0,65	0,57	0,267	0,269
0,90	0,60	0,60	0,244	0,250
1,00	0,50	0,67	0,204	0,208
1,10	0,40	0,73	0,169	0,170
1,20	0,30	0,80	0,130	0,134
1,30	0,20	0,87	0,090	0,092
1,40	0,10	0,93	0,050	0,054
1,45	0,05	0,97	0,032	0,034

(*) Absorbancia medida a los 30 minutos.

(**) Absorbancia medida a las 24 horas.

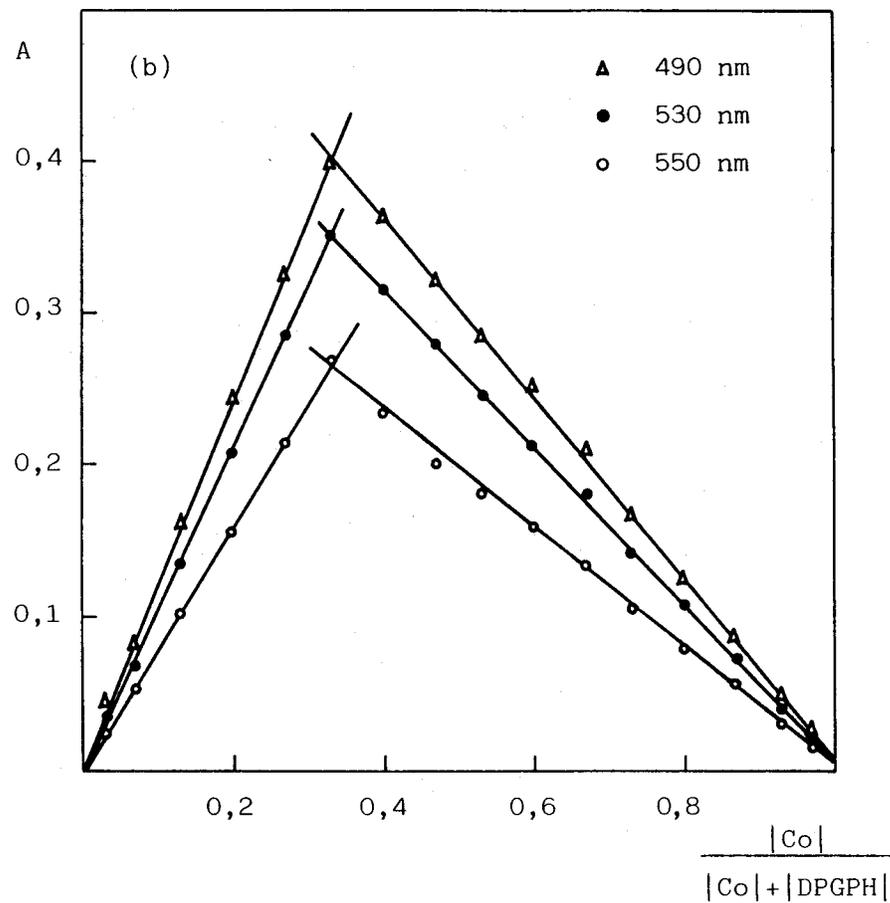
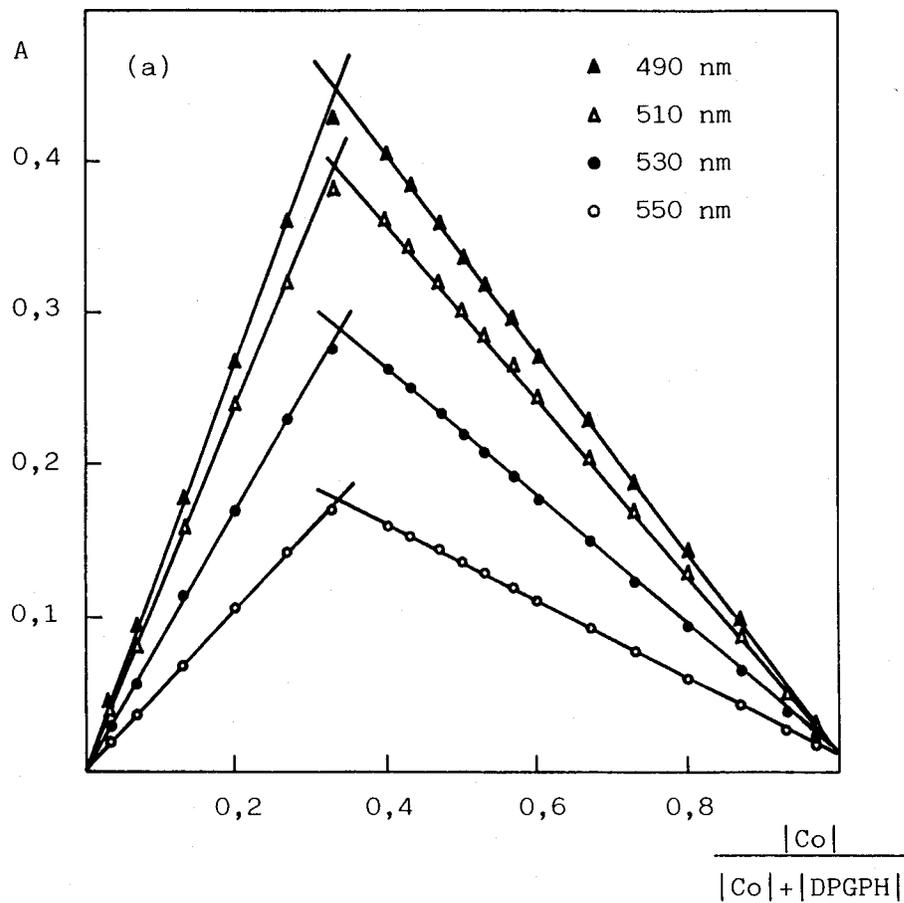


FIGURA 101 * Estequiometría del complejo Co(II)-DPGPH. Método de Job.

(a) pH = 4,68; (b) en HClO₄ 1 M.

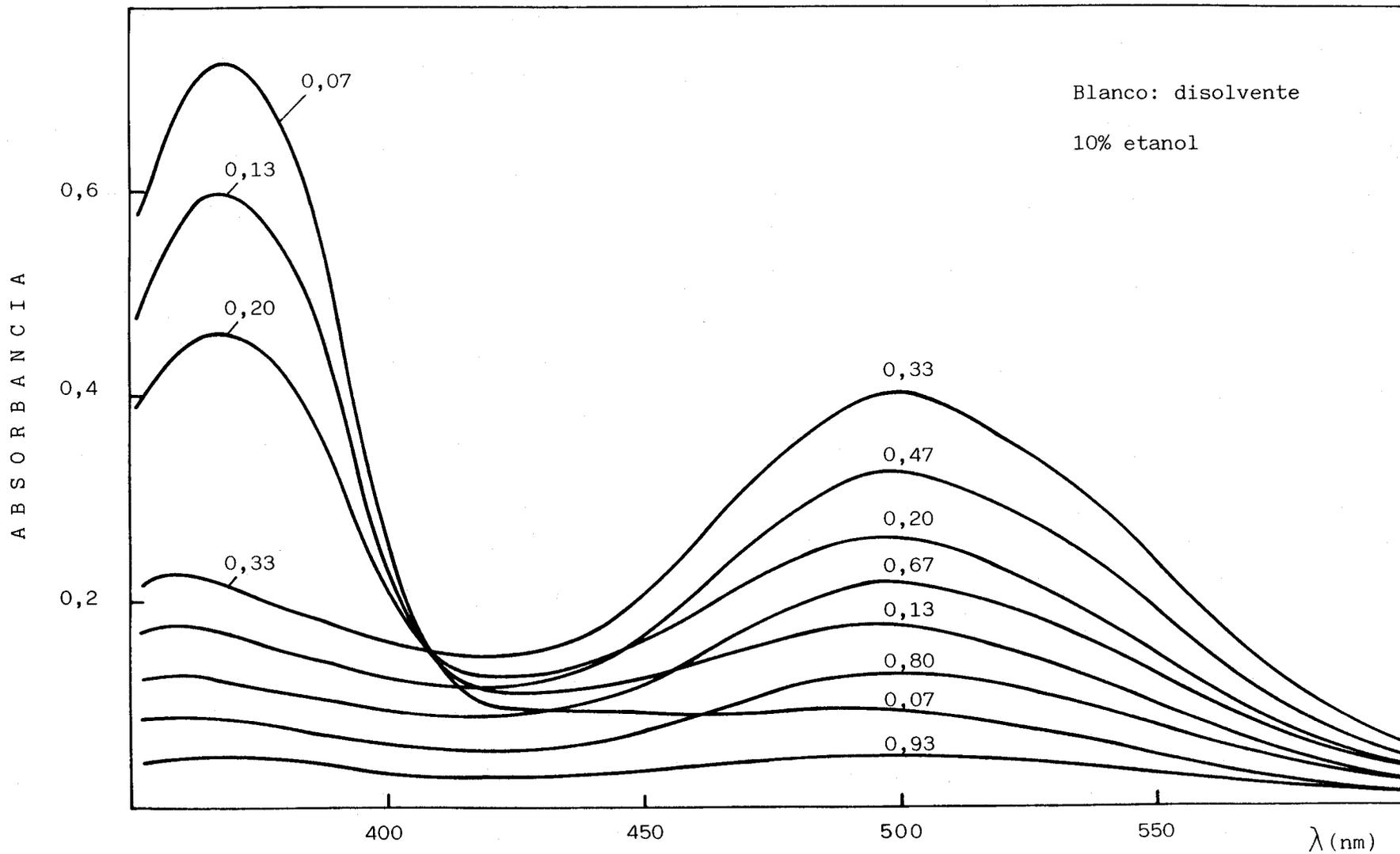


FIGURA 102 * Variaciones continuas del sistema Co(II)-DPGPH ($\frac{[Co]}{[Co]+[DPGPH]}$) en $HClO_4$ 1 M.

TABLA 73 * VARIACIONES CONTINUAS DEL COMPLEJO Co(II):DPGPH EN
 HClO_4 1 M (10% etanol)

ml de Co $7,92 \times 10^{-4}$ M	ml de DPGPH $7,92 \times 10^{-4}$ M	Absorbancia		
		510	510*	510**
0,05	1,45	0,054	0,051	0,045
0,10	1,40	0,092	0,091	0,080
0,20	1,30	0,173	0,181	0,155
0,30	1,20	0,257	0,259	0,230
0,40	1,10	0,344	0,346	0,309
0,50	1,00	0,418	0,397	0,362
0,60	0,90	0,369	0,377	0,339
0,70	0,80	0,328	0,323	0,290
0,80	0,70	0,289	0,285	0,256
0,90	0,60	0,255	0,248	0,223
1,00	0,50	0,214	0,209	0,189
1,10	0,40	0,170	0,166	0,156
1,20	0,30	0,126	0,123	0,110
1,30	0,20	0,088	0,092	0,075
1,40	0,10	0,047	0,044	0,040
1,45	0,05	0,024	0,028	0,022

(*) Absorbancia medida a las 2 horas.

(**) Absorbancia medida a las 78 horas.

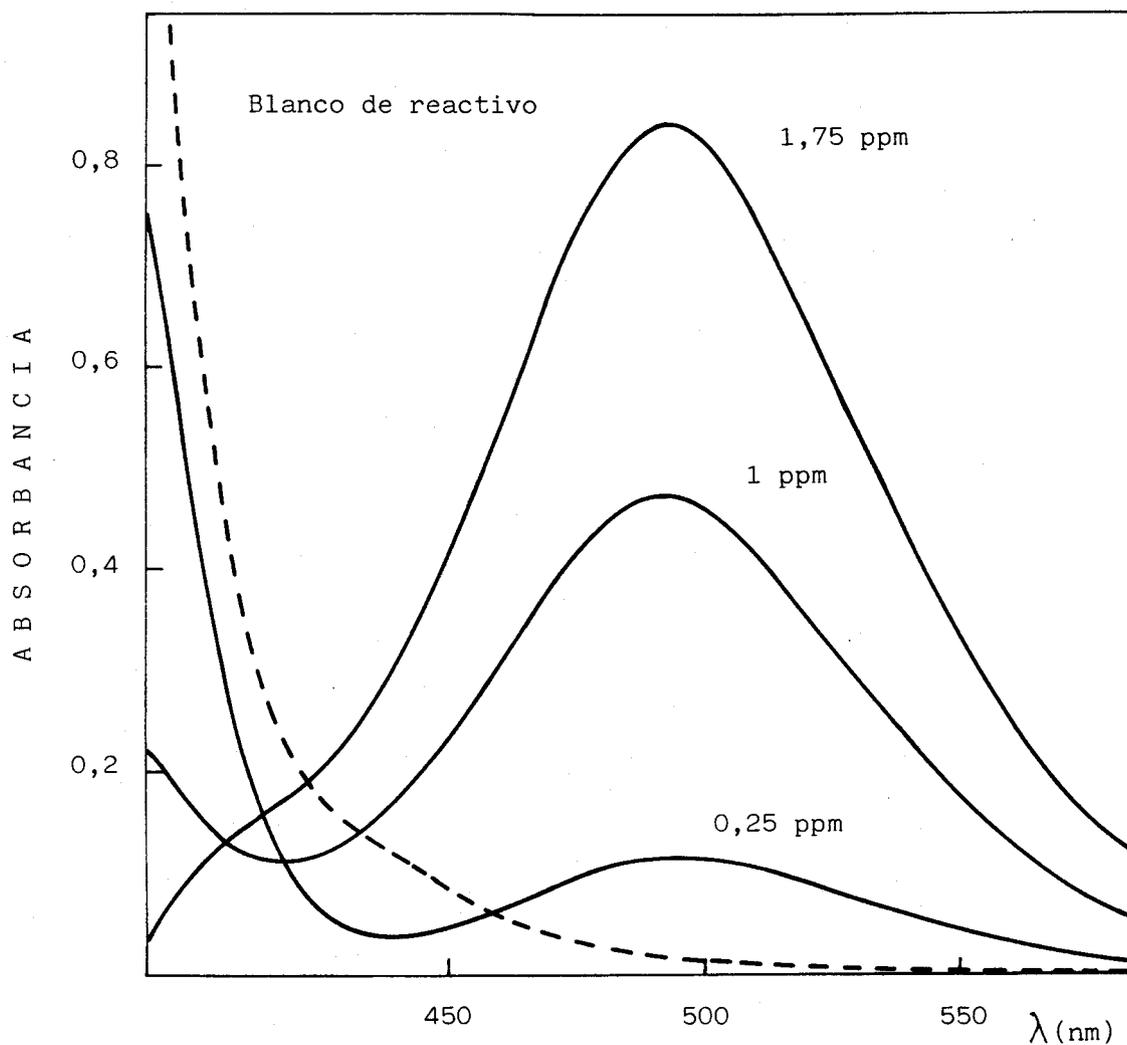


FIGURA 103 * Espectros de absorción correspondientes a la ley de Beer del sistema Co(II)-DPGPH (pH = 4,10). Blanco: reactivo.

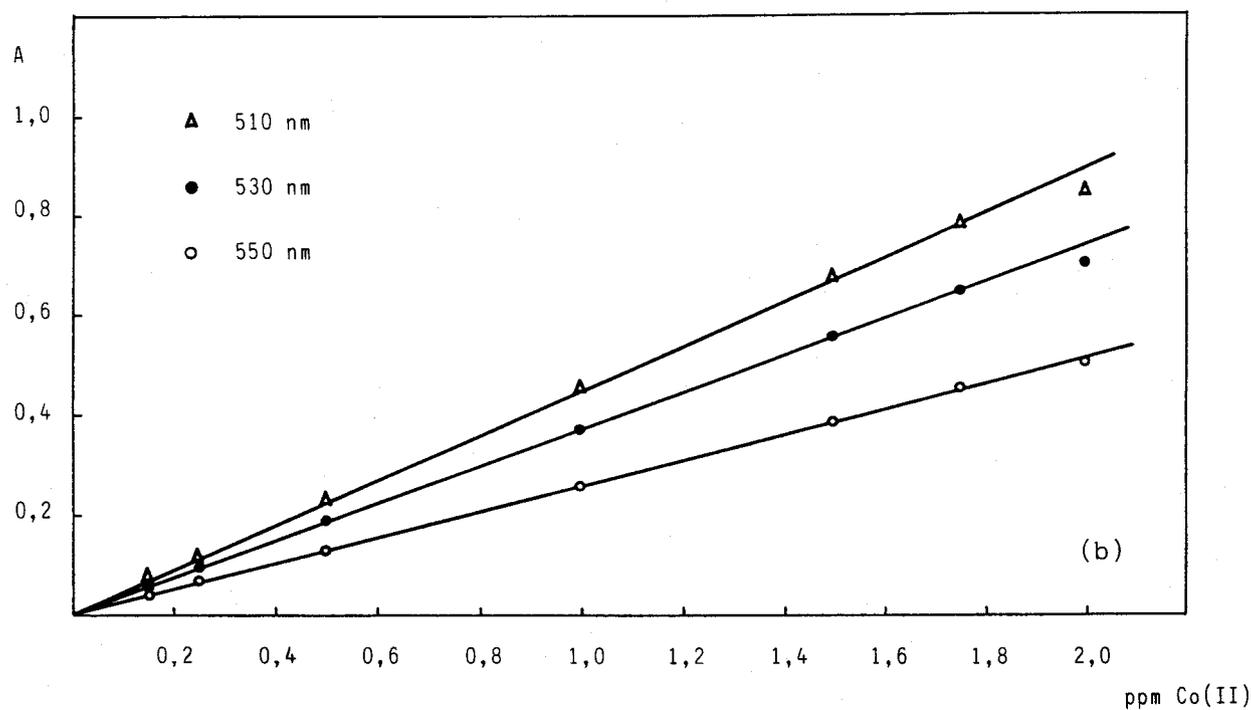
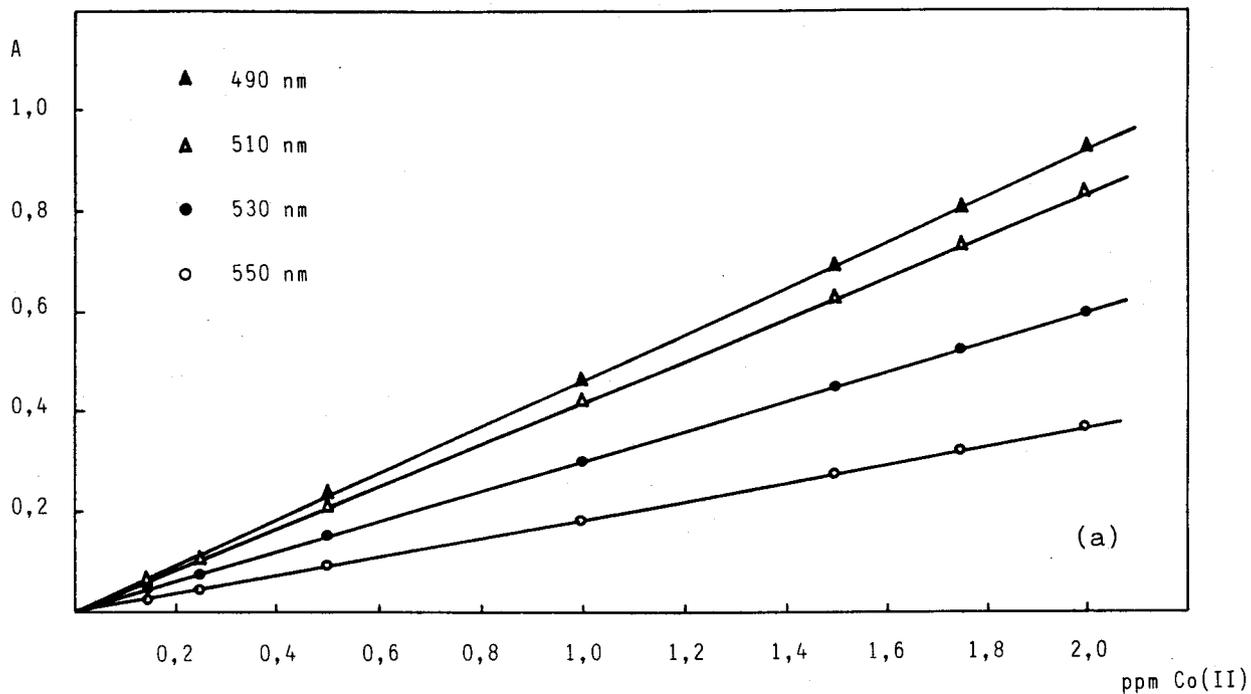


FIGURA 104 * Leyes de Beer para el complejo Co(II)-DPGPH
(a) pH = 4,1; (b) En HClO₄ 1 M.

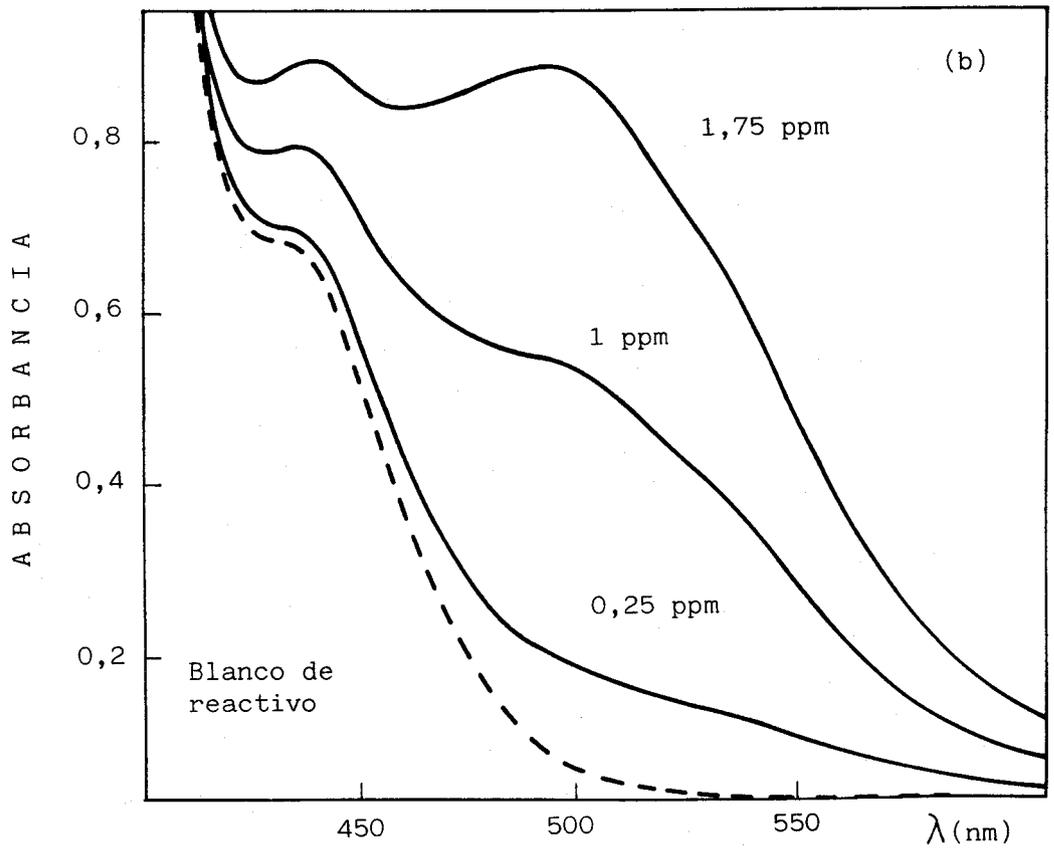
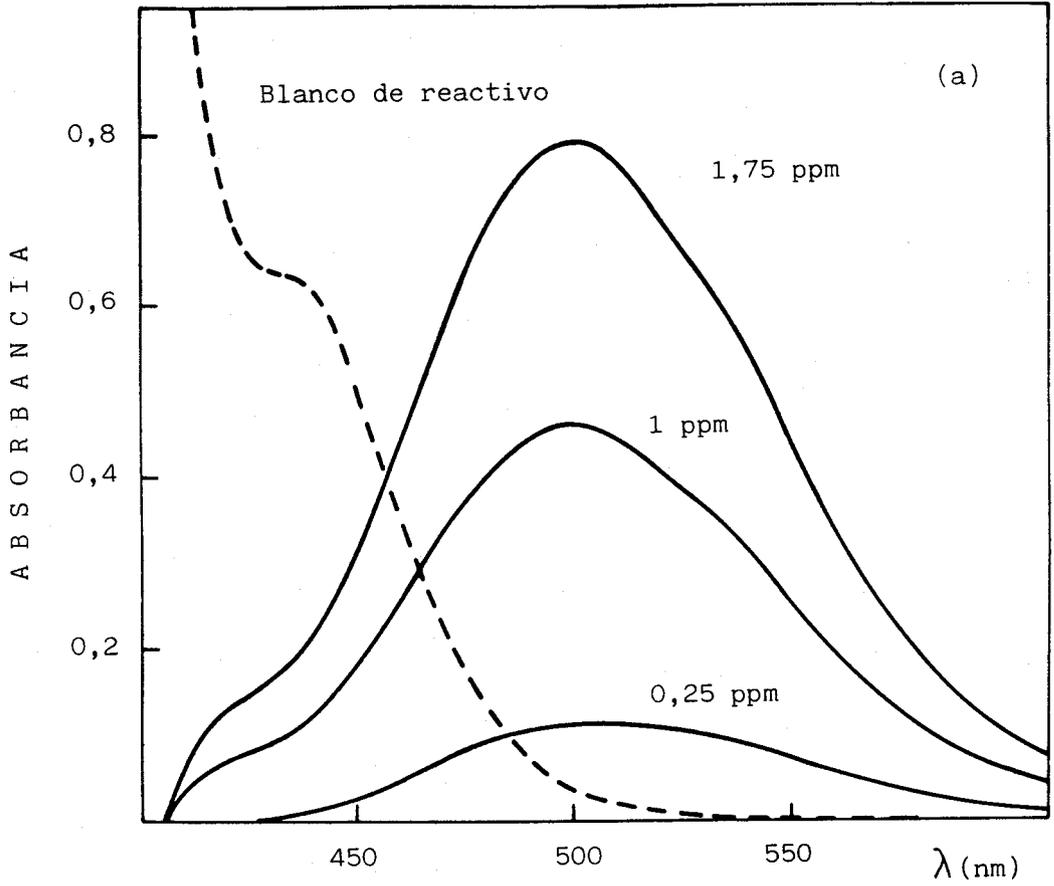


FIGURA 105 * Espectros de absorción correspondientes a la ley de Beer del sistema Co(II)-DPGPH (En HClO_4 1 M). (a) Blanco: reactivo; (b) Blanco: disolvente.

TABLA 74 * RECTAS DE REGRESION CORRESPONDIENTES A LA LEY DE BEER DEL COMPLEJO Co(II):DPGPH
 A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA: (A) A pH ~4,1; (B) EN HClO₄ 1 M.

λ (nm)	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	S _A	S _B	S _{y/x}	Cov(A,B)	
A)	490	Y = 0,0028 + 0,4579 X	1,0000	7	0,0021	0,0017	0,0031	-2,8683 E-06
	510	Y = 0,0042 + 0,4158 X	1,0000	7	0,0016	0,0013	0,0024	-1,7559 E-06
	530	Y = 0,0033 + 0,2973 X	1,0000	7	0,0007	0,0006	0,0010	-3,2383 E-07
	550	Y = 0,0024 + 0,1836 X	1,0000	7	0,0005	0,0004	0,0008	-1,7538 E-07
B)	490	Y = 0,0069 + 0,4357 X	0,9999	6	0,0036	0,0034	0,0050	-9,7681 E-06
	510	Y = 0,0088 + 0,4407 X	1,0000	6	0,0020	0,0019	0,0028	-3,1165 E-06
	530	Y = 0,0081 + 0,3624 X	1,0000	6	0,0009	0,0008	0,0012	-5,8017 E-07
	550	Y = 0,0062 + 0,2557 X	0,9999	6	0,0020	0,0019	0,0028	-3,0051 E-06

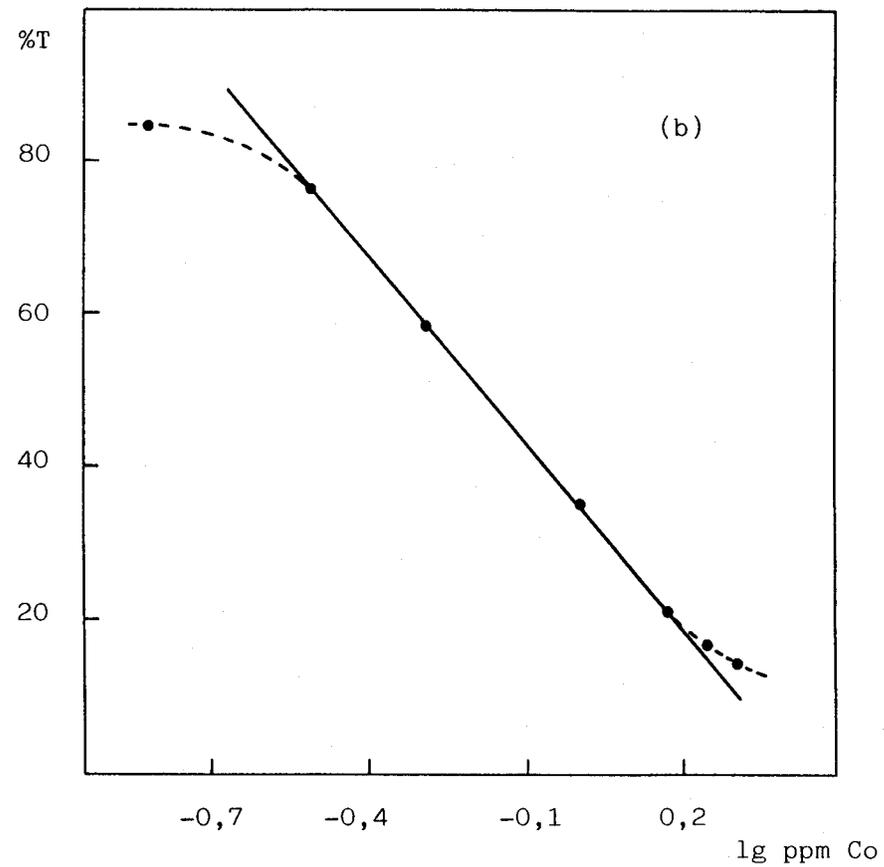
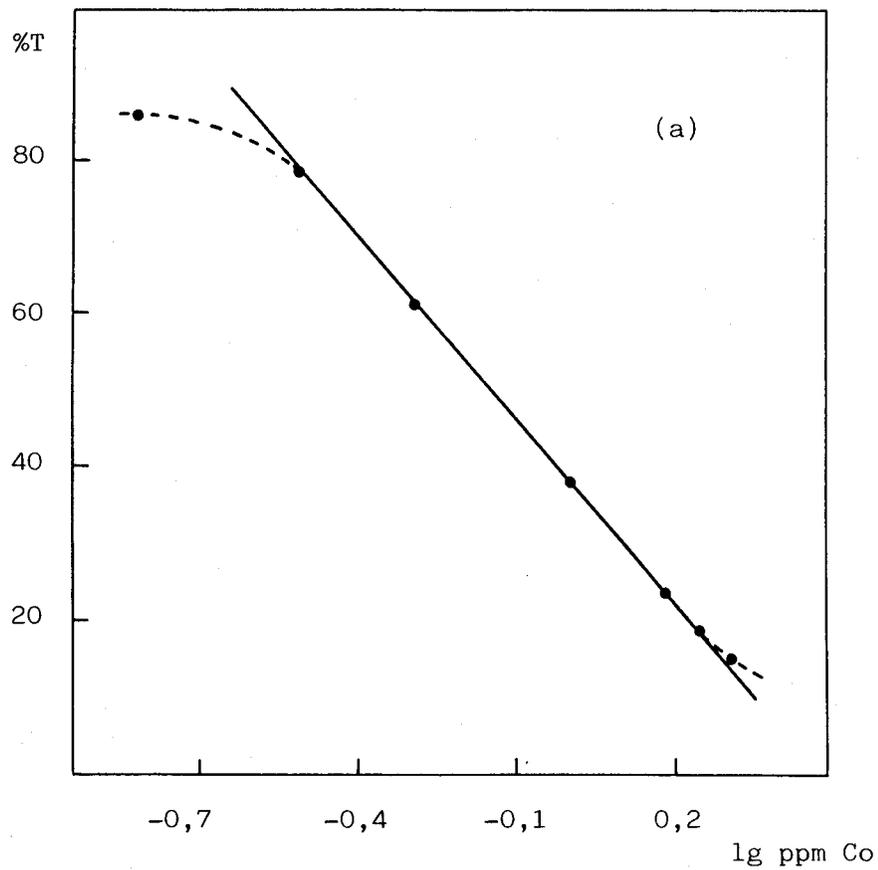


FIGURA 106 * Gráfico de Ringbom del complejo Co(II)-DPGPH
A 510 nm - (a) pH = 4,1; (b) En HClO₄ 1 M.

recogen los valores medios de la absorbancia (\bar{X}), desviación estándar (S), desviación estándar de la media (S_m), porcentaje de error de la media (%E) (258) y rango de variación, a las distintas longitudes de onda. Como puede observarse, el porcentaje de error del método a 510 nm es, en ambos casos, menor del 2%.

Para calcular el límite de detección -definido como la concentración de ión metálico que se corresponde con tres veces la desviación estándar de una serie de blancos preparada en el mismo día- se han preparado 5 blancos y se ha calculado su media y la desviación estándar, encontrándose un valor para el límite de detección del método propuesto de 0,02 ppm aproximadamente, a la longitud de onda analítica elegida (510 nm).

TABLA 75 * ESTUDIO DE LA REPRODUCIBILIDAD DEL SISTEMA Co(II)-DPGPH
($C_{Co} = 0,5$ ppm)

λ (nm)	490	510	530	550
Rango	0,281-0,300	0,242-0,253	0,191-0,201	0,135-0,147
\bar{X}	0,288	0,245	0,195	0,140
(A) S	$6,53 \times 10^{-3}$	$3,68 \times 10^{-3}$	$3,98 \times 10^{-3}$	$4,74 \times 10^{-3}$
S_m	$2,47 \times 10^{-3}$	$1,39 \times 10^{-3}$	$1,50 \times 10^{-3}$	$1,79 \times 10^{-3}$
%E	2,10	1,39	1,88	3,13
Rango	0,275-0,310	0,241-0,267	0,192-0,216	0,133-0,164
\bar{X}	0,293	0,250	0,201	0,145
(B) S	$7,98 \times 10^{-3}$	$6,24 \times 10^{-3}$	$7,21 \times 10^{-3}$	$7,52 \times 10^{-3}$
S_m	$1,29 \times 10^{-3}$	$1,01 \times 10^{-3}$	$1,17 \times 10^{-3}$	$1,22 \times 10^{-3}$
%E	0,89	0,82	1,18	1,70

(A) 7 muestras medidas en el mismo día

(B) 38 muestras medidas en distintos días

III.2.8.- Efecto de los iones extraños.- Se añadieron concentraciones variables de potenciales sustancias interferentes a disoluciones patrón de cobalto (0,5 ppm), con objeto de estudiar su influencia sobre el procedimiento de determinación recomendado.

Los resultados obtenidos en la determinación de Co(II) en presencia de cantidades variables de cationes se muestran en la Tabla 76. De los iones ensayados, aquéllos que forman complejos con la DPGPH, al pH al cual se desarrolla la coloración, interfieren por defecto generalmente, ya que consumen reactivo impidiendo la formación completa del complejo de cobalto, pero una vez añadido el ácido, estos complejos se destruyen por lo que se obtienen errores por defecto. Este es el caso de cantidades elevadas de Bi(III), Hg(II), Mo(VI), W(VI) ó V(V). La presencia de Cu(II) y Ni(II) en cantidades moderadas también produce este mismo efecto, al contrario que la de cantidades mínimas de Fe(II) y Fe(III); los complejos coloreados de Fe(II) y Fe(III) no se destruyen tras la adición de ácido, por lo que en presencia de estos cationes se producen errores por exceso. Otros iones tales como Zn(II), Cd(II), Pb(II), As(III), Cr(III), Al(III), Mn(II), alcalinos y alcalinotérreos, no producen interferencia alguna cuando se encuentran presentes en cantidades al menos 200 veces superiores a la de cobalto.

De entre los aniones (Tabla 77), es de destacar que cantidades elevadas de bicina, tartrato, citrato, tiourea y trietanolamina no ejercen efecto alguno sobre el desarrollo de la coloración. Sin embargo, cantidades moderadas de F^- (> 200 ppm), $CrO_4^{=}$ (~ 50 ppm) y $C_2O_4^{=}$ (~ 100 ppm), interfieren fuertemente. Otros aniones tales como Cl^- , Br^- , I^- y $SO_4^{=}$ no interfieren, pero sí en cambio la tiosemicarbacida o el ácido tioglicólico que originan errores por defecto.

La tolerancia de algunos iones se incrementa mediante la adición al medio de reacción de cantidades apropiadas de agentes enmascarantes tales como bicina (Tabla 78), citrato y tiourea (Tabla 79) o tartrato y trietanolamina (Tabla 80). Lo más destacable, en cuanto a la eliminación de interferencias se refiere, es que la adición de citrato permite la determinación de cobalto en presencia de cantidades 500 veces superiores de Fe(III) y, la de tiourea (5000 ppm), permite determinar cobalto en presencia de cantidades 2000 veces supe-

TABLA 76 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE COBALTO ($C_{Co} = 0,5$ ppm)

Ión Extraño	ppm	Co encontrado (ppm)				(510 nm) Error relativo, %
		490 nm	510 nm	530 nm	550 nm	
Zn(II)	250	0,48	0,50	0,53	0,55	0
Cd(II)	250	0,48	0,50	0,53	0,55	0
Hg(II)	250	0,01	0,01	0,02	0,01	- 98
	10	0,53	0,54	0,55	0,57	+ 8
	7	0,51	0,52	0,52	0,54	+ 4
	5	0,50	0,51	0,52	0,53	+ 2
	2	0,51	0,52	0,52	0,52	+ 4
	1	0,48	0,50	0,50	0,51	0
Pb(II)	250	0,46	0,51	0,57	0,63	+ 2
Bi(III)	250	0,00	0,01	0,01	0,01	- 98
	10	0,44	0,50	0,58	0,65	0
	10	0,46	0,53	0,59	0,66	+ 6
	5	0,45	0,51	0,58	0,63	+ 2
	2	0,46	0,52	0,57	0,62	+ 4
	1	0,46	0,50	0,54	0,58	0
	0,5	0,47	0,50	0,53	0,56	0
As(III)	100	0,51	0,51	0,50	0,49	+ 2
NH ₄ (I)	4000	0,51	0,48	0,44	0,41	- 4
Cr(III)	100	0,46	0,49	0,52	0,56	- 2
	250*	0,48	0,50	0,53	0,55	0

(*) Medida frente a un blanco con interferencia y sin reactivo.

TABLA 76 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE COBALTO ($C_{Co} = 0,5$ ppm) - CONTINUACION -

Ión Extraño	ppm	Co encontrado (ppm)				(510 nm) Error relativo, %
		490 nm	510 nm	530 nm	550 nm	
Mo(VI)	100	0,03	0,06	0,07	0,09	- 88
	20	0,52	0,50	0,47	0,46	0
W(VI)	100	0,40	0,45	0,51	0,61	- 10
	50	0,44	0,45	0,47	0,51	- 10
	40	0,46	0,48	0,51	0,55	- 4
V(V)	100	0,13	0,10	0,08	0,07	- 80
	10	0,53	0,48	0,43	0,37	- 4
Al(III)	100	0,42	0,50	0,57	0,65	0
	100	0,45	0,51	0,58	0,65	+ 2
	12	0,45	0,50	0,55	0,59	0
	5	0,48	0,50	0,53	0,57	0
Ni(II)	10	0,49	0,50	0,51	0,51	0
	20	0,48	0,49	0,51	0,52	- 2
	50	0,31	0,32	0,34	0,35	- 36
	100	0,18	0,18	0,19	0,20	- 64
	100 ^a	0,47	0,48	0,49	0,51	- 4
	250 ^b	0,42	0,36	0,33	0,34	- 28
	150 ^b	0,46	0,44	0,44	0,46	- 12
	125 ^b	0,50	0,50	0,50	0,52	0

(a) 5 ml de DPGPH al 0,2%

(b) 5 ml de DPGPH al 0,25%

TABLA 76 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE COBALTO ($C_{Co} = 0,5$ ppm) - CONTINUACION -

Ión Extraño	ppm	Co encontrado (ppm)				(510 nm)
		490 nm	510 nm	530 nm	550 nm	Error relativo, %
Cu(II)	10	0,50	0,50	0,51	0,51	0
	20	0,18	0,17	0,17	0,18	- 66
	100	0,04	0,04	0,04	0,04	- 92
	100 ^a	0,13	0,12	0,12	0,13	- 76
Ag(I)	50	0,50	0,50	0,51	0,52	0
Au(III)	50	3,28	4,60	6,02	7,16	>100
	10	1,12	1,42	1,76	2,03	>100
Fe(II)	10	0,91	0,85	0,96	1,31	+ 70
	10 ^b	1,12	0,87	1,06	1,89	+ 74
Fe(III)	10	1,14	1,02	1,16	1,70	>100
	0,5	0,57	0,58	0,62	0,70	+ 16
	0,3	0,51	0,52	0,53	0,55	+ 4
	0,25	0,51	0,53	0,55	0,59	+ 6
Mn(II)	1000	0,56	0,57	0,57	0,57	+ 14
	500	0,52	0,53	0,55	0,56	+ 6
Mg(II)	100	0,48	0,49	0,50	0,50	- 2
	1000	0,48	0,50	0,52	0,54	0
Ca(II)	100	0,49	0,50	0,50	0,50	0
	1000	0,48	0,50	0,52	0,54	0
Ba(II)	100	0,48	0,49	0,50	0,50	- 2
	1000	0,48	0,50	0,52	0,54	0
UO ₂ (II)	250	0,48	0,50	0,52	0,55	0

(a) 5 ml de DPGPH al 0,2%.

(b) 1 ml de ascórbico al 10%.

TABLA 77 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE COBALTO ($C_{Co} = 0,5$ ppm)

Ión Extraño	ppm	Co encontrado (ppm)				(510 nm) Error relativo, %
		490 nm	510 nm	530 nm	550 nm	
F^-	1000	0,12	0,10	0,09	0,09	- 80
	500	0,19	0,17	0,15	0,14	- 66
	300	0,39	0,37	0,35	0,32	- 26
	250	0,37	0,35	0,33	0,30	- 30
	200	0,53	0,50	0,47	0,45	0
	200	0,53	0,50	0,47	0,44	0
	100	0,51	0,49	0,46	0,44	- 2
$SO_4^{=}$	1000	0,49	0,49	0,49	0,49	- 2
$SO_3^{=}$	10000	0,23	0,18	0,16	0,16	- 64
$CO_3^{=}$	1000	0,50	0,50	0,50	0,49	0
PO_4^{3-}	10000	0,49	0,49	0,48	0,48	- 2
	20000	0,50	0,50	0,51	0,53	0
$CrO_4^{=*}$	50	0,44	0,42	0,36	0,71	- 16
Cl^-	3000	0,49	0,50	0,51	0,50	0
Br^-	3000	0,49	0,50	0,52	0,54	0
I^-	10000	0,50	0,52	0,55	0,59	+ 4
IO_4^-	4000	0,03	0,04	0,05	0,06	- 92
	500	0,18	0,20	0,22	0,23	- 60
CH_3COO^-	20000	0,51	0,55	0,39	0,35	+ 10
$C_2O_4^{=}$	2000	0,09	0,10	0,11	0,11	- 80
	500	0,37	0,39	0,39	0,39	- 22
	100	0,43	0,46	0,48	0,48	- 8
Bicina	20000	0,51	0,50	0,48	0,47	0

(*) Medida frente a un blanco con interferencia.

TABLA 77 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE COBALTO ($C_{Co} = 0,5$ ppm) - CONTINUACION -

Ión Extraño	ppm	Co encontrado (ppm)				(510 nm) Error relativo, %	
		490 nm	510 nm	530 nm	550 nm		
Tartrato	10000	0,52	0,49	0,46	0,43	-	2
Cittrato	500	0,50	0,49	0,46	0,44	-	2
	10000	0,54	0,55	0,55	0,54	+	10
	20000	0,51	0,53	0,54	0,54	+	6
	40000	0,51	0,52	0,54	0,55	+	4
TSC	2000	0,03	0,02	0,03	0,04	-	96
	500	0,02	0,02	0,02	0,03	-	96
Ascórbico	4000	0,45	0,48	0,52	0,55	-	4
	4000	0,47	0,50	0,54	0,57		0
Tiogli- cólico	20000	0,43	0,47	0,52	0,59	-	6
	10000	0,41	0,45	0,49	0,54	-	10
	1000	0,36	0,39	0,43	0,48	-	22
	500	0,41	0,44	0,48	0,51	-	12
Tricloro- acético	10000	0,46	0,51	0,56	0,64	+	2
Tiourea	5000	0,51	0,50	0,49	0,48		0
	20000	0,53	0,50	0,49	0,49		0
	40000	0,54	0,49	0,48	0,47	-	2
TEA	10000	0,50	0,50	0,50	0,51		0
Tiogli- colato	10000	0,34	0,32	0,30	0,28	-	36
Glucosa	10000	0,50	0,50	0,50	0,51		0
	20000	0,49	0,50	0,50	0,51		0
Manita	10000	0,50	0,50	0,49	0,49		0
	20000	0,51	0,50	0,50	0,51		0

TABLA 77 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE COBALTO ($C_{Co} = 0,5$ ppm) - CONTINUACION -

Ión Extraño	ppm	Co encontrado (ppm)				(510 nm) Error relativo, %
		490 nm	510 nm	530 nm	550 nm	
Almidón	1000	0,51	0,50	0,50	0,51	0
Hidracina	1000	0,45	0,50	0,56	0,61	0
Dimetil- glioxima	100	0,25	0,25	0,24	0,25	- 50
Quinoxali- lina	10000	0,62	0,54	0,48	0,43	+ 8
	5000	0,57	0,51	0,46	0,42	+ 2
DMF	(a)	0,50	0,49	0,48	0,47	- 2
	(b)	0,53	0,51	0,50	0,49	+ 2
	(c)	0,54	0,52	0,49	0,49	+ 4

(a) 1 ml de DMF

(b) 2 ml de DMF

(c) 4 ml de DMF

TABLA 78 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN PRESENCIA DE BICINA*
 COMO AGENTE ENMASCARANTE

Ión Extraño	ppm	Co encontrado (ppm)				(510 nm) Error relativo, %
		490 nm	510 nm	530 nm	550 nm	
Zn(II)	5000	0,50	0,50	0,51	0,53	0
Cd(II)	5000	0,59	0,58	0,61	0,69	+ 16
	2500	0,60	0,54	0,50	0,48	+ 8
	2000	0,59	0,51	0,48	0,46	+ 2
Hg(II)	250	0,50	0,52	0,57	0,62	+ 4
	100	0,50	0,51	0,53	0,56	+ 2
Pb(II)	500	0,49	0,53	0,58	0,63	+ 6
	250	0,48	0,51	0,55	0,60	+ 2
Bi(III)	100	0,47	0,51	0,57	0,64	+ 2
Cr(III)	250**	0,50	0,50	0,50	0,50	0
V(V)	100	0,48	0,45	0,41	0,37	- 10
Al(III)	100	0,43	0,50	0,56	0,62	0
Cu(II)	100	0,43	0,45	0,47	0,50	- 10
Fe(III)	10	1,27	1,11	1,27	1,91	> 100
Ni(II)	100	0,35	0,38	0,42	0,45	- 24
Mn(II)	4000	0,73	0,82	0,86	0,93	+ 64
	1000	0,54	0,57	0,61	0,64	+ 14

(*) 20000 ppm

(**) Medida frente a un blanco con interferencia y sin reactivo.

TABLA 79 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN PRESENCIA DE (a) CITRATO (20000 ppm), (b) TIOUREA (5000 ppm), (c) TIOUREA (20000 ppm) COMO ENMASCARANTE

Ión Extraño	ppm	Co encontrado (ppm)				(510 nm) Error relativo, %	
		490 nm	510 nm	530 nm	550 nm		
Al(III)	100	0,49	0,50	0,51	0,51	0	
	400	0,48	0,51	0,54	0,57	+ 2	(a)
Fe(III)	10	0,53	0,52	0,52	0,55	+ 4	
	50	0,52	0,52	0,52	0,52	+ 4	
	100	0,54	0,51	0,51	0,50	+ 2	
	250	0,51	0,52	0,55	0,59	+ 4	
	350	0,54	0,55	0,57	0,59	+ 10	(a)
	500	0,59	0,59	0,62	0,66	+ 18	
	500 ¹	0,59	0,59	0,62	0,66	+ 18	
	500 ²	0,57	0,59	0,62	0,66	+ 18	
500 ³	0,56	0,58	0,60	0,64	+ 16		
Cu(II)	300	0,50	0,50	0,54	0,57	0	
	500	0,51	0,51	0,54	0,57	+ 2	(b)
	1000	0,51	0,50	0,53	0,57	0	
Ni(II)	250	0,12	0,09	0,09	0,09	- 82	(b)
Cu(II)	4000	0,57	0,55	0,60	0,74	+ 10	(c)
	2000	0,55	0,53	0,57	0,66	+ 6	

(1) Muestra recién preparada

(2) Después de 40 minutos

(3) Después de 5 horas

Todas las muestras que contienen Fe(III) se midieron frente a un blanco con interferencia y sin reactivo.

TABLA 80 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN PRESENCIA DE (a) FOSFATO*,
 (b)TARTRATO**, (c)TRIETANOLAMINA***, (d)TRIETANOLAMINA****
 COMO ENMASCARANTE

Ión Extraño	ppm	Co encontrado (ppm)				(510 nm) Error relativo, %
		490 nm	510 nm	530 nm	550 nm	
Fe(II)	10	0,63	0,63	0,67	0,82	+ 26 (a)
Fe(III)	10	0,64	0,59	0,59	0,64	+ 18 (b)
Al(III)	200	0,47	0,51	0,57	0,63	+ 2 (c)
Al(III)	400	0,49	0,52	0,57	0,64	+ 4 (d)

(*) 20000 ppm

(**) 10000 ppm

(***) 10000 ppm

(****) 20000 ppm

TABLA 81 * DETERMINACION DE COBALTO EN MEZCLAS SINTETICAS DE IONES EXTRAÑOS ($C_{Co} = 0,5$ ppm; $\lambda = 510$ nm)

Mezclas de iones extraños, ppm	Agente enmascarante, ppm	Co encontrado	Valor medio	Error relativo, %
100 Fe(III) + 100 Mn(II)	CITRATO (20000)	0,527	0,523 \pm 0,005*	+ 4,6
		0,518		
		0,523		
100 Fe(III) + 100 Mn(II) + 10 Ni(II)	CITRATO (20000)	0,502	0,503 \pm 0,004	+ 0,6
		0,500		
		0,507		
1 Cu(II)+100 Fe(III)+100 Mn(II)+10 Ni(II)	CITRATO (20000)	0,498	0,493 \pm 0,005	- 1,4
		0,493		
		0,489		
100 Fe(III)+100 Zn(II)+100 Cd(II)+100 Pb(II)	CITRATO (20000)	0,523	0,522 \pm 0,005	+ 4,4
		0,520		
		0,518		
20 Cu(II) + 100 Fe(III)	CITRATO (20000) + TIOUREA (5000)	0,516	0,511 \pm 0,006	+ 2,2
		0,505		
		0,511		

(*) Desviación estándar

TABLA 81 * DETERMINACION DE COBALTO EN MEZCLAS SINTETICAS DE IONES EXTRAÑOS ($C_{Co} = 0,5 \text{ ppm}$; $\lambda = 510 \text{ nm}$)

- CONTINUACION -

Mezclas de iones extraños, ppm	Agente enmascarante, ppm	Co encontrado	Valor medio	Error relativo, %
20 Cu(II) + 100 Fe(III) + 100 Mn(II)	CITRATO (20000) + TIOUREA (5000)	0,477	0,480 \pm 0,009	- 4
		0,491		
		0,473		
3 Cu(II)+100 Fe(III)+100 Mn(II)+10 Ni(II)	" "	0,500	0,501 \pm 0,001	+ 0,2
		0,502		
		0,502		
5 Cu(II)+100 Fe(III)+100 Mn(II)+5 Ni(II)	" "	0,518	0,517 \pm 0,002	+ 3,4
		0,518		
		0,514		
20 Cu(II)+50 Fe(III)+50 Al(III)+50 Cr(III)	" "	0,471	0,480 \pm 0,008	- 4
		0,486		
		0,482		
20 Cu(II)+100 Fe(III)+100 Zn(II)+100 Cd(II)+100 Pb(II)	" "	0,502	0,498 \pm 0,005	- 0,4
		0,493		
		0,500		

TABLA 82 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE
0,5 ppm DE Co(II). (A) ANIONES; (B) CATIONES.

Iones extraños	Límite de tolerancia (ppm)
(A) Tiourea, citrato	> 40.000
Fosfato, bicina, glucosa, manita	> 20.000
Tartrato, TEA, tricloroacético, I ⁻	> 10.000
Quinoxalina	5.000
Acido ascórbico	> 4.000
Cl ⁻ , Br ⁻	> 3.000
SO ₄ ⁼ , CO ₃ ⁼ , hidracina, almidón	> 1.000
F ⁻	200
C ₂ O ₄ ⁼	100
CrO ₄ ⁼	< 50
(B) NH ₄ (I)	> 4.000
Ca(II), Mg(II), Ba(II)	> 1.000
Mn(II)	500
Zn(II), Cd(II), Pb(II), Cr(III), UO ₂ (II)	250
Ni(II)*	125
As(III), Al(III)	100
Ag(I)	50
W(VI)	40
Ni(II), Mo(VI)	20
Cu(II), Bi(III), V(V)	10
Hg(II)	7
Fe(III)	0,3

(*) 5 ml DPGPH 0,25% (5 veces más de reactivo).

TABLA 83 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE 0,5 ppm DE Co(II).

IONES EXTRAÑOS	LIMITE DE TOLERANCIA (ppm)		AGENTE ENMASCARANTE
	Sin agente enmascarante	* Con agente enmascarante	
Zn(II)	250	5000	
Cd(II)	250	2000	
Pb(II)	250	500 BICINA (20000 ppm)
Hg(II)	7	250	
Bi(III)	10	100	
Fe(III)	0,3	250 CITRATO (20000 ppm)
Al(III)	100	400	
Cu(II)	10	1000 TIOUREA (5000 ppm)
Al(III)	100	400 TRIETANOLAMINA (20000 ppm)
Ni(II)	20	125 MAS REACTIVO (5 ml al 0,25%)

riores de cobre. Tras múltiples intentos con diferentes agentes enmascarantes, todos infructuosos, la interferencia debida a cantidades 200 veces superiores de Ni(II) se eliminó mediante la adición de más reactivo, en concreto de 5 ml de disolución de DPGPH al 0,25% en etanol (p/v).

El citrato, bien sólo o en combinación con tiourea, es capaz de eliminar la interferencia de distintas mezclas de iones tal como se observa en la Tabla 81. Estas experiencias son útiles puesto que muestran claramente que puede llevarse a cabo la determinación de cobalto en materiales complejos.

Por último, en la Tabla 82 se muestra la tolerancia del método tanto para cationes como para aniones. El criterio adoptado para considerar que una sustancia no interfiere, es que origine un cambio en la absorbancia inferior al 5% (en valor absoluto) del valor de la absorbancia esperada para el cobalto sólo. Asimismo, en la Tabla 83 se resumen los resultados obtenidos en presencia de bicina, citrato, tiourea y trietanolamina como agentes enmascarantes.

Cabe concluir, a la vista de los resultados obtenidos en el estudio de las interferencias, que la determinación espectrofotométrica de cobalto con DPGPH en presencia de citrato y tiourea como agentes enmascarantes posee una gran selectividad, destacando a este respecto la posibilidad de determinar cobalto en presencia de elevadas cantidades de cobre.

III.2.9.- Determinación de cobalto en preparaciones farmacéuticas.- Se ha comprobado que la presencia de diversas vitaminas no afecta al desarrollo del complejo Co(II)-DPGPH. Para ello se han realizado tres experiencias que se detallan a continuación de la descripción de las vitaminas empleadas:

- Vitamina A palmitato, 1.700.000 U.I./g (CARLO ERBA)
- Vitamina E acetato, 98% (CARLO ERBA)
- Vitamina K₁, Filoquinona (MERCK)
- Vitamina B₆, Monoclorhidrato de piridoxina 99% (SIGMA)
- Vitamina B₁, Clorhidrato de tiamina (CARLO ERBA)
- Vitamina C, Acido L(+) ascórbico 99% (CARLO ERBA)

- Vitamina D₃, Art. 8523 (MERCK)
- Vitamina B₂, Riboflavina (SCHARLAU)

Primera experiencia: En un embudo de decantación se añade una gota de vitamina A, una gota de vitamina E, una gota de vitamina K, 0,5 ml de disolución de Co(II) de 25 ppm y agua destilada. Se mezcla y se añade metilisobutilcetona, se agita y se separa la fase acuosa pasándola a un matraz de 25 ml. Se añade más agua al embudo de decantación (para procurar recoger todo el Co(II)), se agita, se deja en reposo y se recoge la fase acuosa en el mismo matraz antes citado. En éste, se añaden 3,5 ml de etanol, una gota de HClO₄ 0,1 M, agua destilada, 2,5 ml de disolución de DPGPH al 0,1% en etanol p/v y 2,15 ml de HClO₄ al 70%.

La muestra así preparada se mide frente a un blanco de disolvente, obteniéndose los siguientes datos de absorbancia:

	<u>A₄₉₀</u>	<u>A₅₁₀</u>	<u>A₅₃₀</u>	<u>A₅₅₀</u>
Muestra de referencia	0,289	0,252	0,211	0,161
Muestra	0,290	0,250	0,203	0,150
Blanco de reactivo	0,074	0,028	0,015	0,011

con lo que se comprueba que la determinación espectrofotométrica de cobalto no es afectada por la presencia de vitaminas A, E ó K.

Segunda experiencia: En matraces de 25 ml se preparan las siguientes disoluciones:

- Vitamina B₆: 0,2% p/v (agua)
- Vitamina B₁: 0,4% p/v (agua)
- Vitamina C: 3% p/v (agua)
- Vitamina D₃: 0,05% p/v (etanol)
- Vitamina B₂: a saturación en agua

Se prepara una muestra tomando 1 ml de cada una de las cinco disoluciones anteriores, llevándolos a un matraz de 25 ml, que contiene 0,5 ppm de Co(II), y se aplica el procedimiento recomendado con la salvedad de que, en este caso, se añaden 2,5 ml de etanol en

lugar de 3,5. La muestra así preparada presenta turbidez, por lo que se filtra. Después de filtrada la absorbancia que presenta es:

	<u>A₄₉₀</u>	<u>A₅₁₀</u>	<u>A₅₃₀</u>	<u>A₅₅₀</u>
Muestra	0,277	0,245	0,213	0,165

con lo que se comprueba que el método tampoco se afecta por la presencia de dichas vitaminas.

Tercera experiencia: Se pesan 0,4 g de vitamina B₁, 0,1 g de B₂, 0,2 g de B₆ y 3 g de C. Se llevan a un matraz de 100 ml y se añaden 38 ml de etanol y agua destilada hasta enrase. De esta suspensión se toma 1 ml y se aplica la técnica descrita para la determinación de Co(II) con DPGPH. La muestra presenta ligera turbidez, por lo que se filtra antes de medir. Los datos obtenidos para un triplicado fueron:

<u>Muestra</u>	<u>A₄₉₀</u>	<u>A₅₁₀</u>	<u>A₅₃₀</u>	<u>A₅₅₀</u>
1	0,403	0,272	0,231	0,182
2	0,409	0,274	0,230	0,180
3	0,408	0,275	0,232	0,181

Blanco de color

1	0,139	0,022	0,009	0,007
2	0,137	0,018	0,006	0,004
3	0,137	0,018	0,006	0,004

Se observa cómo la presencia de dichas vitaminas no perturba la medida de absorbancia de 0,5 ppm de cobalto, si se tiene en cuenta el color de la disolución de vitaminas.

Por tanto, puesto que se ha comprobado que la determinación de cobalto en presencia de mezclas de cationes extraños resulta factible, el método propuesto se muestra útil de cara a la determinación de cobalto en preparaciones multivitamínicas.

Se ha seleccionado para éllo un preparado de nombre comercial HIDROPOLIVIT MINERAL de composición bastante compleja, lo cual resulta atractivo en cuanto a la comprobación del método propuesto.

Cada comprimido del producto mencionado, contiene:

Vitamina A,.....	4000	U.I.
Vitamina D ₂ ,.....	500	"
Vitamina E,.....	1	mg
Vitamina B ₁ ,.....	2	"
Vitamina B ₂ ,.....	1	"
Vitamina B ₆ ,.....	1	"
Vitamina B ₁₂ ,.....	2	mcg
Vitamina C,.....	40	mg
Vitamina K,.....	0,1	"
Vitamina PP,.....	15	"
Pantotenato cálcico,.....	2	"
Acido fólico,.....	0,1	"
Acido orótico,.....	5	"
Hesperidina,.....	0,2	"
Biotina,.....	0,25	"
Manganeso sulfato,.....	0,5	"
Cobalto sulfato,.....	0,05	"
Magnesio óxido,.....	6	"
Magnesio inositohexafosfato,.....	0,88	"
Calcio,.....	1,4	"
Fósforo,.....	2,2	"
Hierro oxalato,.....	2	"
Zinc cloruro,.....	0,5	"
Niquel sulfato,.....	0,1	"
Cobre sulfato,.....	0,5	"
Oro cloruro,.....	0,01	"
Molibdeno (molibdato amónico),...	0,01	"
Flúor (fluoruro potásico),.....	0,01	"
Yodo (yoduro potásico),.....	0,01	"
Sacarina sódica,.....	1,6	"
Otros excipientes,.....	c.s.	

Se pesan exactamente hasta la cuarta cifra decimal 6 comprimidos de HIDROPOLIVIT MINERAL y se muelen posteriormente en un mortero de porcelana hasta un polvo muy fino. A continuación se pesa el equivalente a 3 comprimidos (5,8778 g de polvo), en un vaso de precipitado de 50 ml, se añaden 25 ml de agua destilada, 1,5 ml de HClO₄ al 60% y se calienta suavemente con agitación magnética una media hora. Una vez fría la disolución, se filtra con ayuda de un papel de filtro Albet nº 242 a un matraz aforado de 50 ml y se añade agua destilada hasta la señal de enrase.

La aplicación de la técnica propuesta en el procedimiento recomendado de determinación de cobalto en presencia de citrato (20.000 ppm) y tiourea (5.000 ppm), como agentes enmascarantes, a 1 ml de la disolución (trabajando en matraces de 10 ml), proporciona los siguientes datos sobre un triplicado:

<u>Muestra</u>	<u>A₄₉₀</u>	<u>A₅₁₀</u>	<u>A₅₃₀</u>	<u>A₅₅₀</u>
1	0,456	0,405	0,342	0,250
2	0,473	0,419	0,356	0,261
3	0,460	0,406	0,342	0,252
<u>Blanco de color</u>				
1	0,299	0,307	0,258	0,167
2	0,295	0,301	0,253	0,163
3	0,300	0,306	0,257	0,167
<u>Blanco de reactivo</u>				
1	0,079	0,024	0,011	0,006
2	0,080	0,024	0,010	0,004
3	0,079	0,024	0,009	0,004

Utilizando los datos de una ley de Beer construida con cinco muestras de cobalto conteniendo 0,2; 0,25; 0,50; 1,00 y 1,50 ppm, que dan lugar a la ecuación:

$$Y = 0,0053 + 0,4326 X$$

en donde Y es la absorbancia de una disolución que contiene X ppm de cobalto, se obtiene un contenido de cobalto expresado en mg por comprimido igual a $0,029 \pm 0,003$ (valores individuales: 0,027, 0,033 y 0,028).

Con objeto de comprobar la validez del método propuesto, se ha determinado cobalto en la misma preparación mediante un método espectrofotométrico, previamente puesto a punto en nuestra Cátedra, que utiliza biacetil mono(2-piridil)hidrazona (BPH) como reactivo

colorimétrico (22).

Los datos correspondientes a la ley de Beer de este último método, se indican a continuación:

ppm Co	0,2	0,5	0,8	1,2
A_{505}	0,063	0,157	0,248	0,372

A partir de estos valores se obtiene para la recta de calibrado la ecuación:

$$Y = 0,0018 + 0,3085 X$$

en donde Y es la absorbancia de una disolución que contiene X ppm de cobalto.

A continuación se toma 1 ml (en matraces de 10 ml), de la disolución de HIDROPOLIVIT MINERAL, se ajusta el pH a ~4,5 mediante la adición de hidróxido de sodio, se añaden 2,5 ml de BPH al 0,25% p/v en etanol (cantidad en exceso para prevenir la posible interferencia de sustancias que inhiben el desarrollo de la coloración). Se deja en reposo unos 10 minutos, se agregan 0,55 ml de HClO_4 al 60% y agua destilada hasta la señal de enrase. Se miden las absorbancias de las muestras a 505 nm frente a un blanco de disolvente.

Los resultados obtenidos se indican a continuación:

	A_{505}
Muestra 1	0,105
2	0,100
3	0,105
Blanco de color	0,053

En este caso la absorbancia del blanco de color es menor ya que estas experiencias se han realizado unos días después de la determinación de cobalto con la DPGPH, y la intensidad del color de la disolución de HIDROPOLIVIT MINERAL disminuye apreciablemente.

A partir de los datos indicados, se obtienen valores de 0,027,

0,024 y 0,027 mg de cobalto por comprimido para las muestras 1, 2 y 3, respectivamente ($\bar{X} \pm S$ igual a $0,026 \pm 0,002$).

La comparación de las varianzas y de los valores medios obtenidos mediante el método propuesto y el método de la biacetil mono(2-piridil)hidrazona, por medio del ensayo del cociente de varianzas y de la t de Student (258), no muestran diferencias apreciables entre los dos métodos, y por tanto ambos son igualmente exactos y precisos:

DETERMINACION DE COBALTO EN "HIDROPOLIVIT MINERAL"

Método	Valores obtenidos para un triplicado ($\bar{X} \pm S$)			$F_{exp} = \frac{v_a}{v_b}$	$t_{exp} = \frac{\bar{X}_a - \bar{X}_b}{S_d}$
DPGPH	0,027	0,033	0,028	3,44	1,58
	(0,029 \pm 0,003)				
BPH	0,027	0,024	0,027		
	(0,026 \pm 0,002)				

$$S_d = \sqrt{\frac{v_t}{n_a} + \frac{v_t}{n_b}}$$

$$v_t = \frac{\sum (X_a - \bar{X}_a)^2 + \sum (X_b - \bar{X}_b)^2}{(n_a - 1) + (n_b - 1)}$$

Valor teórico de F al 95% de probabilidad = 19

Valor teórico de t al 95% de probabilidad = 2,776

Cabe concluir, a la vista de todo lo expuesto en este Capítulo, que la DPGPH se comporta como un reactivo colorimétrico excelente para la determinación de trazas de cobalto en disolución.

C A P I T U L O I V

ESTUDIO DE LA REACCIONABILIDAD DE LA
FGMPH CON LOS IONES METALICOS.
DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE ZINC.

IV.1.- ESTUDIO DE LA REACCIONABILIDAD DE LA FGMPH CON LOS IONES METÁLICOS

Tal como se ha indicado en el Capítulo II, la FGMPH se comporta como un ácido de tipo HR. En medio ácido se protona para dar H_2R , mientras que en medio alcalino se encuentra la especie R. Los valores de pKa calculados espectrofotométricamente son $\sim 4,0$ y $\sim 12,0$. Se ha realizado un estudio de la reaccionabilidad de la FGMPH con los iones metálicos en dos medios de pH: $\sim 4,5$ (regulado con tampón ácido acético/acetato sódico) y $\sim 8,6$ (regulado con tampón ácido bórico/hidróxido de sodio). Los espectros de absorción de los quelatos formados entre los iones metálicos y la FGMPH, en medio acético/acetato, se encuentran recogidos en la Figura 107. La concentración de todos los iones metálicos incluidos en dicha Figura es de 1 ppm. Llama la atención la elevada sensibilidad de las reacciones originadas por el Ni(II) y Fe(II). Los espectros obtenidos con los iones Fe(III), Fe(III)+ascórbico y Fe(II) (este último incluido en la Figura 107), son prácticamente iguales, por lo que probablemente el reactivo, a este valor de pH, reduzca al Fe(III) a Fe(II) previamente a la reacción de complejación. El espectro del sistema Co(II)-FGMPH muestra un máximo hacia 520 nm junto con una meseta entre 440 y 470 nm, siendo parecido en su forma al complejo de cobalto formado por la biacetil mono(2-piridil)hidrazona (22), pero diferente en cambio del complejo de cobalto formado por la DPGPH. A este valor de pH, el cobre también muestra una reacción destacable, siendo la del paladio y mercurio (este último no incluido en la Figura), de menor sensibilidad.

En medio tamponado con ácido bórico/hidróxido de sodio, la selectividad del reactivo es inferior a la mostrada en medio acético/acetato, puesto que otros iones tales como Zn(II), Cd(II), Mn(II) y Pb(II), originan reacciones coloreadas con la FGMPH a valores de pH elevados. Los espectros de absorción de los distintos quelatos originados en medio ácido bórico/hidróxido sódico, se muestran en las Figuras 108-110. Asimismo, un resumen de las características espectrofotométricas de los productos de las reacciones de la FGMPH con los iones metálicos, en los dos medios de pH ensayados, se mues-

tran en las Tablas 84 y 85. Es notable la elevada sensibilidad de la reacción Zn(II)-FGMPH, del orden de $70.000 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, superior a la sensibilidad mostrada por otras piridilhidrazonas y reactivos análogos con zinc, por lo que su estudio de cara a una posterior determinación espectrofotométrica resulta interesante. También es destacable la sensibilidad de la reacción que origina el manganeso en medio básico.

Los quelatos formados deben ser neutros, ya que se extraen fácilmente en disolventes orgánicos tales como cloroformo (Tablas 84-85).

A continuación vamos a ver qué influencia ejerce la variación de la concentración de los iones hidrógeno del medio sobre la absorbancia de las distintas disoluciones coloreadas.

IV.1.1.- Curvas absorbancia-pH.- Las curvas absorbancia-pH del sistema Co(II)-FGMPH en un medio con un 30% de etanol en volumen (Figura 111(a)), registradas 20 minutos después de preparadas las muestras, parecen indicar la existencia de dos complejos; uno en el intervalo de pH 4-5 y otro en el intervalo de pH 7-9. Sin embargo, las muestras de pH superior a 5 evolucionan con el tiempo, por lo que una vez transcurridas ~1,5 horas, se obtiene la representación incluida en la Figura 111(b), donde ya no es tan patente la diferencia que hace sospechar la existencia de dos complejos en el caso de la Figura 111(a). Las muestras de pH superior a 6 evolucionan aún más con el tiempo de tal forma que, al cabo de unos tres días, existe una zona de absorbancia constante, a 518,5 nm, en el rango de pH de 4 á 8. No obstante, las curvas obtenidas a 540 y 468 nm, se siguen cortando a un valor de pH próximo a 5, indicando ésto la existencia de dos complejos en disolución. El brusco aumento de absorbancia observado a valores de pH superiores a 10, especialmente a las longitudes de onda más bajas, se debe a la absorción del reactivo libre, cuya desprotonación comienza a ésos valores de pH, ya que las medidas se han realizado frente a un blanco de disolvente. Los espectros del sistema Co(II)-FGMPH a distintos valores de pH, registrados frente a un blanco de disolvente, se muestran en la Figura 112.

Los espectros de absorción del sistema Ni(II)-FGMPH, recogidos

en la Figura 113, muestran en cambio una forma análoga. Las curvas absorbancia-pH registradas a longitud de onda fija (Figura 114), también parecen indicar la formación de un único complejo, aunque se observan anomalías en el desarrollo de la coloración a pH superior a 7, posiblemente debido a que el porcentaje de etanol en el medio no es suficiente, tal como ocurría en el caso de la DPGPH, dado el carácter neutro del quelato de níquel. Se observa en la Figura 114 cómo a valores de pH superiores a 9 la absorbancia del blanco de reactivo crece bruscamente, lo que impide su uso, a valores de pH elevados.

Las curvas absorbancia-pH del sistema Cu(II)-FGMPH, muestran dos zonas de absorbancia prácticamente constante; una entre valor de pH 4-5,5 y otra entre 7-10 (Figura 115), que deben corresponder a complejos de distinta estequiometría, tal como ocurre en el caso de la biacetil mono(2-piridil)hidrazona (132). Los espectros de absorción a distintos valores de pH del sistema Cu(II)-FGMPH se recogen en la Figura 116. Se observa cómo el máximo de absorción, situado hacia 475 nm, sufre un leve desplazamiento hipsocrómico.

Puede concluirse, sin lugar a dudas, que el sistema Fe(II)-FGMPH, en presencia de ácido ascórbico, carece de la complejidad mostrada por el sistema Fe(II)-DPGPH. Los espectros de absorción registrados frente a un blanco de disolvente, a distintos valores de pH (Figura 117), son análogos en su forma, indicando asimismo, las curvas absorbancia-pH registradas a longitud de onda fija (Figura 118), la existencia de un único complejo que muestra un pH óptimo de formación entre 6 y 9, aproximadamente. Es de destacar la elevada sensibilidad de esta reacción, próxima a $50.000 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 462 nm, lo que la hace interesante de cara a un posterior estudio. Además, junto al pico máximo de absorción, situado hacia 460 nm, se encuentra un máximo secundario, hacia 650 nm, donde la sensibilidad es menor ($\sim 5.600 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), pero de mayor selectividad puesto que los demás quelatos metálicos formados por la FGMPH no absorben a esta longitud de onda.

No obstante, hemos seleccionado, para ulterior estudio en este Capítulo de la Memoria, la reacción entre el zinc y la FGMPH. Aunque los reactivos orgánicos pueden considerarse como una de las ramas

más ampliamente estudiadas de la Química Analítica, la literatura contiene, relativamente, poca información acerca de la determinación espectrofotométrica de zinc. Pocos de los reactivos orgánicos propuestos para dicha determinación son recomendados en los textos estándar, y muchos de ellos no son comerciales. De todos los reactivos propuestos, la ditizona ha sido el más ampliamente utilizado. Las ventajas e inconvenientes de este reactivo, altamente sensible, pero escasamente selectivo, son bien conocidas. Como sea, todos los métodos propuestos adolecen, bien de una falta de sencillez, o bien de una falta de selectividad, o requieren el uso de un reactivo tóxico (CN^- como agente enmascarante), características que los hacen indeseables como método ordinario de control en planta.

El zinc forma con la FGMPH un complejo amarillo-anaranjado, que muestra máxima absorción a 464 nm (Figura 108), cuya zona óptima de pH se encuentra entre 7,5-8,5, tal como se observa a partir de los datos experimentales incluidos en la Tabla 86 y representados gráficamente en la Figura 119. Puesto que la mayoría de las aguas poseen un pH situado dentro de estos límites, esto hace posible la determinación de zinc en agua sin ajuste previo del pH, o en todo caso mediante la adición de un tampón TRIS de pH 8,47, que hace que el pH final de las muestras se encuentre próximo a 8,2, dado el contenido en etanol de las mismas.

Los espectros de absorción del sistema Cd(II)-FGMPH a distintos valores de pH, registrados frente a un blanco de disolvente, en un medio conteniendo un 50% de etanol en volumen (para evitar la precipitación de las muestras), se muestran en la Figura 120. Las curvas absorbancia-pH a longitud de onda fija, se encuentran asimismo en la Figura 121, a partir de la cual se observa que el sistema Cd(II)-FGMPH es pH-dependiente, o sea, no se alcanza una zona de absorbancia constante, aunque entre valores de pH 8 y 10 las variaciones de absorbancia no son muy acusadas. Esto mismo ocurriría con el sistema Cd(II)-biacetil mono(2-piridil)hidrazona (132) y, probablemente, al igual que en dicho caso, sea la causa la debilidad del complejo de cadmio.

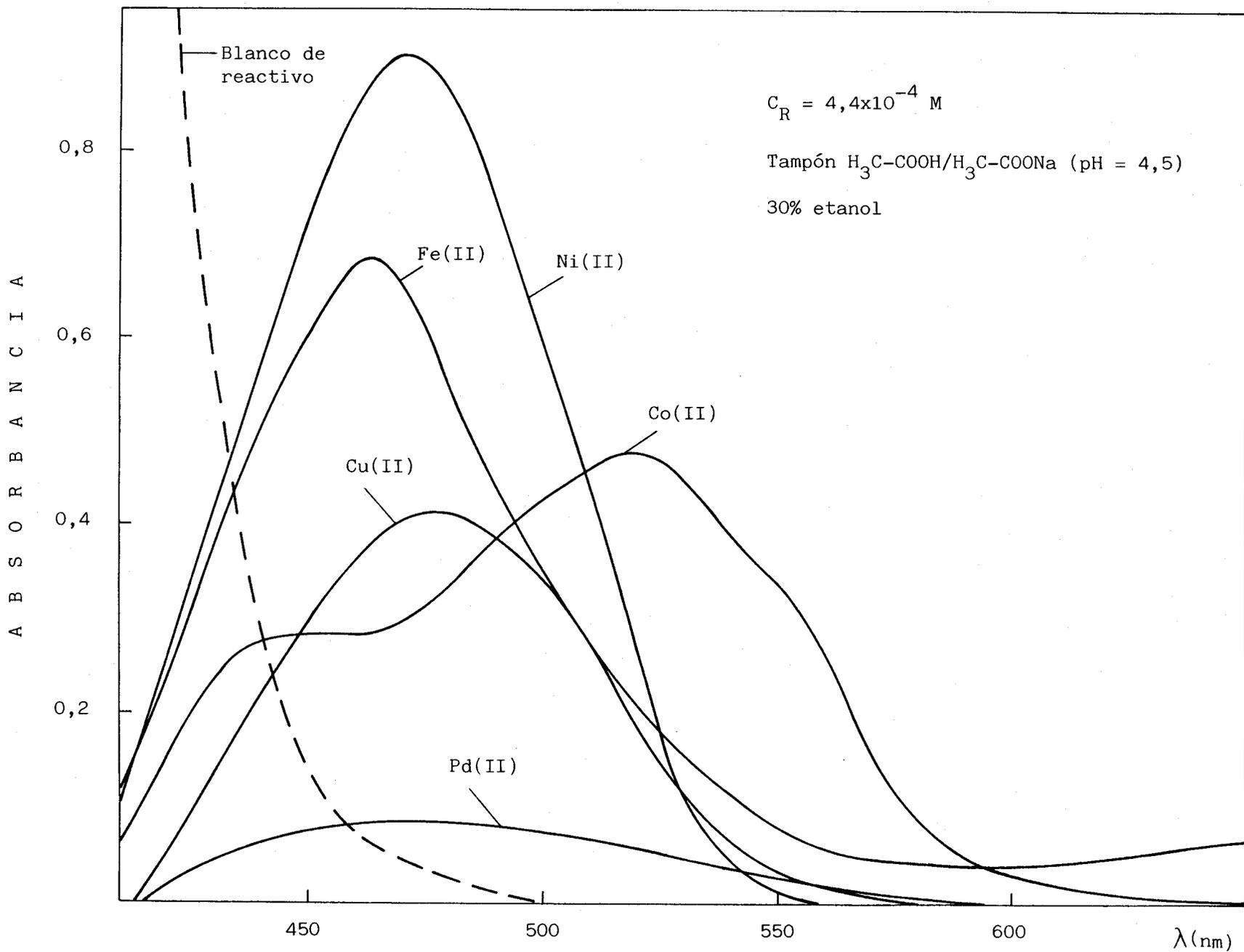


FIGURA 107 * Espectros de absorción de los productos de reacción de la FGMPH con iones metálicos (1 ppm)

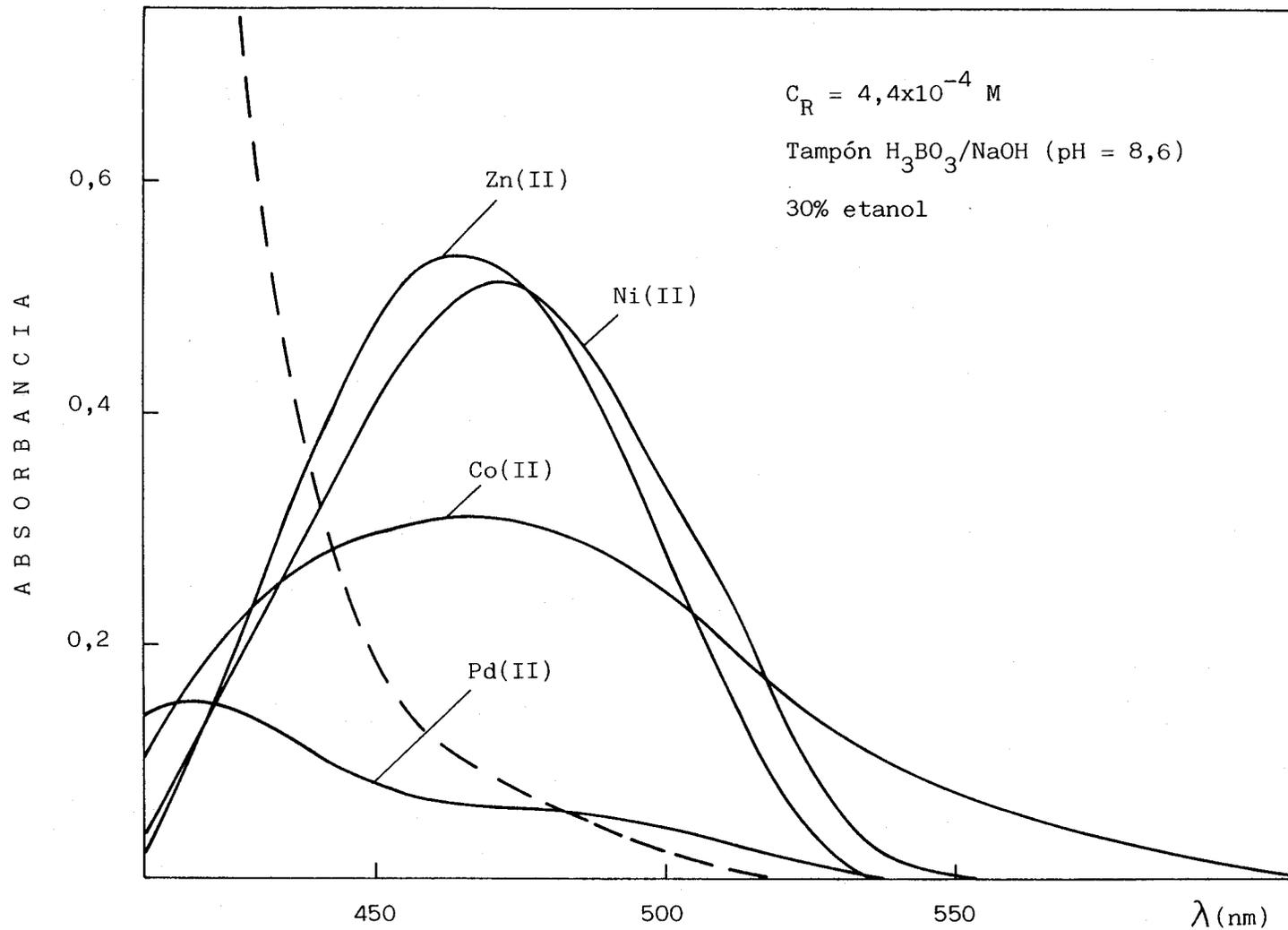


FIGURA 108 * Espectros de absorción de los productos de reacción de la FGMPH con iones metálicos (1 ppm). A trazos el blanco de reactivo.

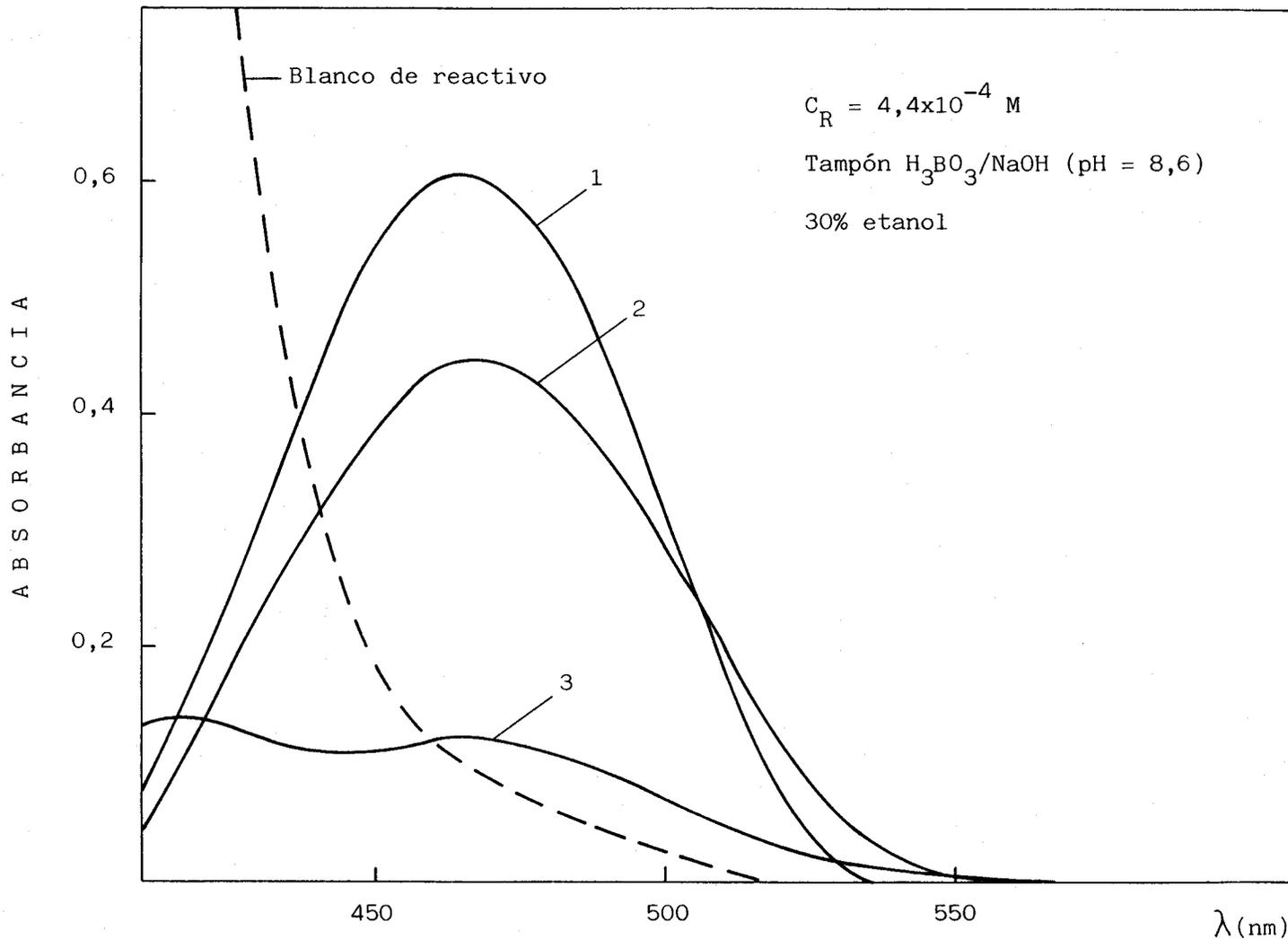


FIGURA 109 * Espectros de absorción de los productos de reacción de la FGMPH con iones metálicos.
 (1) 1 ppm Cd(II); (2) 0,5 ppm Cu(II); (3) 0,5 ppm Fe(II)

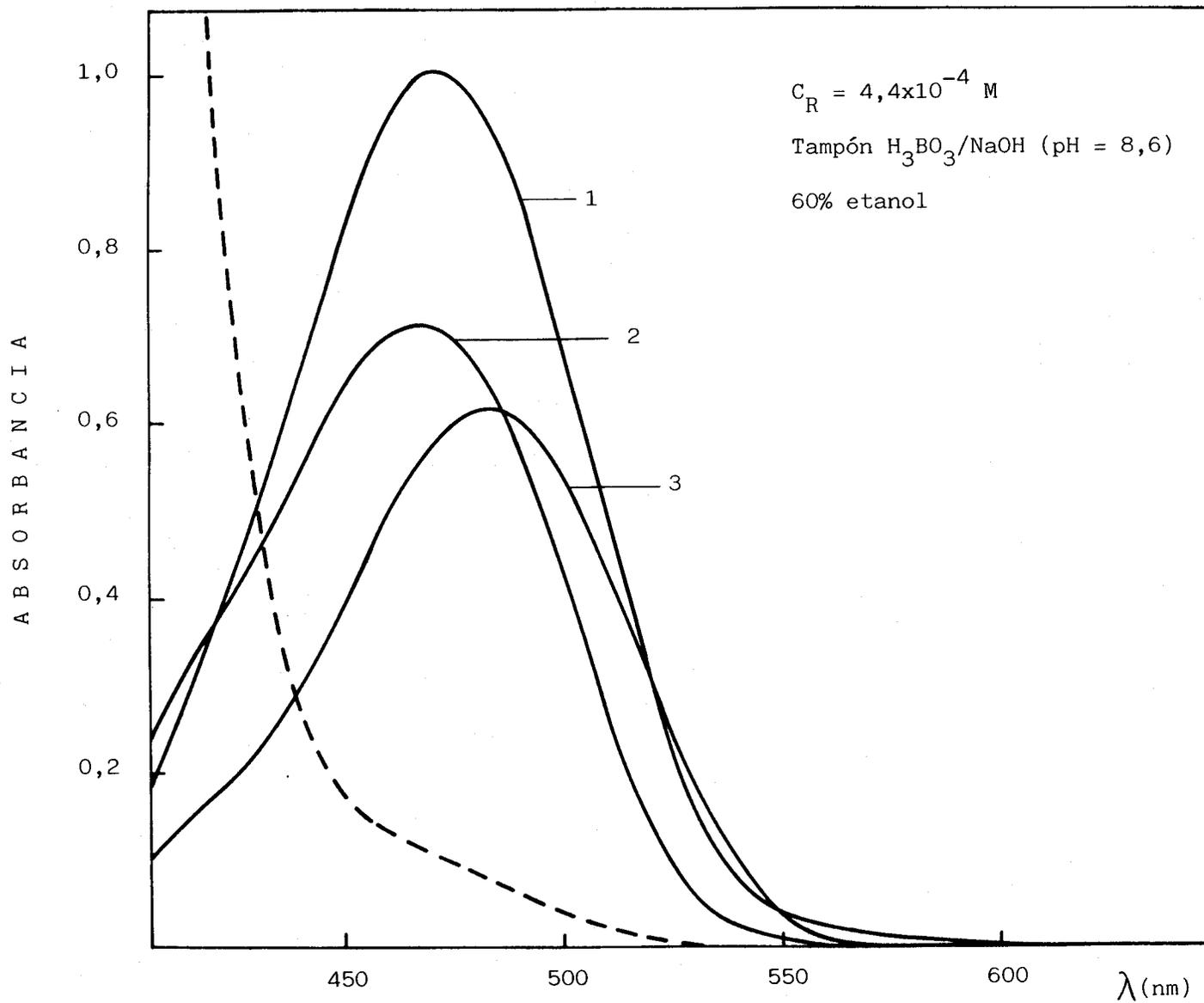


FIGURA 110 * Espectros de absorción de los productos de reacción de la FGMPH con iones metálicos.
 (1) 1 ppm Mn(II); (2) 4 ppm Hg(II); (3) 4 ppm Pb(II). A trazos el blanco de reactivo.

TABLA 84 * REACCIONABILIDAD DE LA FGMPH EN TAMPON ACIDO ACETICO/ACETATO SODICO: RESUMEN DE LAS CARACTERISTICAS ESPECTROFOTOMETRICAS DE LOS COMPLEJOS FORMADOS

Catión	ppm	pH muestra	Color	$\lambda_{\text{máx.}}$	A máx.	ϵ ($1.\text{mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)	Extr. CHCl_3
Co(II)	1	4,72	Rosa salmón	518,5	0,482	28.400	Más rosado
Cu(II)	1	4,69	Naranja claro	475	0,418	26.600	Naranja claro
Pd(II)	1	4,67	Am. tostado	470	0,090	9.600	Am. tostado
Ni(II)	1	4,74	Naranja	471,5	0,900	52.800	Naranja
Fe(III)	1	4,74	Am. oro (topacio)	462	0,582	32.500	Am. oro (topacio)
Fe(II)	1	4,75	Am. oro (topacio)	462	0,685	38.300	Am. oro (topacio)
Hg(II)*	10	5,49	Am. anaranjado	465	0,290	5.800	Am. anaranjado
Bi(III)*	20	5,46	Am. anaranjado				Am. anaranjado

(*) 60% etanol (las demás muestras contienen un 30% de etanol).

La absorbancia de los complejos de Fe(III) y Fe(II) aumenta lentamente.

TABLA 85 * REACCIONABILIDAD DE LA FGMPH EN TAMPON ACIDO BORICO/HIDROXIDO SODICO: RESUMEN DE LAS CARACTERISTICAS ESPECTROFOTOMETRICAS DE LOS COMPLEJOS FORMADOS°

Catión	ppm	pH muestra	Color	$\lambda_{\text{máx.}}$	A máx.	ϵ ($l \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)	Extr. $CHCl_3$
Co(II)	0,5	9,76	Naranja tostado	469	0,312	36.800	Naranja tostado
Cu(II)	0,5	9,80	Naranja claro	466	0,451	57.300	Naranja tostado
Pd(II)	0,5	9,39	Amarillo oro				Amarillo oro
Ni(II)	0,5	9,78	Naranja claro	471	0,512	60.100	Naranja claro
Fe(II)	0,5	8,78	Am.oro verdoso	465	0,123	13.700	Amarillo oro
Cd(II)	1	9,78	Naranja claro	466	0,605	68.000	Naranja claro
Zn(II)	0,5	9,78	Am.anaranjado	464	0,538	70.300	Am.anaranjado
Pb(II)*	4	10,16	Naranja	483	0,623	32.300	Naranja
Hg(II)*	4	10,21	Am.anaranjado	468	0,722	36.200	Am.anaranjado
Mn(II)*	1	10,39	Naranja claro	471	1,014	55.700	Naranja claro

(*) 60% etanol (las demás muestras contienen un 30% de etanol).

(°) Catión + tampón + reactivo.

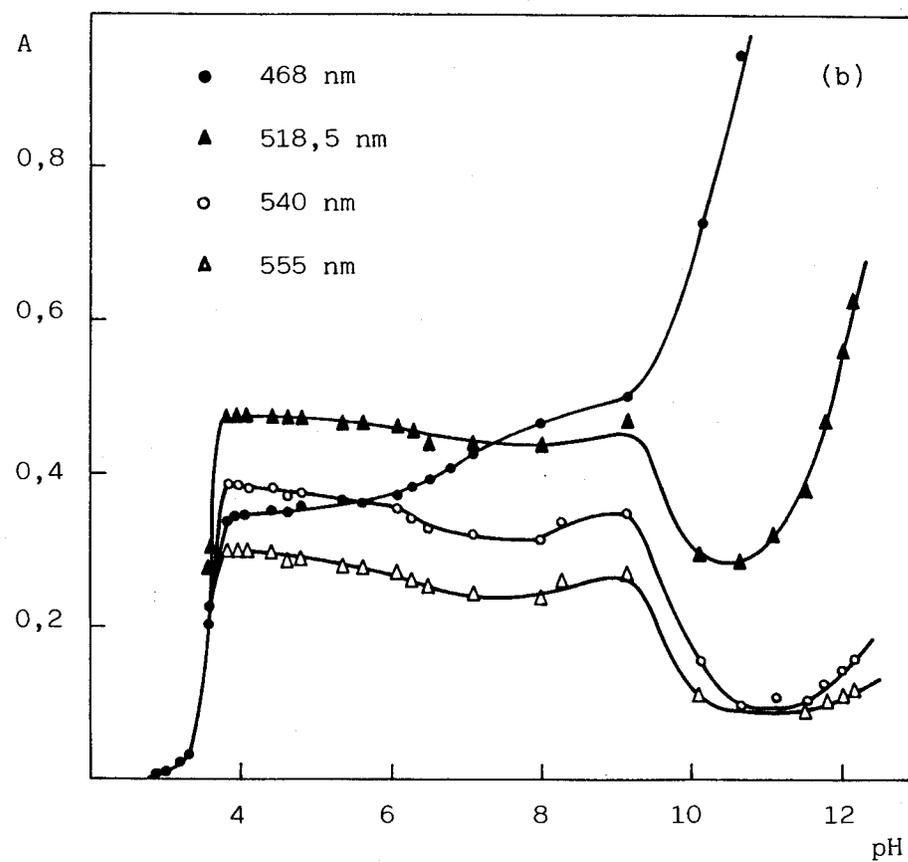
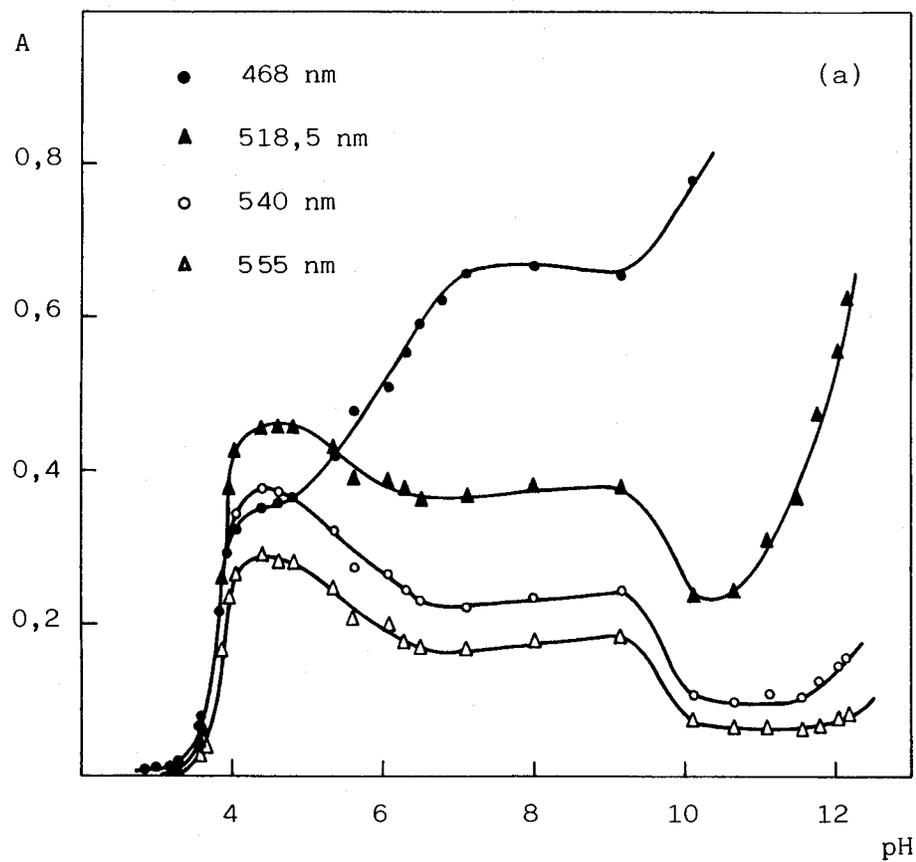


FIGURA 111 * Curva absorbancia-pH del complejo Co(II)-FGMPH. $|\text{Co}| = 1 \text{ ppm}$. 30% etanol. (a) Absorbancias de las muestras al cabo de 20 minutos; (b) Al cabo de 2 horas.

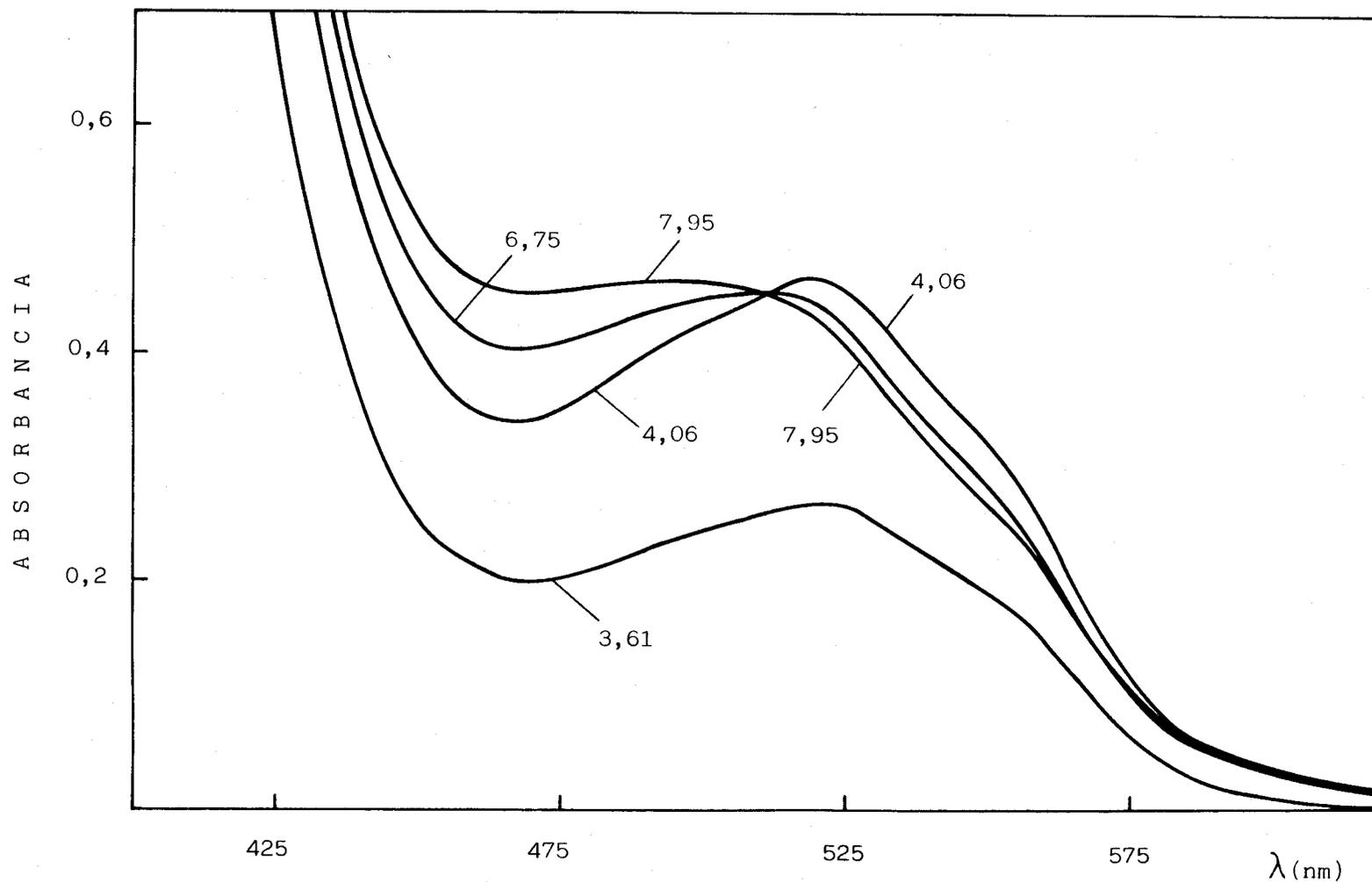


FIGURA 112 * Espectros de absorción del sistema Co(II)-FGMPH a distintos valores de pH.
 $|\text{Co}| = 1 \text{ ppm}$; 30% etanol. Blanco: disolvente.

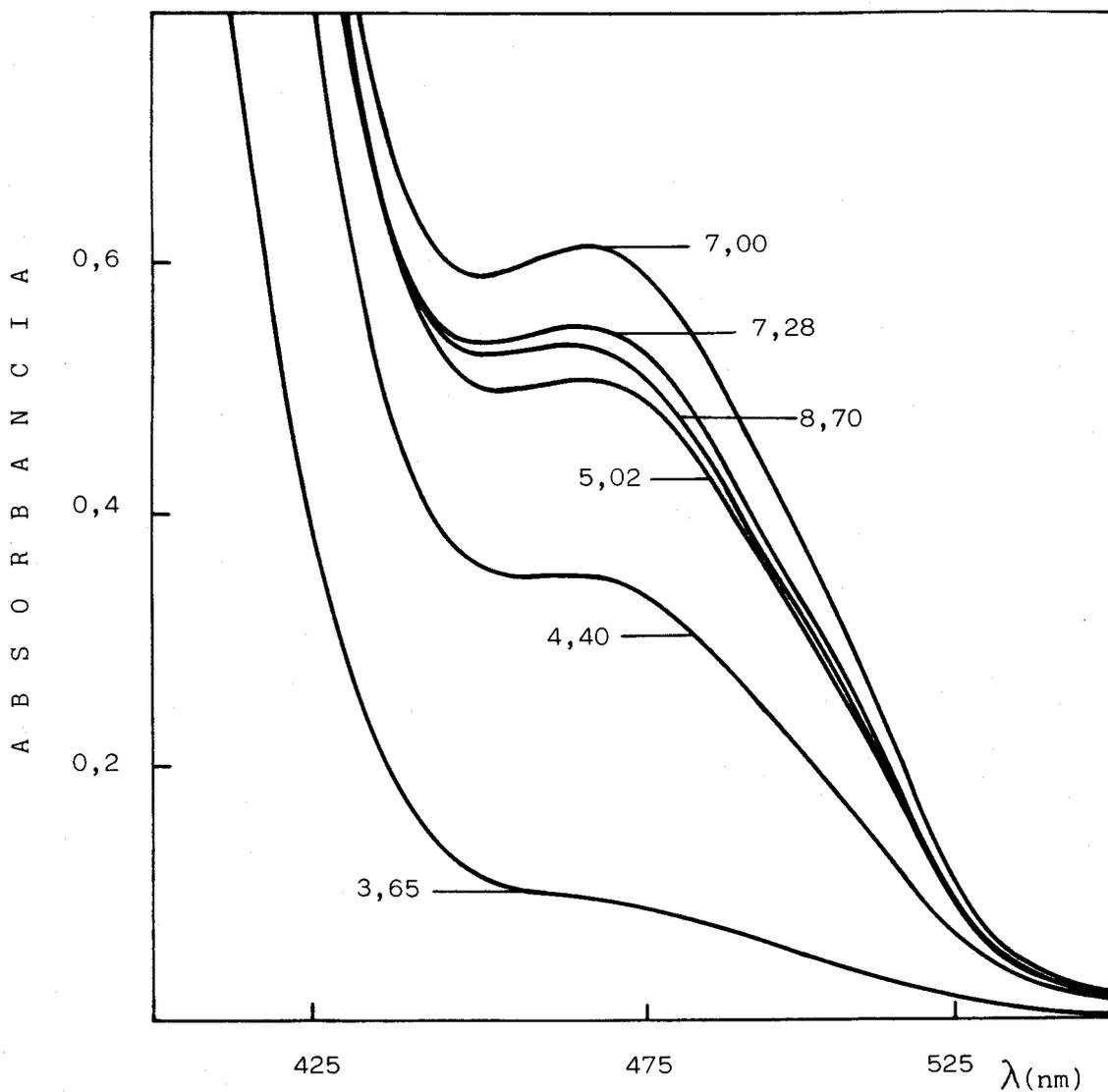


FIGURA 113 * Espectros de absorción del sistema Ni(II)-FGMPH a distintos valores de pH. $|\text{Ni}| = 0,5$ ppm; 30% etanol. Blanco: disolvente.

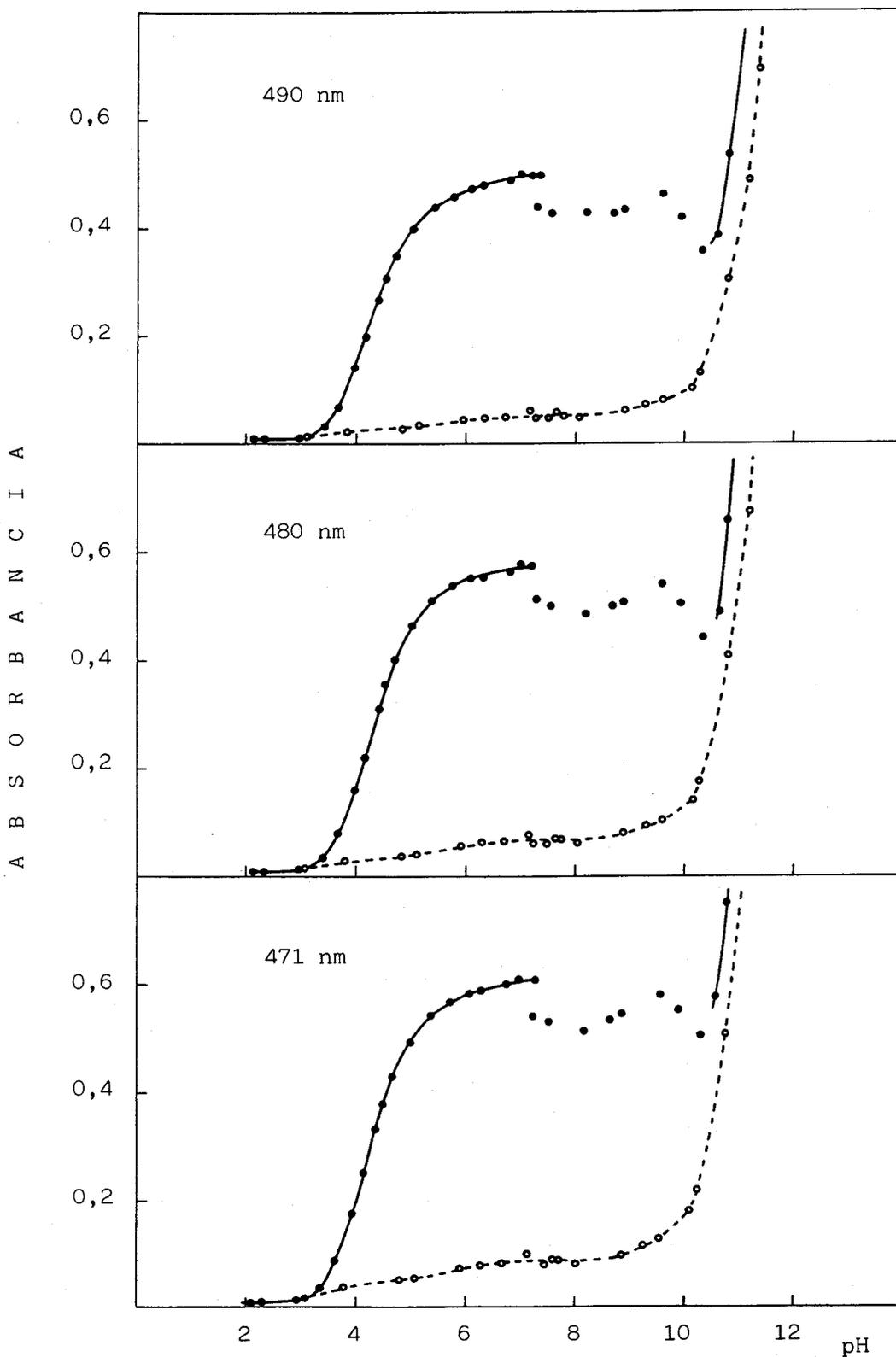


FIGURA 114 * Curva A-pH del complejo Ni(II)-FGMPH.
[Ni] = 0,5 ppm; 30% etanol.
A trazos el blanco de reactivo.

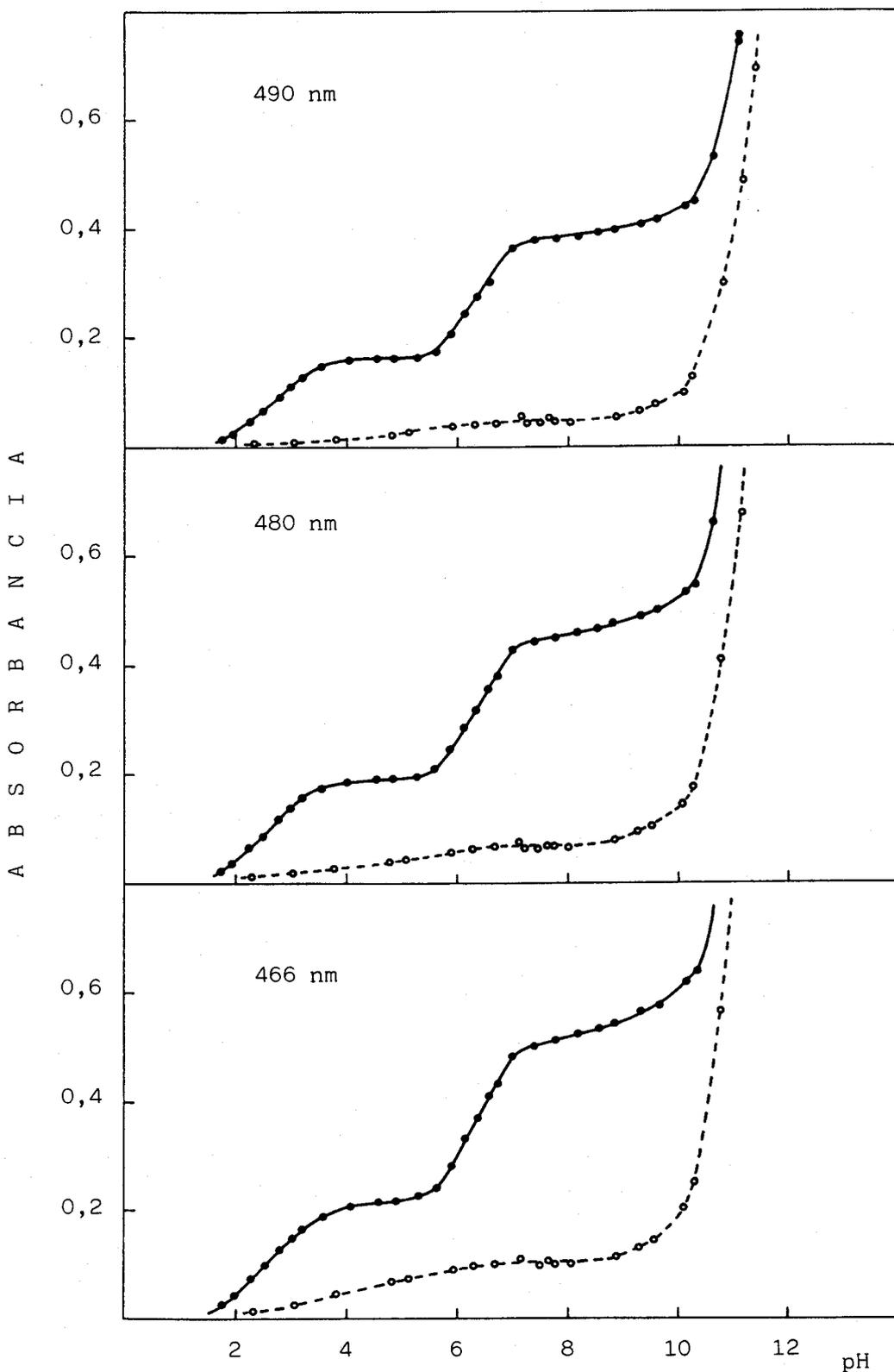


FIGURA 115 * Curva A-pH del complejo Cu(II)-FGMPH.
|Cu| = 0,5 ppm; 30% etanol.
A trazos el blanco de reactivo.

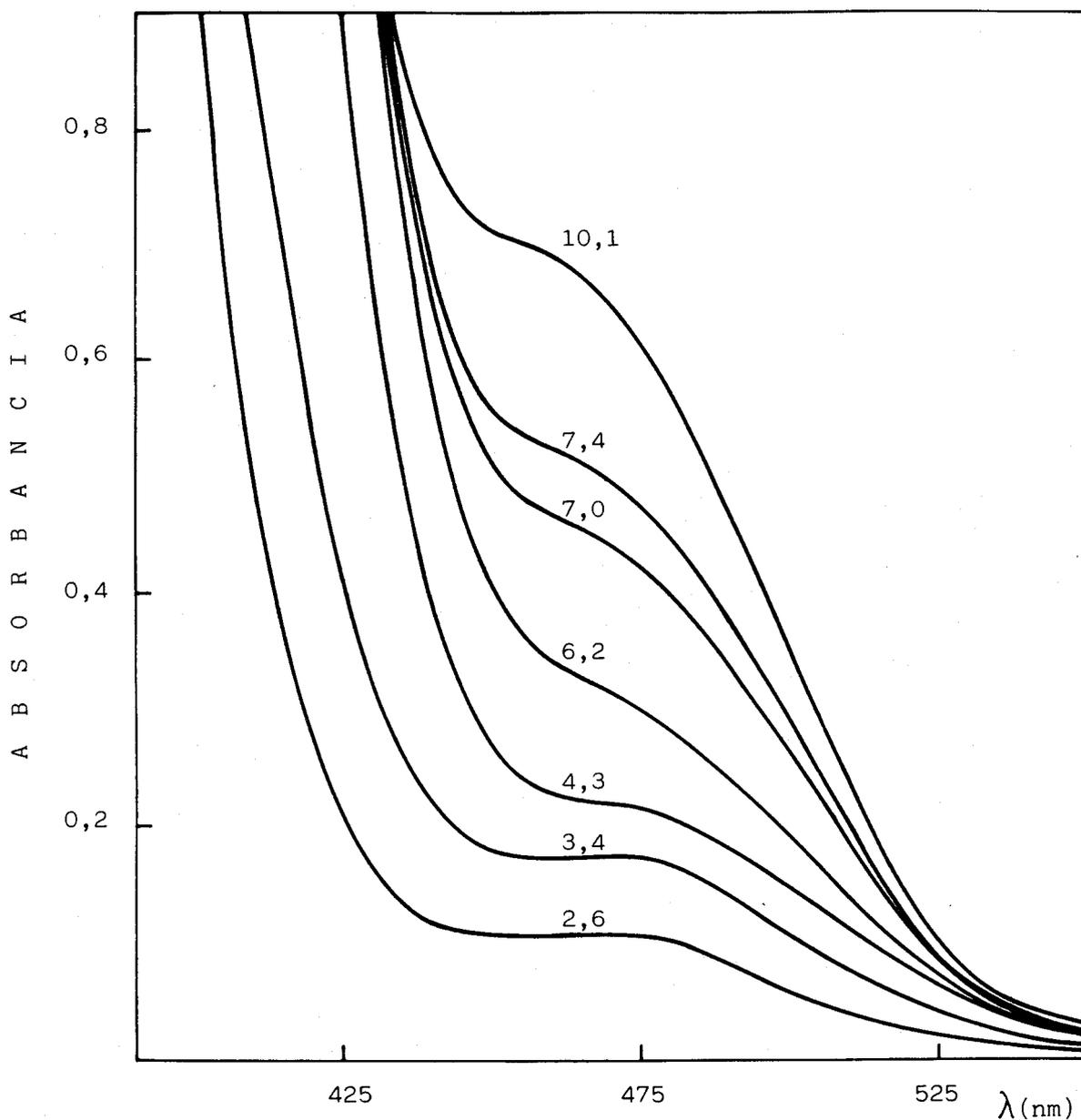


FIGURA 116 * Espectros de absorción del sistema Cu(II)-FGMPH a distintos valores de pH. $[\text{Cu}] = 0,5 \text{ ppm}$; 30% etanol. Blanco: disolvente.

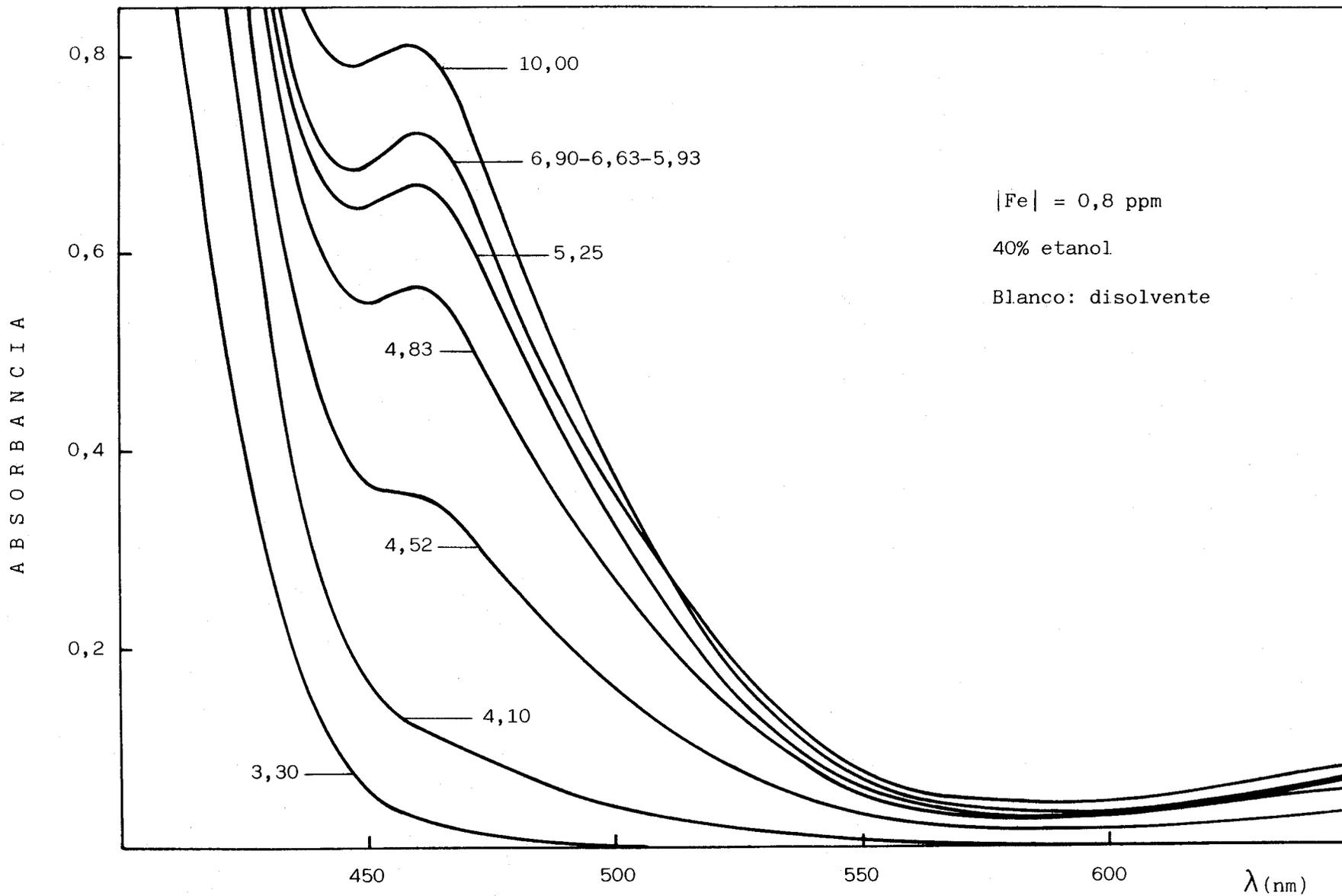


FIGURA 117 * Espectros de absorción del sistema Fe(II)-FGMPH a distintos valores de pH.

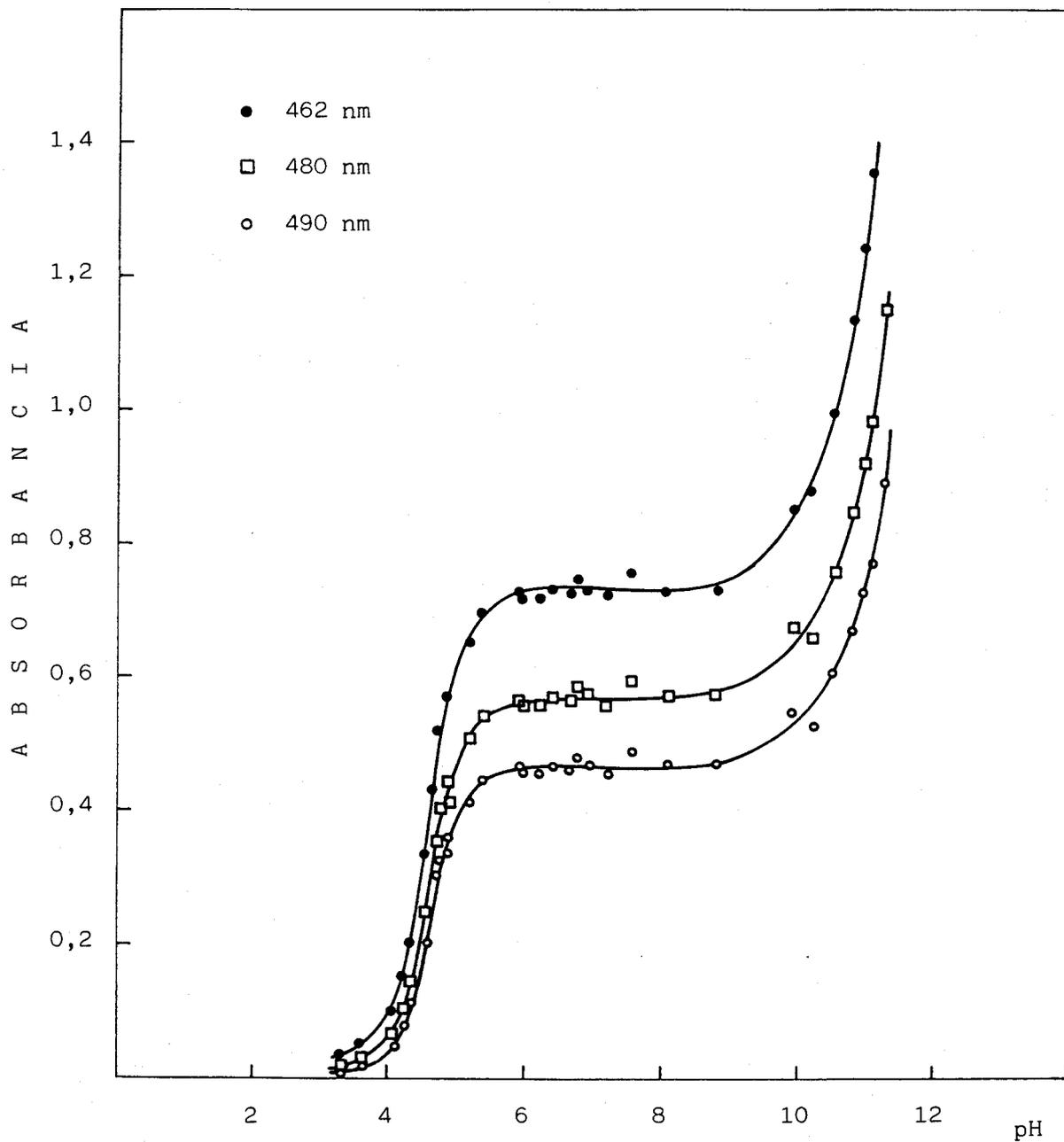


FIGURA 118 * Curvas absorbancia-pH del complejo Fe(II)-FGMPH. $|\text{Fe}|=0,8$ ppm; 40% etanol. (1 ml de ácido ascórbico al 10%/25 ml).

TABLA 86 * INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA ABSORBANCIA DEL COMPLEJO
 Zn(II) : FGMPH - ($C_{Zn} = 0,3$ ppm; 30% etanol)

pH/ λ (nm)	464	470	480	490
2,92	0,018	0,014	0,011	0,009
3,45	0,032	0,026	0,020	0,014
4,13	0,052	0,040	0,028	0,019
5,07	0,071	0,056	0,040	0,027
5,95	0,169	0,156	0,125	0,097
6,35	0,225	0,220	0,190	0,150
6,64	0,291	0,274	0,238	0,189
7,08	0,375	0,357	0,314	0,252
7,30	0,390	0,369	0,323	0,258
7,55	0,402	0,382	0,337	0,268
7,78	0,404	0,385	0,339	0,271
8,20	0,422	0,403	0,354	0,282
8,51	0,430	0,411	0,362	0,290
8,70	0,442	0,420	0,368	0,297
8,87	0,451	0,429	0,379	0,310
9,10	0,479	0,464	0,408	0,329
10,35	0,770	0,718	0,605	0,468
11,08	1,067	0,977	0,800	0,603
11,23	1,272	1,162	0,945	0,712
11,42	1,647	1,496	1,204	0,898
12,10	2,680	2,660	2,534	2,100

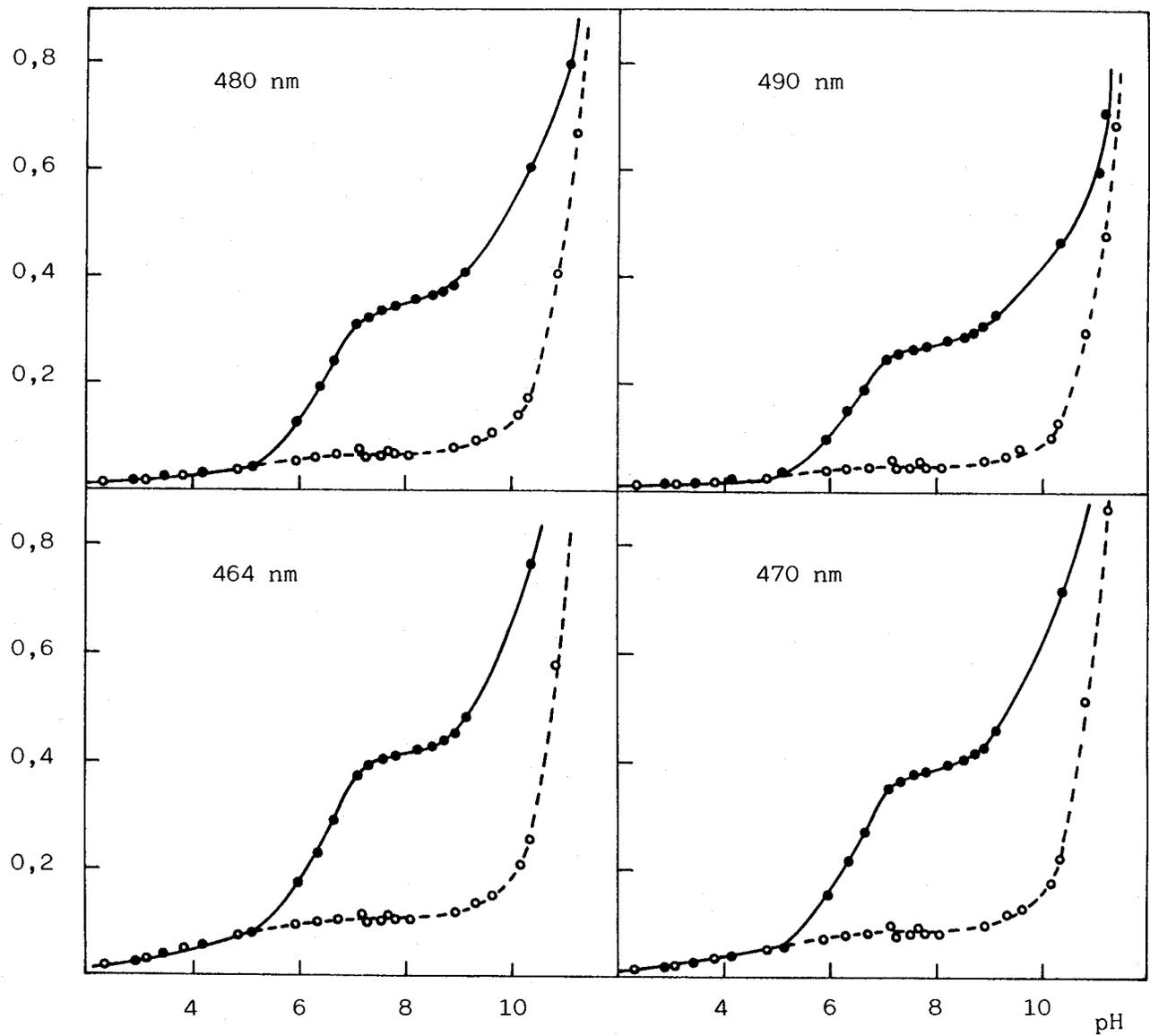


FIGURA 119 * Curva absorbancia-pH del complejo Zn(II)-FGMPH. $[Zn] = 0,3$ ppm; 30% etanol. A trazos el blanco de reactivo.

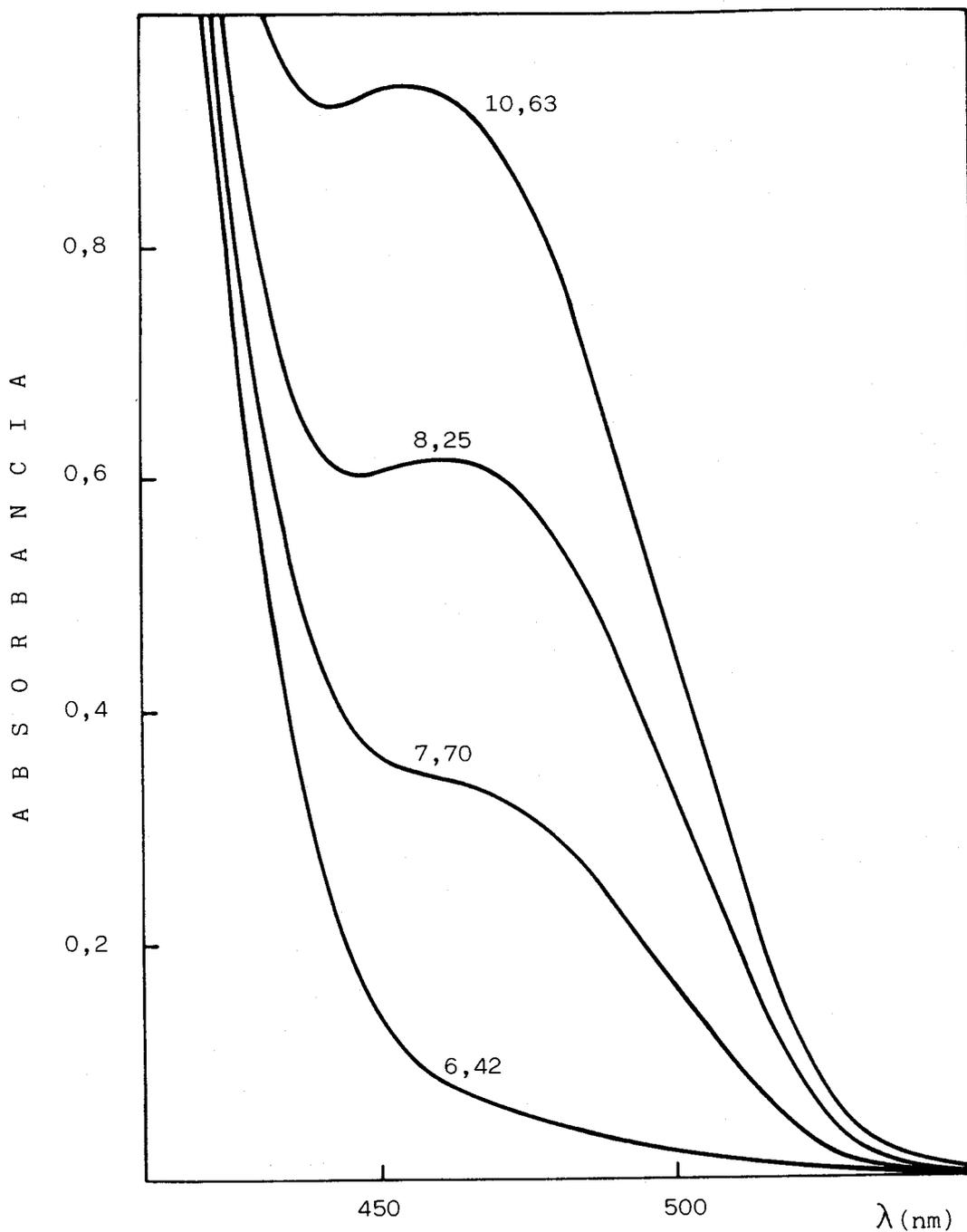


FIGURA 120 * Espectros de absorción del sistema Cd(II)-FGMPH a distintos valores de pH. $|\text{Cd}| = 1 \text{ ppm}$; 50% etanol. Blanco: disolvente.

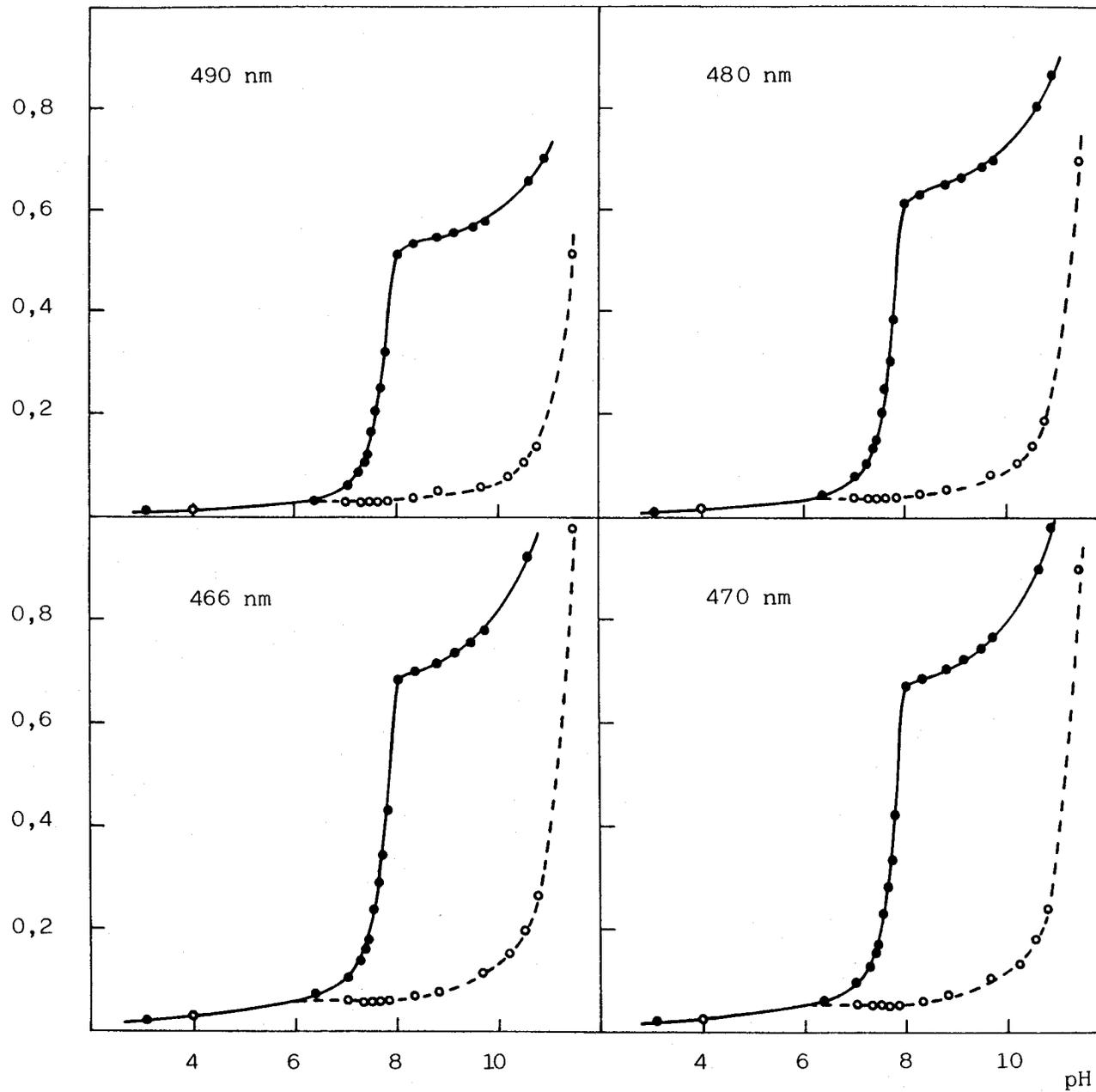


FIGURA 121 * Curva absorbancia-pH del complejo Cd(II)-FGMPH. $[Cd] = 1 \text{ ppm}$; 50% etanol. A trazos el blanco de reactivo.

IV.1.2.- Estequiometrías de los complejos.- Se ha realizado un estudio acerca de las estequiometrías de los complejos por el método de la razón molar. Los resultados obtenidos se detallan a continuación.

La reacción entre la FGMPH y el ión cobalto, en un medio de pH ácido acético/acetato sódico, es lenta. Cuando se representa la absorbancia de una serie de muestras que contienen una cantidad fija de cobalto, pero distintas cantidades de reactivo, frente a la razón $|FGMPH|/|Co|$, se observa (Figura 122(a)) que se alcanza una zona de absorbancia prácticamente constante cuando la razón reactivo a cobalto toma valores superiores a 6. No obstante, la absorbancia de dichas muestras evoluciona, aunque muy lentamente, tal como se comprueba en la Figura 122(b), en la que se representa el método de la razón molar a 518,5 nm a distintos tiempos de preparada la serie de muestras. Al mes después de preparadas las muestras, la razón estequiométrica es próxima a 1:2 Co(II):FGMPH.

Se ha aplicado el método de la razón molar a pH = 7,33. En la Figura 123 se registran los espectros de absorción correspondientes a tres relaciones reactivo a cobalto, concretamente las de 2,4; 5,0 y 12. Existe un punto de corte en los espectros de estas tres muestras a 480 nm, lo que indica la existencia de dos especies en disolución. Probablemente el complejo de Co(II) inicialmente formado se oxide a uno de Co(III), hecho que motiva la aparición tanto de este punto isobéptico, como de la forma anómala de las curvas de la razón molar obtenidas a diversas longitudes de onda (Figura 124). A 480 nm, y a las demás longitudes de onda, los dos tramos rectos de la curva de la razón molar se cortan en un punto próximo a 2, lo que indica que el cobalto y la FGMPH se combinan en una relación 1:2.

Al contrario que el sistema Co(II)-FGMPH, el sistema Ni(II)-FGMPH muestra, para distintas relaciones $|FGMPH|/|Ni|$, espectros de absorción análogos en su forma (Figura 125), con el mismo máximo. El método de la razón molar en un medio con un 50% de etanol en volumen, indica una razón estequiométrica 1:2 (Figura 126).

En el caso del sistema Fe(II)-FGMPH, cuyos espectros de absorción para distintas razones reactivo a hierro se muestran en la Figura 127, parece observarse también un único complejo, tal como

cabía esperar a la vista de la curva absorbancia-pH comentada con anterioridad (Figura 118). A partir de las curvas de la razón molar (Figura 128), medidas a las 2 horas después de preparar las muestras (ya que la absorbancia evoluciona lentamente cuando el reactivo y el hierro se encuentran en cantidades casi estequiométricas), se observa una razón 1:2 hierro a reactivo, tal como era de esperar dado que la FGMPH es un ligando tridentado.

Ya indicamos en la sección anterior que el sistema Cu(II)-FGMPH muestra dos zonas de pH donde la absorbancia es prácticamente constante (Figura 115); una en medio ácido y otra en medio básico. Se ha procedido por tanto al estudio de la estequiometría en medio acético/acetato en el que se obtiene, tal como se muestra en la Figura 129, que el complejo es 1:1. Dicha razón estequiométrica se encuentra también en medio ácido en el caso del complejo Cu(II) y biacetil mono(2-piridil)hidrazona (132). Los espectros correspondientes a las razones estequiométricas 1:2 y 19:1 FGMPH:Cu se muestran en la Figura 130.

Los estudios realizados con el sistema Cu(II)-FGMPH, a valores de pH de 8,2, regulado con tampón TRIS añadido antes que el reactivo, muestran (Figura 131), que el complejo Cu(II)-FGMPH formado a valores de pH básicos se encuentra muy disociado, no pudiendo asignarse relación estequiométrica alguna a partir de las curvas incluidas en la Figura.

Los datos correspondientes al estudio de la estequiometría del sistema Zn(II)-FGMPH a pH 8,2 (Tampón TRIS), en un medio que contiene un 30% de etanol en volumen, se muestran en la Tabla 87 y aparecen representados en la Figura 132. Se incluye asimismo, en la Tabla y en la Figura, la evolución de las disoluciones coloreadas con el tiempo. No es posible, al igual que en el caso anterior (sistema Cu(II)-FGMPH en medio básico), asignar una relación estequiométrica a partir de la forma de las curvas, aunque dada la estructura del reactivo, el complejo debe ser 1:2, al igual que el formado entre el zinc y la biacetil mono(2-piridil)hidrazona (59), reactivo que posee una estructura análoga a la de la FGMPH. Los espectros de absorción del sistema Zn(II)-FGMPH, para distintas razones $|FGMPH|/|Zn|$ se muestran en la Figura 133.

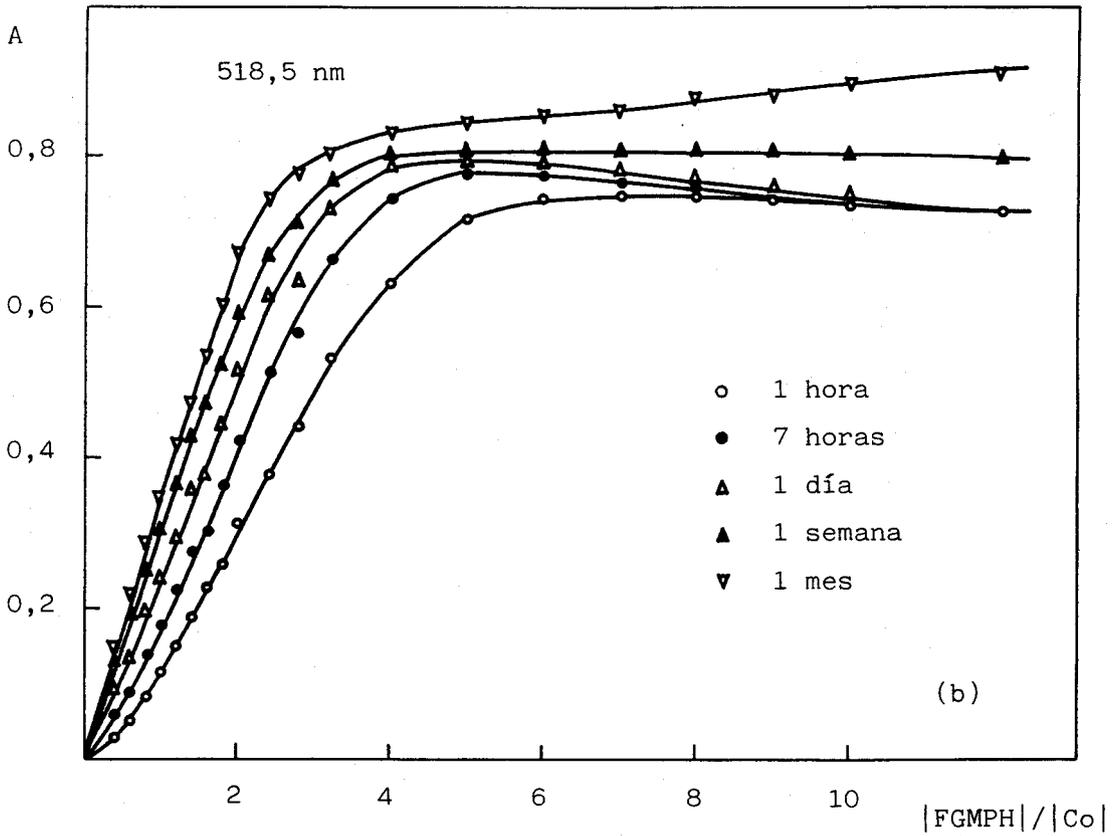
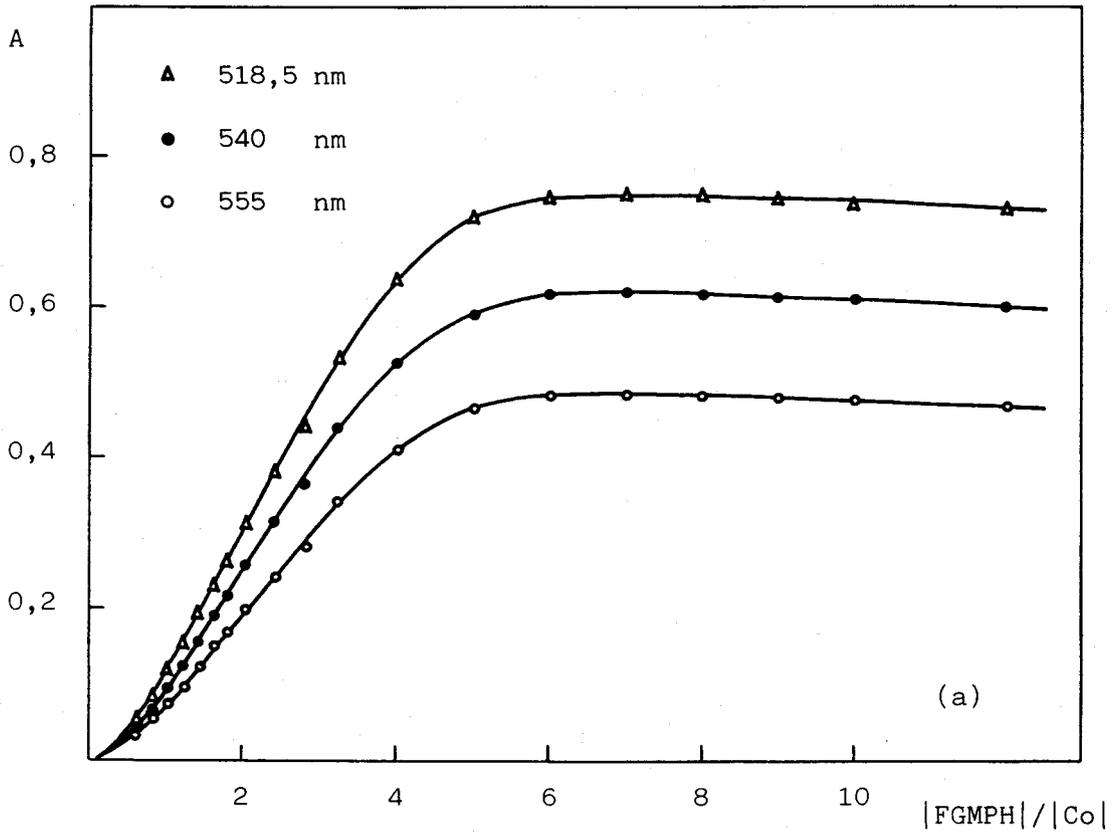


FIGURA 122 * Estequiometría del complejo Co(II)-FGMPH. Razón molar. $|\text{Co}| = 1,5 \text{ ppm}$; $\text{pH} = 4,75$ (a) A distintas longitudes de onda; (b) Evolución con el tiempo a la longitud de onda de máxima absorción.

A B S O R B A N C I A

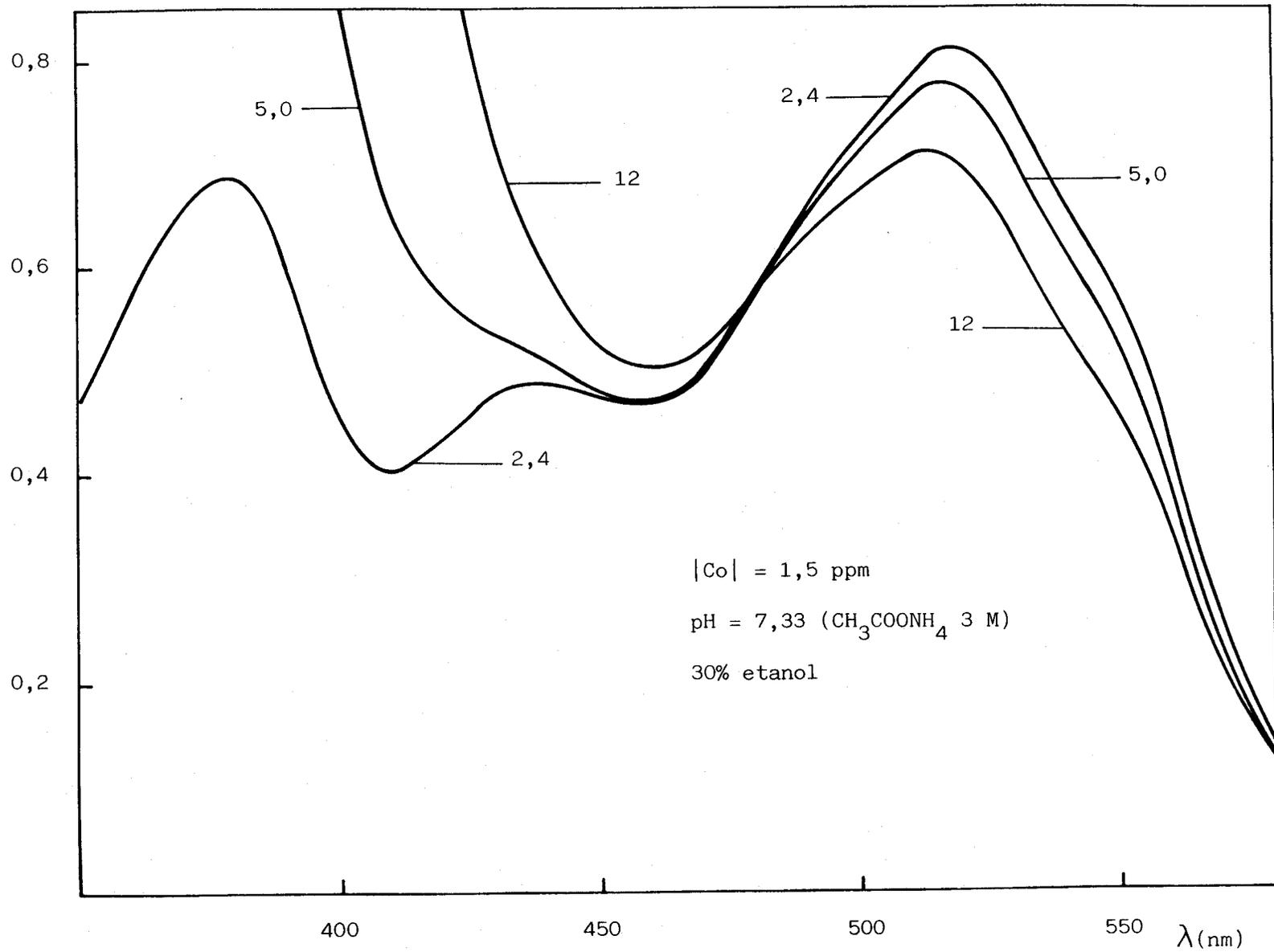


FIGURA 123 * Razón molar del sistema Co(II)-FGMPH ($|\text{FGMPH}|/|\text{Co}|$). Blanco: disolvente.

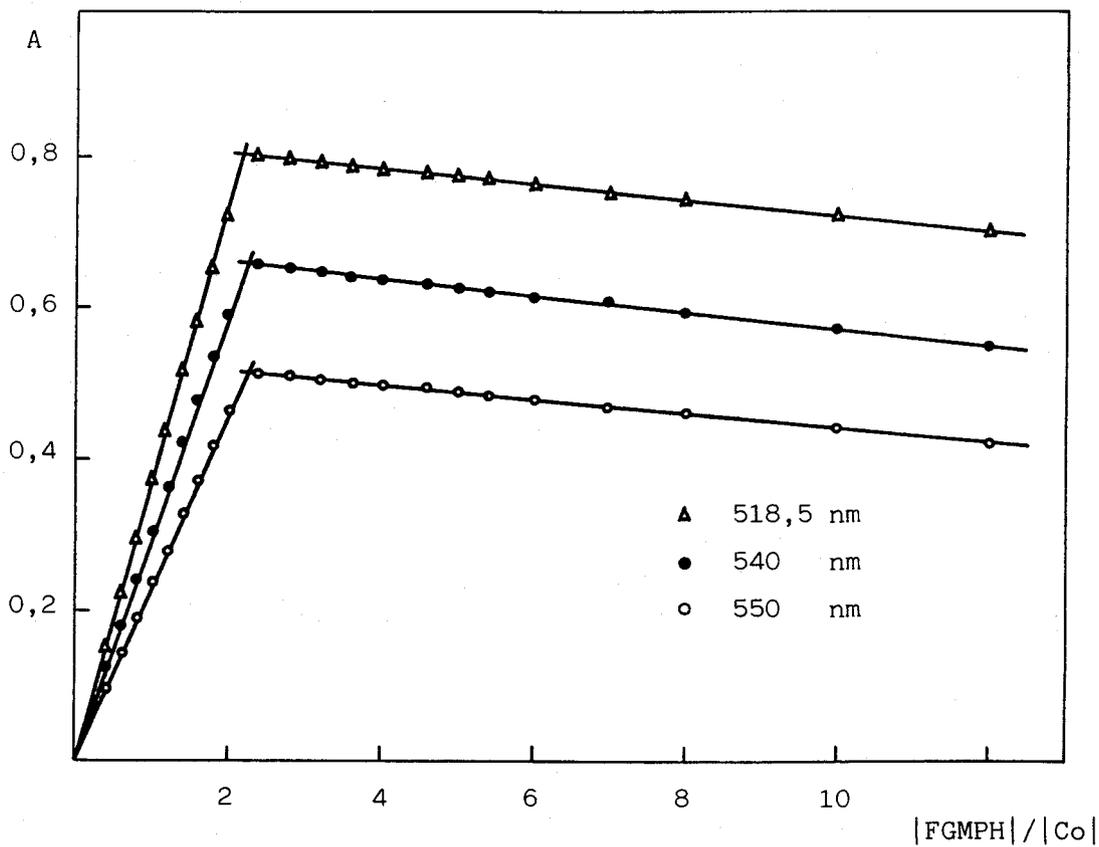
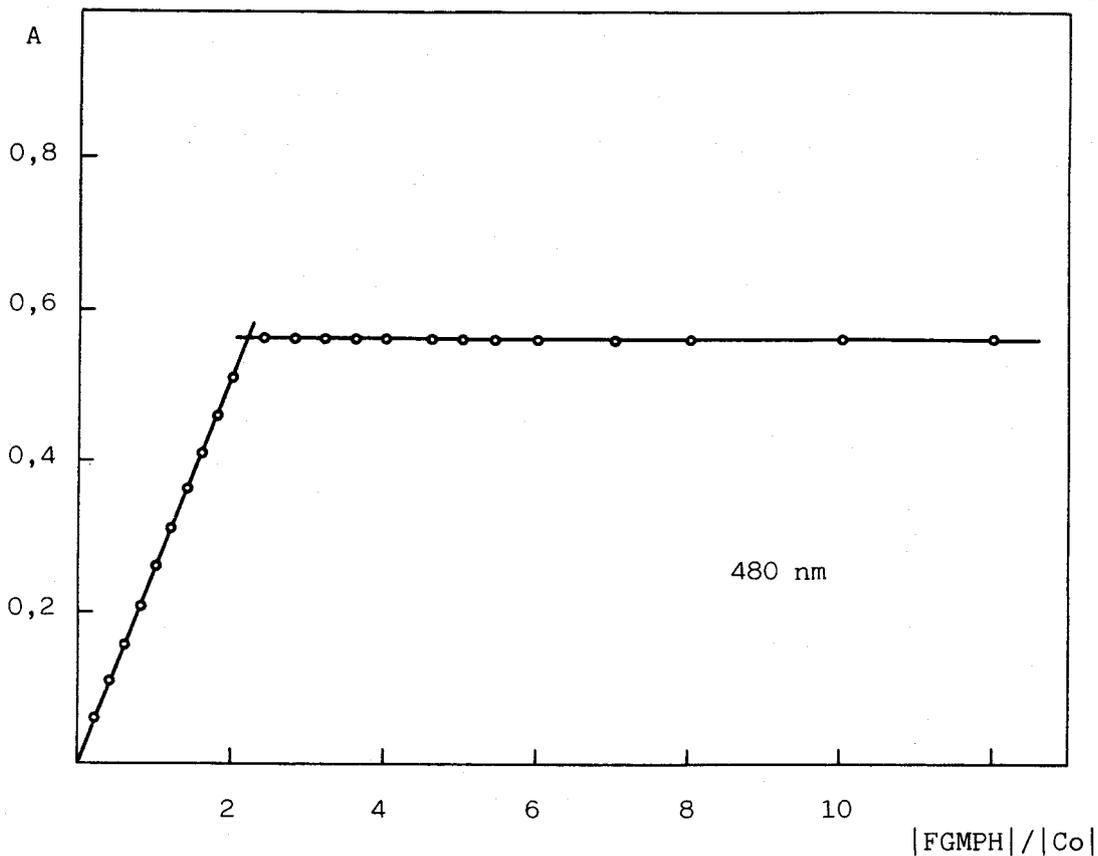


FIGURA 124 * Estequiometría del complejo Co(II)-FGMPH. Razón molar. $|Co| = 1,5$ ppm; pH = 7,33. (2 ml de CH_3COONH_4 3 M).

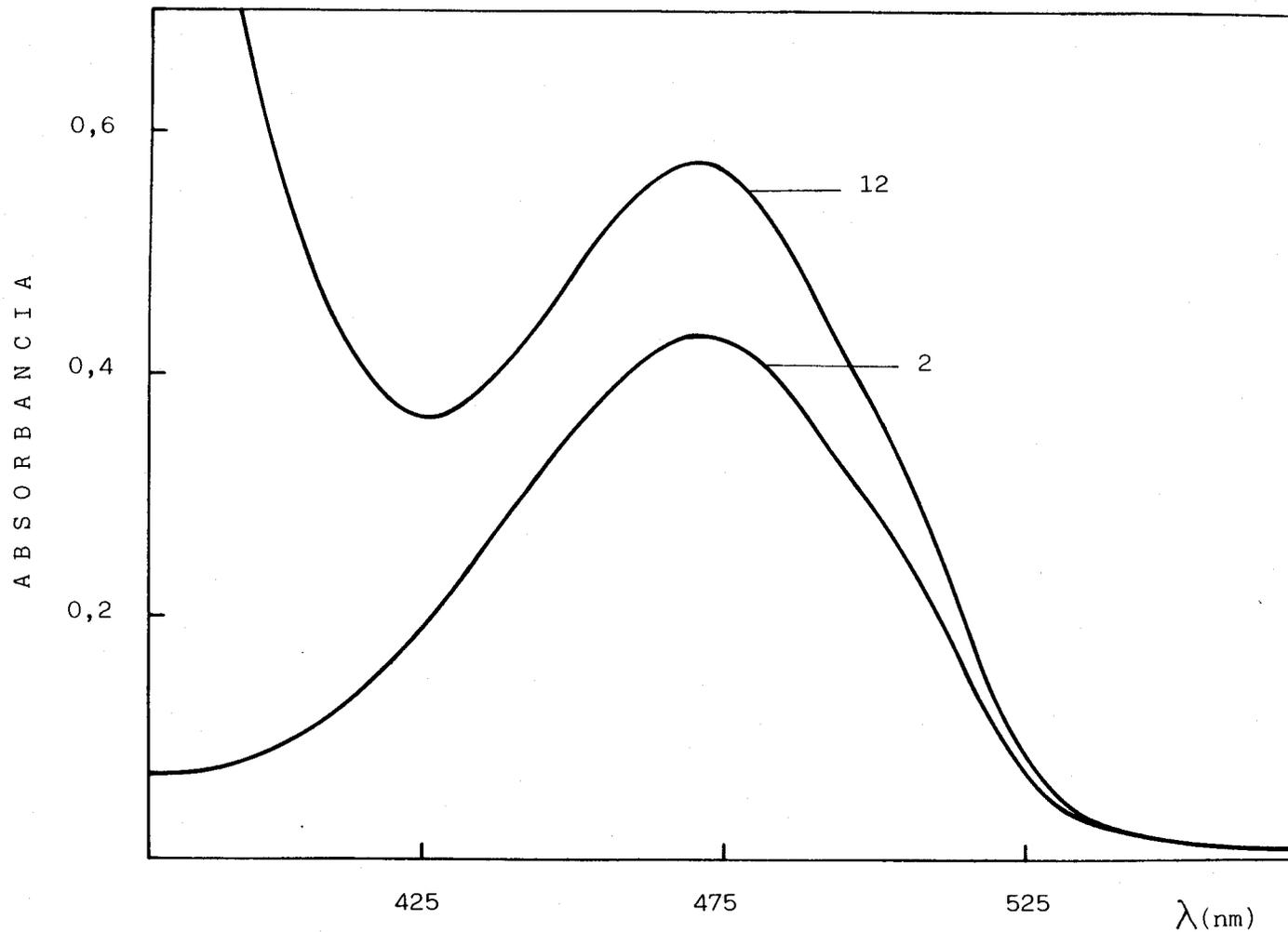


FIGURA 125 * Razón molar del complejo Ni(II)-FGMPH ($|\text{FGMPH}|/|\text{Ni}|$). $|\text{Ni}| = 0,5$ ppm; pH = 8,2 (Tampón TRIS); 50% etanol. Blanco: disolvente.

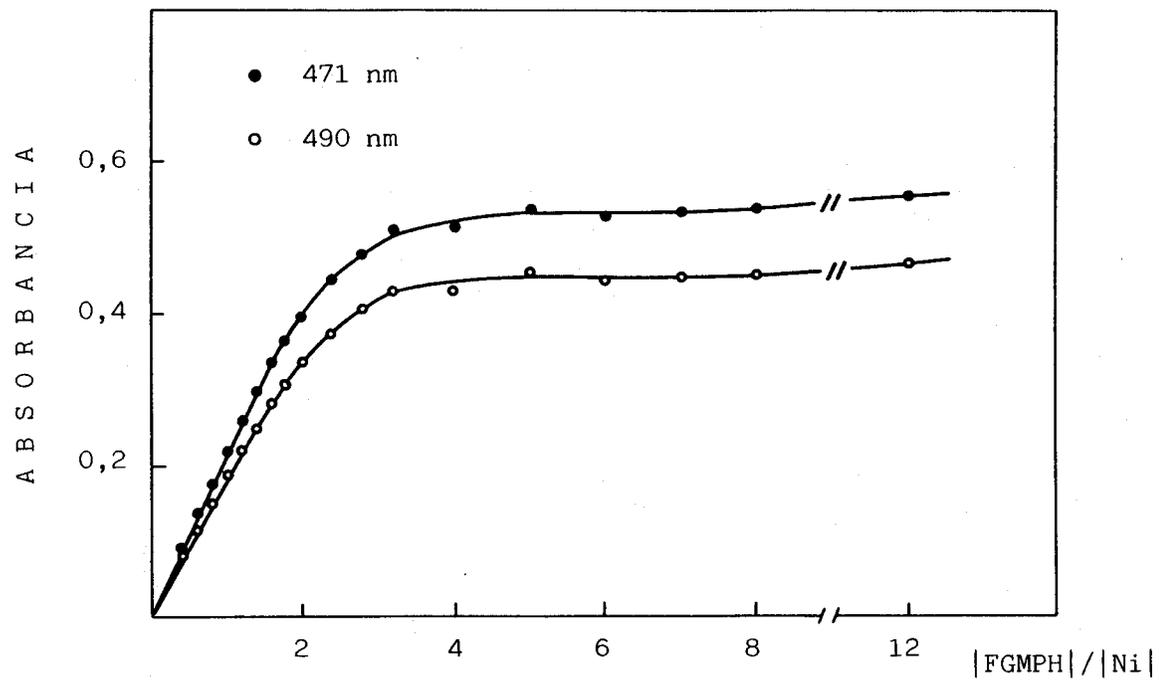


FIGURA 126 * Estequiometría del complejo Ni(II)-FGMPH. Razón molar.

$|Ni| = 0,5$ ppm; pH = 8,2; 50% etanol.

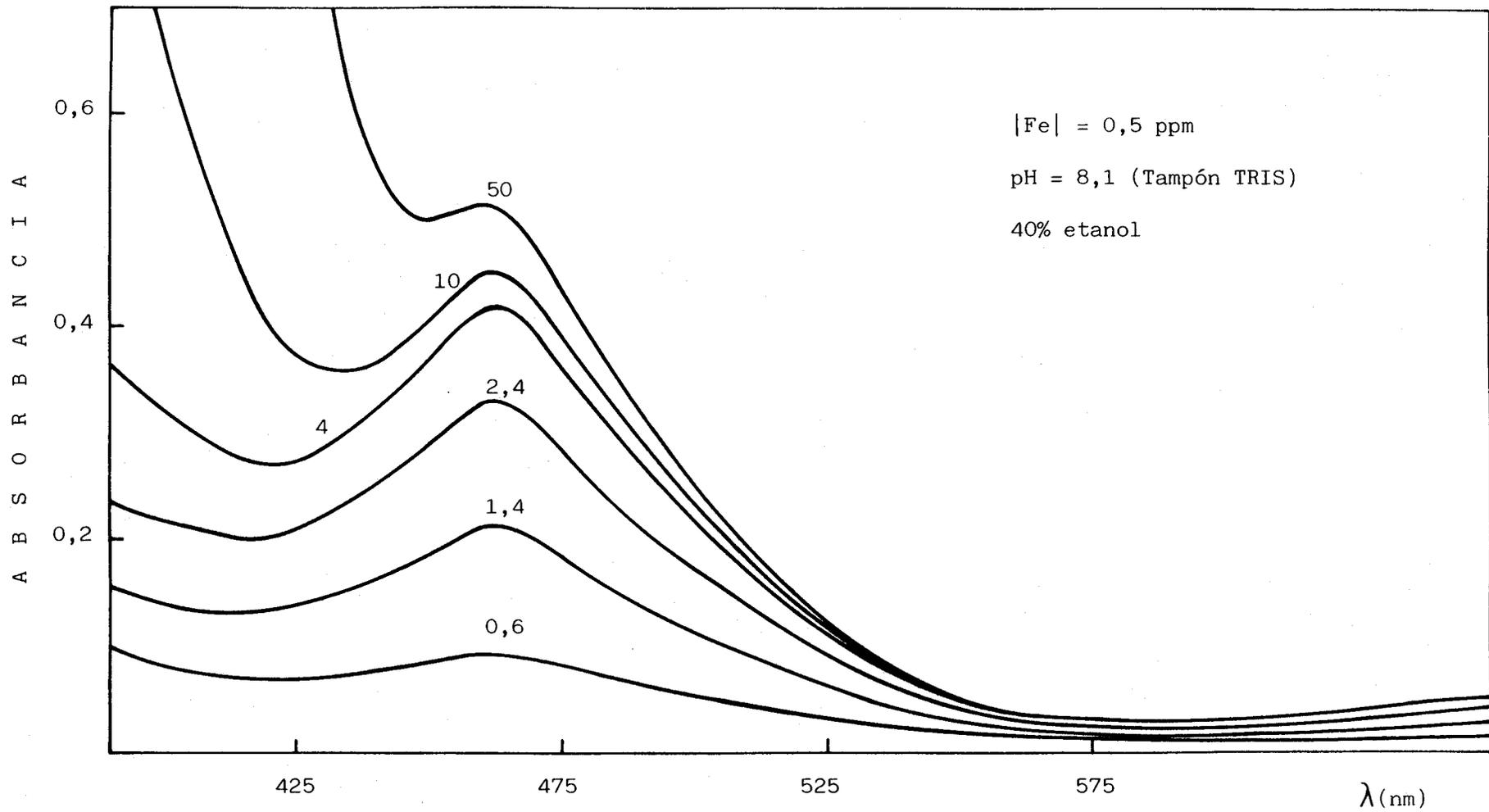


FIGURA 127 * Razón molar del sistema Fe(II)-FGMPH ($|FGMPH|/|Fe|$). Blanco: disolvente.

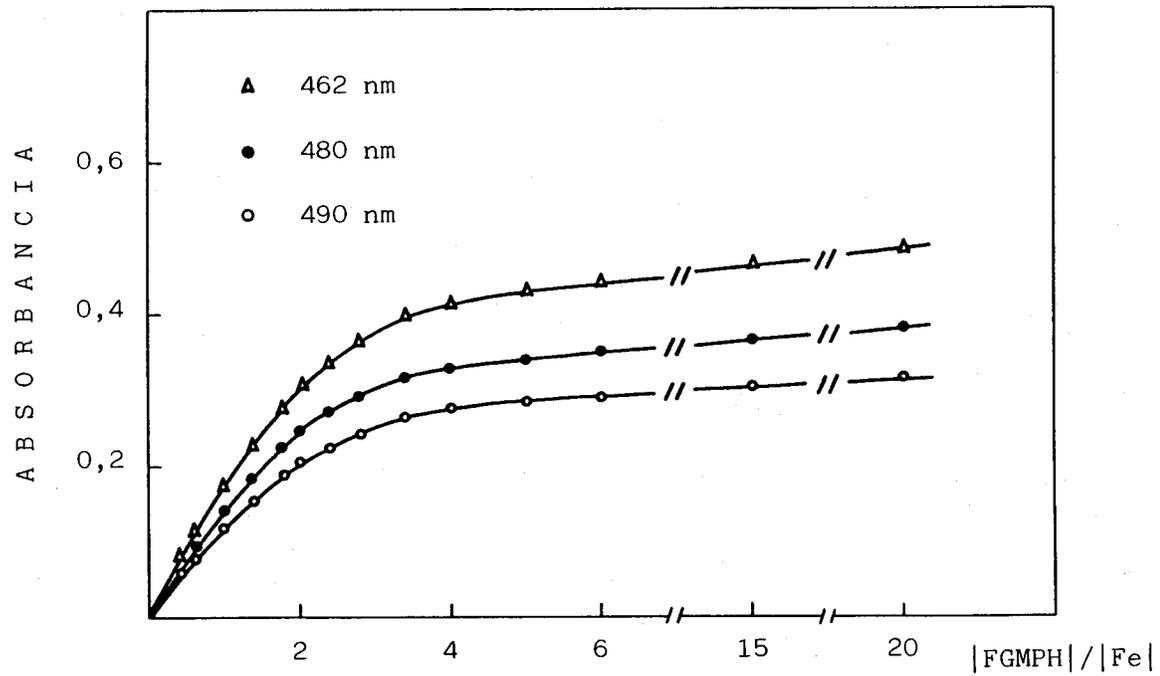


FIGURA 128 * Estequiometría del complejo Fe(II)-FGMPH. Razón molar.
 $|Fe| = 0,5$ ppm; pH = 8,1.
 Muestras medidas al cabo de 2 horas después de preparadas.

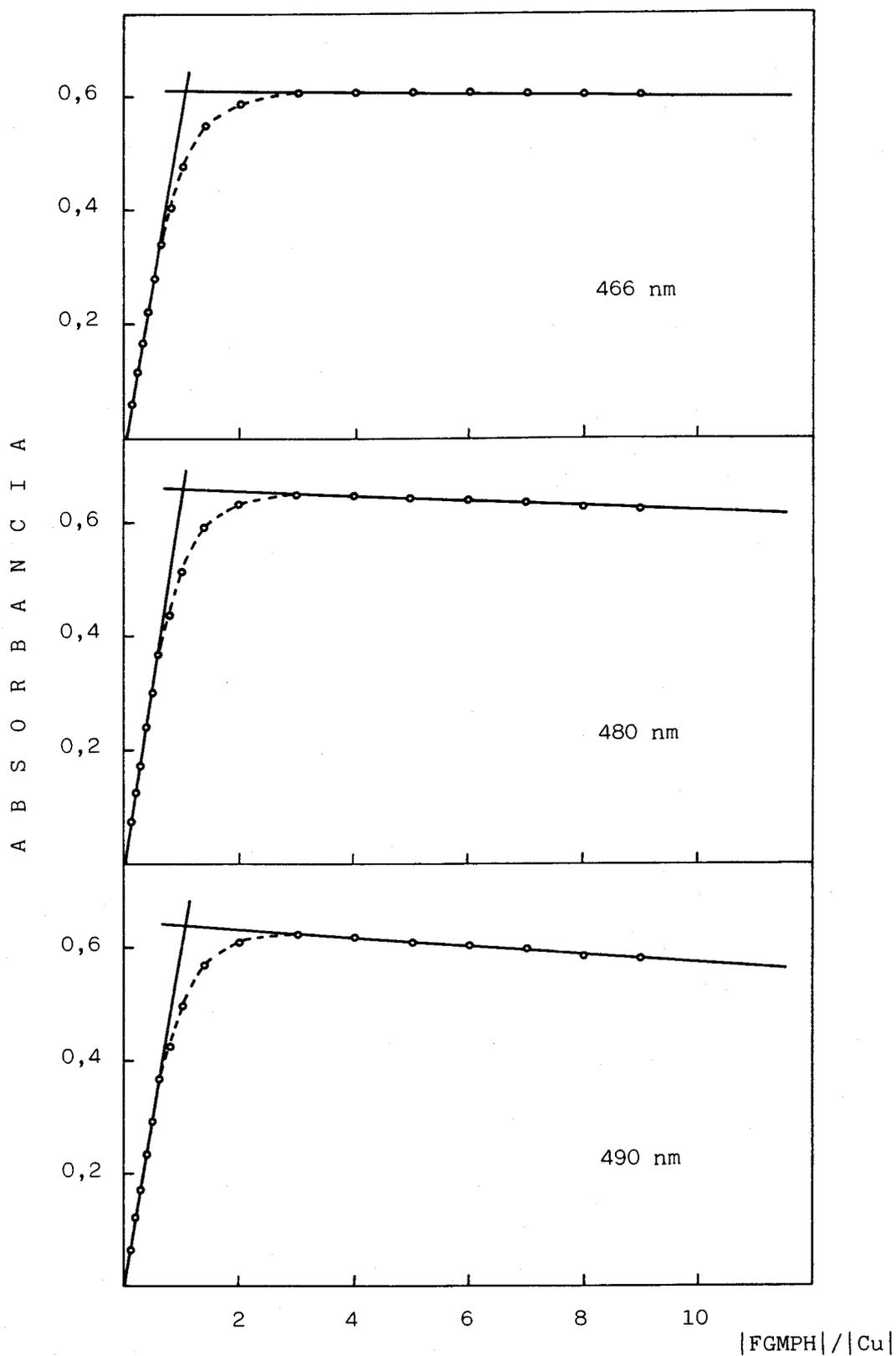


FIGURA 129 * Estequiometría del complejo Cu(II)-FGMPH.
Razón molar. $[Cu] = 1,5$ ppm; pH = 4,95.

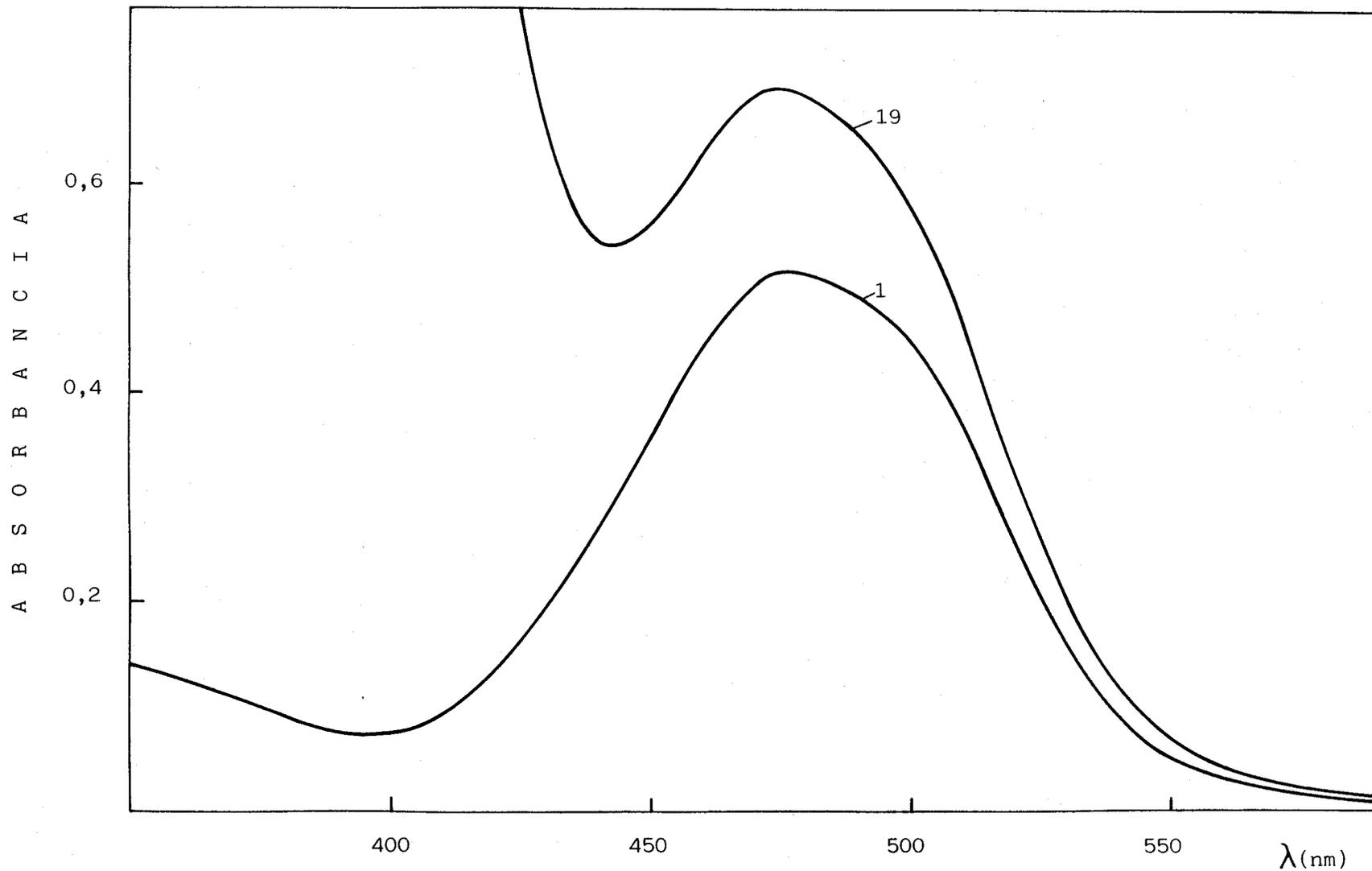


FIGURA 130 * Razón molar del sistema Cu(II)-FGMPH ($|FGMPH|/|Cu|$). $|Cu| = 1,5$ ppm; 30% etanol; pH = 4,95 (Tampón acético/acetato). Blanco: disolvente.

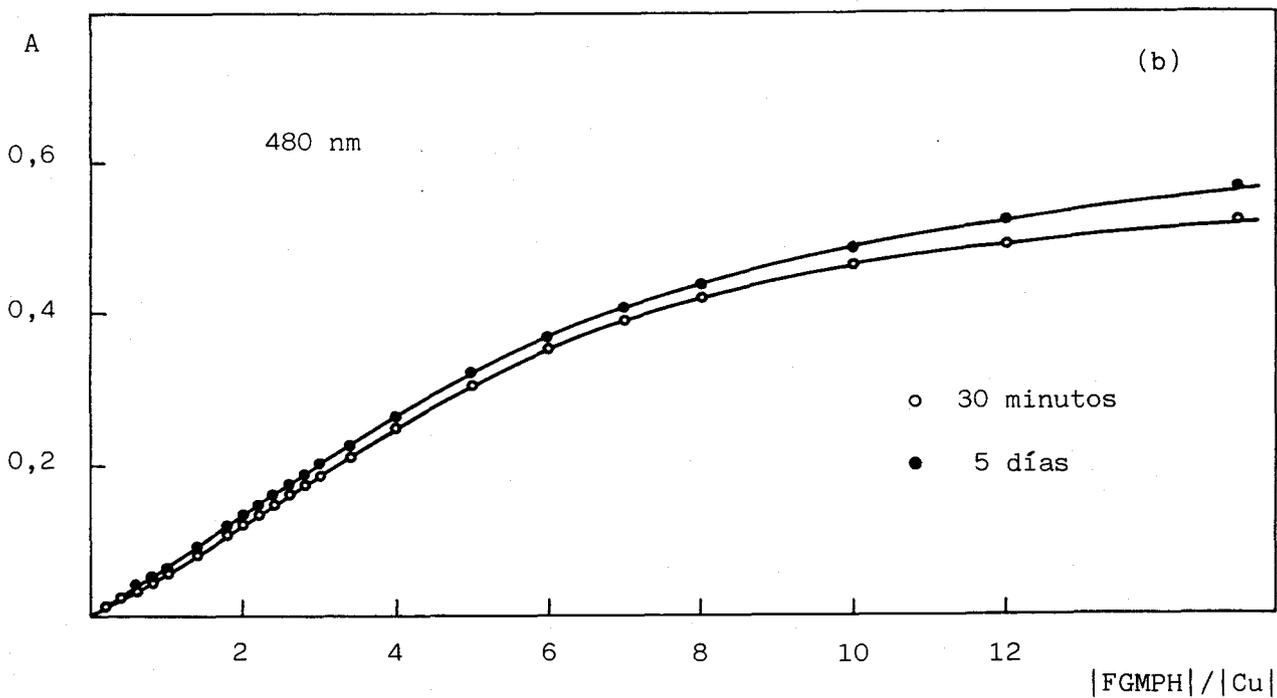
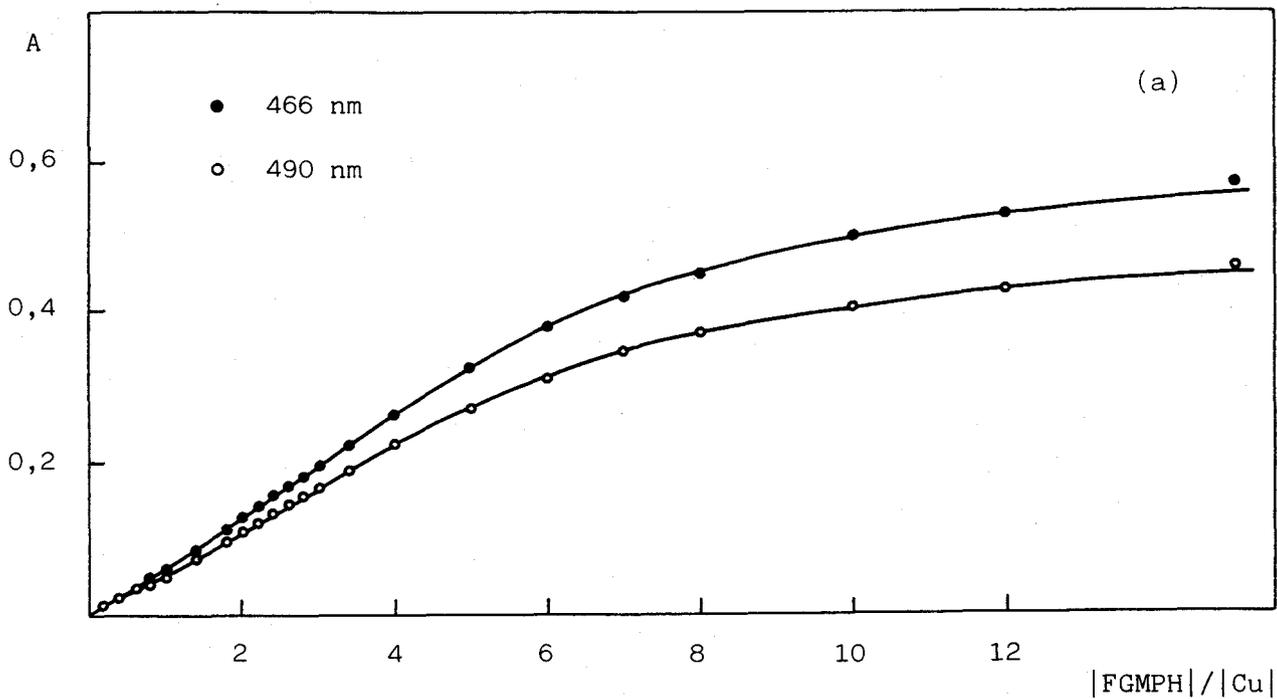


FIGURA 131 * Estequiometría del complejo Cu(II)-FGMPH. Razón molar. $|Cu| = 0,7$ ppm; pH = 8,2. (a) A distintas longitudes de onda; (b) Evolución con el tiempo.

TABLA 87 * RAZON MOLAR DEL COMPLEJO Zn(II):FGMPH A pH = 8,2
 (|Zn| = 0,5 ppm ; 30% etanol)

Razón FGMPH / Zn	464	464*	464**	464***
1	0,036	0,042	0,050	0,051
2	0,072	0,087	0,104	0,100
3	0,112	0,136	0,165	0,160
4	0,146	0,177	0,215	0,219
5	0,185	0,224	0,265	0,247
6	0,217	0,268	0,306	0,295
7	0,257	0,298	0,333	0,332
8	0,283	0,332	0,369	0,354
9	0,316	0,363	0,401	0,398
10	0,338	0,385	0,422	0,431
11	0,355	0,405	0,442	0,458
12	0,382	0,423	0,453	0,463
13	0,402	0,439	0,478	0,471
14	0,416	0,453	0,486	0,497
15	0,432	0,469	0,500	0,517
16	0,444	0,476	0,515	0,530
18	0,468	0,501	0,535	0,538
20	0,486	0,512	0,545	0,556
24	0,506	0,528	0,558	0,590
28	0,530	0,545	0,566	0,570
58	0,623	0,627	0,634	0,526

(*) Absorbancia medida a los 15 minutos.

(**) Absorbancia medida a las 18 horas.

(***) Absorbancia medida a los 9 días.

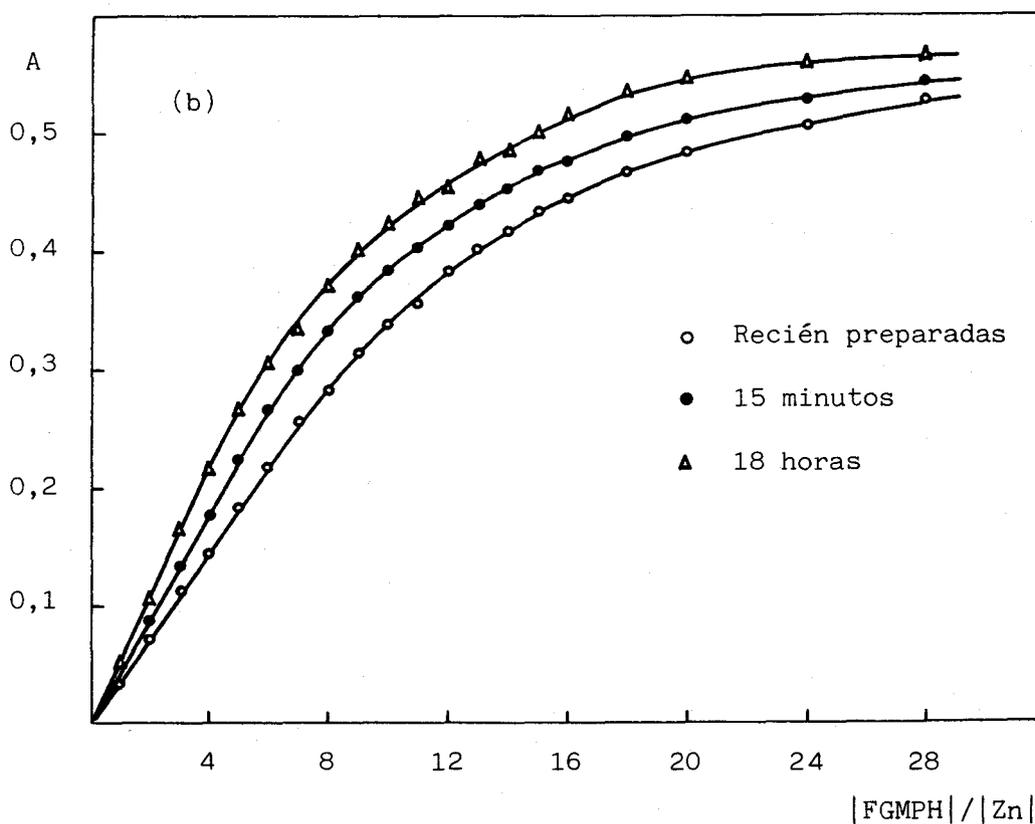
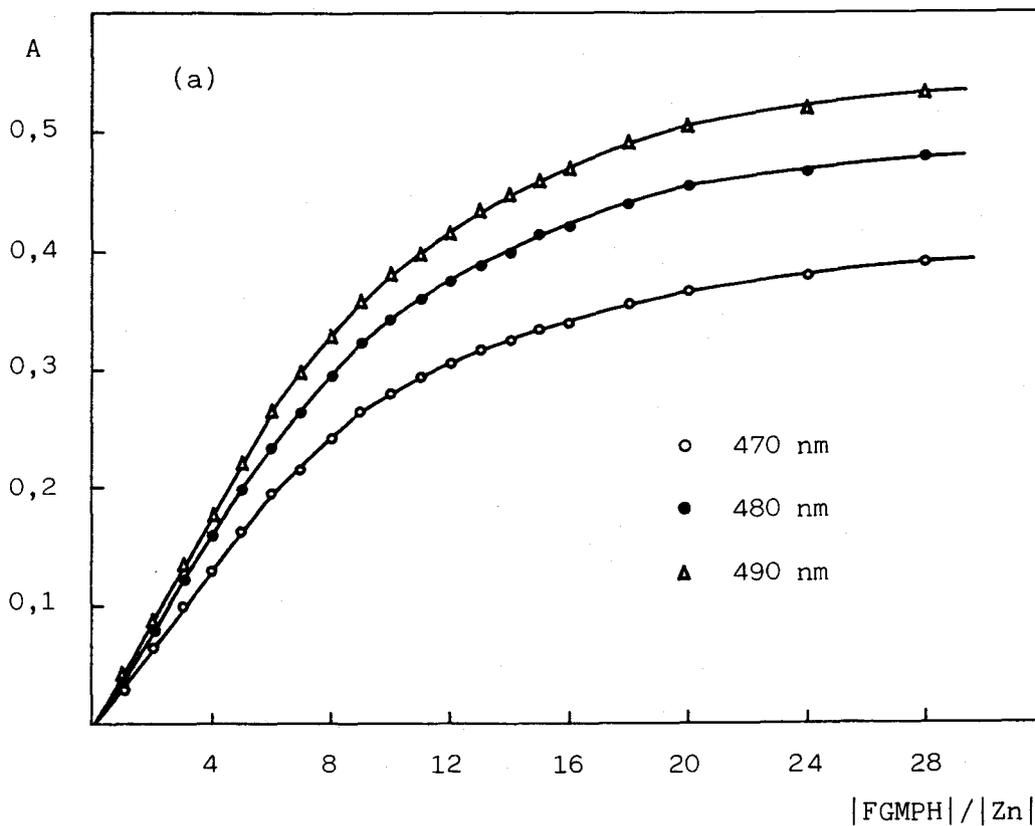


FIGURA 132 * Estequiometría del complejo Zn(II)-FGMPH. Razón molar. $|Zn| = 0,5$ ppm; pH = 8,2. (a) A distintas longitudes de onda; (b) Evolución con el tiempo a 464 nm.

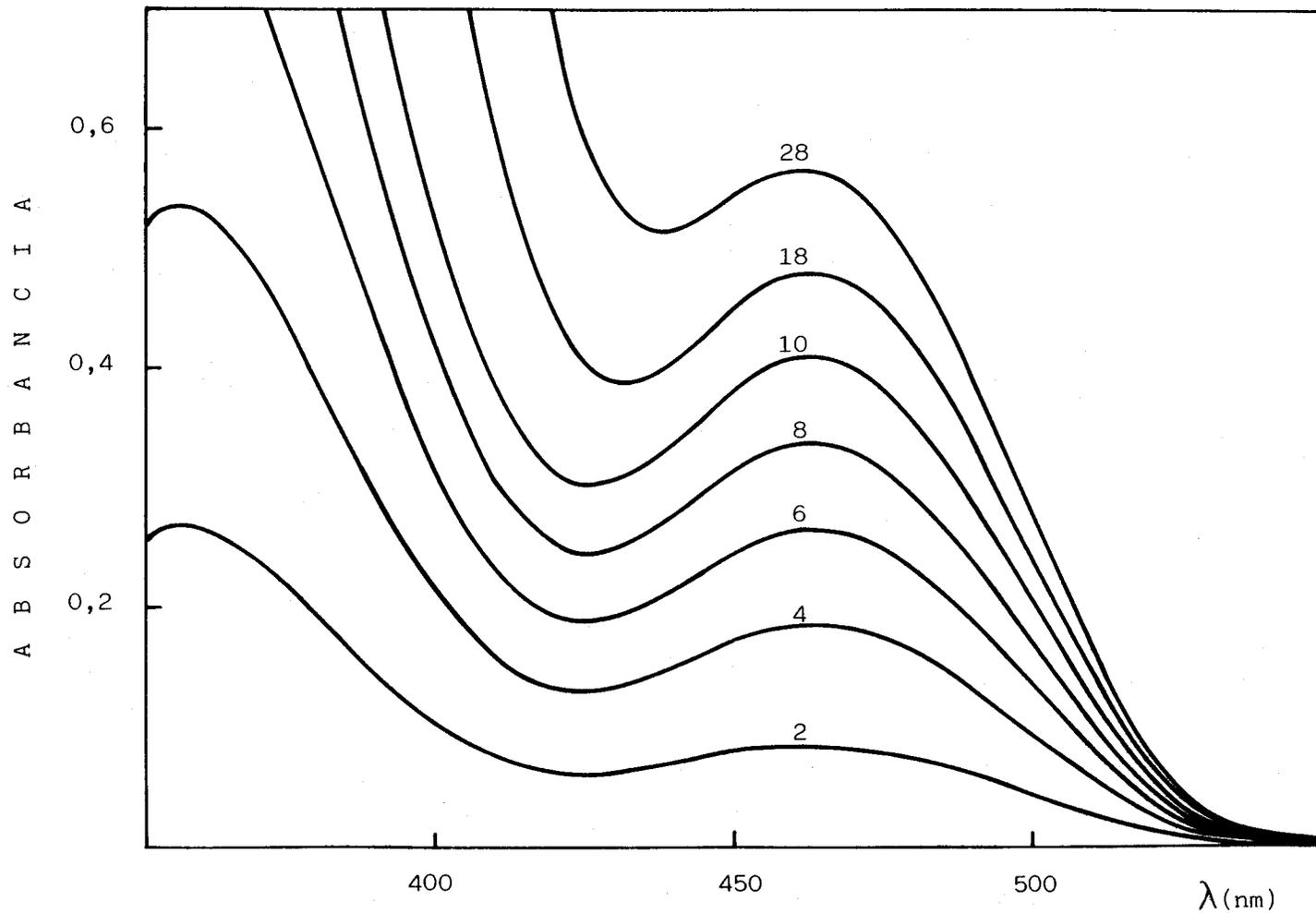


FIGURA 133 * Razón molar del sistema Zn(II)-FGMPH ($|FGMPH|/|Zn|$). $|Zn| = 0,5$ ppm; pH = 8,2 (Tampón TRIS); 30% etanol. Blanco: disolvente.

IV.2.- DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE ZINC CON LA FGMPH

Las condiciones de formación del complejo Zn(II)-FGMPH, han sido investigadas en orden a establecer los parámetros óptimos para la determinación de zinc.

IV.2.1.- Elección del disolvente.- Se han registrado los espectros del complejo Zn(II)-FGMPH en diversos disolventes miscibles con agua, tales como etanol, DMF, acetona, dioxano y dimetilsulfóxido, (Figura 134). Las muestras contenían 2 ml de tampón TRIS de pH 8,30 (añadido antes que la FGMPH), y un 50% de disolvente orgánico en volumen en la disolución final, y mostraron una excelente estabilidad (Tabla 88). La mayor absorbancia se consigue con acetona; el coeficiente de absorptividad molar, en estas condiciones, alcanza un valor próximo a $83.000 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; por lo que se ha realizado un estudio acerca de la influencia de la cantidad de acetona sobre la absorbancia del complejo coloreado de zinc. Los espectros de absorción obtenidos con distintas cantidades de acetona, indican que la máxima absorbancia se obtiene cuando el contenido de ésta en la disolución final es de un 30-40% en volumen. Se ha procedido, por tanto, al estudio de la influencia del pH sobre una serie de muestras que contienen 0,5 ppm de zinc, FGMPH, etanol (10%) y acetona (30%). Los resultados obtenidos se representan gráficamente en la Figura 135, a partir de la cual se observa que el sistema no goza de una buena reproducibilidad. En particular, la dispersión obtenida en la medida de los blancos es sustancial. Debido a esto, así como a la elevada volatilidad de la acetona, que obliga a tomar precauciones especiales con las muestras, se decidió no utilizarla como medio de reacción, siendo elegido en su lugar el etanol que era el disolvente que daba mayor absorbancia después de la acetona. En consecuencia, se ha realizado un estudio acerca de la influencia del porcentaje de etanol sobre la absorbancia de las muestras (Figura 136 y Tabla 89).

Se obtiene la máxima sensibilidad cuando el porcentaje de etanol es de un 30%, pero las muestras se enturbian, por lo que se elige un 40% de etanol en volumen en la disolución final en el procedimiento recomendado. Se ha comprobado que este contenido de etanol no ejerce influencia sobre el rango de pH en el cual la absorbancia es constante.

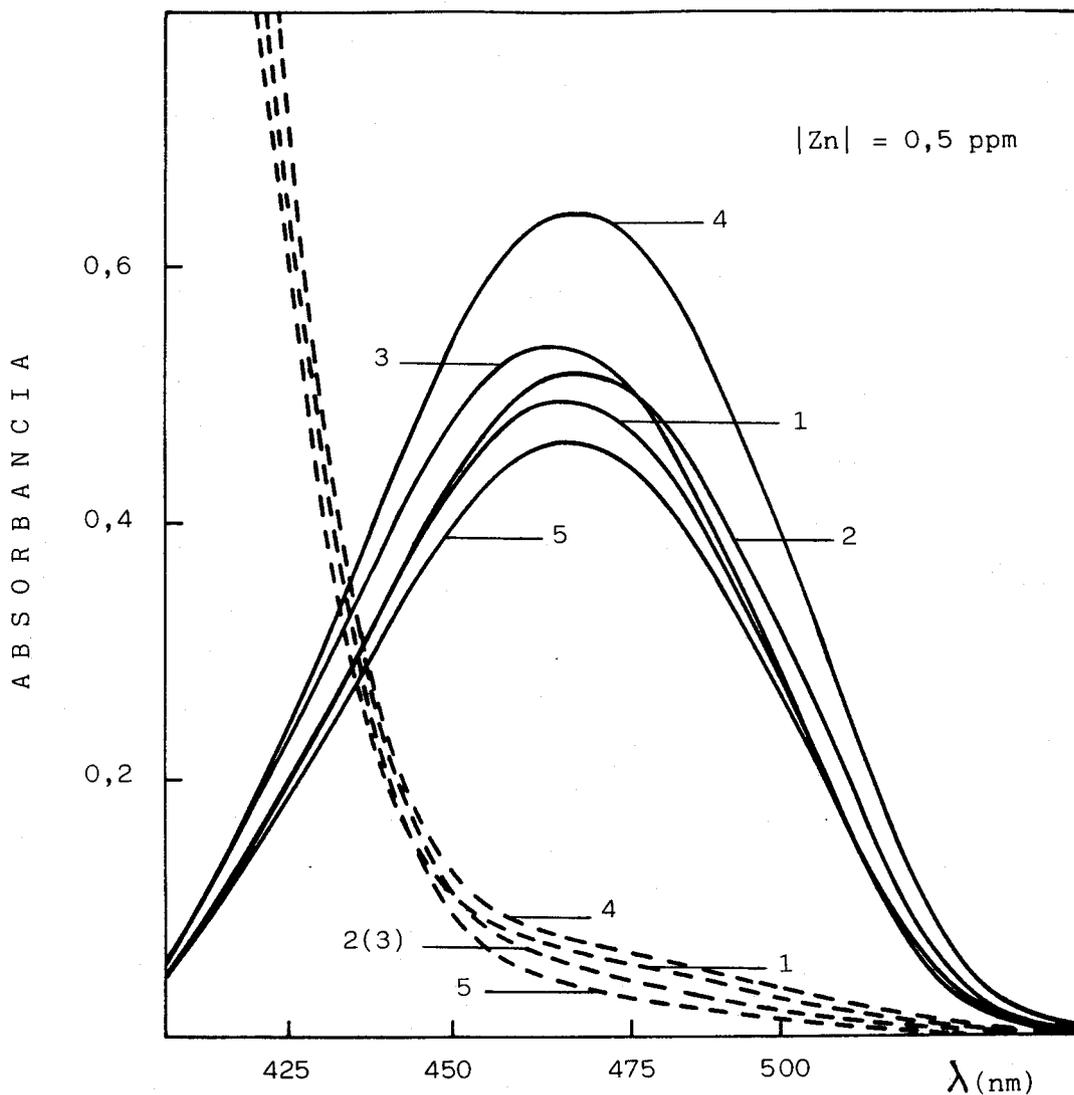


FIGURA 134 * Espectros de absorción del sistema Zn(II)-FGMPH en distintos disolventes. 1.- Dimetilsulfóxido; 2.- DMF; 3.- Etanol; 4.- Acetona; 5.- Dioxano. A trazos los blancos correspondientes.

TABLA 88 * CARACTERISTICAS FOTOMETRICAS Y ESTABILIDAD DEL SISTEMA Zn(II)-FGMPH
 ENVARIOS DISOLVENTES ORGANICOS ($C_{Zn} = 0,5 \text{ ppm}$)*

Disolvente	% v/v	pH	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	ϵ ($l \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	% variación de absorbancia		
					1,5 horas	1 día	9 días
Dimetilsulfóxido	50	8,34	466	64.500	3,2	0,8	-5,3
Dimetilformamida	50	8,69	468	68.900	0,2	-6,7	1,1
Etanol	60	8,30	464	70.200	1,3	0,6	1,3
Acetona	50	8,99	469	83.700	1,4	1,9	3,4
Dioxano	50	8,29	468	60.700	0,6	-5,6	-11,2

(*) Las muestras contienen 2 ml de tampón TRIS de pH 8,30.

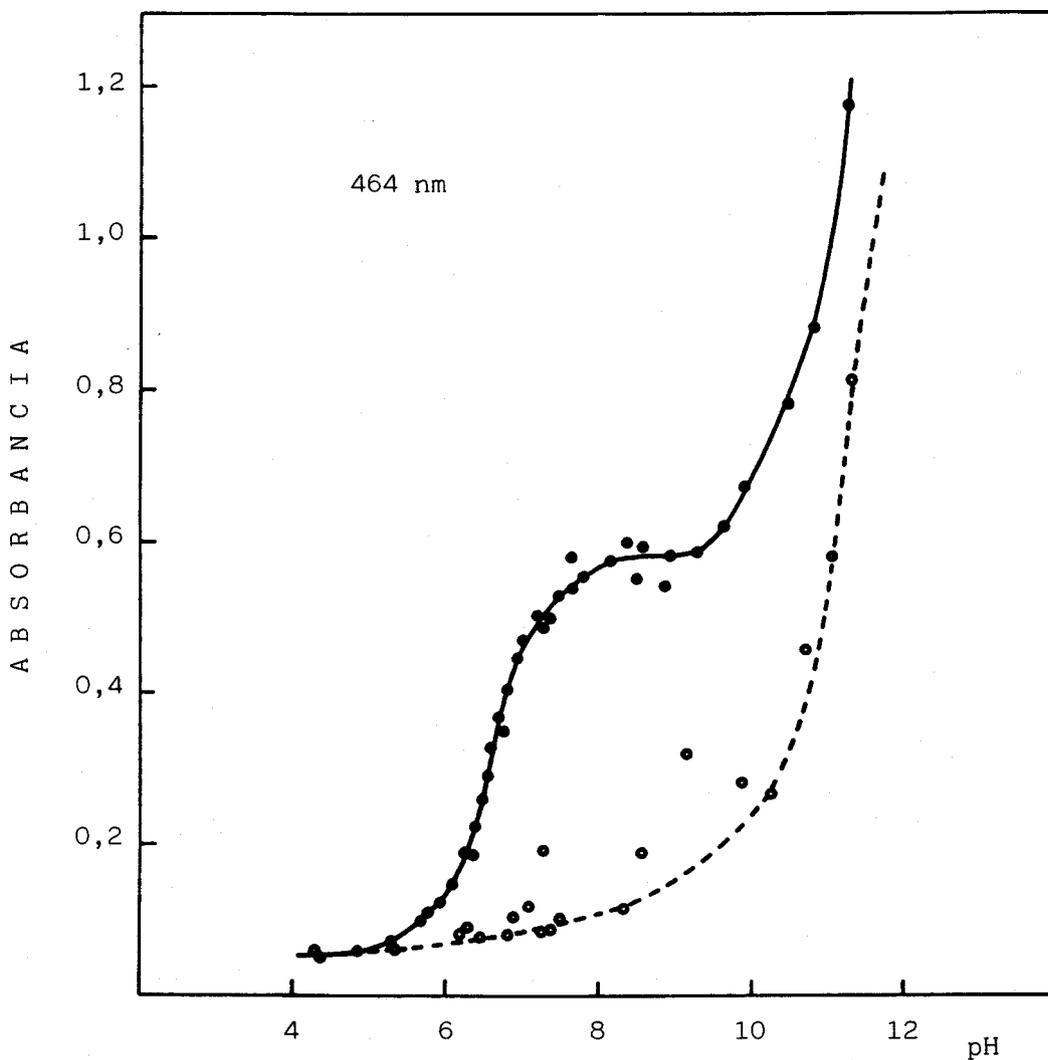


FIGURA 135 * Curva absorbancia-pH del sistema Zn(II)-FGMPH.
Medio: 10% etanol y 30% acetona. $[Zn]=0,4$ ppm.
A trazos el blanco de reactivo.

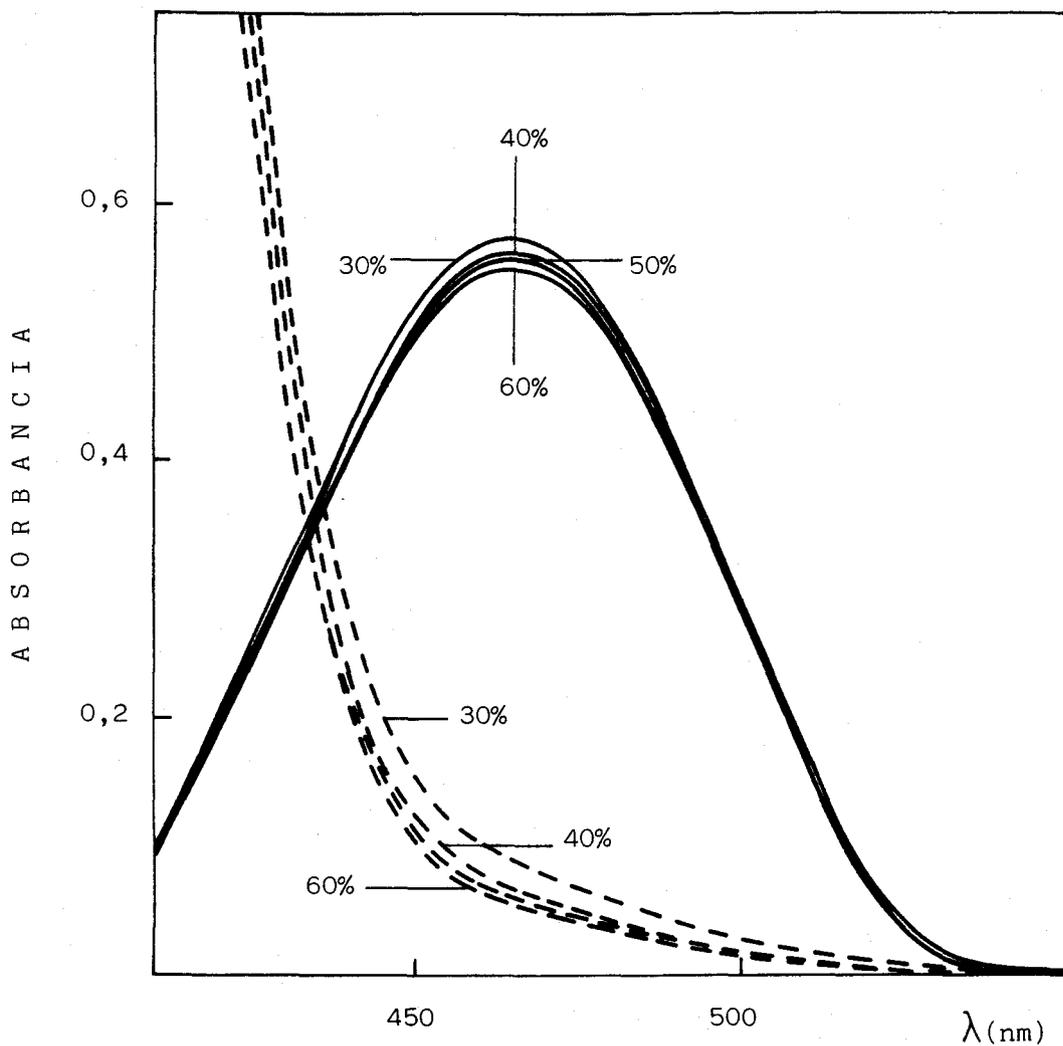


FIGURA 136 * Espectros de absorción del sistema Zn(II)-FGMPH en diferentes porcentajes de etanol. $|\text{Zn}| = 0,5 \text{ ppm}$. A trazos los blancos correspondientes.

TABLA 89 * CARACTERISTICAS FOTOMETRICAS Y ESTABILIDAD DEL SISTEMA
Zn(II)-FGMPH EN DISTINTOS PORCENTAJES DE ETANOL*

% Etanol	pH	$\lambda_{\text{máx}}$	ϵ ($l \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	% variación de absorbancia	
				2 horas	1 día
30	8,23	464	75.600	-	-
40	8,28	464	73.600	1,8	1,4
50	8,31	464	72.900	-0,2	-0,5
60	8,35	465	71.900	0,9	0,4

(*) Las muestras contienen 2 ml de tampón TRIS de pH 8,30

$|\text{Zn}| = 0,5 \text{ ppm}$

IV.2.2.- Influencia de la cantidad de tampón.- Se ha comprobado que la adición de tampón* TRIS al medio de reacción en cantidad inferior a 2 ml, no ejerce -desde un punto de vista práctico-, efecto alguno sobre las medidas de las absorbancias, por lo que se elige 1 ml de tampón en el procedimiento recomendado. Puesto que el tampón es cinco veces más concentrado que lo usual, esta cantidad es suficiente para mantener, en la mayor parte de los casos, el pH de la disolución en torno a $8,2 \pm 0,2$, en el estudio de las interferencias. Ahora bien, cualquier especie que altere dicho rango de pH debe de llevarse a pH próximo a 8,2 mediante la adición, ya de hidróxido de sodio o de ácido perclórico, antes de la adición de tampón.

IV.2.3.- Influencia de la fuerza iónica.- Se ha comprobado la influencia que distintas cantidades de KCl y KNO_3 ejercen sobre el sistema Zn(II)-FGMPH. El KNO_3 (0-5 ml de disolución 1 M/25 ml), no ejerce influencia -dentro de los límites del error experimental-, sobre las medidas de absorbancia (Tabla 90), pero en cambio la absorbancia de las muestras disminuye con la adición de KCl al medio de reacción (Tabla 91). Sin embargo, para cantidades de KCl superiores a 1 ml de disolución 1 M/25 ml, la absorbancia de las muestras puede considerarse constante.

(*) Composición del tampón: 50 ml de TRIS 0,5 M + 6,2 ml de HCl 1 M por cada 100 ml.

TABLA 90 * INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE KNO_3 SOBRE LA ABSORBANCIA DEL SISTEMA Zn(II) -FGMPH*. ESTABILIDAD.

$V_{\text{KNO}_3} / \lambda(\text{nm})$	absorbancia		% variación de A a las 2 horas	
	464	470	464	470
0	0,543	0,539	1,3	0,9
1	0,509	0,503	1,4	1,4
3	0,548	0,542	1,5	1,5
5	0,535	0,528	1,9	1,7

TABLA 91 * INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE KCl SOBRE LA ABSORBANCIA DEL SISTEMA Zn(II) -FGMPH*. ESTABILIDAD

$V_{\text{KCl}} / \lambda(\text{nm})$	absorbancia		% variación de A a las 3 horas	
	464	470	464	470
0	0,574	0,570	1,9	1,4
1	0,550	0,544	0,9	0,7
2	0,538	0,532	0,7	0,7
3	0,533	0,527	0,4	0,4
4	0,526	0,521	0,4	0,4
5	0,529	0,525	0,9	0,4

(*) 40% etanol; pH $\sim 8,1$

IV.2.4.- Orden de adición de los reactivos.- Se han ensayado distintos órdenes de adición, no encontrándose diferencias significativas sobre el desarrollo de la coloración amarillo-anaranjada.

IV.2.5.- Composición del complejo.- Los intentos realizados para determinar la estequiometría del complejo por el método de Job (226), el método de la razón molar (225) y el método de Harvey y Manning (259), han resultado infructuosos debido al gran exceso de FGMPH requerido para que la reacción se complete.

El examen de la molécula de FGMPH muestra que el reactivo, cuando quelata, exhibe una carga negativa debido a la pérdida del protón imínico, mientras que el ión Zn(II) posee dos cargas positivas. La neutralidad del complejo requiere que la fórmula sea ZnR_2 , siendo HR la forma neutra del ligando.

En orden a confirmar esta suposición se ha aplicado el tratamiento de Asmus (260) a los datos experimentales obtenidos en el método de la razón molar. Los valores del volumen de reactivo añadido (V), absorbancia a 470 nm (A), así como las relaciones $1/A$, $1/V$, $1/V^2$ y $1/V^3$, se indican a continuación:

V	A	1/A	1/V	1/V ²	1/V ³
3,5	0,329	3,04	0,286	0,082	0,023
4,0	0,363	2,75	0,250	0,063	0,016
4,5	0,396	2,53	0,222	0,049	0,011
5,0	0,416	2,40	0,200	0,040	0,008
5,5	0,452	2,21	0,182	0,033	0,006
6,0	0,446	2,24	0,167	0,028	0,005
6,5	0,462	2,16	0,154	0,024	0,004
7,5	0,492	2,03	0,133	0,018	0,002

Sin embargo, los resultados no conducen a ninguna conclusión puesto que, si bien cuando se supone una estequiometría 1:3 no se obtienen líneas rectas, cuando se postula una razón estequiométrica 1:2 ó 1:1, se obtienen en ambos casos rectas de semejante correlación (0,9956 y 0,9884, respectivamente).

La aplicación del método de Rosales, González y Ariza (261) a los datos de la Tabla 87, da lugar a los siguientes valores para las constantes de estabilidad global: $\lg \beta_1 = 3,32$ y $\lg \beta_2 = 8,91$, definidas como

$$\beta_1 = \frac{|\text{ZnR}|}{|\text{Zn}||\text{HR}|} \qquad \beta_2 = \frac{|\text{ZnR}_2|}{|\text{Zn}||\text{HR}|^2}$$

IV.2.6.- Procedimiento recomendado.- A la vista de los resultados experimentales obtenidos, proponemos el siguiente procedimiento para la determinación espectrofotométrica de zinc:

La disolución que contiene el ión Zn(II) se pipetea a un matraz aforado de 25 ml, se añaden 7,5 ml de etanol, 1 ml de tampón TRIS de pH 8,47, 2,5 ml de disolución de FGMPH al 0,1% en etanol p/v, y se enrasa finalmente con agua destilada. Se mezcla bien, se deja reposar la disolución unos 15 minutos, midiéndose entonces la absorbancia a 470 nm frente a un blanco de reactivo. El pH final debe estar comprendido entre 8,1-8,5.

IV.2.7.- Sensibilidad, precisión y exactitud.- La especie analítica de interés cumple la ley de Beer en el rango de concentraciones de 0,05 á 6 ppm de zinc a 464, 470, 480 y 490 nm (Figura 137(a)). El tratamiento por el método de los mínimos cuadrados de un conjunto de datos típicos de calibración, conduce a las ecuaciones de las curvas de calibrado incluidas en la Tabla 92. Los coeficientes de correlación así como las desviaciones estándar de la ordenada en el origen (S_A), pendiente (S_B), regresión ($S_{y/x}$) y covarianza entre la ordenada en el origen y la pendiente, $\text{Cov}(A,B)$, de las diversas líneas rectas obtenidas, también se encuentran recopiladas en dicha Tabla.

A partir de las pendientes de las rectas de calibrado, se obtie-

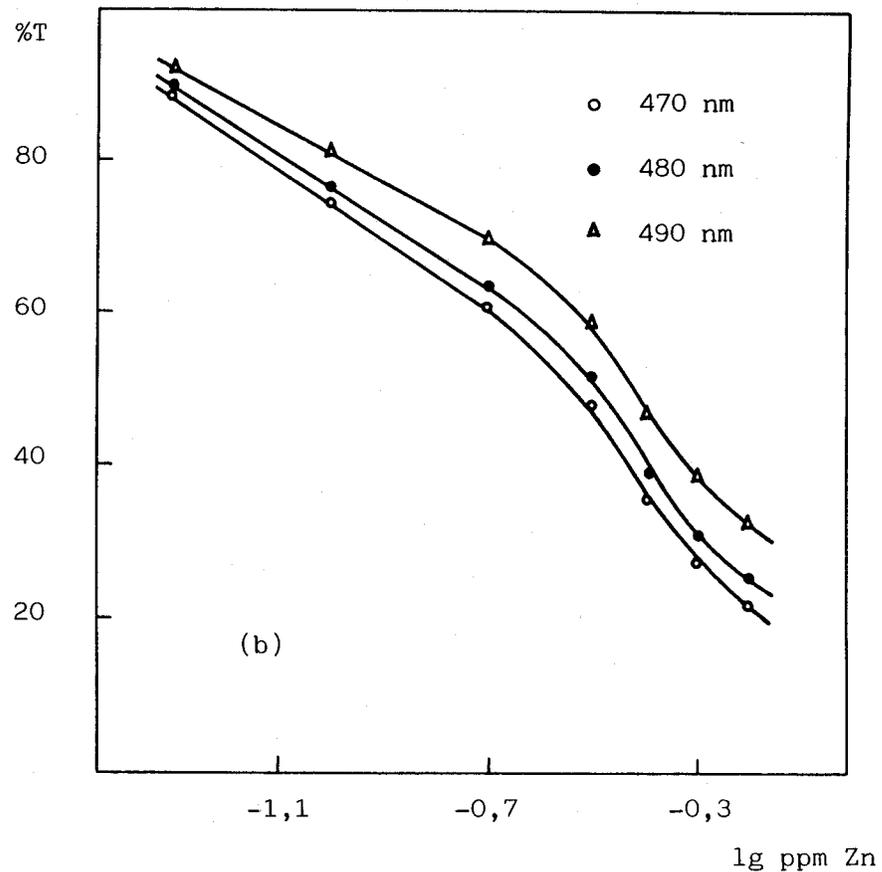
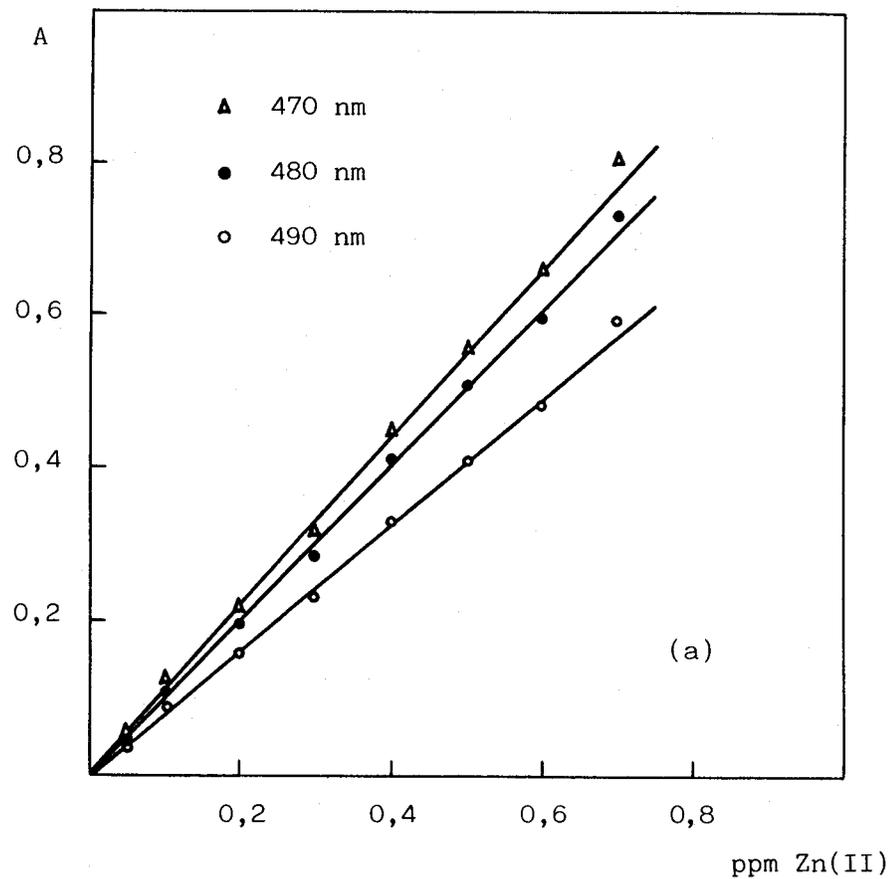


FIGURA 137 * Ley de Beer y gráfico de Ringbom del complejo Zn(II)-FGMPH. pH = 8,20; 40% etanol.

TABLA 92 * RECTAS DE REGRESION CORRESPONDIENTES A LA LEY DE BEER DEL COMPLEJO Zn(II)-FGMPH
A DISTINTAS LONGITUDES DE ONDA Y A pH ~8,2

λ (nm)	Ecuación de la Recta	Coefficiente Correlación	n	S _A	S _B	S _{y/x}	Cov(A,B)
464	Y = -0,0021 + 1,1142 X	0,9992	7	0,0073	0,0202	0,0101	-1,2484 E-04
470	Y = 0,0029 + 1,0939 X	0,9987	7	0,0089	0,0247	0,0124	-1,8673 E-04
480	Y = 0,0029 + 0,9942 X	0,9986	7	0,0085	0,0234	0,0118	-1,6870 E-04
490	Y = -0,0011 + 0,8135 X	0,9988	7	0,0064	0,0177	0,0089	-9,6513 E-05

TABLA 93 * ESTUDIO DE LA REPRODUCIBILIDAD DEL SISTEMA Zn(II)-FGMPH ($C_{Zn} = 0,3$ ppm)

λ (nm)	464	470	480	490
Rango	0,397-0,408	0,381-0,393	0,336-0,341	0,268-0,277
\bar{X}	0,402	0,386	0,341	0,272
(A) S	$4,57 \times 10^{-3}$	$4,54 \times 10^{-3}$	$3,95 \times 10^{-3}$	$3,34 \times 10^{-3}$
S_m	$1,73 \times 10^{-3}$	$1,72 \times 10^{-3}$	$1,49 \times 10^{-3}$	$1,26 \times 10^{-3}$
%E	1,05	1,09	1,07	1,13
Rango	0,395-0,421	0,380-0,406	0,334-0,360	0,269-0,291
\bar{X}	0,405	0,390	0,344	0,276
(B) S	$8,13 \times 10^{-3}$	$7,94 \times 10^{-3}$	$7,31 \times 10^{-3}$	$6,62 \times 10^{-3}$
S_m	$1,54 \times 10^{-3}$	$1,50 \times 10^{-3}$	$1,38 \times 10^{-3}$	$1,25 \times 10^{-3}$
%E	0,79	0,79	0,82	0,93

(A) 7 muestras medidas en el mismo día.

(B) 28 muestras medidas en distintos días.

nen los valores de $7,30 \times 10^4$, $7,13 \times 10^4$, $6,48 \times 10^4$ y $5,32 \times 10^4$ $\text{l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ para los coeficientes de absorptividad molar medidos a 464, 470, 480 y 490 nm, respectivamente. Estos valores son superiores a los de otros complejos de zinc empleados en análisis espectrofotométrico (262-263).

La sensibilidad según Sandell (263) es $0,0009 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ á 470 nm. El rango óptimo de trabajo, evaluado a partir del gráfico de Ringbom (Figura 137(b)), se encuentra situado entre 0,05 y 0,2 ppm.

La reproducibilidad del método se llevó a cabo midiendo la absorbancia de 7 muestras (que contenían 0,3 ppm de zinc), preparadas en el mismo día, de la misma forma, con las mismas disoluciones y pipetas. Las cantidades de reactivo empleadas fueron las descritas en el procedimiento recomendado. Los resultados obtenidos, junto con el tratamiento estadístico, se recogen en la Tabla 93(A).

La precisión, expresada como desviación estándar relativa, es igual a 1,14; 1,17; 1,16 y 1,23% a 464, 470, 480 y 490 nm, respectivamente.

Los resultados obtenidos en el estudio de la variabilidad del método, indican que el procedimiento recomendado origina absorbancias ligeramente diferentes de unos días a otros, trabajando con distintas disoluciones, pipetas y remesa de reactivo (Tabla 93(B)). No obstante, la contribución a la precisión de los resultados fue inapreciable. Las absorbancias de 28 muestras medidas en diferentes días se encontraban dentro del rango 0,380-0,406, a 470 nm, con media igual a 0,390 y desviación estándar 0,008.

IV.2.8.- Estudio de las interferencias.- Los resultados de distintos ensayos de interferencia de iones metálicos, realizados con 0,3 ppm de zinc, se encuentran en la Tabla 94. Se considera una sustancia como interferente cuando el valor de absorbancia en su presencia varía un $\pm 5\%$ del valor esperado para el zinc sólo.

De los iones ensayados, Cu(II), Ni(II) y Co(II) dan complejos coloreados con FGMPH e interfieren por tanto significativamente por exceso si se encuentran presentes en cantidades superiores a la de zinc: 0,1 ppm de Co(II), Cu(II) y Ni(II), originan errores del 10, 20 y 30%, respectivamente; 0,03 ppm de Co(II), Cu(II) o Ni(II) originan en cambio errores de 3,3, 3,3 y 13,3%, respectivamente. Otros

iones tales como Cr(III), Fe(III) (> 1 ppm) y Al(III) interfieren por defecto presumiblemente porque precipitan en forma coloidal y absorben zinc. Pueden tolerarse niveles mayores si la cantidad de FGMPH se aumenta.

La interferencia que ejercen diferentes aniones sobre el desarrollo de la reacción Zn(II)-FGMPH, se encuentra recogida en la Tabla 95. Resulta interesante destacar que no interfieren cantidades elevadas de F^- , $S_2O_3^{2-}$, I^- , tartrato o tiosemicarbácida, por lo que la selectividad del método puede aumentarse considerablemente si se emplean estas sustancias como agentes enmascarantes.

Así, el empleo de tiosulfato (Tabla 96), permite la determinación de zinc en presencia de una cantidad cien veces mayor de Hg(II) o cuarenta veces mayor de Bi(III), Au(III) y Ag(I), pero de cantidades tan sólo dos veces superiores de Pb(II) y de una cantidad equivalente de Cu(II).

La presencia de tiosemicarbácida (Tabla 97), permite la determinación de zinc aun cuando exista en la disolución una cantidad tres veces superior de Mn(II), Co(II) o Cu(II). El Fe(III) se reduce a Fe(II) en presencia de tiosemicarbácida e interfiere fuertemente por exceso, tal como cabe esperar de acuerdo con los estudios realizados de reaccionabilidad.

La eliminación de cantidades elevadas de hierro, puede conseguirse mediante la adición de tartrato al medio de reacción (Tabla 98). Resulta así posible la determinación de zinc en presencia de una cantidad de hierro cuarenta veces superior. El empleo de tartrato elimina, asimismo, la interferencia producida por una cantidad siete veces superior de Pb(II) o de Mn(II).

El uso de ioduro (Tabla 99), evita la interferencia de una cantidad de Cd(II) veinte veces superior, mientras que en presencia de tiourea (Tabla 99), resulta posible la determinación de Zn(II) aunque en la disolución exista una cantidad dos veces superior de Cu(II) o cuatro veces superior de Fe(III).

La presencia de fluoruro (Tabla 100), evita la interferencia de cantidades elevadas de Al(III), pero resulta en cambio ineficaz en la eliminación de pequeñas cantidades de Fe(III).

TABLA 94 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE ZINC
($C_{Zn} = 0,3$ ppm).

Ión Extraño	ppm	Zn encontrado (ppm)				(470 nm) Error relativo, %
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
Cd(II)	0,1	0,33	0,32	0,33	0,32	+ 6,7
	0,03	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
	0,01	0,30	0,30	0,30	0,30	0
Hg(II)	1	0,39	0,38	0,37	0,37	+ 26,7
	0,1	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
Pb(II)	3	0,50	0,53	0,58	0,66	+ 76,7
	0,6	0,34	0,34	0,35	0,36	+ 13,3
	0,3	0,32	0,32	0,32	0,32	+ 6,7
Bi(III)	1	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
As(III)	600	0,36	0,36	0,36	0,36	+ 20
	300	0,33	0,33	0,33	0,33	+ 10
	30	0,30	0,30	0,30	0,30	0
NH ₄ (I)	10	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	15	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	300	0,29	0,29	0,29	0,29	- 3,3
	600	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	1200	0,30	0,30	0,30	0,30	0
Mo(VI)	5	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	5	0,30	0,30	0,30	0,30	0
W(VI)	120	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	120	0,30	0,30	0,30	0,30	0

TABLA 94 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE ZINC
($C_{Zn} = 0,3$ ppm). - CONTINUACION -

Ión Extraño	ppm	Zn encontrado (ppm)				(470 nm) Error relativo, %
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
V(V)	1	0,29	0,29	0,29	0,29	- 3,3
	0,6	0,30	0,30	0,30	0,30	0
Al(III)	12	0,17	0,17	0,17	0,17	- 43,3
	1	0,27	0,27	0,27	0,27	- 10
	0,6	0,27	0,27	0,27	0,27	- 10
Ni(II)	0,1	0,39	0,39	0,40	0,41	+ 30
	0,03	0,33	0,34	0,34	0,34	+ 13,3
Cu(II)	0,1	0,36	0,36	0,37	0,37	+ 20
	0,03	0,31	0,31	0,31	0,32	+ 3,3
Ag(I)	1	0,31	0,31	0,31	0,30	+ 3,3
Au(III)	1	0,31	0,30	0,30	0,30	0
Mn(II)	1	0,35	0,35	0,36	0,35	+ 16,7
	0,6	0,31	0,32	0,32	0,32	+ 6,7
Fe(III)	3	0,25	0,25	0,25	0,25	- 16,7
	2	0,27	0,27	0,27	0,27	- 10
	1,5	0,27	0,27	0,27	0,27	- 10
	1	0,30	0,30	0,30	0,30	0
Co(II)	0,1	0,32	0,33	0,33	0,34	+ 10
	0,03	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
Mg(II)	600	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
Ca(II)	600	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3

TABLA 95 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE ZINC
($C_{Zn} = 0,3$ ppm)

Ión Extraño	ppm	Zn encontrado (ppm)				(470 nm) Error relativo, %
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
F^-	30	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
	60	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	900	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	1800	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
	1800	0,30	0,30	0,30	0,30	0
$SO_4^{=}$	300	0,32	0,31	0,32	0,31	+ 3,3
$S_2O_3^{=}$	300	0,30	0,29	0,29	0,30	- 3,3
	3000	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
	6000	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	6000	0,30	0,30	0,30	0,30	0
$CO_3^{=}$	100	0,26	0,25	0,25	0,27	- 16,7
	60	0,32	0,32	0,32	0,32	+ 6,7
	30	0,32	0,32	0,32	0,32	+ 6,7
PO_4^{3-}	30	0,30	0,29	0,29	0,29	- 3,3
	60	0,30	0,30	0,30	0,30	0
$CrO_4^{=}$	1	0,30	0,30	0,30	0,30	0
Cl^-	300	0,32	0,32	0,32	0,32	+ 6,7
I^-	3000	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	6000	0,32	0,32	0,32	0,32	+ 6,7
	230.000*	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
	380.000**	0,29	0,29	0,30	0,31	- 3,3

(*) 10 ml KI 30 %

(**) 10 ml KI 50 %

TABLA 95 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE ZINC
($C_{Zn} = 0,3$ ppm) - CONTINUACION -

Ión	ppm	Zn encontrado ppm				(470 nm) Error relativo, %
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
IO_4^-	3000	0,00	0,00	0,00	0,00	- 100
	1500	0,10	0,10	0,10	0,10	- 66,7
	600	0,16	0,16	0,16	0,16	- 46,7
	150	0,19	0,20	0,20	0,20	- 33,3
	90	0,21	0,21	0,21	0,21	- 30
	90*	0,23	0,23	0,23	0,23	- 23,3
	60	0,23	0,24	0,24	0,23	- 20
	60*	0,25	0,25	0,25	0,25	- 16,7
	30	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
CH_3COO^-	30000	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	30000	0,30	0,30	0,30	0,30	0
$C_2O_4^{=}$	12	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	30	0,24	0,24	0,24	0,25	- 20
	60	0,20	0,20	0,20	0,20	- 33,3
	120	0,14	0,14	0,14	0,14	- 53,3
NO_2^-	60	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
	120	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
Tartrato	300	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	600	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	3000	0,30	0,30	0,30	0,30	0
Citrato	300	0,03	0,03	0,03	0,03	- 90
	30	0,12	0,12	0,12	0,12	- 60
TSC	300	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	2400	0,30	0,30	0,30	0,30	0
DMF	(**)	0,30	0,30	0,31	0,31	0

(*) Muestra medida a los 70 minutos después de preparada.

(**) 2 ml de DMF.

TABLA 96 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN PRESENCIA DE TIOSULFATO*
 COMO AGENTE ENMASCARANTE.

Ión Extraño	ppm	Zn encontrado (ppm)				(470 nm) Error relativo, %
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
Hg(II)	50	0,34	0,34	0,34	0,35	+ 13,3
	30	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
Pb(II)	12	0,52	0,55	0,62	0,70	+ 83,3
	6	0,40	0,41	0,44	0,48	+ 36,7
	3	0,35	0,36	0,37	0,39	+ 20
	0,6	0,30	0,30	0,31	0,31	0
Bi(III)	12	0,29	0,29	0,29	0,29	- 3,3
Ni(II)	0,03	0,31	0,31	0,32	0,32	+ 3,3
Cu(II)	0,3	0,30	0,30	0,30	0,30	0
Ag(I)	12	0,30	0,30	0,30	0,30	0
Au(III)	12	0,29	0,29	0,29	0,29	- 3,3

(*) 6.000 ppm

TABLA 97 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN PRESENCIA DE TIOSEMICAR-
BACIDA* COMO AGENTE ENMASCARANTE

Ión	ppm	Zn encontrado ppm				(470 nm) Error relativo, %
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
Mn(II)	0,9	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
	0,2	0,30	0,30	0,31	0,31	0
Fe(III)	0,9	0,45	0,44	0,43	0,44	+ 46,7
	0,6	0,44	0,43	0,42	0,43	+ 43,3
	0,3	0,39	0,39	0,38	0,39	+ 30
Co(II)	0,6	0,30	0,30	0,31	0,30	0
	0,9	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
	0,9	0,30	0,30	0,31	0,31	0
	1,2	0,30	0,30	0,31	0,31	0
Ni(II)	0,3	0,56	0,57	0,60	0,62	+ 90
	0,1	0,38	0,38	0,39	0,40	+ 26,7
Cu(II)	0,9	0,32	0,32	0,33	0,34	+ 6,7
	0,9	0,31	0,31	0,31	0,32	+ 3,3
	0,6	0,30	0,30	0,31	0,31	0
	0,3	0,30	0,30	0,30	0,30	0

(*) 3.000 ppm

TABLA 98 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN PRESENCIA DE TARTRATO
(3000 ppm) COMO AGENTE ENMASCARANTE

Ión Extraño	ppm	Zn encontrado ppm				(470 nm) Error relativo, %
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
Pb(II)	3	0,45	0,47	0,51	0,57	+ 56,7
	2	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	1,2	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
Mn(II)	0,9	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	1,5	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	1,5	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	1,5 ³	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
	2,1	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 6,7
	2,1	0,32	0,32	0,32	0,33	+ 3,3
	2,1 ³	0,33	0,33	0,33	0,34	+ 10
	3	0,42	0,42	0,43	0,43	+ 40
Fe(III)	30	0,40	0,38	0,40	0,33	+ 26,7
	30 ⁴	0,44	0,42	0,38	0,38	+ 40
	12	0,30	0,29	0,28	0,28	- 3,3
	3	0,28	0,27	0,27	0,27	- 10
	3 ¹	0,25	0,25	0,25	0,25	- 16,7
	3	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	3 ²	0,34	0,34	0,34	0,34	+ 13,3
	0,3	0,29	0,29	0,29	0,29	- 3,3
	0,3 ²	0,29	0,30	0,30	0,30	0

- (1) Muestra recién preparada.
(2) Después de 1 h 30 min.
(3) Después de 1 h.
(4) Calentando 2 min a ~40° C.

TABLA 99 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN PRESENCIA DE (a) TIOUREA*
(b) IODURO** COMO ENMASCARANTE.

Ión Extraño	ppm	Zn encontrado (ppm)				(470 nm) Error relativo, %
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
Cu(II)	1,5	0,34	0,34	0,35	0,35	+ 13,3
	1	0,32	0,32	0,32	0,33	+ 6,7 (a)
	0,6	0,30	0,30	0,31	0,31	0
Fe (III)	3	0,18	0,18	0,18	0,18	- 40
	2	0,24	0,24	0,24	0,24	- 20
	1,5	0,28	0,28	0,28	0,28	- 6,7 (a)
	1	0,30	0,30	0,30	0,30	0
Cd(II)	15	0,34	0,34	0,34	0,35	+ 13,3
	6	0,31	0,31	0,31	0,32	+ 3,3 (b)
	3	0,30	0,30	0,30	0,31	0

(*) 3.000 ppm

(**) 10 ml de KI al 50%

TABLA 100 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN PRESENCIA DE (a) FLUORURO*,
(b) ACETATO**, (c) PERYODATO*** COMO ENMASCARANTE.

Ión Extraño	ppm	Zn encontrado (ppm)				(470 nm) Error relativo, %	
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm		
Al(III)	90	0,34	0,34	0,34	0,34	+ 13,3	(a)
	30	0,30	0,30	0,30	0,30	0	
Fe(III)	0,3	0,28	0,28	0,28	0,28	- 6,7	(a)
	0,3 ⁽²⁾	0,30	0,30	0,30	0,30	0	
Pb(II)	12	0,69	0,74	0,85	0,98	> 100	
	3	0,40	0,41	0,44	0,48	+ 36,7	(b)
	0,9	0,33	0,33	0,34	0,35	+ 10	
Fe(III)	3 ⁽¹⁾	0,04	0,04	0,04	0,04	- 86,7	
	3	0,04	0,04	0,04	0,05	- 86,7	(c)
	3 ⁽²⁾	0,05	0,05	0,05	0,05	- 83,3	

(*) 1.800 ppm

(1) Muestra recién preparada

(**) 30.000 ppm

(2) Después de 1 hora

(***) 30 ppm

TABLA 101 * DETERMINACION DE ZINC EN MEZCLAS SINTETICAS DE IONES EXTRAÑOS ($C_{Zn} = 0,3$ ppm)

Mezclas de iones extraños, ppm	Agente enmascarante, ppm	Zn encontrado (ppm)				(470 nm) Error relativo, %
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
0,3 Fe(III)+0,3 Mn(II)+0,3 Cu(II)	(a) TARTRATO (3000)+TIOUREA (3000)	0,32	0,32	0,32	0,32	+ 6,7
	(b)	0,34	0,34	0,34	0,34	+13,3
3 Fe(III)+0,6 Mn(II)+0,3 Cu(II)	(a) TARTRATO (3000)+TIOUREA (3000)	0,30	0,30	0,30	0,30	0
	(b)	0,33	0,33	0,33	0,33	+10
0,3 Fe(III)+0,3 Mn(II)+0,03 Cu(II)	(a) TARTRATO (3000)	0,32	0,32	0,32	0,32	+ 6,7
	(b)	0,33	0,32	0,32	0,32	+ 6,7
0,3 Fe(III)+0,3 Mn(II)+0,1 Cu(II)	(a) TARTRATO (3000)+TIOUREA (3000)	0,29	0,29	0,30	0,30	- 3,3
	(b)	0,30	0,30	0,30	0,30	0
0,1 Cu(II)+0,1 Mn(II)+0,1 Co(II)	(a) TIOSEMICARBACIDA (2400)	0,30	0,30	0,30	0,31	0
	(b)	0,30	0,31	0,31	0,31	+ 3,3

(a) muestras medidas al cabo de 10 minutos después de preparadas

(b) al cabo de 30 minutos

TABLA 101 * DETERMINACION DE ZINC EN MEZCLAS SINTETICAS DE IONES EXTRAÑOS ($C_{Zn} = 0,3$ ppm) - CONTINUACION -

Mezclas de iones extraños, ppm	Agente enmascarante, ppm	Zn encontrado (ppm)				Error relativo,% (470 nm)
		464 nm	470 nm	480 nm	490 nm	
0,3 Fe(III)+0,3 Mn(II)		0,34	0,35	0,35	0,35	+16,7
0,1 Fe(III)+0,1 Mn(II)		0,34	0,35	0,35	0,35	+16,7
0,1 Fe(III)+0,1 Mn(II)+0,01 Cu(II)		0,33	0,33	0,33	0,33	+10
0,3 Fe(III)+0,3 Mn(II)	TARTRATO (3000)	0,31	0,31	0,31	0,31	+ 3,3
0,3 Fe(III)+0,3 Mn(II)	TARTRATO (3000)	0,30	0,30	0,30	0,30	0
0,3 Fe(III)+0,3 Mn(II)	TARTRATO (3000)	0,30	0,30	0,30	0,30	0
3 Fe(III)+0,6 Mn(II)	TARTRATO (3000)	0,31	0,31	0,30	0,30	+ 3,3
3 Fe(III)+0,6 Mn(II)	TARTRATO (3000)	0,30	0,29	0,29	0,29	- 3,3
3 Fe(III)+0,6 Mn(II)	TARTRATO (3000)	0,30	0,30	0,30	0,30	0

TABLA 102 * EFECTO DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE
0,3 ppm DE Zn(II). (A) ANIONES; (B) CATIONES.

Iones extraños	Límite de tolerancia (ppm)
(A) I^-	> 380.000
CH_3COO^-	> 30.000
$S_2O_3^{=}$	> 6.000
Tiourea, tartrato	> 3.000
Tiosemicarbacida	3.000
F^-	1.800
Cl^- , Br^- , $SO_4^{=}$	> 300
NO_2^-	120
$CO_3^{=}$, Fosfato	60
IO_4^-	30
Citrato	< 30
$C_2O_4^{=}$	12
$CrO_4^{=}$	1
(B) $NH_4(I)$	> 1.200
Ca(II), Mg(II)	> 600
W(VI)	120
As(III)	30
Mo(VI)	5
Bi(III), Au(III), Ag(I), Fe(II), V(V)	1
Mn(II)	0,6
Al(III)	< 0,6
Pb(II)	< 0,3
Hg(II)	0,1
Cd(II), Cu(II), Co(II)	0,03
Ni(II)	< 0,03

TABLA 103 * EFECTOS DE LOS IONES EXTRAÑOS EN LA DETERMINACION DE 0,3 ppm DE Zn(II).

IONES EXTRAÑOS	LIMITE DE TOLERANCIA (ppm)		AGENTE ENMASCARANTE
	Sin agente enmascarante	* Con agente enmascarante	
Fe(III)	1	12	
Pb(II)	< 0,3	2	TARTRATO (3000 ppm)
Mn(II)	0,6	1,5	
Cd(II)	0,03	6	IODURO (10 ml KI 50%)
Al(III)	< 0,6	30	FLUORURO (1800 ppm)
Cu(II)	0,03	0,9	
Co(II)	0,03	1,2	TSC (3000 ppm)
Mn(II)	0,6	0,9	
Ni(II)	< 0,03	0,03	
Pb(II)	< 0,3	0,6	TIOSULFATO (6000 ppm)
Hg(II)	0,1	30	
Cu(II)	0,03	0,3	
Bi(III), Au(III), Ag(I)	1	12	
Cu(II)	0,03	0,6	TIOUREA (3000 ppm)

Acetato y peryodato (Tabla 100), resultan ineficaces en la eliminación de la interferencia debida a pequeñas cantidades de Pb(II) y Fe(III), respectivamente.

Se ha realizado la determinación de zinc en presencia de mezclas de iones extraños utilizando tartrato, sólo en mezcla con tiourea, o tiosemicarbácida como agentes enmascarantes. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 101; a partir de los datos incluidos en ella se deduce que resulta factible la determinación de zinc en agua potable ya que, de una parte, en este tipo de muestras el zinc se encuentra, generalmente, en cantidades superiores al Cu(II), Fe(III) y Mn(II), y de otra, las demás sustancias presentes en el agua no ejercen interferencia alguna sobre el desarrollo del color.

Un resumen de la tolerancia de iones extraños que presenta el método, así como de la tolerancia en presencia de agentes enmascarantes, se encuentra en las Tablas 102 y 103, respectivamente.

IV.2.9.- Determinación de zinc en agua potable.- La determinación de la concentración de zinc en aguas de abastecimiento de ciudades y en aguas destinadas al uso industrial, ha tomado importancia debido a problemas de corrosión (264). En suma, concentraciones de zinc superiores a 5 ppm afectan a la potabilidad del agua (265), debido a la aparición de un sabor astringente o a opalescencia en el caso de aguas alcalinas. La toxicidad del zinc es baja, por lo que el Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos (USPHS) (266), y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (267), establecen una cantidad de 5 ppm como límite superior, a partir del cual el agua debe considerarse no potable. Nuestra reglamentación higiénica (268-269), era más exigente, fijando la concentración máxima de zinc en 1,5 ppm. En la actualidad se admite como nivel tolerable máximo el valor de 5 ppm (269).

Debido a la sencillez del procedimiento directo de determinación de Zn(II) con FGMPH, y a la facilidad de preparación de la curva de calibrado de cara al análisis de rutina, se ha investigado la aplicabilidad del método a la determinación del contenido de zinc en diversas aguas de suministro doméstico. En orden a comparar los resultados obtenidos, se utilizaron otros dos métodos: el método espectrofotomé-

trico del Zincón (270) y la técnica de espectrofotometría de absorción atómica*.

A las aguas 1 y 2, se aplicó el método propuesto y el del Zincón. Se demuestra que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios obtenidos por cada procedimiento (test t de Student (258)), ni entre la precisión (test F del cociente de varianzas (258)), como puede observarse en la Tabla 104.

El contenido en zinc de las aguas 3, 4, 5 y 6 se corroboró por espectrofotometría de absorción atómica. Puesto que en este caso no se realizó un replicado de las muestras, sino determinaciones aisladas, no ha sido posible emplear los criterios estadísticos de comparación. En cuanto a estos últimos resultados (Tabla 105), están en perfecto acuerdo con los obtenidos por el método propuesto.

- o - o -

(*) Nuestro reconocimiento a la Lda. Teresa Ruiz por su colaboración en la comprobación de los resultados.

TABLA 104 * DETERMINACION DE CANTIDADES TRAZA DE ZINC EN AGUA POTABLE

Agua	pH	Volumen de agua	Ca ppm	Mg ppm	FGMPH ^a		Zincón ^b		t	F
					A	ppm Zn	A	ppm Zn		
1	7,22	14 ml/25 (FGMPH)	16,4	3,2	0,262	0,443	0,123	0,450	1,77	2,98
		7 ml/10 (Zincón)			0,266	0,450	0,126	0,462		
					0,268	0,454	0,128	0,469		
					<u>0,449[±]0,006</u>		<u>0,460[±]0,010</u>			
2	7,90	14 ml/25 (FGMPH)	27	10	0,268	0,454	0,130	0,477	2,72	5,17
		7 ml/10 (Zincón)			0,262	0,443	0,128	0,469		
					0,274	0,464	0,128	0,469		
					<u>0,454[±]0,011</u>		<u>0,472[±]0,005</u>			

Rectas de calibrado:

(a) $Y = 0,0053 + 1,0335 X$ (c.c. = 0,9999; n = 5)

(b) $Y = 0,0046 + 0,3755 X$ (c.c. = 0,9999; n = 7)

TABLA 105 * DETERMINACION DE CANTIDADES TRAZA DE ZINC EN AGUA POTABLE

Agua	pH Agua	Ca ppm	Mg ppm	ppm Zn(II)	
				FGMPH	EAA*
3	7,55	119,6	26,3	0,042 \pm 0,004	0,04
4	7,22	16,4	3,2	0,449 \pm 0,005	0,46
5	7,15	24	11	1,565 \pm 0,010	1,60
6	7,83	17,6	4,4	0,446 \pm 0,012	0,45

(*) Espectrofotometría de absorción atómica.

1.- La síntesis de la Fenilglioxal mono(2-piridil)hidrazona (FGMPH) y de la Dipiridilglioxal mono(2-piridil)hidrazona (DPGPH), se llevan a cabo con facilidad y, tanto el análisis elemental como los espectros de IR y de H^1 -RMN, dan resultados acordes con la estructura de dichos reactivos.

2.- Los espectros UV a diferentes valores de acidez y pH, indican diversos equilibrios protolíticos; en concreto, cinco para la DPGPH y dos para la FGMPH. La aplicación de métodos gráficos de extrapolación lineal, basados en el conocimiento previo del rango de pH en el cual sólo existen -desde un punto de vista práctico- dos especies en disolución, conduce a los siguientes valores medios de pKa:

$$\text{DPGPH: } pK_{a_3} = 2,48; \quad pK_{a_4} = 5,22; \quad pK_{a_5} = 11,55$$

Los valores de pK_{a_1} y pK_{a_2} son inferiores a 0,5.

$$\text{FGMPH: } pK_{a_1} = 4,06; \quad pK_{a_2} = 11,98$$

3.- Dado que los equilibrios de protonación $HR + H \rightleftharpoons H_2R$ y $H_2R + H \rightleftharpoons H_3R$ de la DPGPH son simultáneos, se han utilizado también métodos gráficos de extrapolación lineal (aplicables a ácidos dipróticos), en el cálculo de pK_{a_4} y pK_{a_3} , obteniéndose valores concordantes ($pK_{a_4} = 5,20$ y $pK_{a_3} = 2,50$), con los indicados en la conclusión anterior. La única restricción que se impone al uso de dichos métodos es que la curva absorbancia-pH debe mostrar un mínimo, como es el caso, o máximo.

4.- Se ha puesto a punto un nuevo método de evaluación de constantes de acidez de ácidos dipróticos que implica el conocimiento de las coordenadas del punto mínimo (o máximo), de la curva absorbancia-pH y de sus puntos de inflexión.

- 5.- La DPGPH y la FGMPH son ligandos tridentados que se comportan de forma análoga a otras piridilhidrazonas, originando reacciones coloreadas de interés analítico con los iones Co(II), Cu(II), Fe(III), Fe(II) y Pd(II), en medio ácido; y además, con los iones Zn(II), Ni(II), Cd(II) y Mn(II), en medio básico. Los quelatos formados muestran una estequiometría 1:2, a excepción del Cu(II), que es 1:1. En particular, las reacciones que originan estos reactivos son similares a las de la biacetil mono(2-piridil)hidrazona y bencil mono(2-piridil)hidrazona, ligandos estructuralmente relacionados.
- 6.- Los estudios de reaccionabilidad realizados permiten concluir que la DPGPH se comporta como un reactivo colorimétrico sensible y selectivo para la determinación de trazas de cobalto en disolución. El complejo naranja-rojizo formado en el intervalo de pH 3-7, en un medio con un 24% de etanol en volumen, muestra una estequiometría 1:2 Co:DPGPH. Tras la adición de ácido, este complejo probablemente se protona ya que el máximo de absorción sufre un desplazamiento desde 490 nm ($\epsilon = 27.000 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) a 510 nm ($\epsilon = 26.000 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). En general, los demás complejos formados se destruyen al añadir ácido.
- 7.- El método de determinación espectrofotométrica de cobalto muestra una gran tolerancia hacia iones extraños. Se ha aplicado con éxito a la determinación de cobalto en HIDROPOLIVIT MINERAL, una preparación farmacéutica compleja.
- 8.- El estudio de la reaccionabilidad de la FGMPH con los iones metálicos, permite seleccionar la reacción Zn(II)-FGMPH para ulterior estudio, dada su elevada sensibilidad. El zinc forma con la FGMPH, a pH 8,1-8,5, en un medio con un 40% de etanol en volumen, un complejo 1:2 Zn:FGMPH de color amarillo-anaranjado, que muestra máxima absorción a 464 nm, con una absortividad molar de $73.000 \text{ l.mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

9.- Se ha estudiado la formación del complejo Zn(II)-FGMPH en presencia de iones extraños, concluyendo que el procedimiento propuesto en esta Memoria es razonablemente selectivo si se compara con otros métodos espectrofotométricos para la determinación de zinc, pudiendo aplicarse con éxito en la determinación de zinc en agua potable.

- o - o -

- 1.- B.TOUGARINOFF, "Les réactions organiques dans l'analyse qualitative minérale", Extrait des Annales de la Société Scientifique de Bruxelles, tome L, série B, décembre 1930, Les Presses Universitaires de France, Paris.
- 2.- F.J.WELCHER, "Organic Analytical Reagents". Van Nostrand, New York, 1947.
- 3.- A.G.ASUERO, Microchem. J. 24, 217 (1979).
- 4.- F.LIONS y K.V.MARTIN, J. Am. Chem. Soc. 80, 3858 (1958).
- 5.- M.KATYAL y Y.DUTT, Talanta 22, 151 (1975).
- 6.- R.B.SINGH, P.JAIN y R.P.SINGH, Talanta 29, 77 (1982).
- 7.- L.K.HUNT y H.DIEHL, Iowa Acad. Sci. 71, 151 (1964).
- 8.- D.THORBURN BURNS, P.HANPRASOPWATTANA y S.KHEAWPINTONG, Anal. Chim. Acta 151, 245 (1983).
- 9.- S.P.SINGHAL y D.E.RYAN, Anal. Chim. Acta 37, 91 (1967).
- 10.- J.E.GOING y R.T.PFLAUM, Anal. Chem. 42, 1098 (1970).
- 11.- F.GARCIA SANCHEZ, A.NAVAS, J.J.LASERNA y A.ARBAIZAR, Analyst 107, 35 (1982).
- 12.- R.T.PFLAUM y E.S.TUCKER, Anal. Chem. 43, 458 (1971).
- 13.- G.S.VASILIKIOTIS, TH.KOUIMTZIS, C.APOSTOLOPOULOU y A.VOULGAROPOULOS, Anal. Chim. Acta 70, 319 (1974).
- 14.- TH.A.KOUIMTZIS, C.APOSTOLOPOULOU y I.STAPHILAKIS, Anal. Chim. Acta 113, 185 (1980).
- 15.- P.R.HADDAD, P.W.ALEXANDER y L.E.SMYTHE, Talanta 23, 275 (1976).
- 16.- H.KULSHRESHTHA, R.B.SINGH y R.P.SINGH, Analyst 104, 572 (1979).
- 17.- H.KULSHRESHTHA, R.B.SINGH, P.JAIN y R.P.SINGH, Ann. di Chimica 69, 205 (1979).
- 18.- R.B.SINGH, H.L.RAY, B.S.GARG y R.P.SINGH, Talanta 26, 898 (1979).
- 19.- B.K.DESHMUKH, Chem. Anal. 28, 637 (1983).
- 20.- R.B.SINGH, P.JAIN, B.S.GARG y R.P.SINGH, Anal. Chim. Acta 104, 191 (1979).
- 21.- H.KULSHRESHTHA, R.B.SINGH, P.JAIN y R.P.SINGH, Ann. di Chimica 104, 191 (1979).
- 22.- A.G.ASUERO y M.M.RODRIGUEZ, Analyst 105, 203 (1980).
- 23.- A.G.ASUERO, D.ROSALES y M.M.RODRIGUEZ, Analyst 107, 1065 (1982).

- 24.- D.ROSALES, J.A.MUÑOZ LEYVA y J.L.GOMEZ ARIZA, *Analyst* 109, 1047 (1984).
- 25.- F.GARCIA SANCHEZ y M.HERNANDEZ LOPEZ, *Talanta* 32, 967 (1985).
- 26.- R.E.JENSEN, N.C.BERGMAN y R.J.HELVIK, *Anal. Chem.* 40, 624 (1968).
- 27.- G.G.SIMS y D.E.RYAN, *Anal. Chim. Acta* 44, 139 (1969).
- 28.- H.KULSHRESHTHA, S.KUMAR y R.P.SINGH, *J. Indian Inst. Sci.* 62, 113 (1980).
- 29.- A.R.ANIPINDI, P.JAIN y R.P.SINGH, *J.Chin.Chem.Soc.* 28, 165 (1981).
- 30.- B.K.DESHMUKH, *Mikrochim. Acta* III, 105 (1983).
- 31.- B.K.DESHMUKH, *Chem. Anal.* 28, 483 (1983).
- 32.- B.K.AFGHAN y D.E.RYAN, *Anal. Chim. Acta* 41, 167 (1968).
- 33.- F.G.SANCHEZ y M.H.LOPEZ, *Analyst* 110, 1253 (1985).
- 34.- H.ALEXAKI-TZIVANIDOU, *Anal. Chim. Acta* 75, 231 (1975).
- 35.- H.KULSHRESHTHA, B.S.GARG y R.P.SINGH, *J. Chin. Chem. Soc.* 26, 129 (1979).
- 36.- R.B.SINGH, P.JAIN, B.S.GARG y R.P.SINGH, *Ann. di Chimica* 68, 1017 (1978).
- 37.- S.RUBIO, A.GOMEZ-HENS y M.VALCARCEL, *An. Quim.* 79, 72 (1983).
- 38.- H.OGAWA, K.DOI y M.OTOMO, *Analyst* 110, 1009 (1985).
- 39.- P.W.BEAUPRE, W.J.HOLLAND y R.A.SIELER, *Mikrochim. Acta* II, 479 (1972).
- 40.- A.M.SEET y K.T.LEE, *Mikrochim. Acta* II, 235 (1974).
- 41.- A.J.CAMERON y N.A.GIBSON, *Anal. Chim. Acta* 40, 413 (1968).
- 42.- C.F.BELL y D.R.ROSE, *Talanta* 12, 696 (1965).
- 43.- N.MOTEKOV, *Nauchni. Tr. Vissh. Inst. Khranit. Vkusova Promst. Plovdiv.* 25, 301 (1978).
- 44.- R.E.JENSEN y R.T.PFLAUM, *Anal. Chim. Acta* 37, 397 (1967).
- 45.- M.L.HEIT y D.E.RYAN, *Anal. Chim. Acta* 34, 407 (1966).
- 46.- M.OTOMO, *Anal. Chim. Acta* 116, 161 (1980).
- 47.- R.B.SINGH, P.JAIN, B.S.GARG y R.P.SINGH, *Bull. Inst. Chem. Acad. Sin.* 27, 77 (1980).
- 48.- H.KULSHRESHTHA, R.B.SINGH, P.JAIN y R.P.SINGH, *Afinidad* 37, 385 (1980).

- 49.- M.HERNANDEZ LOPEZ y F.GARCIA SANCHEZ, An. Quim. (Madrid) 77, 112 (1981).
- 50.- M.OTOMO y I.NAKAYAMA, Microchem. J. 25, 75 (1980).
- 51.- M.OTOMO y K.KODAMA, Japan Analyst 26, 455 (1977).
- 52.- A.G.ASUERO, M.J.NAVAS, J.M.BAUTISTA y D.ROSALES, Microchem. J. 28, 183 (1983).
- 53.- J.A.STRATIS, A.N.ANTHEMIDIS y G.S.VASILIKIOTIS, Analyst 109, 373 (1984).
- 54.- T.NAKAGAWA, K.DOI y M.OTOMO, Analyst 110, 387 (1985).
- 55.- V.ZATKA, J.ABRAHAM, J.HOLZBECHER y D.E.RYAN, Anal. Chim. Acta 54, 65 (1971).
- 56.- H.ALEXAKI-TZIVANIDOU, Microchem. J. 22, 388 (1977).
- 57.- R.B.SINGH, P.JAIN, B.S.GARG y R.P.SINGH, Analyst 104, 1188 (1979).
- 58.- R.B.SINGH, M.KULSHERESHTHA, B.S.GARG y R.P.SINGH, Bull Chem. Soc. Japan 52, 3131 (1979).
- 59.- D.ROSALES, A.G.ASUERO y M.M.RODRIGUEZ, Analyst 110, 701 (1985).
- 60.- A.G.ASUERO, D.ROSALES y M.M.RODRIGUEZ, Microchem. J. 30, 33 (1984).
- 61.- M.M.RODRIGUEZ, D.ROSALES y A.G.ASUERO, Afinidad 40, 275 (1983).
- 62.- D.E.RYAN, F.SNAPE y M.WINPE, Anal. Chim. Acta 58, 101 (1972).
- 63.- L.SOMMER, W.P.MAUNG-GYEE y D.E.RYAN, Scripta Fac. Sci. Nat. Ujep Brunensis, Chemia 2, 2, 115 (1972).
- 64.- R.E.JENSEN y R.T.PFLAUM, Anal. Chim. Acta 115, 263 (1978).
- 65.- M.A.QUDDUS y C.F.BELL, J. Inorg. Nucl. Chem. 33, 2001 (1971).
- 66.- K.-T.LEE y E.JACOB, Mikrochim. Acta I, 65 (1974).
- 67.- R.E.JENSEN y M.KAEHLER, Anal. Chim. Acta 67, 465 (1973).
- 68.- R.W.FREI, T.BIDLEMAN, G.H.JAMRO y O.NAVRATIL, Anal. Chem. 1, 75 (1971).
- 69.- R.W.GREEN y W.G.GOODWIN, Aust. J. Chem. 21, 1165 (1968).
- 70.- R.W.GREEN, P.S.HALLMAN y F.LIONS, Inorg. Chem. 3, 376 (1964).
- 71.- M.L.HEIT y D.E.RYAN, Anal. Chim. Acta 32, 448 (1965).
- 72.- A.J.CAMERON y N.A.GIBSON, Anal. Chim. Acta 51, 249 (1970).
- 73.- H.ALEXAKI-TZIVANIDOU y G.KOUNENIS, Microchem.J. 23, 530 (1978).

- 74.- A.G.ASUERO, *Afinidad* 37, 531 (1980).
- 75.- J.F.GELDARD y F.LIONS, *J. Am. Chem. Soc.* 84, 2262 (1962).
- 76.- T.RUDOLPH y J.P.PHILLIPS, *Anal. Chim. Acta* 34, 235 (1966).
- 77.- D.St.C.BLACK, A.J.HARTSHORN y K.S.MURRAY, *Aust. J. Chem.* 29, 1153 (1976).
- 78.- A.A.SCHILT, J.F.WU y F.H.CASE, *Talanta* 22, 915 (1975).
- 79.- J.M.CANO PAVON, M.L.TRUJILLO y A.G.DE TORRES, *Anal.Chim. Acta* 117, 319 (1980).
- 80.- J.E.GOING, G.WESENBERG y G.ANDREJAT, *Anal. Chim. Acta* 81, 349 (1976).
- 81.- J.A.PLATTE y V.M.MARCY, *Anal. Chem.* 31, 1226 (1959).
- 82.- A.A.SCHILT, P.C.QUINN y C.L.JOHNSON, *Talanta* 26, 373 (1979).
- 83.- A.A.SCHILT, N.MOHAMED y F.H.CASE, *Talanta* 26, 85 (1979).
- 84.- F.H.CASE, A.A.SCHILT y N.SIMONZADEN, *Anal. Chem.* 56, 2860 (1984).
- 85.- M.KATYAL, V.KUSHWAHA y R.P.SINGH, Presented at the 60th Session of the Indian Science Congress, Chandigarh, India, 3-9 Jan. 1973.
- 86.- M.KATYAL, S.K.KUNDRAN, D.P.GOEL y R.P.SINGH, *J.Indian Chem.Soc.* 51, 576 (1974).
- 87.- M.LANGOVA-HNILICKOVA y L.SOMMER, *Folia Fac. Sci. Nat. Univ. Purkynianae, Brun* 9, 1 (1968).
- 88.- R.G.FARGHER y R.FURNESS, *J. Chem. Soc.* 107, 688 (1915).
- 89.- TH.KAUFFMANN y W.SCHOENECK, *Angew. Chem.* 71, 285 (1959).
- 90.- TH.KAUFFMANN, J.HANSEN, C.KOSEL y W.SCHOENECK, *Ann.* 656, 103 (1962)
- 91.- J.F.GELDARD y F.LIONS, *J. Am. Chem. Soc.* 84, 2262 (1962).
- 92.- A.J.CAMERON, N.A.GIBSON y R.ROPER, *Anal. Chim. Acta* 29, 73 (1963).
- 93.- B.EMMERT y O.SCHNEIDER, *Ber.* 66 B, 1875 (1933).
- 94.- J.M.KORENMAN, *Zhur. Anal. Khim.* 1, 64 (1946).
- 95.- S.AKIYA, *Japan J. Exptl. Med.* 26, 91 (1956).
- 96.- E.N.PERKINSON y J.P.DA VANZO, *Biol. Pharmacol.* 17, 2498 (1968).
- 97.- E.HAYASHI, T.SHIMURA, H.YAMAZOE y T.TAMURA, *Nippon Yakurigaku Tasshi* 63, 95 (1967).
- 98.- G.FLORES y E.FRIEDEN, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 174, 163 (1970).

- 99.- W.VETTER y W.MEISTER, *Helv. Chim. Acta* 65, 1038 (1982).
- 100.- R.G.ANDERSON y G.NICKLESS, *Analyst* 93, 13 (1968).
- 101.- R.G.ANDERSON y G.NICKLESS, *Analyst* 93, 20 (1968).
- 102.- D.BETTERIDGE y D.JOHN, *Analyst* 98, 377 (1973).
- 103.- D.BETTERIDGE y D.JOHN, *Analyst* 98, 390 (1973).
- 104.- D.BETTERIDGE, D.JOHN y F.SNAPE, *Analyst* 98, 512 (1973).
- 105.- D.BETTERIDGE, D.JOHN y F.SNAPE, *Analyst* 98, 520 (1973).
- 106.- J.J.LASERNA, A.NAVAS y F.GARCIA SANCHEZ, *Anal. Chim. Acta* 121, 295 (1980).
- 107.- F.GARCIA SANCHEZ, A.NAVAS, J.J.LASERNA y M.R.MARTINEZ de la BARRE-
RA, *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 315, 491 (1983).
- 108.- S.RUBIO, A.GOMEZ HENS y M.VALCARCEL, *Analyst* 109, 717 (1984).
- 109.- S.RUBIO, A.GOMEZ HENS y M.VALCARCEL, *Analyst* 109, 597 (1984).
- 110.- A.J.CAMERON y N.A.GIBSON, *Anal. Chim. Acta* 51, 257 (1970).
- 111.- M.M.RODRIGUEZ y A.G.ASUERO, *Microchem. J.* 25, 309 (1980).
- 112.- S.A.BERGER y D.E.RYAN, *Mikrochim. Acta (wien)*, 679 (1974).
- 113.- M.A.QUDDUS y C.F.BELL, *Anal. Chim. Acta* 42, 503 (1968).
- 114.- R.W.FREI, D.E.RYAN y C.A.STOCKTON, *Anal. Chim. Acta* 42, 59 (1968).
- 115.- R.W.FREI, *J. Chromat.* 34, 563 (1968).
- 116.- A.G.ASUERO, *Microchem. J.* 26, 527 (1981).
- 117.- A.G.ASUERO y M.GONZALEZ BALAIRON, *Microchem. J.* 25, 14 (1980).
- 118.- A.G.ASUERO, *Microchem. J.* 23, 390 (1978).
- 119.- G.S.DESHMUKH, V.D.ANAND y C.M.PANDEY, *Z.Anal.Chem.* 182, 170 (1961).
- 120.- V.D.ANAND y G.S.DESHMUKH, *Naturwissenschaften* 46, 648 (1959).
- 121.- V.D.ANAND, *Chem. Anal.* 50, 44 (1961).
- 122.- V.D.ANAND, G.S.DESHMUKH y M.B.KUMAR, *J.Prakt.Chem.* 22, 98 (1963).
- 123.- R.M.PEARSON y H.J.SEIM, *Anal. Chem.* 49, 580 (1977).
- 124.- B.CHISWELL y F.LIONS, *Inorg. Chem.* 3, 490 (1964).
- 125.- H.M.IRVING y R.J.P.WILLIAMS, *Analyst* 77, 813 (1952).
- 126.- R.J.P.WILLIAMS, *Analyst* 78, 586 (1953).

- 127.- H.IRVING y H.S.ROSSOTTI, *Analyst* 80, 245 (1955).
- 128.- H.IRVING y H.S.ROSSOTTI, *Acta Chem. Scand.* 10, 72 (1956).
- 129.- H.FREISER, *Analyst* 77, 830 (1952).
- 130.- B.CHISWELL, F.LIONS y M.L.TOMLINSON, *Inorg. Chem.* 3, 492 (1964).
- 131.- M.M.RODRIGUEZ, M.J.MAQUEDA y A.G.ASUERO, *Afinidad* 36, 507 (1979).
- 132.- M.M.RODRIGUEZ, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, 1982.
- 133.- M.J.NAVAS, A.G.ASUERO y D.ROSALES, *Microchem. J.*, en prensa.
- 134.- S.A.BERGER, *Microchim. Acta* III, 333 (1983).
- 135.- S.A.BERGER, *Talanta* 29, 718 (1982).
- 136.- S.A.BERGER, *Mikrochim. Acta* II, 423 (1982).
- 137.- S.A.BERGER, *Mikrochim. Acta* I, 311 (1979).
- 138.- S.A.BERGER, *Mikrochim. Acta* III, 275 (1984).
- 139.- D.ROSALES, J.A.MUÑOZ LEYVA y J.L.GOMEZ ARIZA, *Quim. Anal.* 2, 277 (1983).
- 140.- F.DE PABLOS, J.L.GOMEZ ARIZA y F.PINO, *Mikrochim. Acta* I, 411 (1985).
- 141.- L.Z.TSCHUGAEFF, *Ber.*, 2520 (1905).
- 142.- A.GARCIA ASUERO, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad de Sevilla, 1976.
- 143.- A.M.JIMENEZ MORENO, Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 1985.
- 144.- M.A.HERRADOR MORILLO, Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 1985.
- 145.- J.L.JIMENEZ TRILLO, Tesis Doctoral, Facultad de Química, Universidad de Sevilla, 1985.
- 146.- M.J.NAVAS SANCHEZ, Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 1985.
- 147.- G.BAHR Y D.THIELE, *Chem. Tech. (Berlín)* 10, 420 (1958).
- 148.- I.N.CASTRO, E.GRACIANI, J.GASCH y F.PINO, *Quim. Anal. (Madrid)* 20, 128 (1966).
- 149.- W.SCHWARTZ y U.DIECKMANN, *Wiss. Z. Tech. Hochsch. Otto von Guericke, Magdeburg* 13, 173 (1969).
- 150.- P.HEIZMANN y K.BALLSCHMITER, *Z. Anal. Chem.* 259, 110 (1972).
- 151.- K.BALLSCHMITER, *Z. Anal. Chem.* 263, 203 (1973).

- 152.- P.HEIZMANN y K.BALLSCHMITER, Z. Anal. Chem. 266, 206 (1973).
- 153.- M.LEVER, Anal. Chim. Acta 65, 311 (1973).
- 154.- P.HEIZMANN y K.BALLSCHMITER, J. Chromatogr. 137, 153 (1977).
- 155.- A.G.ASUERO y J.M.CANO, Analyst 103, 140 (1978).
- 156.- A.G.ASUERO y J.M.CANO, Microchem. J. 23, 142 (1978).
- 157.- A.G.ASUERO y F.PINO, Afinidad 35, 549 (1978).
- 158.- R.J.GARCIA VILLANOVA y R.GARCIA VILLANOVA, Acta Química Compostelana 4, 56-60 (1980).
- 159.- J.M.CANO, D.P.BENDITO y M.VALCARCEL, Quim. Anal. 1, 118 (1982).
- 160.- R.J.GARCIA VILLANOVA y R.GARCIA VILLANOVA, Ars Pharmaceutica 22, 475 (1981).
- 161.- R.J.GARCIA VILLANOVA y R.GARCIA VILLANOVA, Ars Pharmaceutica 22, 459 (1981).
- 162.- R.J.GARCIA VILLANOVA y R.GARCIA VILLANOVA, Ars Pharmaceutica 22, 445 (1981).
- 163.- R.J.GARCIA VILLANOVA y R.GARCIA VILLANOVA, Ars Pharmaceutica 22, 491 (1981).
- 164.- A.G.ASUERO y J.M.CANO, Afinidad 38, 266 (1981).
- 165.- A.G.ASUERO, Microchem. J. 28, 198 (1983).
- 166.- R.J.GARCIA VILLANOVA y R.GARCIA VILLANOVA, An. Quim. 79, 401 (1983).
- 167.- C.WEN-PING, C.SUN-WEI y H.MAN-CHIEH, Acta Chim. Sin. 31, 179 (1965).
- 168.- S.THABET y TABIBIAN, Anal. Chim. Acta 34, 231 (1966).
- 169.- C.W.MILLIGAN y F.LINDSTROM, Anal. Chem. 44, 1822 (1972).
- 170.- H.C.MEHRA, Z. Anal. Chem. 282, 219 (1976).
- 171.- H.C.MEHRA, Z. Anal. Chem. 285, 262 (1977).
- 172.- R.B.SINGH, B.S.GARG y R.P.SINGH, Talanta 25, 619 (1978).
- 173.- M.GALLEGO, M.SILVA y M.VALCARCEL, Talanta 31, 1075 (1984).
- 174.- M.GARCIA VARGAS, S.TREVILLA y M.MILLA, Talanta 33, 209 (1986).
- 175.- J.ROJAS, J.M.LOPEZ FERNANDEZ y M.VALCARCEL, An. Quim. 79, 397 (1983).
- 176.- M.SILVA y M.VALCARCEL, Analyst 105, 193 (1980).
- 177.- M.SILVA y M.VALCARCEL, Microchem. J. 25, 117 (1980).
- 178.- M.SILVA y M.VALCARCEL, Microchem. J. 25, 289 (1980).

- 179.- M.SILVA y M.VALCARCEL, An. Quim. (Madrid) 76, 129 (1980).
- 180.- M.VALCARCEL y F.PINO, Analyst 98, 246 (1973).
- 181.- E.GRACIANI, An. Quim. (Madrid) 67, 679 (1971).
- 182.- H.KULSCHRESHTHA, R.B.SINGH, P.JAIN y R.P.SINGH, Afinidad 37, 247 (1980).
- 183.- T.NAITO y S.UNA, Nagoya Shiritsu Daigaku Yakugakubu Kiyō 5, 37 (1957).
- 184.- V.HOVORKA y F.VLACIL, Collect. Czech. Chem. Commun 28, 539 (1963).
- 185.- N.K.MATHUR y C.K.NARANG, Talanta 11, 647 (1964).
- 186.- Z.HOLZBECHER y J.JEZEK, Sb. Vys. Sk. Chem. Technol. Praze, Anal. Chem. H 1, 53 (1967).
- 187.- D.P.BENDITO y F.PINO, Quim. Anal. (Madrid) 21, 31 (1967); 22, 1 (1968); 22, 177 (1968).
- 188.- D.GOLDSTEIN y E.K.LIBERGOTT, Anal. Chim. Acta 51, 126 (1970).
- 189.- C.M.T. ARIDE, G.B.T.C.SILVA y D.GOLDSTEIN, Anal. Chim. Acta 57, 435 (1971).
- 190.- Z.HOLZBECHER, Chem. Listy 66, 7 (1972).
- 191.- M.VALENTOVA y L.SUCHA, Collect. Czech. Chem. Commun 37, 22 (1972)
- 192.- M.VALENTOVA y L.SUCHA, Sb. Vys. Sk. Chem. Technol. Praze, Anal. Chem. H 11, 135 (1976).
- 193.- M.VALENTOVA y L.SUCHA, Sb. Vys. Sk. Chem. Technol. Praze, Anal. Chem. H 8, 15 (1972).
- 194.- M.VALENTOVA y L.SUCHA, Collect. Czech. Chem. Commun 38, 1497 (1973).
- 195.- M.P.MARTINEZ MARTINEZ, D.PEREZ BENDITO y F.PINO, An. Quim. (Madrid) 69, 747 (1973).
- 196.- J.M.CANO, J.C.J.SANCHEZ y F.PINO, Anal. Chim. Acta 75, 335 (1975).
- 197.- J.M.CANO PAVON, A.GARCIA DE TORRES y F.PINO, An. Quim. 74, 24 (1978).
- 198.- P.RIYAZUDDIN, Analyst 105, 1196 (1980).
- 199.- M.A.CEJAS, A.GOMEZ-HENS y M.VALCARCEL, Anal. Chim. Acta 158, 287 (1984).
- 200.- S.SANCHEZ BURGOS, P.MARTINEZ y F.PINO, Quim. Anal. (Madrid) 23, 17 (1969).
- 201.- F.TORIBIO, J.M.LOPEZ FERNANDEZ y M.VALCARCEL, Quim. Anal. (Madrid) 31, 281 (1977).
- 202.- E.K.LIBERGOTT, C.L.S.ROQUETTE PINTO y P.L.A.A.NETO, Anal. Chim. Acta 101, 229 (1978).

- 203.- C.L.S.ROQUETTE PINTO y E.K.LIBERGOTT, Anal. Chim. Acta 117, 349 (1980).
- 204.- H.C.BARANY, E.A.BRAUDE y M.PIANKA, J. Chem. Soc., 1929 (1951).
- 205.- P.KRUMHOLZ, J. Am. Chem. Soc. 75, 2163 (1953).
- 206.- D.H.BUSCH y J.C.BAILAR, Jr., J. Am. Chem. Soc. 78, 1137 (1956).
- 207.- R.C.STOUFFER y D.H.BUSCH, J. Am. Chem. Soc. 78, 6016 (1956).
- 208.- R.C.STOUFFER y D.H.BUSCH, J. Am. Chem. Soc. 82, 3491 (1960).
- 209.- L.SACCONI y G.LOMBARDO, J. Am. Chem. Soc. 82, 6266 (1960).
- 210.- L.SACCONI, G.LOMBARDO y P.PAOLETTI, J.Am.Chem.Soc. 82, 4185 (1960).
- 211.- L.SACCONI, G.LOMBARDO y R.CIOTALO, J.Am.Chem.Soc. 82, 4182 (1960).
- 212.- F.VLACIL, Collect. Czech. Chem. Commun 26, 658 (1961).
- 213.- H.JADAMUS, Q.FERNANDO y H.FREISER, J.Am.Chem.Soc. 86, 3056 (1964).
- 214.- P.R.ELLEFSSEN y L.GORDON, Talanta 14, 409 (1967).
- 215.- W.J.STRATTON y P.J.OGREN, Inorg. Chem. 9, 2588 (1970).
- 216.- L.E.WARREN, S.M.HORNER y W.E.HATFIELD, J.Am.Chem.Soc. 94, 6392 (1972).
- 217.- R.CEFALU, F.MAGGIO, L.PELLERIT y V.ROMANO, Inorg. Nucl. Chem. Lett. 10, 529 (1974).
- 218.- V.B.RANA, D.P.SINGH, P.SINGH y M.P.TEOTIA, Ind.J.Chem. 21, 528 (1982).
- 219.- C.N.ELGY, M.R.HARRISON y D.NICHOLLS, Inorg.Chim. Acta 57, 21 (1982).
- 220.- M.R.TAYLOR, E.J.GABE, J.P.GLUSKER, J.A.MINKIN y A.L.PATTERSON, J. Am. Chem. Soc. 88, 1845 (1966).
- 221.- M.J.NAVAS, A.G.ASUERO, D.ROSALES y J.CARRILLO, Microchem. J. 28, 513 (1983).
- 222.- W.J.STRATTON y D.H.BUSCH, J. Am. Chem. Soc. 82, 4834 (1960).
- 223.- J.M.KOLTHOFF, "Análisis Químico Cuantitativo", Ed. Nigar, Buenos Aires, 1972.
- 224.- D.D.PERRIN y D.B.DEMPSEY, "Buffers for pH and Metal Ion Control", Ed. Chapman and Hall, 1983.
- 225.- J.H.YOE y A.L.JONES, Ind. and Eng.Chem.Anal., Ed. 16, 111 (1944).
- 226.- P.JOB, Ann. Chim., Paris 9, 113 (1928).
- 227.- W.C.VOSBURGH y G.R.COOPER, J. Am. Chem. Soc. 63, 437 (1941).
- 228.- A.RINGBOM, Z. Anal. Chem. 115, 332 (1939).

- 229.- L.F.FIESER y M.FIESER, "Química Orgánica", 4ª ed., Ed. Grijalbo, México, D.F., 1968.
- 230.- M.GUERNET, M.HAMON, Abregé de Chimie Analytique, 2ª ed., Masson, Paris, 1981.
- 231.- L.J.BELLAMY, "The Infrared Spectra of Complex Molecules". John Wiley and Sons Inc., New York, 1954.
- 232.- J.FABIAN, M.LEGRAND y P.POIRIER, Bull. Soc. Chim. France, 1499 (1956).
- 233.- Y.R.NAVES, A.JACOT-GUILLARMOD y C.RODICA, Hel. Chim. Acta 50, 1461 (1967).
- 234.- L.J.BELLAMY y R.C.WILLIAMS, J. Chem. Soc., 863 (1957).
- 235.- A.G.ASUERO, Comunicación Privada.
- 236.- F.SCHEINMANN, vol. 2, Pergamon Press New York, 1974.
- 237.- E.PRETSCH, T.CLERC, J.SEIBL y W.SIMON, "Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos", Alhambra, p 138, Madrid, 1980.
- 238.- J.BELLANATO, J.CALDERON, M.MILLIAN y M.RICO SAROMPAS, Opt. Pura Apl. 12(1), 35 (1979).
- 239.- G.J.KARABATSOS, F.M.VANE, R.A.TALLER y N.HSI, J. Am. Chem. Soc. 86, 3351 (1964).
- 240.- G.J.KARABATSOS y R.A.TALLER, J. Am. Chem. Soc. 85, 3624 (1963).
- 241.- J.M.CANO PAVON, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad de Sevilla, 1971.
- 242.- J.M.LOPEZ BAHAMONDE, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad de Sevilla, 1972.
- 243.- R.W.RAMETTE, J. Chem. Educ. 54, 280 (1977).
- 244.- F.INGMAN, Talanta 20, 993 (1973).
- 245.- M.J.NAVAS, J.L.JIMENEZ TRILLO y A.G.ASUERO, Boll. Chim. Farm. 124, 439 (1985).
- 246.- A.G.ASUERO, M.A.HERRADOR, A.M.JIMENEZ, Anal. Letters, en prensa.
- 247.- H.A.BENESI y J.H.HILDEBRAND, J. Am. Chem. Soc. 71, 2703 (1949).
- 248.- K.A.CONNORS y J.M.LIPARI, J. Pharm. Sci. 65, 379 (1976).
- 249.- A.K.LUNN y R.A.MORTON, Analyst 77, 719 (1952).
- 250.- A.AGREN, Acta Chem. Scand. 8, 266 (1954).
- 251.- L.SOMMER, Folia Fac. Sci. Nat. Univ. Purkinianae Brno 5, 1 (1964).

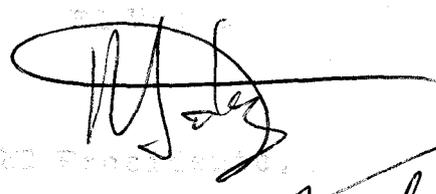
- 252.- J.REY PASTOR y A.DE CASTRO BRZEZICKI, "Elementos de Matemáticas", 3ª ed., Ed. Saeta, Madrid, 1964.
- 253.- B.W.BUDESINSKY, Anal. Chim. Acta 62, 95 (1972).
- 254.- A.M.JIMENEZ, M.A.HERRADOR, M.J.NAVAS y A.G.ASUERO, Pharm. Acta Helv., en prensa.
- 255.- A.G.ASUERO, M.J.NAVAS y J.L.JIMENEZ TRILLO, Talanta 33, 195 (1986).
- 256.- H.IRVING, H.S.ROSSOTTI y G.HARRIS, Analyst 80, 83 (1955).
- 257.- A.G.ASUERO, J.L.JIMENEZ TRILLO y M.J.NAVAS, Talanta, en prensa.
- 258.- Y.LACROIX, "Analyse Chimique. Interpretation des Resultats par le Calcul Statistique", Masson et Cie, Paris, 1962.
- 259.- A.E.HARVEY y D.L.MANNING, J.Am.Chem.Soc. 72, 4488 (1950); 74, 4744 (1952).
- 260.- E.ASMUS, Z. Anal. Chem. 178, 104 (1960).
- 261.- D.ROSALES, G.GONZALEZ y J.L.GOMEZ ARIZA, Talanta 32, 467 (1985).
- 262.- J.FRIES y H.GETROST, "Organic Reagents for Trace Analysis", E. Merck, Darmstadt, 1977.
- 263.- Z.MARCZENKO, "Spectrophotometric Determination of Elements", John Wiley & Sons, New York, 1976.
- 264.- J.J.HICKET y C.J.OVERBECK, Anal. Chem. 38, 932 (1966).
- 265.- W.H.EVANS y G.S.SAYERS, G. S., Analyst 105, 203 (1980).
- 266.- Publs. Publ. Health Serv.: Washington, nº 956, 1962.
- 267.- World Health Organization: "European Standards for Drinking Water", 2ª ed., Geneva, 1970.
- 268.- F.MORENO MARTIN y M.C.DE LA TORRE BORONAT, "Lecciones de Bromatología", Universidad de Barcelona, Facultad de Farmacia, Tomo II, p. 179, 1983.
- 269.- BOE: "Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y Control de Calidad de las aguas potables de consumo público". Real Decreto 1.423/1982 (18 Junio 1982).
- 270.- J.FRIES, "Análisis de Trazas. Métodos fotométricos comprobados". E.Merck, Darmstadt, 1971.

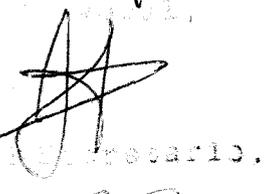
UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE QUÍMICA

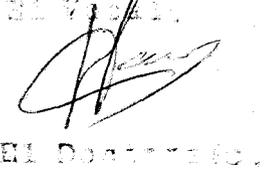
Excmo. Sr. Decano de la Facultad de Química
de la Universidad de Sevilla

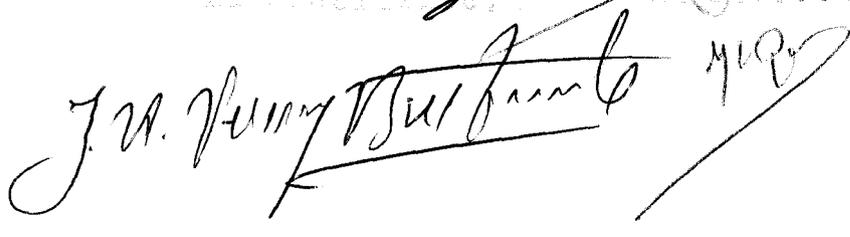
Mañana Luisa Marqués González
Título: "Estudio de las Monopiridilhidrazinas deriva-
das del Dipiridilgloxal y Fenilgloxal como reacti-
vos analíticos espectrofotométricos"

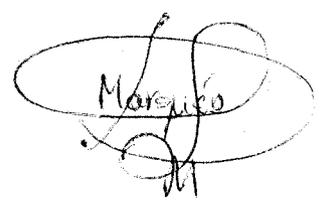
Excmo. Sr. Decano, he el honor de dirigirme a usted para que se sirva
decretar la linda 17 julio 86


El Proponente,


El Secretario,


El Decano,

J. M. Villanueva



Marqués