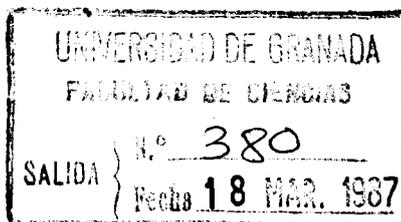
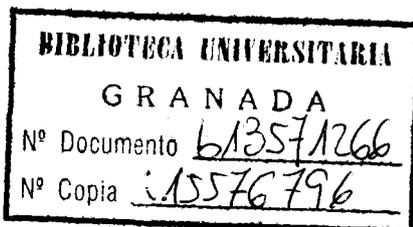


~~Rev. T 2 123~~  
5/156

TESIS DOCTORAL



BASES DE SCHIFF DERIVADAS DEL  
SALICILIDEN-O-AMINOFENOL COMO  
REACTIVOS PARA LA DETERMINACION  
ESPECTROFLUORIMETRICA DE TRAZAS  
DE Ga(III), In(III) Y Be(II).



*Departamento de Química Analítica  
Universidad de Granada*

ALBERTO NAVALON MONTON

GRANADA, 1986

Vertical line of text or a page number.

Faint, illegible text block, possibly a signature or stamp.

*Tesis Doctoral dirigida por los Profesores Dr. D. Fermín Capitán García, Catedrático de Química Analítica de la Universidad de Granada y Dr. D. José Luis Vilchez Quero, Profesor Titular de Química Analítica de la Universidad de Granada.*

*Fué defendida el 19 de Diciembre de 1986, ante el tribunal formado por los Profesores: Capitán Vallvey; Thomas Gómez; López Cueto; Fernández Gutierrez y Arrebola Ramirez.*

*Obtuvo la calificación de Apto "cum laude".*



*Después de todo, un buen experimento  
es simplemente un intento  
para pinchar a la Naturaleza  
y sacarle una respuesta*

G. S. Hammond.



*A los míos,*



*Deseo expresar mi más sincero agradecimiento:*

- Al Prof. Dr. D. Fermín Capitán García por la enseñanza, dirección, estímulo y constante apoyo que de él, en todo momento, he recibido.
  
- Al Prof. Dr. D. José Luis Vilchez Quero, en cuya persona se reúnen las entrañables cualidades de maestro y amigo, que ha hecho posible con su constante dedicación la realización y conclusión de este trabajo.
  
- Al Prof. Dr. D. Luis Fermín Capitán Vallvey por sus valiosas sugerencias e incondicional ayuda.
  
- A la Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía por la concesión de una Beca del Plan de Formación del Personal Investigador.
  
- A los Lcdos. D. José García García, D. Ignacio Orbe Payá y D<sup>a</sup> Eloisa Manzano Moreno por su desinteresada colaboración en el mecanografiado y composición de la presente Memoria.
  
- A la Lcda. D<sup>a</sup>. María José Blanch Navas por la ayuda prestada en el capítulo de Espectrofluorimetría de Cambio Iónico.
  
- A todos los compañeros del Departamento de Química Analítica.
  
- A todas aquellas personas, hombres y mujeres de buena voluntad, que dedicaron su tiempo a enseñarme algunos aspectos de la Química.



**INDICE**



	Página
	-----
<i>Objeto de la Tesis</i> .....	17
<i>Introduccion</i> .....	21
 <i>Capitulo I</i>	
OBTENCION E IDENTIFICACION DE LAS BASES	
DE SCHIFF OBJETO DE ESTUDIO.	45
Síntesis.....	48
Puntos de Fusión.....	54
Análisis Elementales.....	55
Espectros Infrarrojos.....	56
Espectros de Resonancia Magnética Nuclear.....	74
 <i>Capitulo II</i>	
PROPIEDADES.	89
Espectros de Absorción UV-VIS en función del pH....	91
Determinación de las Constantes de Disociación	
Acida. Métodos Potenciométricos.	
- Experimental.....	109
- Método directo.....	119
- Método algebraico directo.....	120
- Método de Bjerrum.....	129
- Método de Irving y Rossotti.....	140
- Método de Schwarzenbach.....	158
- Discusión de los resultados.....	161
Determinación de las Constantes de Disociación	
Acida. Métodos Espectrofotométricos.	
- Método de Wilson y Lester.....	165
- Discusión de los resultados.....	180

Determinación de las Constantes de Disociación Acida. Métodos Espectrofluorimétricos.	
- Metodo de Schulman y col.....	183
- Discusión de los resultados.....	197
Estudio de las Transiciones Electrónicas.....	199

### Capítulo III

REACCIONABILIDAD CUALITATIVA FLUORESCENTE.	221
Experimental.....	223
Resultados.....	226
Discusión de los resultados.....	236

### Capítulo IV

ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA 5-BROMOSALICILIDEN-o-AMINOFENOL-Ga(III).	241
Espectros de excitación y emisión.....	244
Influencia del pH (50 % etanol).....	246
Estabilidad del sistema.....	248
Influencia del orden de adición de los reactivos...	250
Influencia de la relación etanol/agua del medio...	252
Influencia del pH (60 % de etanol).....	255
Influencia de la temperatura.....	257
Influencia de la concentración de 5-BrSOAF.....	260
Rectas de calibrado.....	266
Determinación de Ga(III). Procedimiento operatorio.	270
Reproducibilidad del método.....	271
Sensibilidad del método.....	273
Límite de detección.....	275
Interferencias.....	277
Determinación de la estequiometría.....	289

## Capítulo V

ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA 5-CLOROSALICILIDEN-o-AMINOFENOL-In(III).	299
Espectros de excitación y emisión.....	302
Influencia del pH.....	304
Estabilidad del sistema.....	308
Influencia del orden de adición de los reactivos...	310
Influencia de la temperatura.....	311
Influencia de la relación etanol/agua del medio....	314
Influencia de la concentración de 5-ClSOAF.....	317
Rectas de calibrado.....	320
Determinación de In(III). Procedimiento operatorio.	324
Reproducibilidad del método.....	325
Sensibilidad del método.....	327
Límite de detección.....	328
Interferencias.....	330
Determinación de la estequiometría.....	341

## Capítulo VI

ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA SALICILIDEN-ANILINA-Be(II).	345
Espectros de excitación y emisión.....	348
Influencia del pH.....	350
Estabilidad del sistema.....	352
Influencia del orden de adición de los reactivos...	355
Influencia de la relación etanol/agua del medio....	357
Influencia de la temperatura.....	360
Influencia de la concentración de SA.....	363
Rectas de calibrado.....	369
Determinación de Be(II). Procedimiento operatorio..	373
Reproducibilidad del método.....	374
Sensibilidad del método.....	376

Límite de detección.....	377
Interferencias.....	378
Determinación de la estequiometría.....	391

*Capítulo VII*

ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA RESINA SP C-25-SALICILIDEN-o-AMINOFENOL-Ga(III) POR ESPECTROFLUORIMETRIA DE CAMBIO IONICO.	399
--	-----

Elección de la resina.....	405
Elección del tampón.....	406
Espectros de excitación y emisión.....	407
Influencia del pH.....	410
Influencia de la concentración de tampón.....	412
Influencia de la temperatura.....	414
Estabilidad del sistema.....	420
Influencia de la concentración de SOAF.....	422
Influencia del tiempo de agitación de la resina....	425
Influencia del volumen final de disolución.....	427
Influencia de la cantidad de resina.....	429
Determinación del tiempo de vida media del estado excitado.....	431
Influencia de la dilución.....	437
Recta de calibrado.....	441
Determinación de Ga(III). Procedimiento operatorio.	444
Estudio de la reproducibilidad.....	445
Límite de detección.....	449
Interferencias.....	451

<i>Conclusiones</i> .....	457
---------------------------	-----

<i>Bibliografía</i> .....	465
---------------------------	-----

**OBJETO DE LA TESIS**

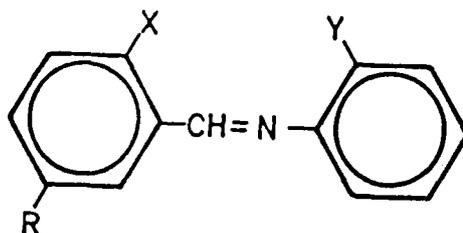


### Objeto de la Tesis.-

Poner a punto nueva metodología analítica para el análisis de trazas mediante el empleo conjunto de una técnica convencional como la Espectrofluorimetría y una nueva técnica analítica: La Espectrofluorimetría de Cambio Iónico, iniciada y desarrollada ésta, en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Granada.

Para ello, y después de una extensa revisión bibliográfica, se han seleccionado para su estudio como reactivos fluorogénicos las bases de Schiff que figuran en la tabla siguiente:

Azometina	X	Y	R
Saliciliden-o-aminofenol	OH	OH	H
5-Clorosaliciliden-o-aminofenol	OH	OH	Cl
5-Bromosaliciliden-o-aminofenol	OH	OH	Br
5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol	OH	OH	OH
5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol	OH	OH	CH <sub>3</sub>
Saliciliden-anilina	OH	H	H
Benciliden-o-aminofenol	H	OH	H





## INTRODUCCION



## INTRODUCCION

*La importancia creciente que en los últimos años vienen adquiriendo las Ciencias del Medio Ambiente, estimulada por el desarrollo de la Ciencia y la Tecnología, unido a una mayor exigencia de calidad y demanda de pureza en productos naturales o manufacturados, ha producido un desplazamiento de la investigación en Química Analítica hacia la detección y determinación de elementos traza, convirtiéndose así en una de las áreas de investigación analítica pura y aplicada más sugestiva y de mayor porvenir (50,55).*

*Por otra parte, la aplicabilidad de un procedimiento analítico a muestras concretas obliga, según su complejidad, a disponer de reacciones analíticas si no específicas sí suficientemente selectivas a través de una adecuada metodología de eliminación de interferencias, o el empleo de una técnica adecuada o ambas vías simultáneamente.*

La Espectrometría de Fluorescencia como técnica analítica ha sido utilizada desde hace tiempo teniendo lugar un considerable desarrollo a través de los años debido principalmente a sus propiedades fundamentales de sensibilidad, selectividad y bajos límites de detección (características que la hacen idónea para el análisis de trazas), de tal forma que hoy día se considera una técnica rutinaria en cualquier laboratorio medianamente dotado.

Diversos compuestos inorgánicos son fluorescentes en estado sólido pero muy pocos de ellos pueden analizarse fluorimétricamente, por medida directa de su fluorescencia en estado sólido. Sin embargo son muchos los iones que se pueden determinar en disolución por métodos indirectos (57), es decir, una sustancia no fluorescente se convierte en fluorescente, mediante un reactivo adecuado (fluorógeno), y se mide su intensidad de fluorescencia o, por el contrario, se mide la disminución de dicha intensidad, que produce el compuesto en estudio sobre uno que sea fluorescente de por sí.

Hemos de decir que son pocos los métodos cuantitativos que se basan en medidas directas y muy numerosos los que lo hacen en medidas indirectas. Sin embargo los métodos espectrofluorimétricos de determinación de iones inorgánicos, que implican la formación de un quelato fluorescente, se suelen considerar como métodos directos, siendo los que presentan un mayor espectro de posibilidades de aplicación, en el análisis de iones inorgánicos, ya que son más de 40 los iones metálicos que se pueden determinar por estos métodos (57).

Son numerosos los compuestos orgánicos que en la actualidad se utilizan como reactivos fluorogénicos para la determinación cuantitativa de iones metálicos. En los últimos 50 años de la Historia de la Química Analítica, casi se puede afirmar que ha sido este el campo que ha inundado persistentemente las páginas de la literatura mundial dedicada al tema.

Entre estos reactivos orgánicos empleados en la formación de quelatos fluorescentes destacan de forma extraordinaria algunas bases de Schiff aromáticas.

Las bases de Schiff son sustancias que poseen en su molécula la agrupación  $\text{-CH=N-}$  y por tanto tienen una estructura general  $\text{RCH=NR'}$ , donde R y R' pueden ser radicales de diversa naturaleza.

Fue Etling en 1840 y no Schiff quien por primera vez obtuvo complejos metálicos de una base de Schiff al hacer reaccionar sales de  $\text{Cu(II)}$ ,  $\text{Ni(II)}$  y  $\text{Fe(III)}$  con Salicilaldehído en presencia de Amoníaco (1). Posteriormente Schiff (2) demostró que los compuestos obtenidos por Etling eran complejos de la Salicilimina formada al reaccionar el Salicilaldehído con el Amoníaco, e intuyó, con buen criterio, que igual comportamiento que el Amoníaco podían tener las aminas primarias en tales reacciones. La comprobación experimental de esta hipótesis le condujo a la obtención de complejos metálicos derivados de diversas N-alquilsaliciliminas y N-arilsaliciliminas.

Es en la década de los años 50 cuando podemos decir que las bases de Schiff comienzan a investigarse como reactivos fluorescentes. Así, fué Holzbecher en 1952 (4) quien propone por primera vez la reacción de tres azometinas:

Saliciliden-o-aminofenol

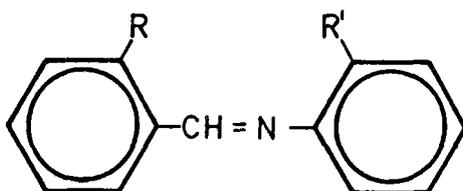
1-(Salicilidenamino)-2-naftol

1-(2-o-hidroxi-1-naftilmetilenamino)-2-naftol

para la detección de  $\text{Al(III)}$ .

Desde entonces han sido numerosos los artículos publicados sobre el tema. En las siguientes tablas se recoge la bibliografía encontrada hasta nuestros días, clasificada según el tipo base de Schiff y catión metálico estudiado.

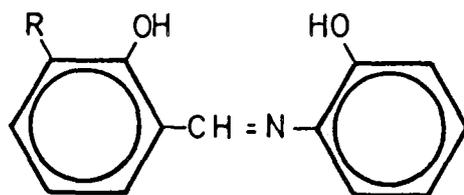
Tipo I



Nombre	R	R'	Cationes	Autores
Saliciliden-anilina	OH	H	Indicador	Holzbecher (9)
			ácido-base	Bozhevol'nov (13)
			Al(III)	
Benciliden-o-aminofenol	H	OH	" "	Bozhevol'nov (13)
Saliciliden-o-aminofenol	OH	OH	" "	Holzbecher (9)
			" "	Bozhevol'nov (10)
			Al(III)	Holzbecher (4-7,11)
			" "	Freeman (8)
			Be(II)	" "
			Ga(III)	" "
			In(III)	" "
			Mg(II)	" "
			Zn(II)	" "
			Al(III)	Bozhevol'nov (13,17)
			Zn(II)	Holzbecher (11)
			Ga(III)	Bozhevol'nov (15)
			Mg(II)	" "
			Al(III)	Klimov (21)
			Al(III)	Argauer (24)
			Al(III)	Lebed (25)
			Al(III)*	Dagnall (27,29)
			Ga(III)*	Dagnall (27)
			Al(III)	Kurbatova (28)
			Al(III)*	Morishige (43,49,51)
Ga(III)*	" "			
Be(II)*	Morishige (44,51)			
Al(III)*	Blanch (58)			

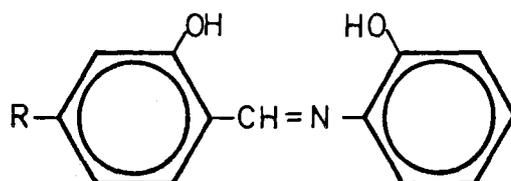
(\*),- Para este catión se propone método de determinación cuantitativa.

Tipo II



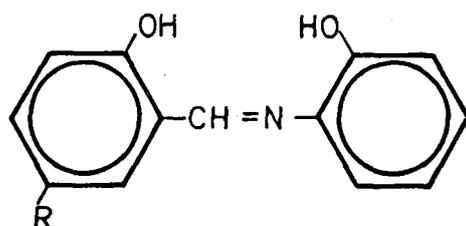
Nombre	R	Cationes	Autores	
3-Metilsaliciliden-o-aminofenol	CH <sub>3</sub>	Al(III)	Argauer (24)	
		Al(III)	Morishige (51)	
		Be(II)	" "	" "
		Ga(III)	" "	" "
3-Fenilsaliciliden-o-aminofenol	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Al(III)	Argauer (24)	
3-Clorosaliciliden-o-aminofenol	Cl	Al(III)	" "	" "
3-Metoxisaliciliden-o-aminofenol	OCH <sub>3</sub>	Al(III)	" "	" "
3-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol	OH	Al(III)	" "	" "

Tipo III



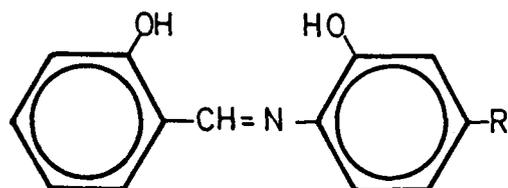
Nombre	R	Cationes	Autores	
4-Metilsaliciliden-o-aminofenol	CH <sub>3</sub>	Al(III)	Argauer	(24)
		Al(III)	Morishige	(49,51)
		Ga(III)	" "	" "
		Be(III)	Morishige	(51)
4-Fenilsaliciliden-o-aminofenol	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Al(III)	Morishige	(49)
		Ga(III)	" "	" "
4-Carboxisaliciliden-o-aminofenol	COOH	Al(III)	" "	" "
		Ga(III)	" "	" "
4-Metilformiatosaliciliden-o-aminofenol	COOCH <sub>3</sub>	Al(III)	" "	" "
		Ga(III)	" "	" "
4-Sulfónicosaliciliden-o-aminofenol	SO <sub>3</sub> H	Al(III)	" "	" "
		Ga(III)	" "	" "
4-Clorosaliciliden-o-aminofenol	Cl	Al(III)	" "	" "
		Ga(III)	" "	" "
4-Bromosaliciliden-o-aminofenol	Br	Al(III)	" "	" "
		Ga(III)	" "	" "
4-Iodosaliciliden-o-aminofenol	I	Al(III)	" "	" "
		Ga(III)	" "	" "
4-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol	OH	Al(III)	Argauer	(24)

Tipo IV



Nombre	R	Cationes	Autores
5-Metilsaliciliden-o-aminofenol	CH <sub>3</sub>	Al(III) Al(III) Be(II) Ga(III)	Argauer (24) Morishige (51) " " " "
5-Etilsaliciliden-o-aminofenol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Be(II) Al(III) Ga(III)	Morishige (44,51) Morishige (51) " "
5-Fenilsaliciliden-o-aminofenol	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Al(III) Al(III) Be(II) Ga(III)	Argauer (24) Morishige (51) " " " "
5-Clorosaliciliden-o-aminofenol	Cl	Al(III)	Argauer (24)
5-Terbutilsaliciliden-o-aminofenol	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	Be(II) Al(III) Ga(III)	Morishige (44) Morishige (51) " "
5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol	OH	Al(III)	Argauer (24)
5-Metoxidaliciliden-o-aminofenol	OCH <sub>3</sub>	Al(III)	" "
5-Nitrosaliciliden-o-aminofenol	NO <sub>2</sub>	Al(III)	" "
5-Iodosaliciliden-o-aminofenol	I	Al(III)	" "
5-Metilformiatosaliciliden-o-aminofenol	COOCH <sub>3</sub>	Al(III)	" "
5-Bromosaliciliden-o-aminofenol	Br	Al(III)	" "
5-(1,1-dimetilpropilo)saliciliden-o-aminofenol	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Al(III)	" "

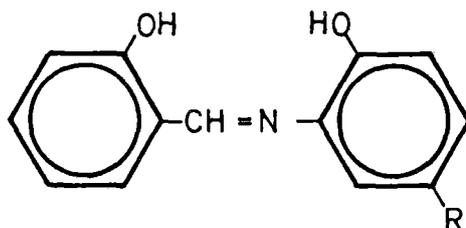
Tipo V



Nombre	R	Cationes	Autores	
Saliciliden-o-aminofenol-5-metilo	CH <sub>3</sub>	Al(III) Be(II) Ga(III)	Morishige (43,49,51)	" "
Saliciliden-o-aminofenol-5-cloro	Cl	Al(III)* Ga(III)	" "	" "
Saliciliden-o-aminofenol-5-bromo	Br	Al(III) Ga(III) Be(II)	Morishige (43,56)	" "
Saliciliden-o-aminofenol-5-iodo	I	Al(III) Ga(III)	Morishige (43)	" "
Saliciliden-o-aminofenol-5-metoxilo	OCH <sub>3</sub>	Al(III) Ga(III)	" "	" "
Saliciliden-o-aminofenol-5-etoxilo	OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Al(III) Ga(III)	" "	" "
Saliciliden-o-aminofenol-5-carboxilo	COOH	Al(III) Ga(III)*	" "	" "

(\*).- Para este catión se propone método de determinación cuantitativa.

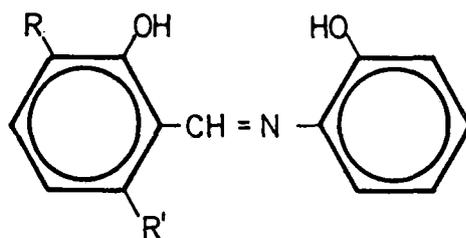
Tipo VI



Nombre	R	Cationes	Autores
Saliciliden-o-aminofenol-4-sulfónico	SO <sub>3</sub> H	Al(III) Ga(III) Al(III)* Be(II)*	Argauer (24) " " Morishige (43) Morishige (44,56)
Saliciliden-o-aminofenol-4-cloro	Cl	Al(III) Al(III) Ga(III)	Argauer (24) Morishige (49) " "
Saliciliden-o-aminofenol-4-bromo	Br	Al(III) Ga(III)	" " " "
Saliciliden-o-aminofenol-4-iodo	I	Al(III) Ga(III)	" " " "
Saliciliden-o-aminofenol-4-metilo	CH <sub>3</sub>	Al(III) Al(III) Ga(III) Be(II)	Argauer (24) Morishige (49,51) " " Morishige (51)
Saliciliden-o-aminofenol-4-fenilo	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Al(III) Al(III) Ga(III)	Argauer (24) Morishige (49) " "
Saliciliden-o-aminofenol-4-carboxilo	COOH	Al(III)* Ga(III)*	Morishige (43) " "
Saliciliden-o-aminofenol-4-metil-formiato	COOCH <sub>3</sub>	Al(III) Ga(III)	" " " "

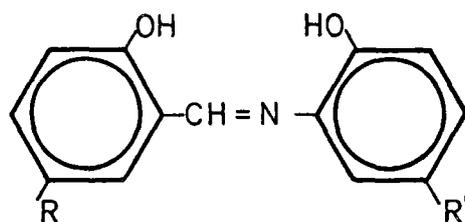
(\*),- Para este catión se propone método de determinación cuantitativa.

Tipo VII



Nombre	R	R'	Cationes	Autores
3-Isopropil-6-metil-saliciliden-o-aminofenol	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH	CH <sub>3</sub>	Al(III)	Argauer (24)
3-Metil-6-isopropil-saliciliden-o-aminofenol	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH	Al(III)	" "

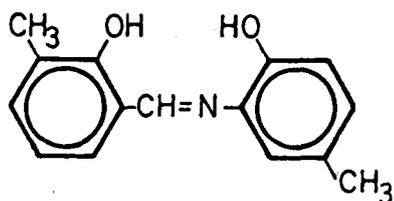
Tipo VIII



Nombre	R	R'	Cationes	Autores
5-Metilsaliciliden-o-aminofenol-4-metilo	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Al(III) Al(III) Be(II)* Ga(III)	Argauer (24) Morishige (51) Morishige (44,51) Morishige (51)
5-Clorosaliciliden-o-aminofenol-4-cloro	Cl	Cl	Al(III) Be(II)	Argauer (24) Morishige (44)
5-Etilsaliciliden-o-aminofenol-4-metilo	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	Al(III) Be(II) Ga(III)	Morishige (51) Morishige (44,51) Morishige (51)
5-Fenilsaliciliden-o-aminofenol-4-fenilo	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Al(III)	Argauer (24)
5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-4-cloro	Br	Cl	Al(III)	" "
5-Terbutilsaliciliden-o-aminofenol-4-metilo	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Al(III) Be(II) Ga(III)	Morishige (51) " " " "
5-Fenilsaliciliden-o-aminofenol-4-metilo	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub>	Al(III) Be(II) Ga(III)	" " " " " "

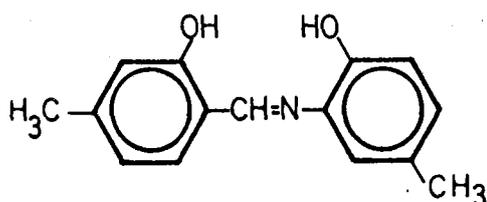
(\*).- Para este catión se propone método de determinación cuantitativa.

Bases de Schiff no clasificables en los tipos anteriores



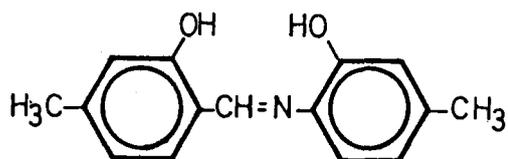
Al(III)	Morishige (51)
Be(II)	"" ""
Ga(III)	"" ""

3-Metilsaliciliden-o-aminofenol-4-metilo



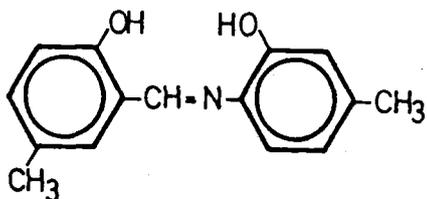
Al(III)	Morishige (51)
Be(II)	"" ""
Ga(III)	"" ""

4-Metilsaliciliden-o-aminofenol-4-metilo



Al(III)*	Morishige (51)
Be(II)*	"" ""
Ga(III)*	"" ""

4-Metilsaliciliden-o-aminofenol-5-metilo

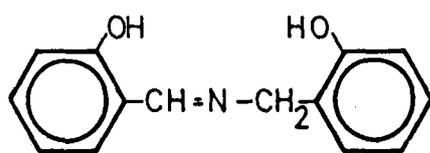


Al(III)	Argauer (24)
Be(II)*	Morishige (44)

5-Metilsaliciliden-o-aminofenol-5-metilo

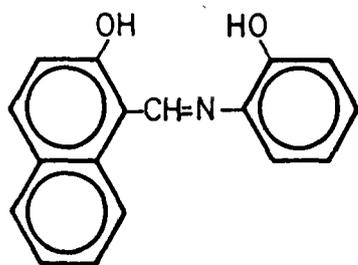
-----

(\*),- Para este catión se propone método de determinación cuantitativa.



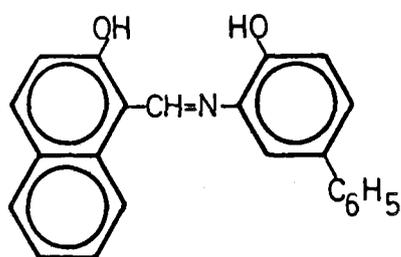
Saliciliden-o-hidroxi-bencilamina

Al(III)*	Holzbecher (40)
Be(II)*	" "
Ga(III)	" "
Sc(III)	" "
Zn(II)*	" "



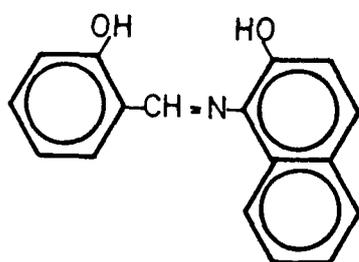
2-Hidroxi-naftaliden-o-aminofenol

Al(III)	Bozhev'nov (13)
Al(III)	Argauer (24)



2-Hidroxi-naftiliden-o-aminofenol-4-fenilo

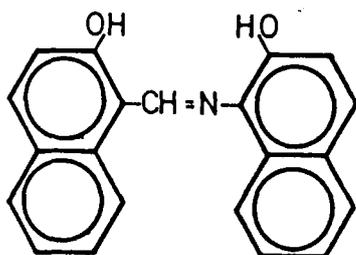
Al(III)	Argauer (24)
---------	--------------



Saliciliden-2-aminonaftol

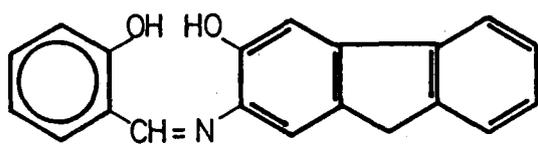
Al(III)	Holzbecher (5)
Al(III)	Bozhev'nov (13)

-----  
 (\*).- Para este catión se propone método de determinación cuantitativa.



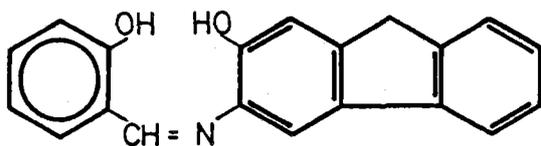
2-Hidroxinaftiliden-2-aminonaftol

Al(III) Holzbecher (5)  
Al(III) Bozhevol'nov (13)



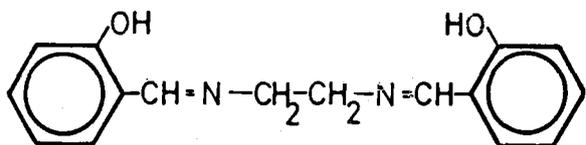
Saliciliden-2-amino-3-hidroxi fluoreno

Al(III) Argauer (24)  
Al(III)\* White (34)



Saliciliden-3-amino-2-hidroxi fluoreno

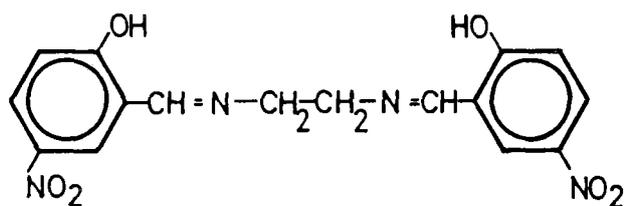
Al(III) Argauer (24)



Bis-saliciliden-etilendiamina

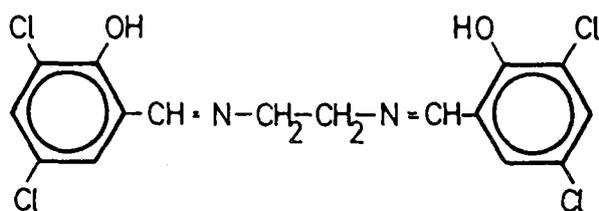
Al(III) Freeman (8)  
In(III) " "  
Mg(II) " "  
Zn(II) " "  
Mg(II)\* White (12)  
Mg(II) Dagnall (29)  
Eu(II) Kleinerman (37)

(\*),- Para este catión se propone método de determinación cuantitativa.



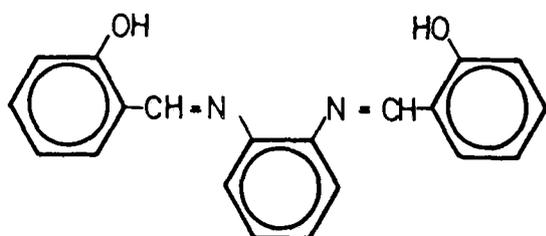
Eu(II) Kleinerman (37)

Bis-5-Nitrosalicylidene-etilendiamina



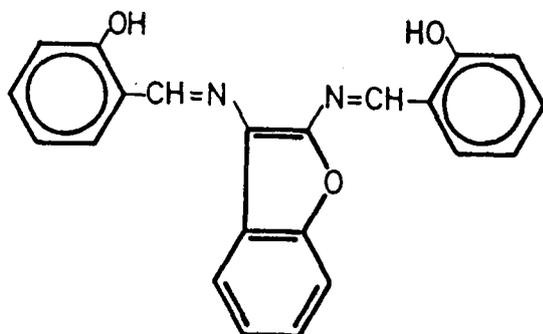
Eu(II) Kleinerman (37)

Bis-3,5-Diclorosalicylidene-etilendiamina



Mg(II) Dagnall (29)

Bis-salicylidene-1,2-diaminobenceno

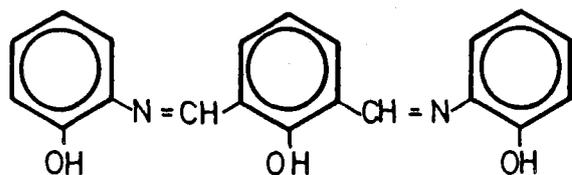


Mg(II)\* Dagnall (29,33)

Bis-salicylidene-2,3-diaminobenzofurano

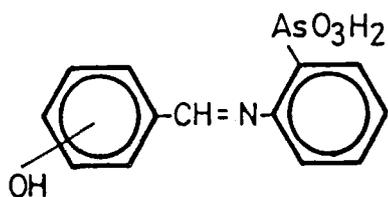
-----

(\*),- Para este catión se propone método de determinación cuantitativa.



Al(III)\* Avidad (54)

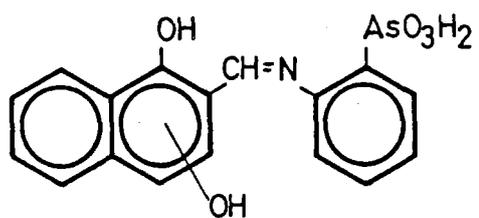
2,6-Bis(o-hidroxi) feniliminonetil-1-  
-hidroxibenceno



Al(III) Tashkhodzhaev (53)

Be(II) " "

Derivados n-Hidroxibenciliden-o-arsenazoanilina



Al(III) Tashkhodzhaev (52)

Be(II) " "

Derivados n,2-Dihidroxi-naftiliden-o-arsenazoanilina

-----

(\*),- Para este catión se propone método de determinación cuantitativa.

De la observación de las anteriores tablas destaca el hecho de que aunque son muy numerosos los estudios realizados sobre los quelatos fluorescente, 172, solo 24 han sido propuestos para la determinación cuantitativa del catión correspondiente mediante métodos, generalmente muy incompletos, cuyas principales características se recogen en la Tabla 1.2. Este hecho es debido a que buena parte de los trabajos están orientados hacia estudios estructurales y en muchas ocasiones con datos meramente cualitativos sobre el comportamiento de estos reactivos como formadores de quelatos fluorescentes. Generalmente, se reconoce su potencialidad en el análisis cuantitativo, aunque la mayor parte de las veces no pase de una mera posibilidad.

Desde el punto de vista estructural (3,8,13,,22,24,31,38,41) es de gran importancia el artículo publicado en 1956 por Freeman y White (8) donde estudian las características y tipos de enlaces necesarios para que se formen compuestos quelatos fluorescentes con las azometinas, tanto aromáticas como alifáticas, y los correspondientes cationes.

En él indican que dos grupos OH en posición orto respecto del grupo azometínico, son más eficientes que uno solo, cuando se trata de obtener quelatos fluorescentes. Igualmente demuestran que la intensidad de fluorescencia del quelato aumenta con la razón  $e^2/r$  (cuadrado de la carga iónica/radio del ión). Comprueban asimismo la influencia del pH, temperatura y disolvente empleado.

Su aportación más interesante la consiguen al demostrar que "las moléculas que poseen un eje, alrededor del cual pueden girar dos partes voluminosas de las mismas, poseen condiciones apropiadas para producir fluorescencia".

Las bases de Schiff estudiadas por estos autores (8) son:

Saliciliden-o-aminofenol

Benciliden-o-aminofenol

Bis-saliciliden-etilendiamino

Saliciliden-anilo

Bis-saliciliden-o-fenilidendiamina

así como otros 12 compuestos íntimamente relacionados con los anteriormente citados.

En 1959 Bozhevól'nov (13) realiza un estudio sobre la relación existente entre la fluorescencia y la estructura molecular de los reactivos e indicadores fluorescentes. En este trabajo su autor concluye que "la aparición de fluorescencia al formarse el complejo, está acompañada de una transformación de la molécula hacia un estado coplanar". Haciendo uso de de estas ideas diseñó y estudió experimentalmente las siguientes bases de Schiff:

Saliciliden-anilina

Benciliden-*o*-aminofenol

Saliciliden-2-hidroxi-1-naftilamina

(2-Hidroxi-naftilmetilen)-*o*-aminofenol

(2-Hidroxi-naftilmetilen)-2-hidroxi-1-naftilamina

confirmandose en todos los casos las hipótesis previstas teóricamente.

En su artículo publicado en 1964 Argauer y White (24) estudian la importancia de los efectos mesomérico e inductivo sobre la intensidad de fluorescencia en complejos de Al(III) y Mg(II) con azometinas derivadas del Salicilaldehído.

En la revista *Lipids* de 1973 aparece un artículo de Malshet y Tappel (41) en el que se examinan cinco bases de Schiff. Su interés radica en que sus autores demuestran que "es necesaria la existencia de un grupo electrón-donante, en conjugación con el grupo imino, para que se forme una estructura que favorezca la fluorescencia del complejo".

Con relación a las aplicaciones analíticas cuantitativas, solamente las 13 bases de Schiff que se relacionan en en la Tabla I.1 han sido propuestas para la determinación espectrofluorimétrica de Al(III), Be(II), Ga(III), Mg(II) y Zn(II). En la Tabla I.2 se resumen las principales características de los métodos propuestos.

Tabla I.1

Base de Schiff	Número
Saliciliden-o-aminofenol	I
Saliciliden-o-aminofenol-5-cloro	II
Saliciliden-o-aminofenol-5-carboxilo	III
Saliciliden-o-aminofenol-4-sulfónico	IV
Saliciliden-o-aminofenol-4-carboxilo	V
5-Metilsaliciliden-o-aminofenol-4-metilo	VI
4-Metilsaliciliden-o-aminofenol-5-metilo	VII
5-Metilsaliciliden-o-aminofenol-5-metilo	VIII
Saliciliden-o-hidroxibencilamina	IX
Saliciliden-2-amino-3-hidroxifluoreno	X
Bis-saliciliden-etilendiamina	XI
Bis-saliciliden-2,3-diaminobenzofurano	XII
2,6-Bis[(o-hidroxi) feniliminometil]-1-hidroxibenceno	XIII

Tabla 1.2

Catión	Reactivo	$\lambda_{exc}$ (nm)	$\lambda_{em}$ (nm)	pH	Medio	Tampón	L. Detección (ppb)	Cita
Al(III)	I	410	520	5,6	Acetona(5 %)	HAc/NH <sub>4</sub> Ac	0,3	27,30.
"	I	410	515	5,5	DMF(4-8 %)	" "	0,2	43,49,51.
"	I	400	508	5,8	Etanol(2 %)	HAc/NaAc	0,020	58.
"	II	405	490	5,3	" "	HAc/NH <sub>4</sub> Ac	1,2	43,49,51.
"	IV	405	480	5,5	" "	" "	1,4	43.
"	V	400	490	5,0	" "	" "	2	43.
"	VII	405	500	5,5	" "	" "	0,2	51.
"	IX	Filtros		5,0	Etanol(30 %)	HAc/NaAc	2,4	40.
"	XI	445	525	5,2	Etanol(10 %)	HAc/NH <sub>4</sub> Ac	<0,2	34.
"	XIII	420	525	4,8	Etanol(12 %)	HAc/NaAc	0,1	54.
Be(II)	I	337	440	10,5	DMF(4-8 %)	NH <sub>4</sub> Cl/NH <sub>3</sub>	4	51.
"	IV	343	430	9,7	" "	" "	15	44.
"	VI	353	450	10,0	" "	" "	25	44.
"	VII	340	437	9,5	" "	" "	0,8	51.
"	VIII	350	450	9,5	" "	" "	20	44.
"	IX	Filtros		5,0	Etanol(30 %)	HAc/NaAc	1	40.
Ga(III)	I	420	520	4,0	Acetona(5 %)	HAc/HClAc/NH <sub>3</sub>	6,3	27.
"	I	410	515	4,0	DMF(4-8 %)	HAc/NH <sub>4</sub> Ac	8	49,51.
"	III	420	510	3,5	" "	" "	10	43.
"	V	400	495	3,5	" "	" "	8	43.
"	VII	420	510	4,0	" "	" "	4	51.
Mg(II)	XI	355	439		DMF	Isobutilamina/ HAc	0,2	12.
"	XII	475	545	10,5	Metanol(50 %)	Diethylamina/HCl	1	29,33.
Zn(II)	IX	Filtros		8,75	Dioxano(50 %)	NH <sub>4</sub> Cl/NH <sub>3</sub>	2	40.

De la observación de la anterior Tabla I.2 merece destacar los bajos límites de detección que poseen la mayor parte de los métodos propuestos. Sin embargo, los autores no son muy exhaustivos en los estudios realizados pues, como indicábamos anteriormente, dejan variables sin estudiar o lo hacen muy superficialmente, como es el caso de las interferencias, donde solo se tratan, en los escasos trabajos en que se investigan, de una forma meramente cualitativa.

En otro orden de cosas, según hemos indicado en páginas anteriores, en la aplicación de métodos para el análisis de trazas, de elevada sensibilidad, basados en la formación de complejos fluorescentes, influyen decisivamente tanto su sensibilidad intrínseca como la metodología analítica aplicada. De tal forma esta afirmación es cierta, que son muy numerosos los procedimientos analíticos cuantitativos con límites de detección medios que han sido aplicados al análisis de trazas mediante el empleo de una adecuada técnica de preconcentración. Las experiencias realizadas en este campo por F. Capitán y col. han permitido proponer una nueva técnica, la Espectrofluorimetría de Cambio Iónico (58), técnica muy similar, en fundamento, a la Espectrofotometría de Cambio Iónico desarrollada por K. Yoshimura y col. (48), y que básicamente consiste en añadir una cierta cantidad de resina de cambio iónico a un gran volumen de disolución que contiene el elemento traza a determinar en forma de quelato fluorescente. Mediante la agitación conveniente del sistema, el complejo fluorescente se incorpora al sustrato sólido aumentando la intensidad de fluorescencia emitida al haber experimentado un proceso de concentración.

Todos los hechos anteriormente descritos unido a que en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Granada desde hace años se viene trabajando en una línea de investigación

dedicada a estudiar el comportamiento y aplicaciones analíticas de bases de Schiff, fruto de la cual ha sido la realización de 5 Tesis Doctorales, 9 Memorias de Licenciatura y 38 artículos publicados en diversas revistas, nos han inducido a proseguir su estudio seleccionando para ello el siguiente grupo de compuestos:

- I.- Saliciliden-*o*-aminofenol (SOAF)
- II.- 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol (5-ClSOAF)
- III.- 5-Bromosaliciliden-*o*-aminofenol (5-BrSOAF)
- IV.- 5-Hidroxisaliciliden-*o*-aminofenol (5-OH-SOAF)
- V.- 5-Metoxisaliciliden-*o*-aminofenol (5-MeOSOAF)
- VI.- Saliciliden-anilina (SA)
- VII.- Benciliden-*o*-aminofenol (BOAF)

## CAPITULO I

SINTESIS E IDENTIFICACION DE LAS  
BASES DE SCHIFF OBJETO DE ESTUDIO



## SINTESIS E IDENTIFICACION DE LAS BASES DE SCHIFF.

### PARTE EXPERIMENTAL.

#### *Aparatos y condiciones operatorias.-*

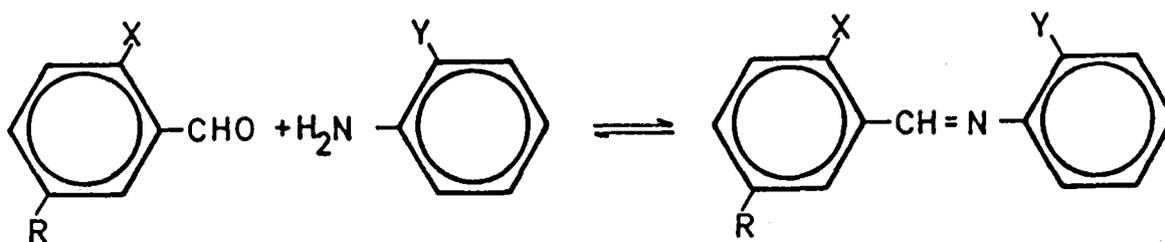
- Los puntos de fusión se han determinado en un aparato para tal fin BÜCHI Pat. 320388.
- Los análisis cuantitativos de C, H y N se han realizado en un horno de combustión CARLO ERBA (Elemental Analyzer mod. 1106).
- Los espectros IR se registraron en un espectrofotómetro IR PERKIN-ELMER mod. 983 entre 4000 y 300  $\text{cm}^{-1}$ , usando la técnica de pastilla de KBr.
- Los espectros de RMN de protones se registraron en un espectrómetro BRUKER mod. WP 80SY. El disolvente utilizado fue DMS y la referencia interna TMS.

#### *Productos empleados en las síntesis de las bases de Schiff.-*

- o-Aminofenol para síntesis MERCK.
- Salicilaldehído para síntesis MERCK.
- 5-Bromosalicilaldehído GC EGA-CHIMIE.
- 5-Hidroxisalicilaldehído GC EGA-CHIMIE.
- 5-Metoxisalicilaldehído GC EGA-CHIMIE.
- Benzaldehído para síntesis MERCK.
- Anilina para análisis MERCK. Purificada siempre antes de su uso por destilación a vacío.
- Etanol PANREAC del 99.5 % bidestilado.

### SINTESIS DE LOS REACTIVOS.

Todas las bases de Schiff objeto del estudio fueron sintetizadas tomando como base el método general propuesto por Freeman y White (8), consistente en la condensación de los aldehidos y aminas correspondientes en medio etanólico, según la siguiente reacción general:



Para ello se mantiene a reflujo durante 30 minutos una mezcla equimolecular de aldehido y de la amina correspondientes. Tras su condensación se enfría la mezcla, se recoge el precipitado, se lava y se recristaliza.

A continuación se comenta la síntesis detallada de cada uno de estos reactivos.

#### *Síntesis del Saliciliden-*o*-aminofenol.-*

Se disuelven 0.51 g (0.0047 moles) de *o*-Aminofenol en 10 mL de etanol del 99.5 % hirviendo.

A continuación, se añaden 0.56 g (0.0047 moles) de Salicilaldehido (líquido) sobre la disolución de amina, se adicionan 10 mL de etanol del 99.5 % hirviendo y se mantiene la mezcla a reflujo a una temperatura de 95-100 °C durante 30 minutos.

Una vez transcurrido este tiempo, se enfría la mezcla en un baño de hielo con lo que se consigue que aparezca el producto sólido, el cual se filtra a través de un crisol de vidrio molido y se lava con etanol del 99.5 % frío.

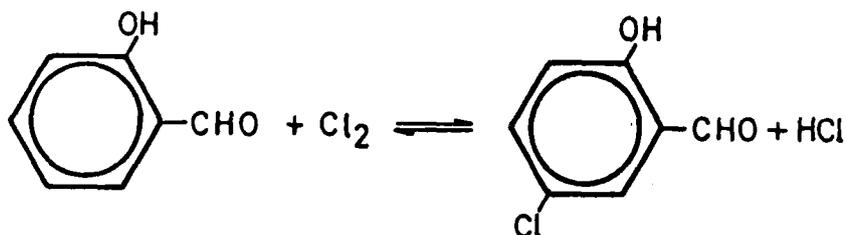
El compuesto obtenido es de aspecto cristalino, en forma de agujas brillantes de color naranja-rojizo, forma que persiste tras

su recristalización por 2 veces en etanol del 99.5 % y posterior desecación a vacío.

El rendimiento para esta reacción de síntesis fué del 77 %.

**Síntesis del 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol.-**

Para la obtención de esta azometina fue necesario sintetizar previamente el 5-Clorosalicilaldehído, por no ser éste un producto comercial. Tal obtención se llevó a cabo mediante reacción directa entre el Salicilaldehído y el Cloro:



A tal fin, se hizo pasar una corriente de cloro por 10 mL de Salicilaldehído hasta conseguir la formación de un abundante precipitado de 5-Clorosalicilaldehído. La reacción se dá por finalizada en el momento en que se comprueba, con la ayuda de de un papel indicador humedecido con agua, que los vapores desprendidos dejan de ser ácidos.

Se filtra dicho precipitado y se trata con etanol del 99.5 % en caliente hasta su total disolución.

La disolución obtenida se enfría en baño de hielo apareciendo un precipitado blanco de aspecto cristalino, cuyos cristales tienen forma de agujas.

El compuesto así obtenido se recristalizó 2 veces más en etanol del 99.5 % y se secó en desecador a vacío.

Una vez obtenido el aldehído de partida, se procedió a la síntesis de la azometina, para lo que se disolvieron 0.63 g (0.0040 moles) de 5-Clorosalicilaldehído en 10 mL de etanol del 99.5 %.

Igualmente, se disolvieron 0.44 g (0.0040 moles) de o-Aminofenol en 10 mL de etanol del 99.5 % hirviendo.

A continuación, se vertió la disolución del aldehído sobre la disolución de la amina y se mantuvo la mezcla a reflujo durante 30 minutos a una temperatura de 95-100 °C.

Transcurrido este tiempo, se enfrió la mezcla en baño de hielo, pero al comprobar que no aparecía producto sólido alguno, se añadió agua bidestilada fría gota a gota hasta conseguir un abundante precipitado, que se filtró en crisol de vidrio molido y se lavó con una mezcla agua-etanol 1:1 fría, recristalizándolo 2 veces a continuación

Su aspecto es cristalino y su color amarillo-anaranjado.

El rendimiento para esta reacción de síntesis fué del 68 %.

#### *Síntesis del 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.-*

Se disuelven 0.69 g (0.0034 moles) de 5-Bromosalicilaldehído en 10 mL de etanol del 99.5 % hirviendo y 0.37 g (0.0034 moles) de o-Aminofenol en 10 mL de etanol del 99.5 % hirviendo también.

A continuación, se adiciona la disolución del aldehído a la de la amina y se mantiene la mezcla a reflujo durante 30 minutos a una temperatura de 95-100 °C.

Pasado dicho tiempo, se enfría la mezcla en baño de hielo al objeto de que cristalice el producto, después de lo cual se filtra en crisol de vidrio molido y se lava con etanol del 99.5 % frío.

El compuesto así sintetizado es de aspecto cristalino-algodonoso, y sus cristales muestran forma de agujas muy finas de color amarillo-anaranjado, después de recristalizado 2 veces en etanol del 99.5 % y secado en desecador a vacío.

El rendimiento de la obtención fué del 92 %.

*Síntesis del 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol.-*

Se disuelven 0.60 g (0.0044 moles) de 5-Hidroxisalicilaldehído en 10 mL de etanol del 99.5 % hirviente y 0.48 g (0.0044 moles) de o-Aminofenol en 10 mL de etanol del 99.5 %.

A continuación, se vierte la disolución del aldehído sobre la disolución de la amina y se mantiene la mezcla a reflujo durante 30 minutos a una temperatura de 95-100 °C.

Una vez transcurrido este tiempo, se enfría la mezcla en un baño de hielo con lo que se consigue separar el producto sólido, el cual se filtra en crisol de vidrio molido y se lava con etanol del 99.5 % frío.

El producto obtenido recristalizado en etanol del 99.5 % y secado en desecador en vacío es un sólido formado por cristales brillantes de color rojo.

El rendimiento para esta síntesis fué del 80 %.

*Síntesis del 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol.-*

Se disuelven 0.45 g (0.0041 moles) de o-Aminofenol en 10 mL de etanol del 99.5 % hirviente.

A continuación se añaden 0.63 g (0.0041 moles) de 5-Metoxisalicilaldehído (líquido) sobre la disolución de la amina, se adicionan 10 mL de etanol del 99.5 % hirviente y se mantiene la mezcla a reflujo a una temperatura de 95-100 °C durante 30 minutos.

Se enfría después la mezcla en un baño de hielo con lo que transcurridos unos minutos aparece un sólido, el cual, separado por filtración y recristalizado en etanol del 99.5 %, se presenta en forma de cristales brillantes de color rojo-granate.

El rendimiento de esta reacción de síntesis fué del 74 %

***Síntesis de la Saliciliden-anilina.-***

Se pesan 0.47 g (0.0051 moles) de Anilina, recién destilada, y se mezclan con 10 mL de etanol del 99.5 % hirviente.

A continuación, se añaden 0.62 g (0.0051 moles) de Salicilaldehído (líquido) sobre la disolución de la amina, se adicionan 10 mL de etanol del 99.5 % hirviente y se mantiene la mezcla a reflujo durante 30 minutos a una temperatura de 95-100 °C.

Transcurrido dicho tiempo, se enfría la mezcla en baño de hielo y se añade gota a gota agua bidestilada fría hasta conseguir una turbidez persistente a la agitación.

Dejada la mezcla en reposo, aparece un sólido que se filtra en crisol de vidrio molido y se lava con una mezcla agua-etanol 1:1 fría.

Con las aguas de filtrado se vuelve a repetir la operación anteriormente relatada.

El sustancia es de aspecto cristalino, siendo los cristales brillantes, en forma de agujas muy finas y de color amarillo claro.

El producto obtenido se recrystalizó 2 veces siguiendo el procedimiento habitual y se secó en desecador a vacío.

El rendimiento conseguido fué, en esta ocasión, del 79 %.

***Síntesis del Benciliden-o-aminofenol.-***

Se disuelven 0.55 g (0.0051 moles) de o-Aminofenol en 10 mL de etanol del 99.5 % hirviente y se añaden 0.54 g (0.0051 moles) de Benzaldehído (líquido) sobre la disolución de la amina.

Se adicionan después 10 mL de etanol del 99.5 % hirviente y se mantiene la mezcla a reflujo durante 30 minutos a una temperatura de 95-100 °C.

Una vez transcurrido este tiempo, se enfría la mezcla en baño de hielo y se añade gota a gota agua bidestilada fría hasta aparición de un abundante precipitado que se filtra en crisol de vidrio molido y se lava con una mezcla agua-etanol 1:1 fría.

El compuesto así sintetizado una vez recristalizado según la técnica habitual y desecado es de aspecto cristalino-algodonoso. Los cristales tienen forma de agujas muy finas de color blanco.

El rendimiento fué del 78 %.

CRITERIOS DE PUREZA E IDENTIFICACION.

*PUNTOS DE FUSION.*

En la Tabla 1.1 se recogen los valores de los puntos de fusión obtenidos para los distintos productos sintetizados, así como los encontrados en bibliografía.

Tabla 1.1

Azometina	Punto de Fusión (°C)	
	Experimental	Bibliografía
I	184.5-185	185-185.5 (8)
II	184-185	184.5-185 (8)
III	188.5	188-188.7 (8)
IV	246.5	246-247 (8)
V	155-156	155-155.6 (8)
VI	50.5-51	51 (59)
VII	89	

Tambien se determinó el punto de fusión del 5-Clorosalicilaldehído, sintetizado para la obtención de la base de Schiff II, que resultó ser 98.5-99 °C, coincidente con el citado en la bibliografía (98-99.5 °C) (60).

**ANÁLISIS ELEMENTALES.**

Se han realizado los análisis elementales (C, H, N) de los ocho productos sintetizados, comprobándose en todos los casos que los datos experimentales coinciden con los calculados teóricamente.

Los resultados expuestos como experimentales corresponden a la media de tres análisis efectuados a tres muestras diferentes de cada uno de los productos obtenidos.

En la Tabla 1.2 se recogen los datos obtenidos y se comparan con los calculados teóricamente.

Tabla 1.2

Azometina		% C	% H	% N
I	Experimental.....	73.09	5.01	6.39
	Cal. para $C_{13}H_{11}O_2N$ ....	73.24	5.16	6.57
II	Experimental.....	63.01	3.82	5.53
	Cal. para $C_{13}H_{10}O_2NCl$ ..	63.03	4.04	5.66
III	Experimental.....	53.62	3.34	4.61
	Cal. para $C_{13}H_{10}O_2NBr$ ..	53.42	3.42	4.79
IV	Experimental.....	67.90	4.58	5.92
	Cal. para $C_{13}H_{11}O_3N$ ....	68.12	4.80	6.11
V	Experimental.....	69.10	5.42	5.63
	Cal. para $C_{14}H_{13}O_3N$ ....	69.14	5.35	5.76
VI	Experimental.....	79.36	5.68	7.04
	Cal. para $C_{13}H_{11}ON$ ....	79.19	5.58	7.11
VII	Experimental.....	79.29	5.39	7.18
	Cal. para $C_{13}H_{11}ON$ ....	79.19	5.58	7.11
-----				
5-Clorosalicilaldehido:				
	Experimental.....	53.48	3.03	--
	Cal. para $C_7H_5O_2Cl$ ....	53.67	3.19	--
-----				

### ***ESPECTROS INFRARROJOS.***

Los espectros infrarrojos fueron registrados entre 4000 y 300  $\text{cm}^{-1}$  usando la técnica de pastilla de KBr.

En la bibliografía consultada hemos encontrado bastantes datos acerca de los espectros infrarrojos de bases de Schiff de tipo aromático (61-66), lo que nos ha sido de gran utilidad a la hora de la asignación de bandas.

A continuación se comentan los espectros infrarrojos obtenidos para cada uno de los productos anteriormente sintetizados.

#### ***Espectro IR del Saliciliden-o-aminofenol.-***

En la Figura nº 1.1 se muestra el espectro IR registrado y en la Tabla 1.3 se han recogido las bandas más significativas del espectro y sus correspondientes asignaciones.

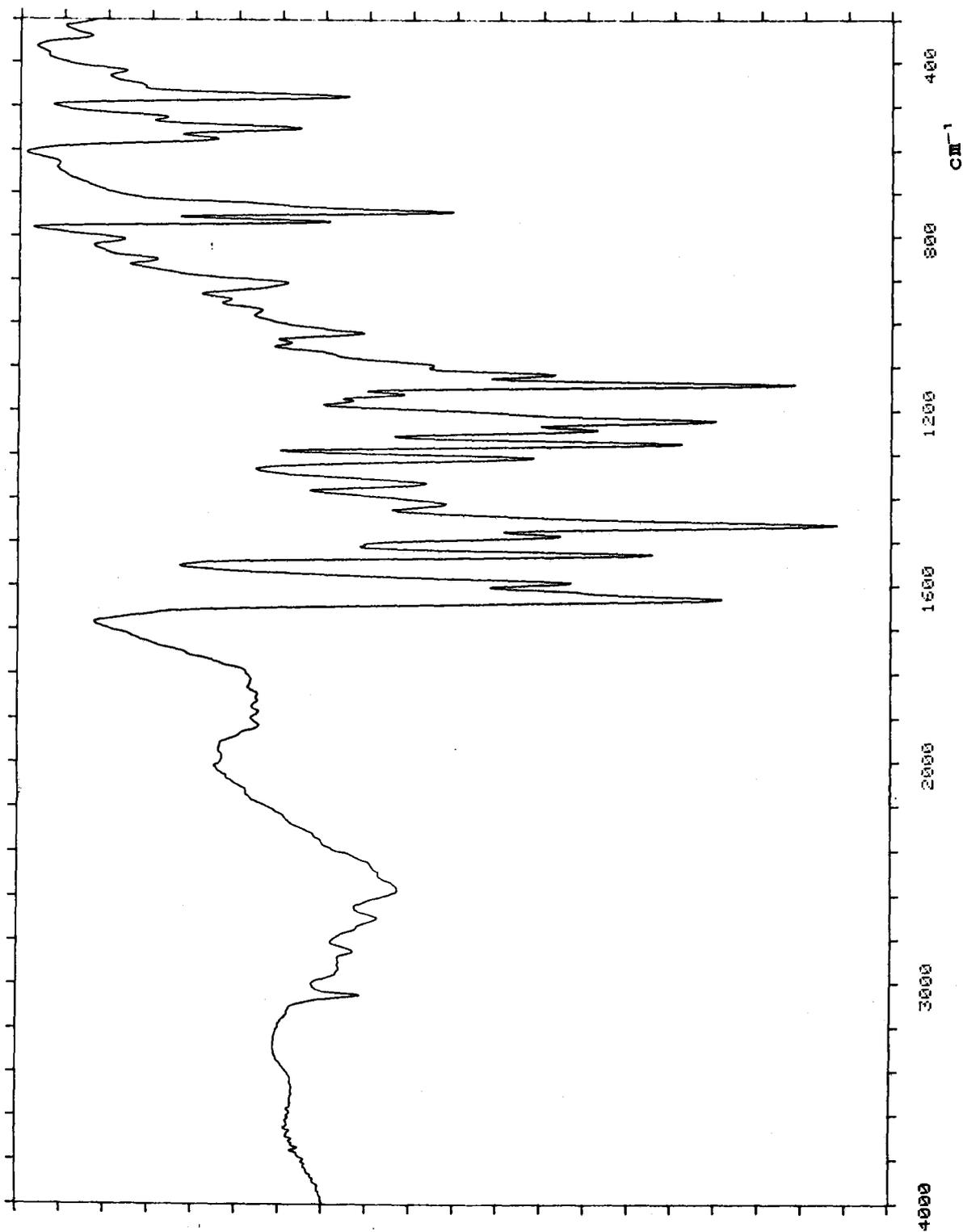


Figura nº 1.1. Espectro IR del Saliciliden-o-aminofenol.

Tabla 1.3

Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )	Asignaciones
3047w	v(C-H)aromáticos.
2700vw	v(-OH)
1629s	v(C=N)azometínico.
1591m	v(C=C)aromáticos.
1527s	
1484m	
1459s	δ(=CH)en el plano.
1274s	v(C-N).
1222s	δ(C=C)en el plano.
1139s	
1022w	δ(C-H)en el plano.
764m	v(C-H)aromáticos
742s	fuera del plano.

s = fuerte, m = mediana, w = débil, vw = muy débil.

*Espectro IR del 5-Clorosaliciliden- $\alpha$ -aminofenol.-*

En la Figura nº 1.2 se muestra el espectro IR registrado y en la Tabla 1.4 se han recogido las bandas más significativas del espectro y sus correspondientes asignaciones.

Tabla 1.4

Bandas de Absorción ( $\text{cm}^{-1}$ )	Asignaciones
3047w	$\nu(\text{C-H})$ aromáticos.
2923w	$\nu(=\text{CH})$
2700vw	$\nu(-\text{OH})$
1627s	$\nu(\text{C=N})$ azometínico.
1507s	$\nu(\text{C=C})$ aromáticos.
1457s	$\delta(=\text{CH})$ en el plano.
1269s	$\nu(\text{C-N})$ .
1222s	$\delta(\text{C=C})$ en el plano.
1143s	
1128s	
1112s	
1031m	$\delta(\text{C-H})$ en el plano.
878w	$\delta(=\text{CH})$ fuera del plano.
826s	$\nu(\text{C-H})$ aromáticos fuera del plano.
755s	
686m	$\nu(\text{C-Cl})$ simétrica
639w	

s = fuerte, m = mediana, w = débil, vw = muy débil.

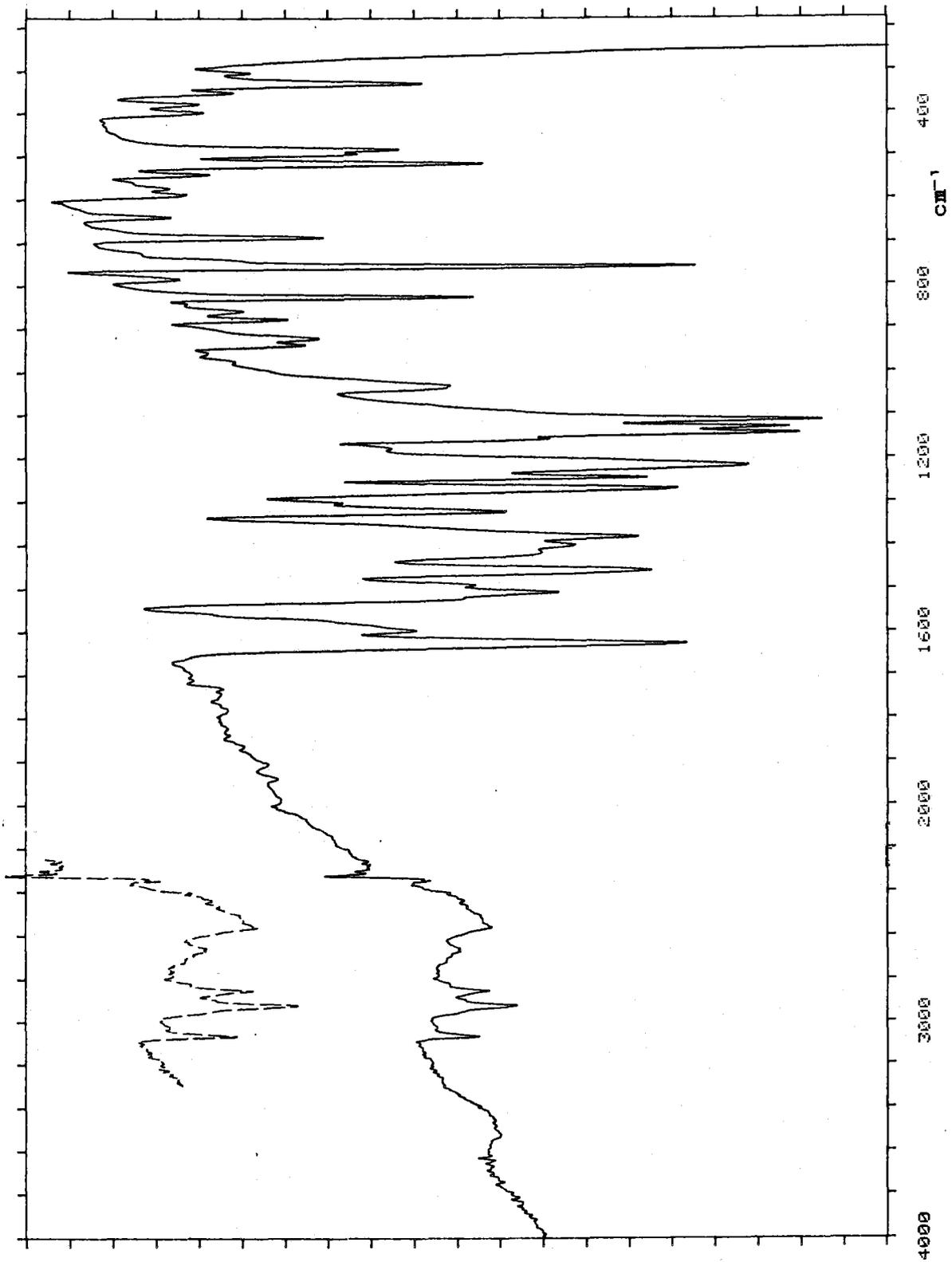


Figura nº 1.2. Espectro IR del 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol.

*Espectro IR del 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.-*

En la Figura nº 1.3 se muestra el espectro IR registrado y en la Tabla 1.5 se han recogido las bandas más significativas del espectro y sus correspondientes asignaciones.

Tabla 1.5

Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )	Asignaciones
3047w	$\nu(\text{C-H})$ aromáticos.
2923w	$\nu(=\text{CH})$
2700vw	$\nu(-\text{OH})$
1625s	$\nu(\text{C=N})$ azometínico.
1504s	$\nu(\text{C=C})$ aromáticos.
1457s	$\delta(=\text{CH})$ en el plano.
1271s	$\nu(\text{C-N})$ .
1221s	$\delta(\text{C=C})$ en el plano.
1142s	
1029m	$\delta(\text{C-H})$ en el plano.
878w	$\delta(=\text{CH})$ fuera del plano.
823m	$\nu(\text{C-H})$ aromáticos
754s	fuera del plano.
669m	$\nu(\text{C-Br})$ simétrica
621m	

s = fuerte, m = mediana, w = débil, vw = muy débil.

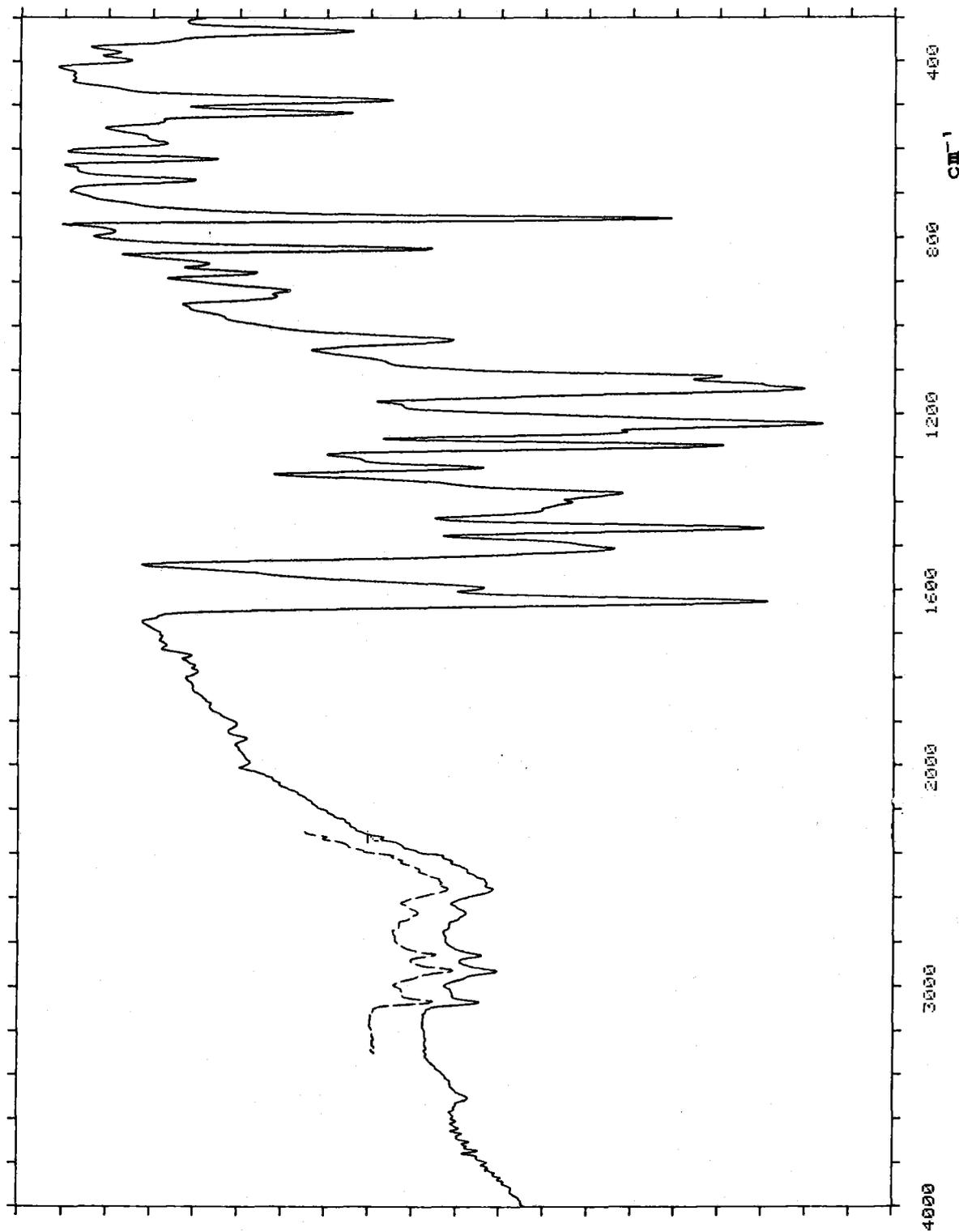


Figura nº 1.3. Espectro IR del 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.

*Espectro IR del 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol.-*

En la Figura nº 1.4 se muestra el espectro IR registrado y en la Tabla 1.6 se han recogido las bandas más significativas del espectro y sus correspondientes asignaciones.

Tabla 1.6

Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )	Asignaciones
3047w	v(C-H)aromáticos.
2923w	v(=CH)
2700vw	v(-OH)
1637s	v(C=N)azometínico.
1598m 1547m	v(C=C)aromáticos.
1460s	δ(=CH)en el plano.
1278m	v(C-N).
1204s 1135s	δ(C=C)en el plano.
1033m	δ(C-H)en el plano.
751s	v(C-H)aromáticos fuera del plano.

s = fuerte, m = mediana, w = débil, vw = muy débil.

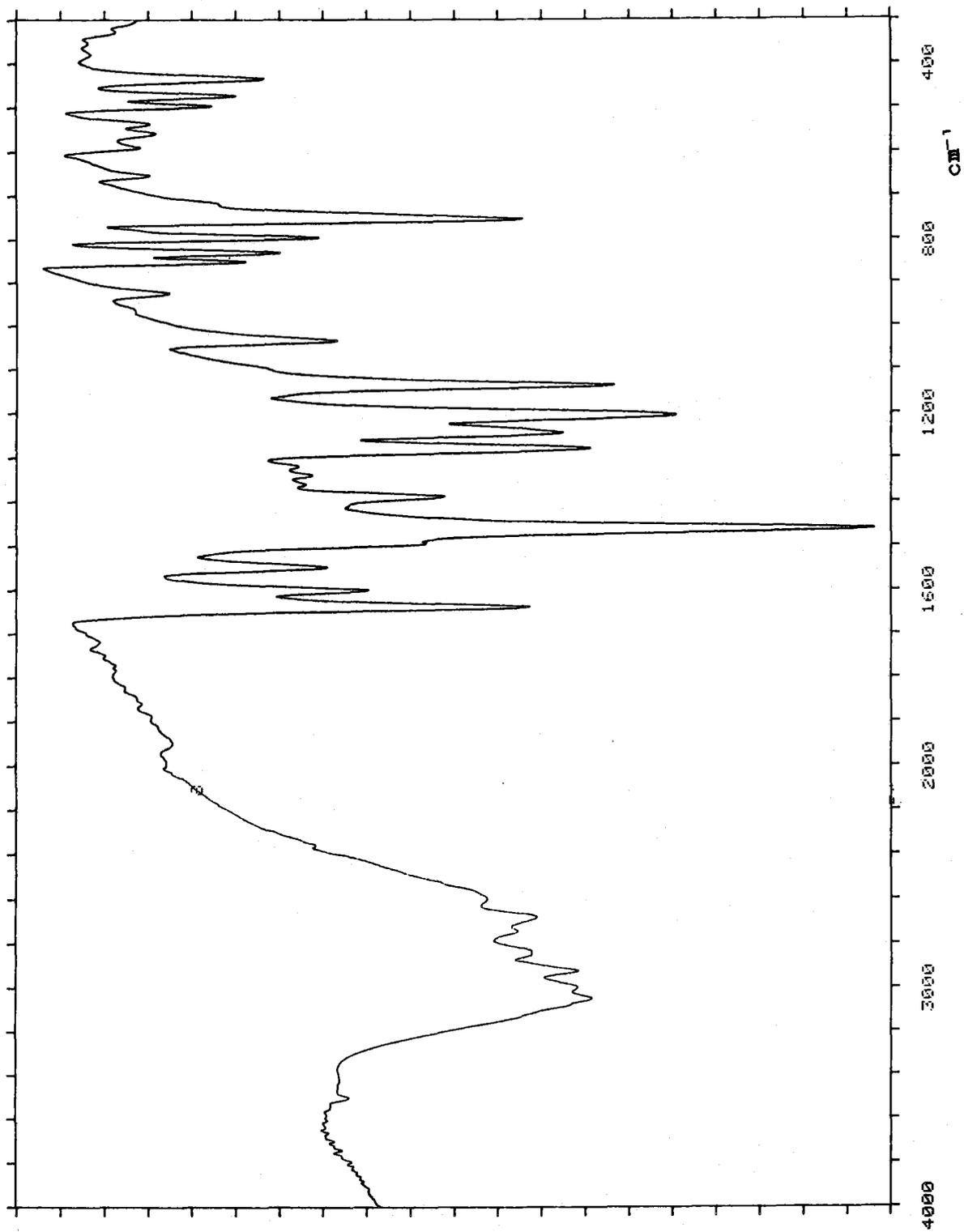


Figura nº 1.4. Espectro IR del 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol.

*Espectro IR del 5-Metoxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

En la Figura nº 1.5 se muestra el espectro IR registrado y en la Tabla 1.7 se han recogido las bandas más significativas del espectro y sus correspondientes asignaciones.

Tabla 1.7

Bandas de Absorción ( $\text{cm}^{-1}$ )	Asignaciones
3047w	$\nu(\text{C-H})$ aromáticos.
2923w	$\nu(=\text{CH})$
2850w	$\nu(-\text{OCH}_3)$ simétrica.
2700vw	$\nu(-\text{OH})$
1626s	$\nu(\text{C}=\text{N})$ azometínico.
1526s	$\nu(\text{C}=\text{C})$ aromáticos.
1492s	
1458s	$\delta(=\text{CH})$ en el plano.
1255s	$\nu(\text{C}-\text{N})$ .
1142s	$\delta(\text{C}=\text{C})$ en el plano.
1038m	$\delta(\text{C}-\text{H})$ en el plano.
786m	$\nu(\text{C}-\text{H})$ aromáticos
740s	fuera del plano.

s = fuerte, m = mediana, w = débil, vw = muy débil.

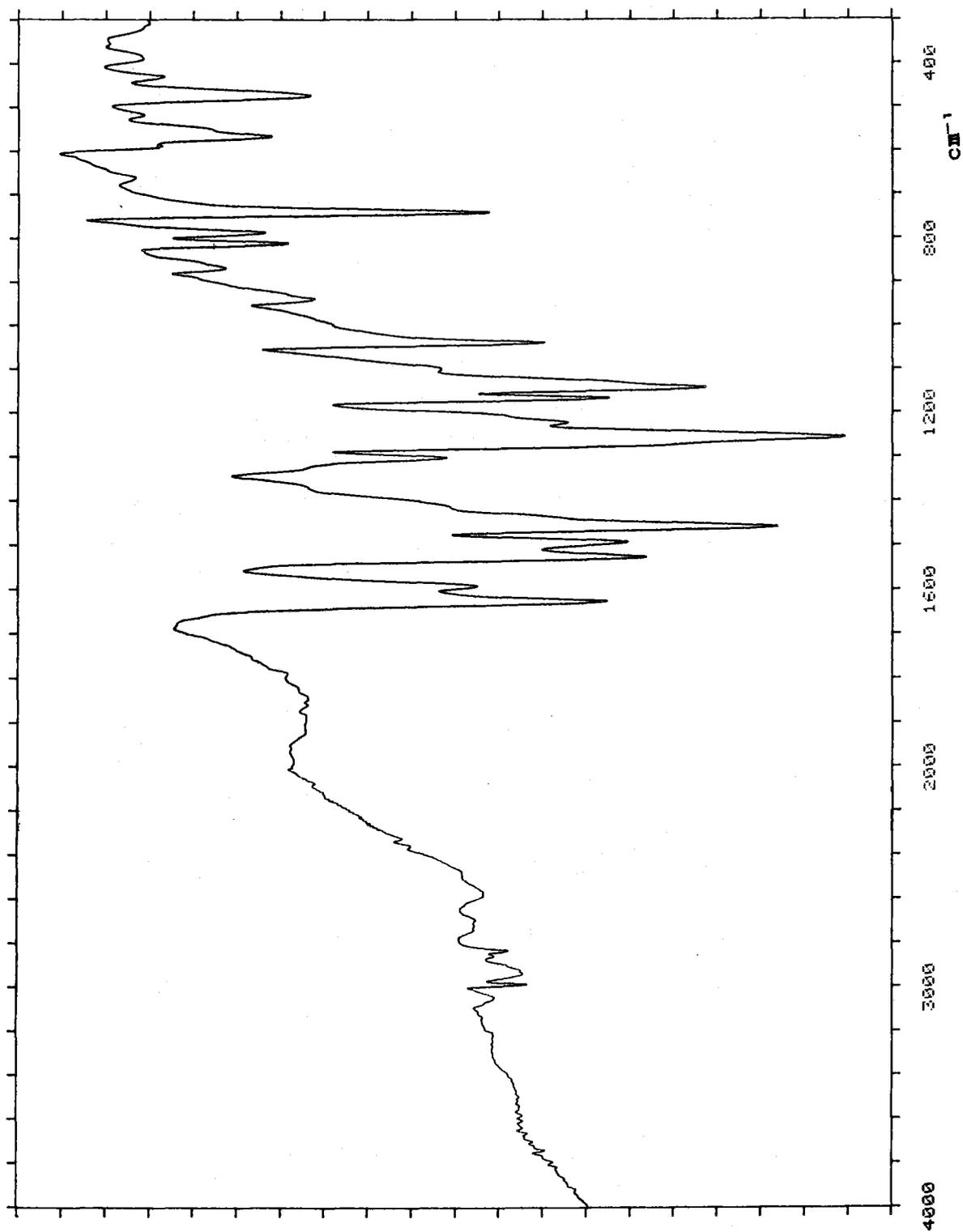


Figura nº 1.5. Espectro IR del 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol.

*Espectro IR de la Saliciliden-anilina.-*

En la Figura nº 1.6 se muestra el espectro IR registrado y en la Tabla 1.8 se han recogido las bandas más significativas del espectro y sus correspondientes asignaciones.

Tabla 1.8

Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )	Asignaciones
3054w	$\nu(\text{C-H})$ aromáticos.
2900w	$\nu(-\text{OH})$
1615s	$\nu(\text{C=N})$ azometínico.
1587s	$\nu(\text{C=C})$ aromáticos.
1568s	
1479s	
1449s	$\delta(=\text{CH})$ en el plano.
1275s	$\nu(\text{C-N})$ .
1185s	$\delta(\text{C=C})$ en el plano.
1149s	
1026m	$\delta(\text{C-H})$ en el plano.
979m	
895s	$\delta(=\text{CH})$ fuera del plano
756s	$\nu(\text{C-H})$ aromáticos
690s	fuera del plano.

s = fuerte, m = mediana, w = débil, vw = muy débil.

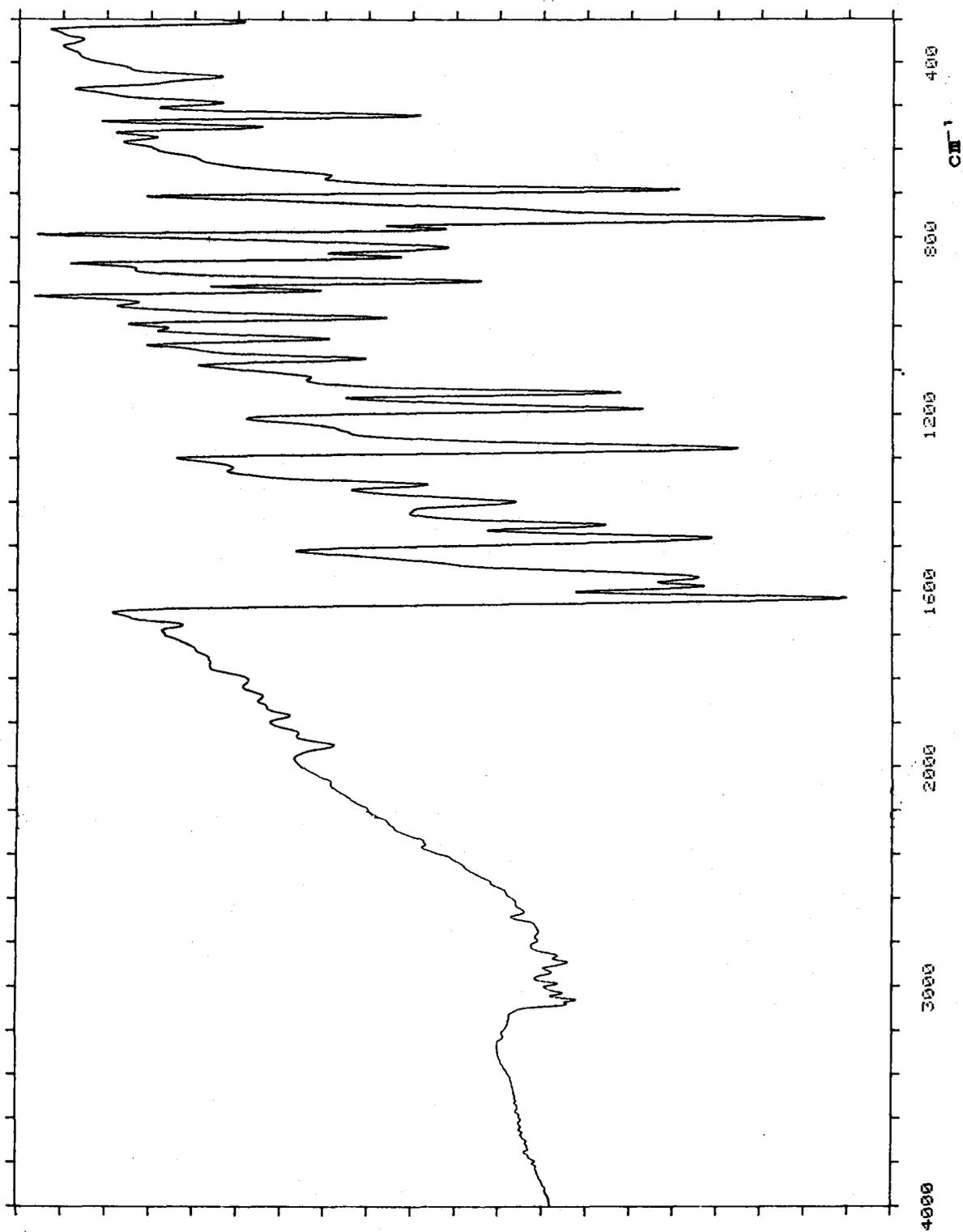


Figura nº 1.6. Espectro IR de la Saliciliden-anilina.

*Espectro IR del Benciliden-o-aminofenol.*

En la Figura nº 1.7 se muestra el espectro IR registrado y en la Tabla 1.9 se han recogido las bandas más significativas del espectro y sus correspondientes asignaciones.

Tabla 1.9

Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )	Asignaciones
1622s	$\nu(\text{C}=\text{N})$ azometínico.
1579s 1478s	$\nu(\text{C}=\text{C})$ aromáticos.
1285m	$\nu(\text{C}-\text{N})$ .
1166w	$\delta(\text{C}=\text{C})$ en el plano.
1025m 967m	$\delta(\text{C}-\text{H})$ en el plano.
764s 689s	$\nu(\text{C}-\text{H})$ aromáticos fuera del plano.

s = fuerte, m = mediana, w = débil, vw = muy débil.

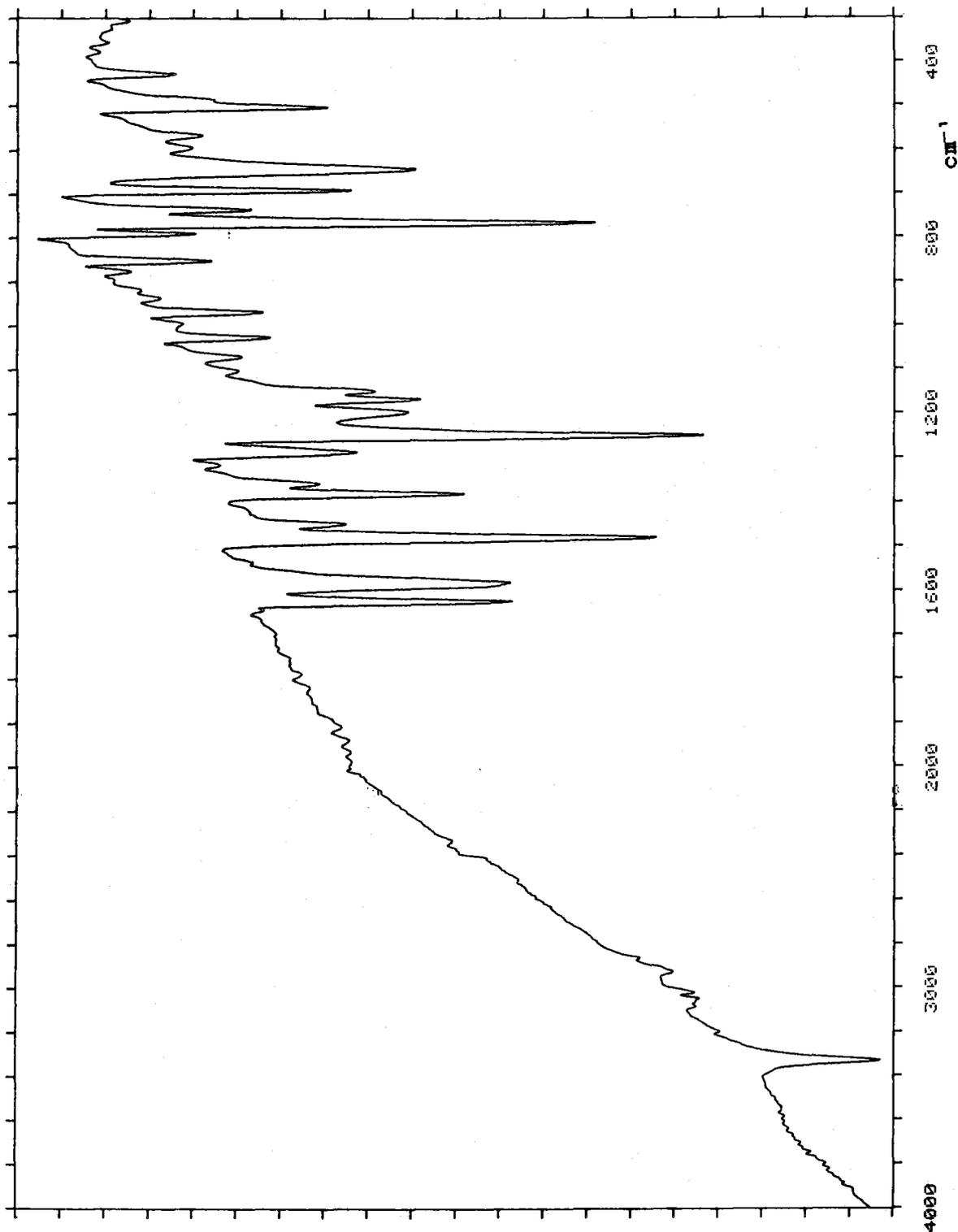


Figura nº 1.7. Espectro IR del Benziliden-*o*-aminofenol.

*Espectro IR del 5-Clorosalicilaldehído.-*

En la Figura nº 1.8 se muestra el espectro IR registrado y en la Tabla 1.10 se han recogido las bandas más significativas del espectro y sus correspondientes asignaciones.

Tabla 1.10

Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )	Asignaciones
3250w	$\nu(-OH)$ .
2900-2800w	$\nu(C-H)$ grupo aldehídico.
1658s	$\nu(C=O)$ .
1565m	$\nu(C=C)$ .
1468s	$\delta(=CH)$ .
1277s	$\nu(C-O)$ .
1212m 1171s 1114m	$\delta(C=C)$ en el plano.
885m	$\delta(=CH)$ fuera del plano.
830s 768s	$\nu(C-H)$ aromáticos fuera del plano.
699s 644s	$\nu(C-Cl)$ simétrica.

s = fuerte, m = mediana, w = débil, vw = muy débil.

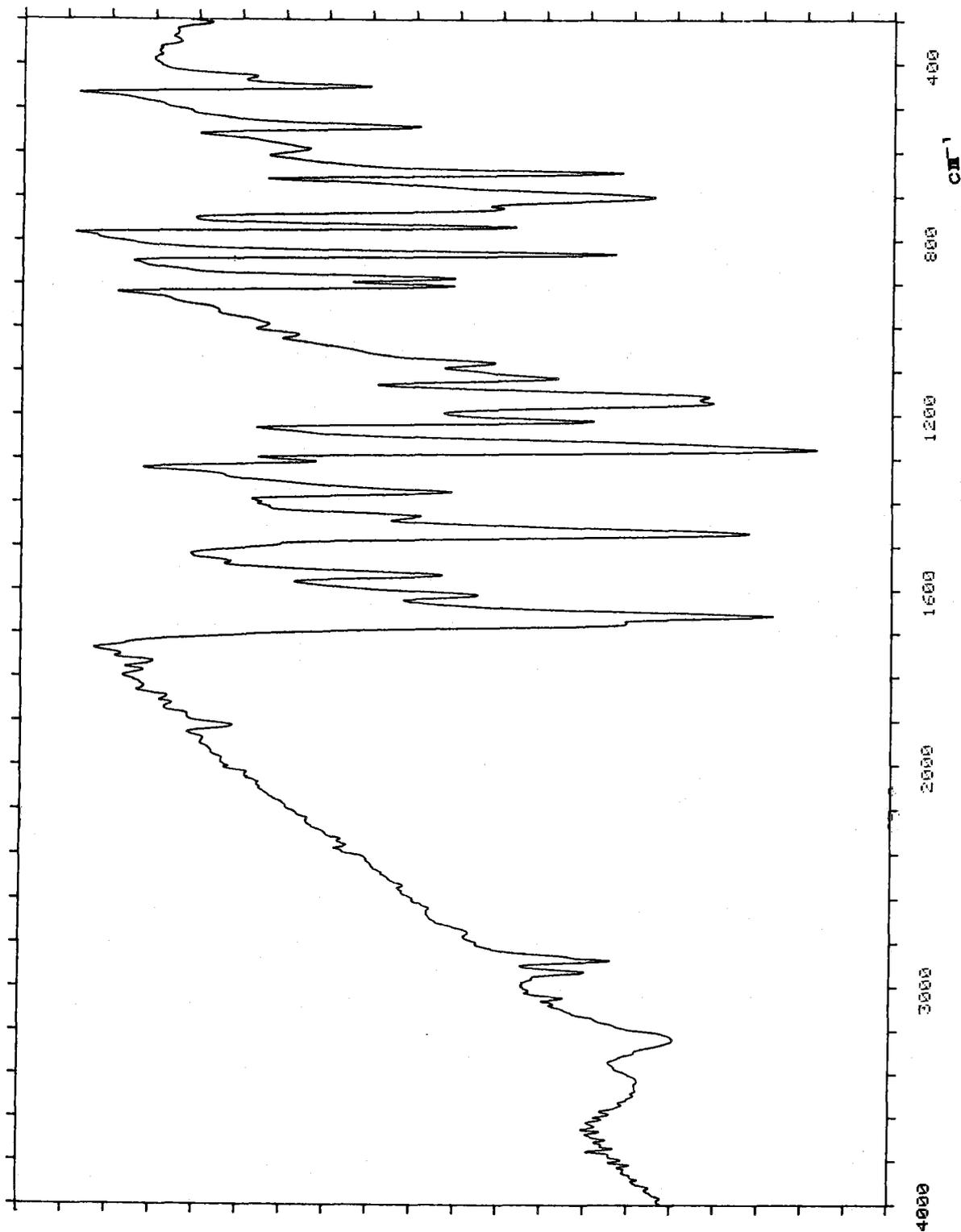


Figura nº 1.8. Espectro IR del 5-Clorosalicilaldehido.

**COMENTARIOS GENERALES A LOS ESPECTROS INFRARROJOS.-**

De la observación de las anteriores Figuras nº 1.1-1.7 y de las Tablas 1.3-1.9, donde se resumen los datos esenciales de aquellas, puede deducirse:

- 1) Todos los espectros muestran las bandas de los grupos funcionales característicos existentes en las distintas moléculas.
- 2) El grupo azometínico (-CH=N-), que es el más característico de todas las moléculas en estudio, presenta su banda de tensión en el intervalo comprendido entre 1615 y 1637  $\text{cm}^{-1}$ , y que hemos resumido en la Tabla 1.11.

**Tabla 1.11**

Azometina	$\nu(\text{C}=\text{N})$ ( $\text{cm}^{-1}$ )
I	1629
II	1627
III	1625
IV	1637
V	1626
VI	1615
VII	1622

**ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE PROTONES.**

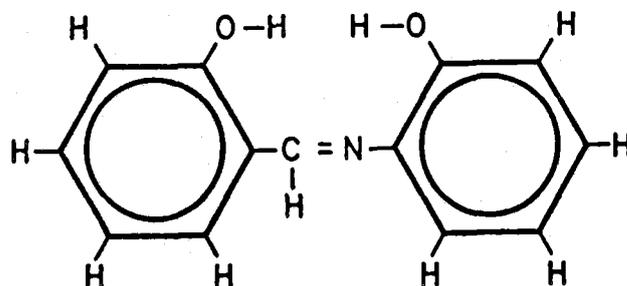
Se han registrado los espectros de RMN de protones en Dimetilsulfósido (DMS) usando Trimetilsilano (TMS) como referencia interna, de las bases de Schiff obtenidas anteriormente.

A continuación se comentan los espectros obtenidos para cada una de las azometinas en estudio.

***Espectro de RMN del Saliciliden-*o*-aminofenol.-***

En la Figura nº 1.9 se representa el espectro de RMN de protones obtenido.

Teniendo en cuenta la fórmula del compuesto



podemos hacer las siguientes asignaciones:

El H azometínico resuena a 8.97 ppm dando un singlete intenso.

Los H correspondientes a los dos anillos fenílicos aparecen en un multiplete comprendido entre 6.5 y 8.0 ppm. La integral de dicho multiplete corresponde a 8 protones.

A 9.69 y 13.72 ppm aparecen dos singletes, el primero de mediana intensidad y el segundo de baja intensidad y ancho, cuya integral corresponde a 1 protón, en cada caso, y que nosotros atribuimos a los H de los dos O-H fenólicos existentes en la molécula.

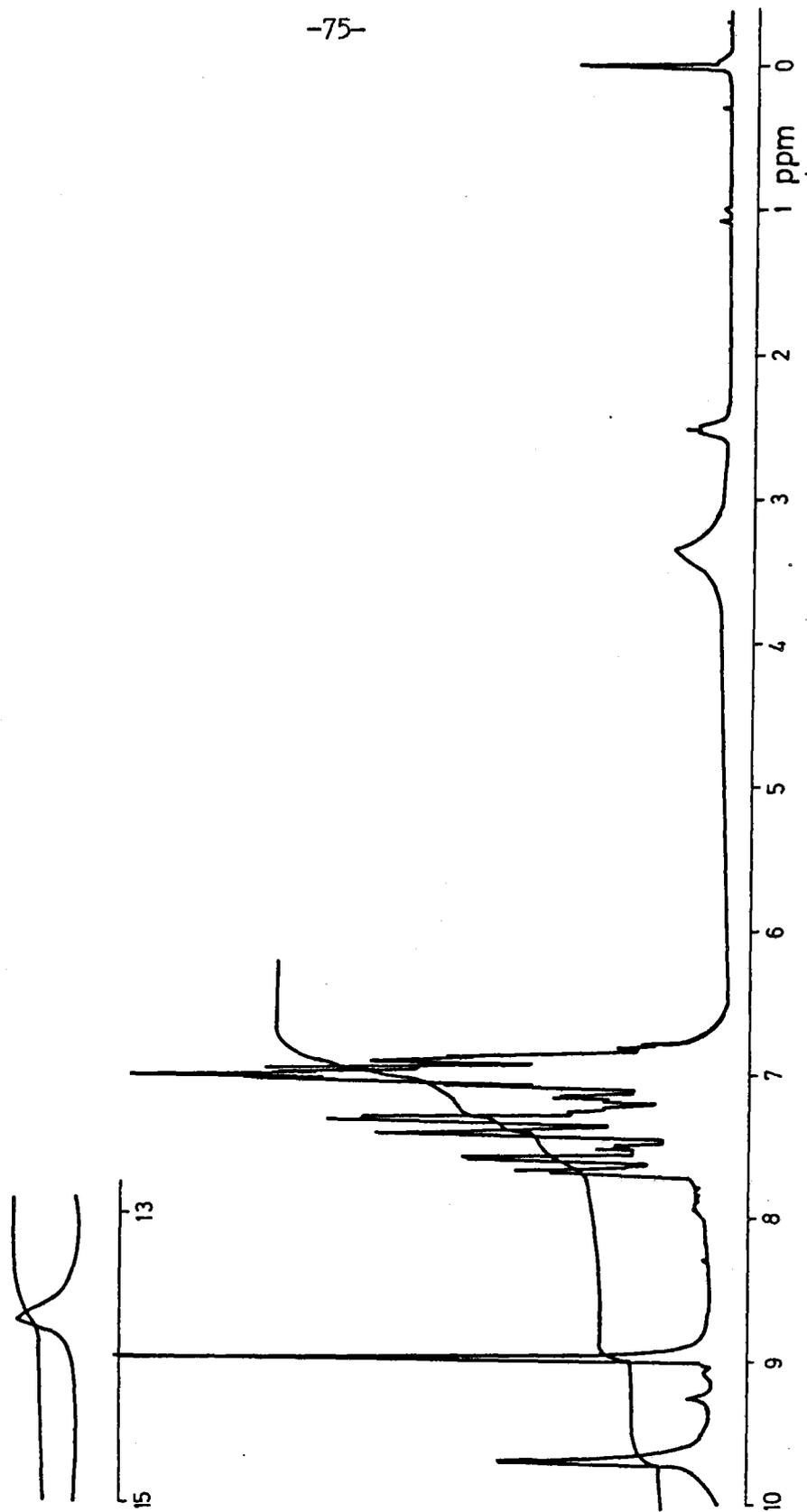
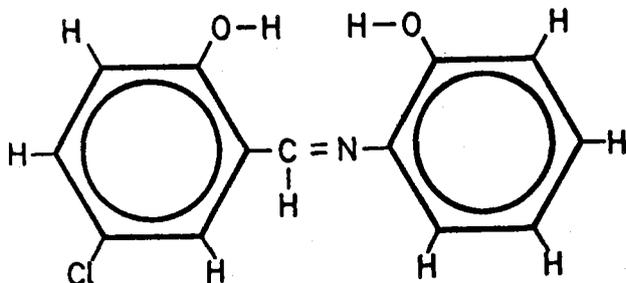


Figura nº 1.9. Espectro de RMN del Saliciliden-o-aminofenol.

*Espectro de RMN del 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol.-*

En la Figura nº 1.10 se representa el espectro de RMN de protones obtenido.

Teniendo en cuenta la fórmula del compuesto



podemos hacer las siguientes asignaciones:

Los H de los anillos fenílicos aparecen en un multiplete comprendido entre 6.4 y 8.5 ppm. La integral de dicho multiplete corresponde a 7 protones.

A 8.72 ppm y 8.94 ppm aparecen dos singletes. Al objeto de conocer cuál era la señal correspondiente al H azometínico, la disolución muestra se agitó con agua deteurada y se volvió a realizar el espectro de RMN, comprobándose en este caso que se mantenía el singlete que aparecía a 8.72 ppm, y que nosotros asignamos al H azometínico, y que el singlete que aparecía a 8.94 ppm desaparece, por lo que dicha señal la hemos atribuido al H de un grupo fenólico.

Es de resaltar el desplazamiento hacia campos más bajos que sufre el H azometínico en comparación con el espectro de RMN del Saliciliden-o-aminofenol, debido quizá a la presencia del Cl.

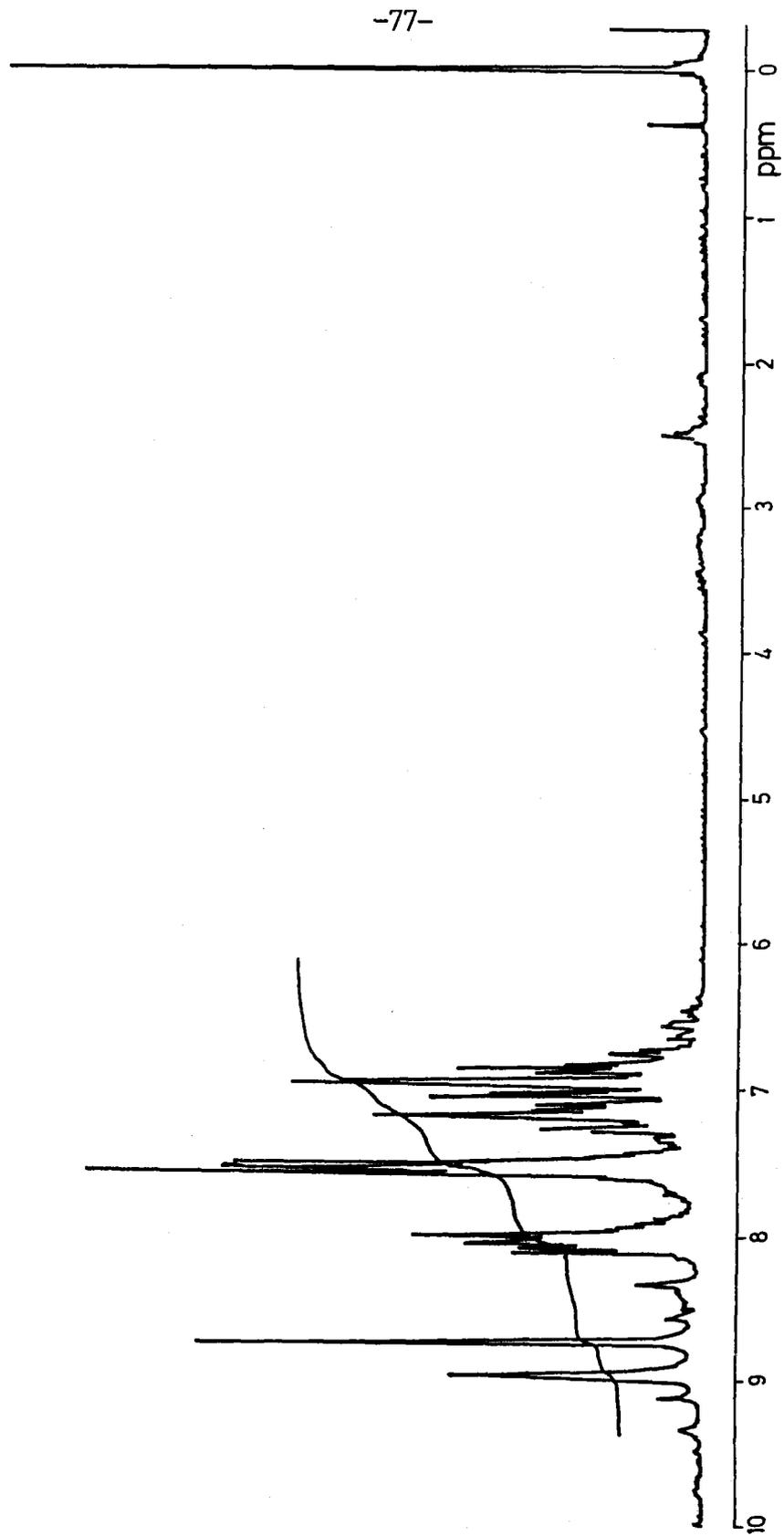
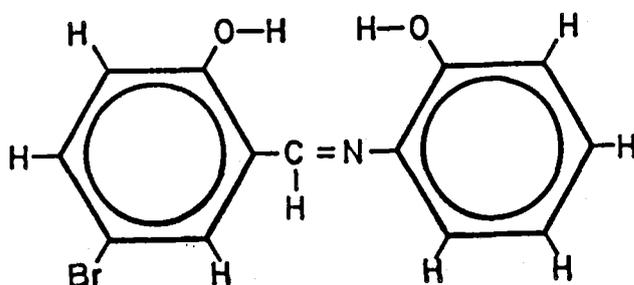


Figura nº 1.10. Espectro de RMN del 5-Clorosaliciliden- $\alpha$ -aminofenol.

*Espectro de RMN del 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.-*

En la Figura nº 1.11 se representa el espectro de RMN de protones obtenido.

Teniendo en cuenta la fórmula del compuesto



podemos hacer las siguientes asignaciones:

El H azometínico resuena a 8.97 ppm dando un singlete intenso.

Los H correspondientes a los dos anillos fenílicos aparecen en un multiplete comprendido entre 6.5 y 8.5 ppm. La integral de dicho multiplete corresponde a 7 protones.

A 9.75 y 13.81 ppm aparecen dos singletes, ambos de mediana intensidad, cuya integral corresponde a 1 protón, en cada caso, y que nosotros atribuimos a los H de los dos O-H fenólicos existentes en la molécula.

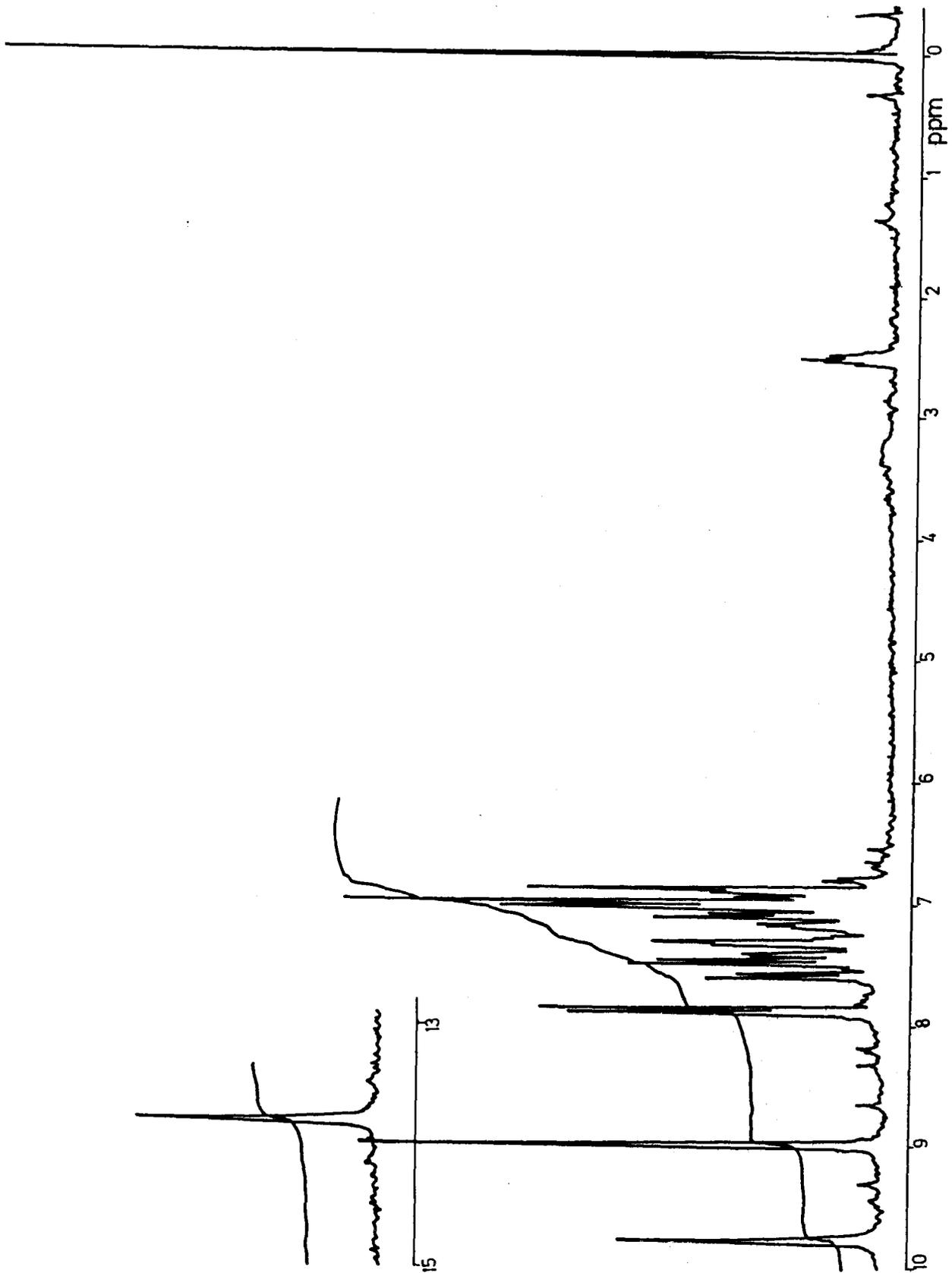
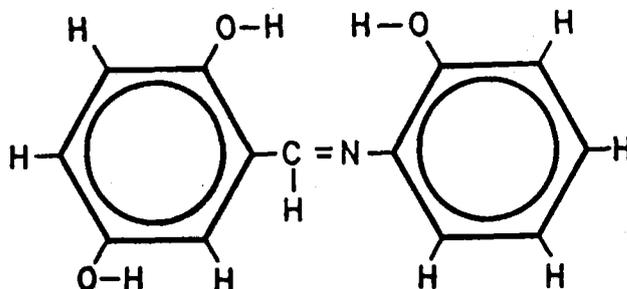


Figura nº 1.11. Espectro de RMN del 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.

*Espectro de RMN de 5-Hidroxisaliciliden-o-aminfenol.-*

En la Figura nº 1.12 se representa el espectro de RMN de protones obtenido.

Teniendo en cuenta la fórmula del compuesto



podemos hacer las siguientes asignaciones:

El H azometínico resuena a 8.86 ppm dando un singlete intenso.

Los H correspondientes a los dos anillos fenílicos aparecen en un multiplete comprendido entre 6.4 y 7.6 ppm. La integral de dicho multiplete corresponde a 7 protones.

A 9.00, 9.61 y 13.72 ppm aparecen tres singletes, los dos primeros de mediana intensidad y el tercero de baja intensidad y ancho, cuya integral corresponde a 1 protón, en cada caso, y que nosotros atribuimos a los H de los tres O-H fenólicos existentes en la molécula.

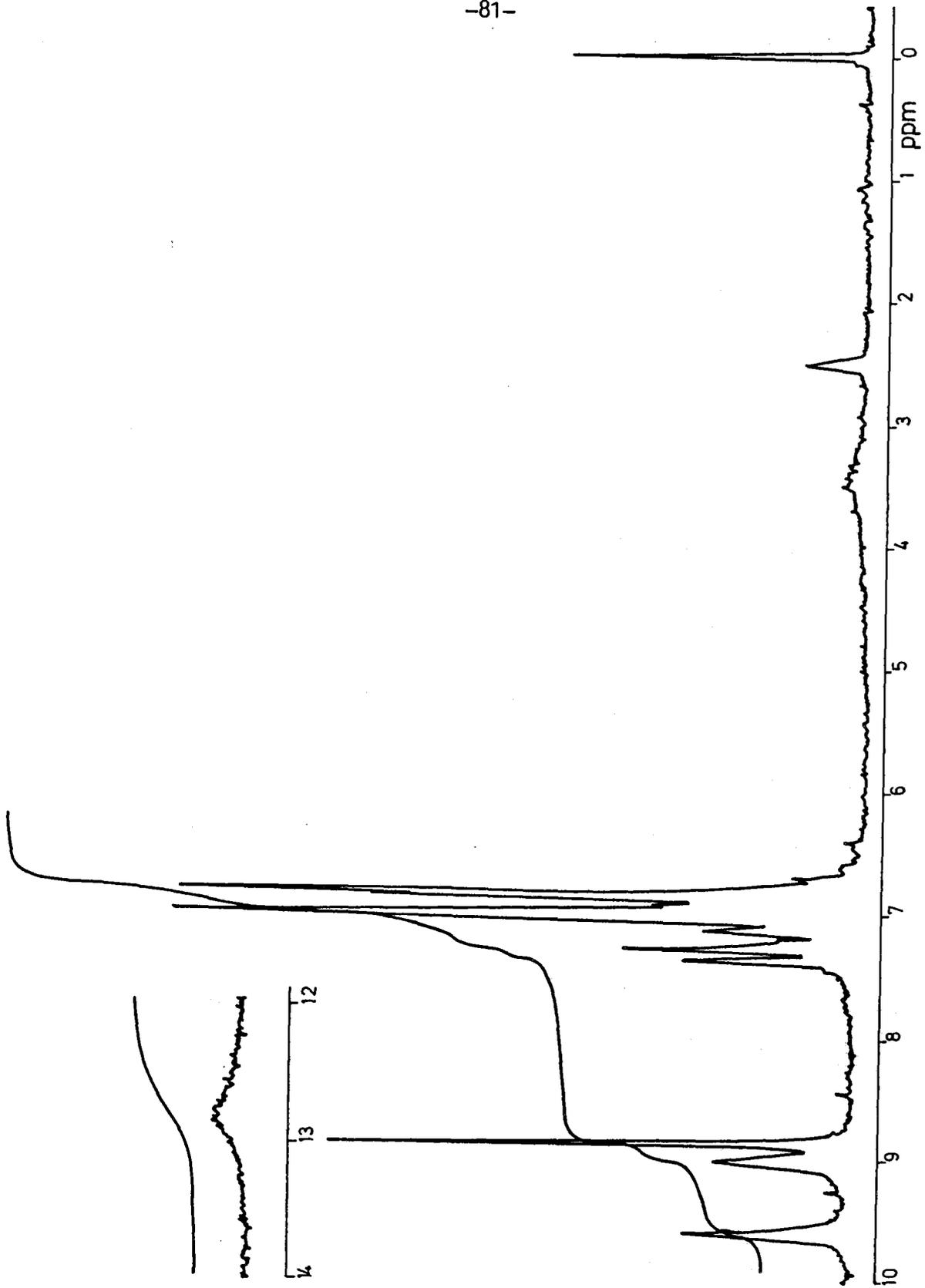
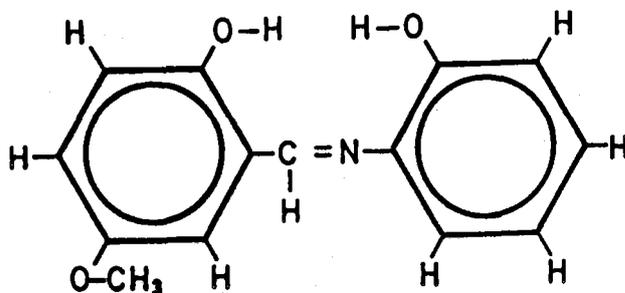


Figura nº 1.12. Espectro de RMN del 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol.

*Espectro de RMN del 5-Metoxisaliciliden- $\alpha$ -aminofenol.-*

En la Figura nº 1.13 se representa el espectro de RMN de protones obtenido.

Teniendo en cuenta la fórmula del compuesto



podemos hacer las siguientes asignaciones:

Los H correspondientes al grupo metoxilo aparecen a 3.78 ppm dando un singlete muy intenso y cuya integral corresponde a 3 protones.

El H azometínico resuena a 8.97 ppm dando un singlete intenso.

Los H correspondientes a los dos anillos fenílicos aparecen en un multiplete comprendido entre 6.4 y 8.0 ppm. La integral de dicho multiplete corresponde a 7 protones.

A 9.72 ppm aparece un singlete, ancho y de baja intensidad, cuya integral corresponde a 1 protón y que nosotros hemos atribuido a un H de los dos O-H fenólicos existentes en la molécula.

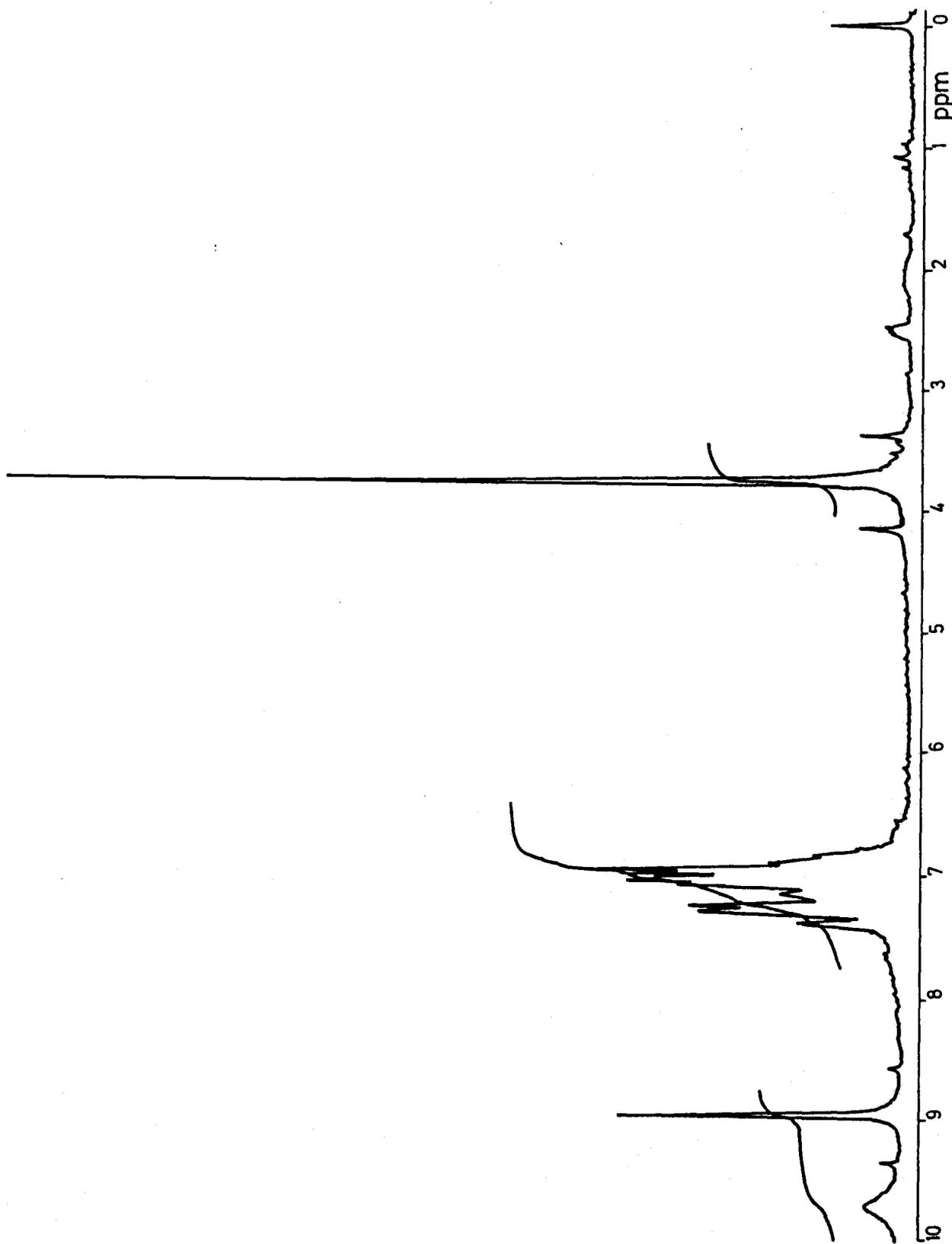
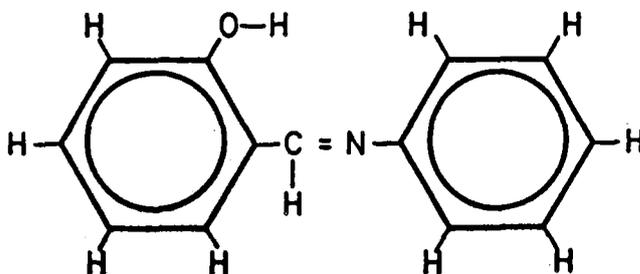


Figura nº 1.13. Espectro de RMN del 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol.

*Espectro de RMN de la Saliciliden-anilina.-*

En la Figura nº 1.14 se representa el espectro de RMN de protones obtenido.

Teniendo en cuenta la fórmula del compuesto



podemos hacer las siguientes asignaciones:

El H azometínico resuena a 8.97 ppm dando un singlete intenso.

Los H correspondientes a los dos anillos fenílicos aparecen en un multiplete comprendido entre 6.7 y 8.0 ppm. La integral de dicho multiplete corresponde a 9 protones.

A 12.10 ppm aparece un singlete de intensidad media, cuya integral corresponde a 1 protón, y que nosotros hemos atribuido al H del O-H fenólico existente en la molécula.

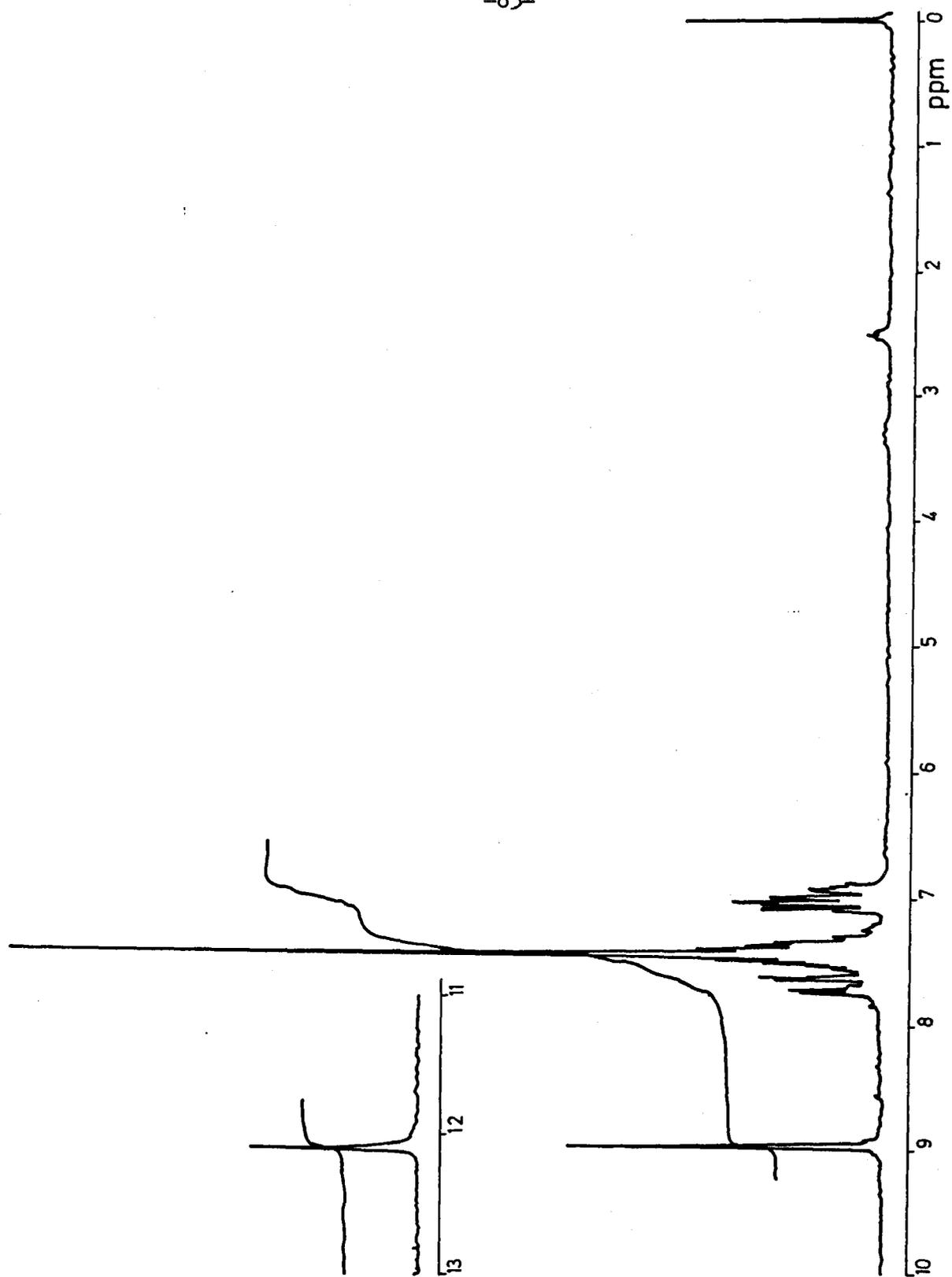
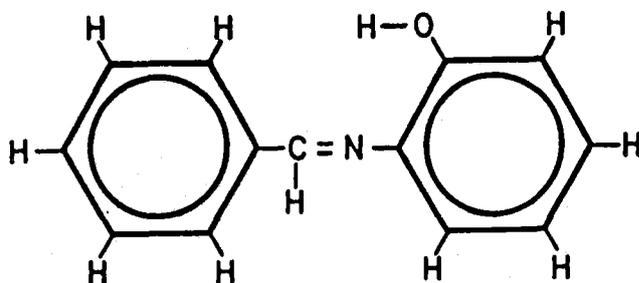


Figura nº 1.14. Espectro de RMN de la Saliciliden-anilina.

*Espectro de RMN del Benziliden-*o*-aminofenol.-*

En la Figura nº 1.15 se representa el espectro de RMN de protones obtenido.

Teniendo en cuenta la fórmula del compuesto



podemos hacer las siguientes asignaciones:

El H azometínico resuena a 8.97 ppm dando un singlete intenso.

Los H correspondientes a los dos anillos fenílicos aparecen en un multiplete comprendido entre 6.3 y 8.0 ppm. La integral de dicho multiplete corresponde a 9 protones.

A 9.75 ppm aparece un singlete ancho y de baja intensidad, cuya integral corresponde a 1 protón y que nosotros atribuido al H del O-H fenólico existente en la molécula.

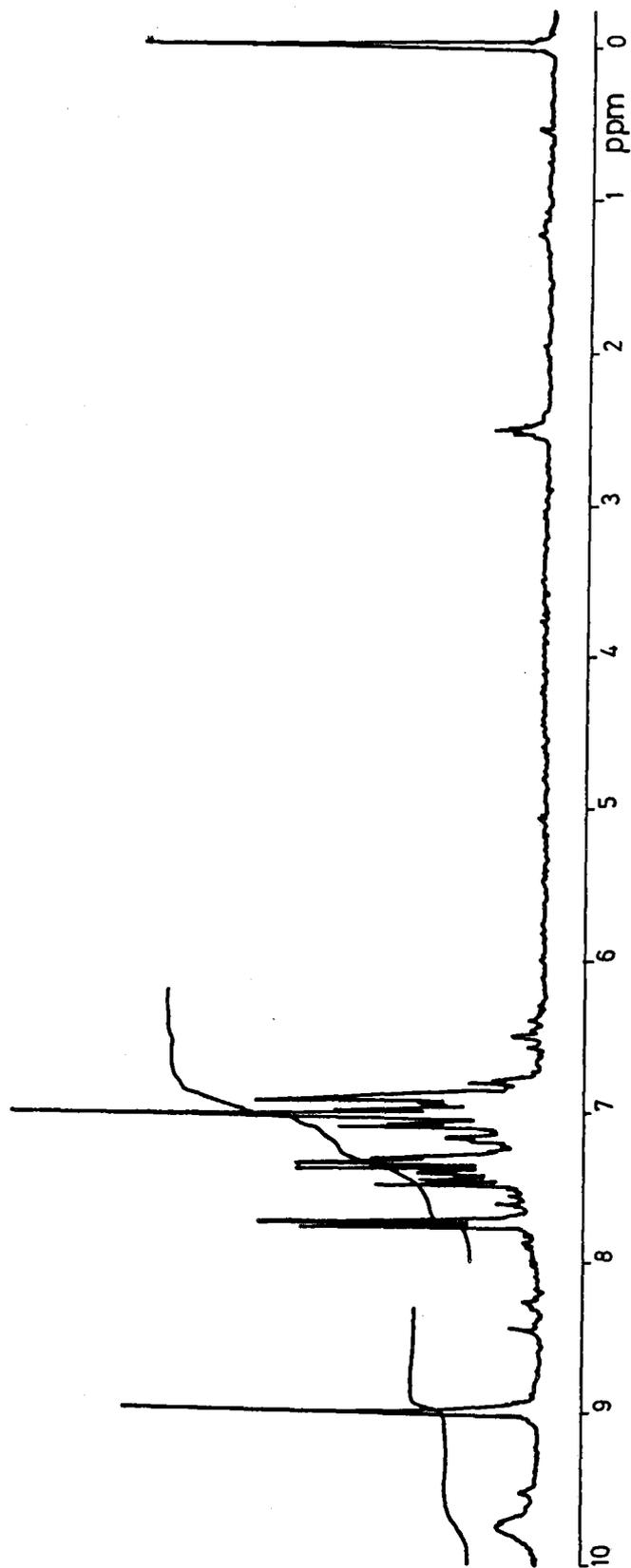


Figura nº 1.15. Espectro de RMN del Benciliden-*o*-aminofenol.



## CAPITULO II

### PROPIEDADES



*Espectros de Absorción UV-VIS  
en función del pH.*



## ESPECTROS DE ABSORCION UV-VIS EN FUNCION DEL pH.

### EXPERIMENTAL.

#### *Aparatos utilizados.-*

- Espectrofotómetro BAUSCH & LOMB mod. Spectronic 2000, provisto de registrador X-Y HOUSTON mod. 33-35-08.
- pH-metro digital CRISON mod. 501, provisto de electrodo combinado INGOLD.

#### *Disoluciones empleadas.-*

- Disoluciones  $10^{-4}$  M de la azometina correspondiente en mezcla etanol:agua (1:1) (v/v). Preparadas en el momento de ser utilizadas.
- Disoluciones de HCl y NaOH de diversas concentraciones en mezcla etanol:agua (1:1) (v/v).

#### *Método operatorio.-*

En un matraz aforado de 250 mL se introdujo la cantidad necesaria de la correspondiente base de Schiff para que al enrasar con etanol del 50 % (v/v) la concentración de la misma sea  $10^{-4}$  M.

La disolución se transfirió a un vaso de precipitados y el pH se fue modificando convenientemente mediante la adición de pequeñas cantidades de HCl o NaOH diluidos de modo que la concentración del reactivo no se modificase de forma apreciable.

Los espectros se registraron en la zona 300-500 nm, siendo la velocidad de registro 100 nm/min.

En todos los casos las disoluciones de referencia (blancos) fueron etanol al 50 % (v/v).

RESULTADOS OBTENIDOS.

*Saliciliden- $\alpha$ -aminofenol.-*

En la Figura nº 2.1 se muestran los espectros de absorción UV-VIS de esta azometina en función del pH.

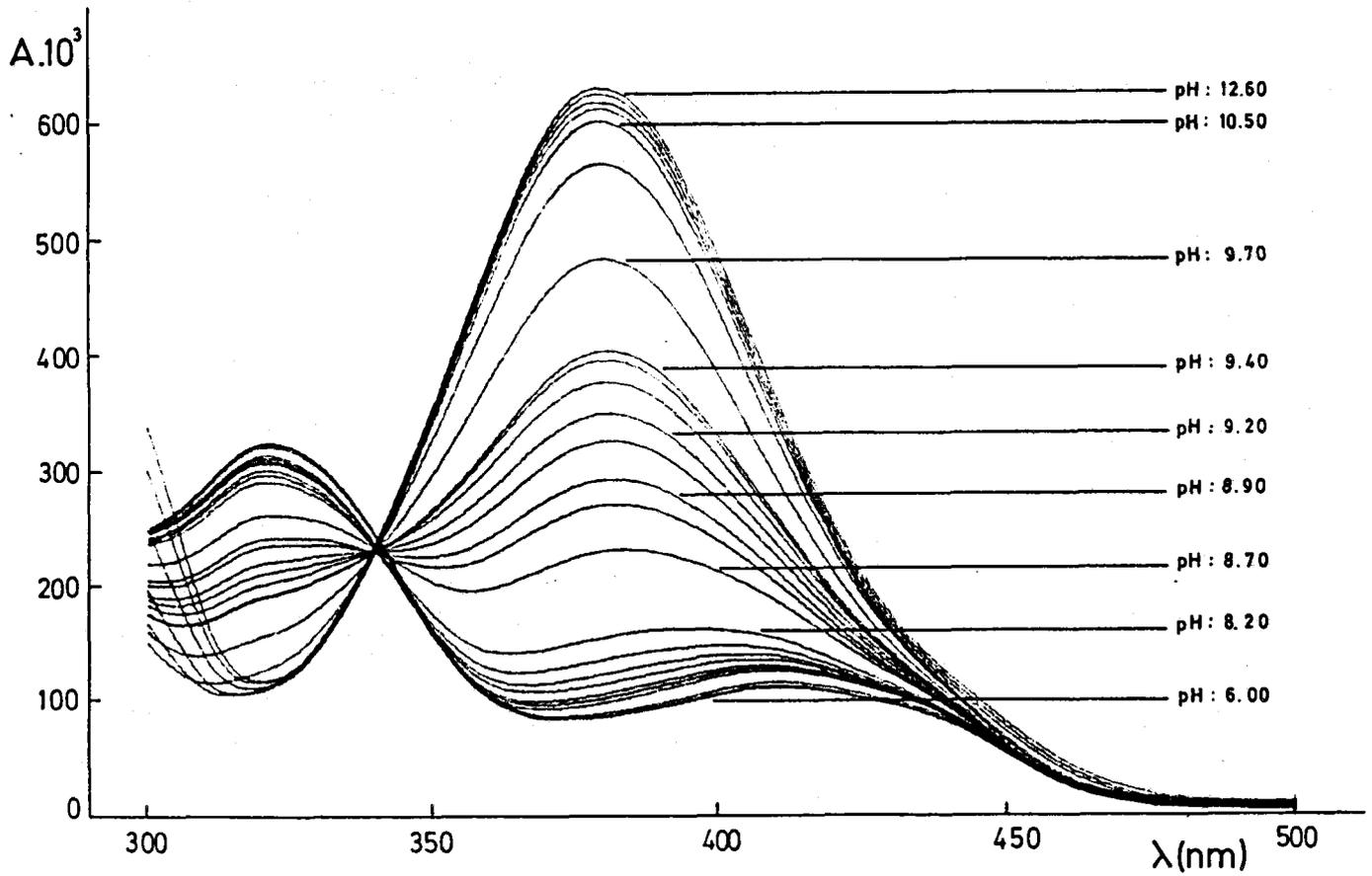


Figura nº 2.1. Saliciliden- $\alpha$ -aminofenol  
Espectros de absorción UV-VIS en función del pH.

*5-Clorosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

En la Figura nº 2.2 se muestran los espectros de absorción UV-VIS de esta azometina en función del pH.

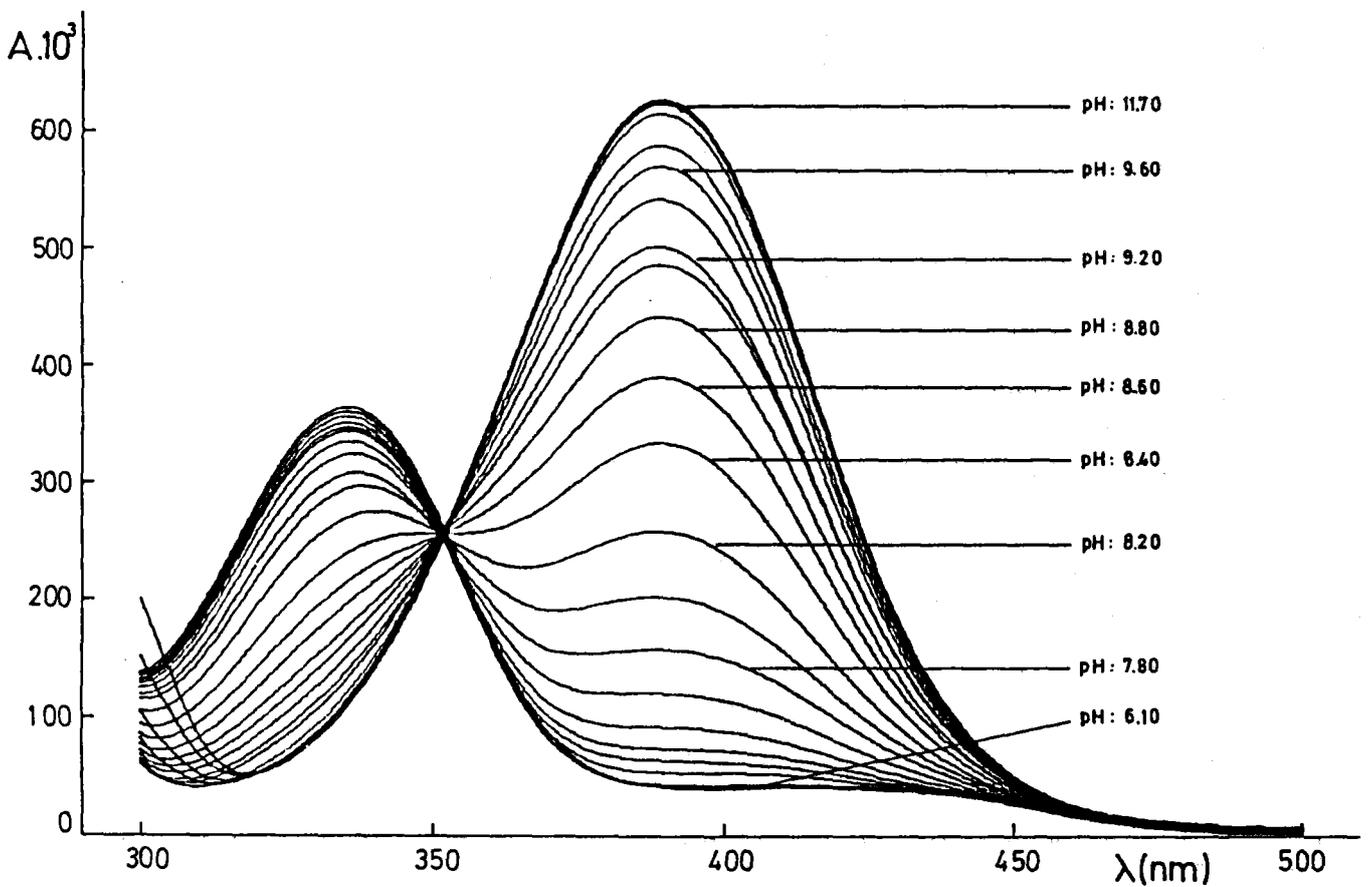


Figura nº 2.2. 5-Clorosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Espectros de absorción UV-VIS en función del pH.

*5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.-*

En la Figura nº 2.3 se muestran los espectros de absorción UV-VIS de esta azometina en función del pH.

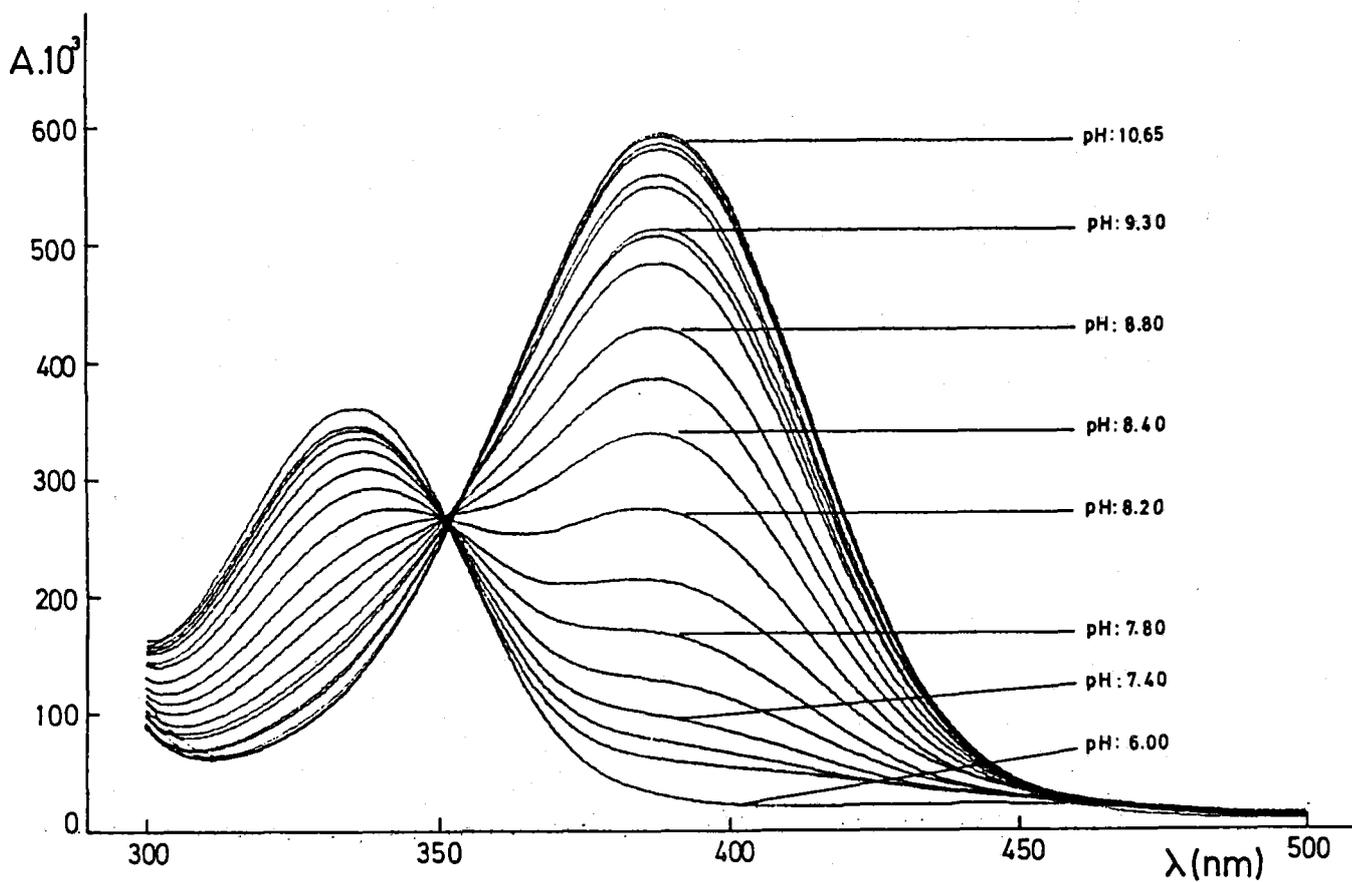


Figura nº 2.3. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol  
Espectros de absorción UV-VIS en función del pH.

*5-Hidroxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

En las Figuras nº 2.4 y 2.5 se muestran los espectros de absorción UV-VIS de esta azometina en función del pH.

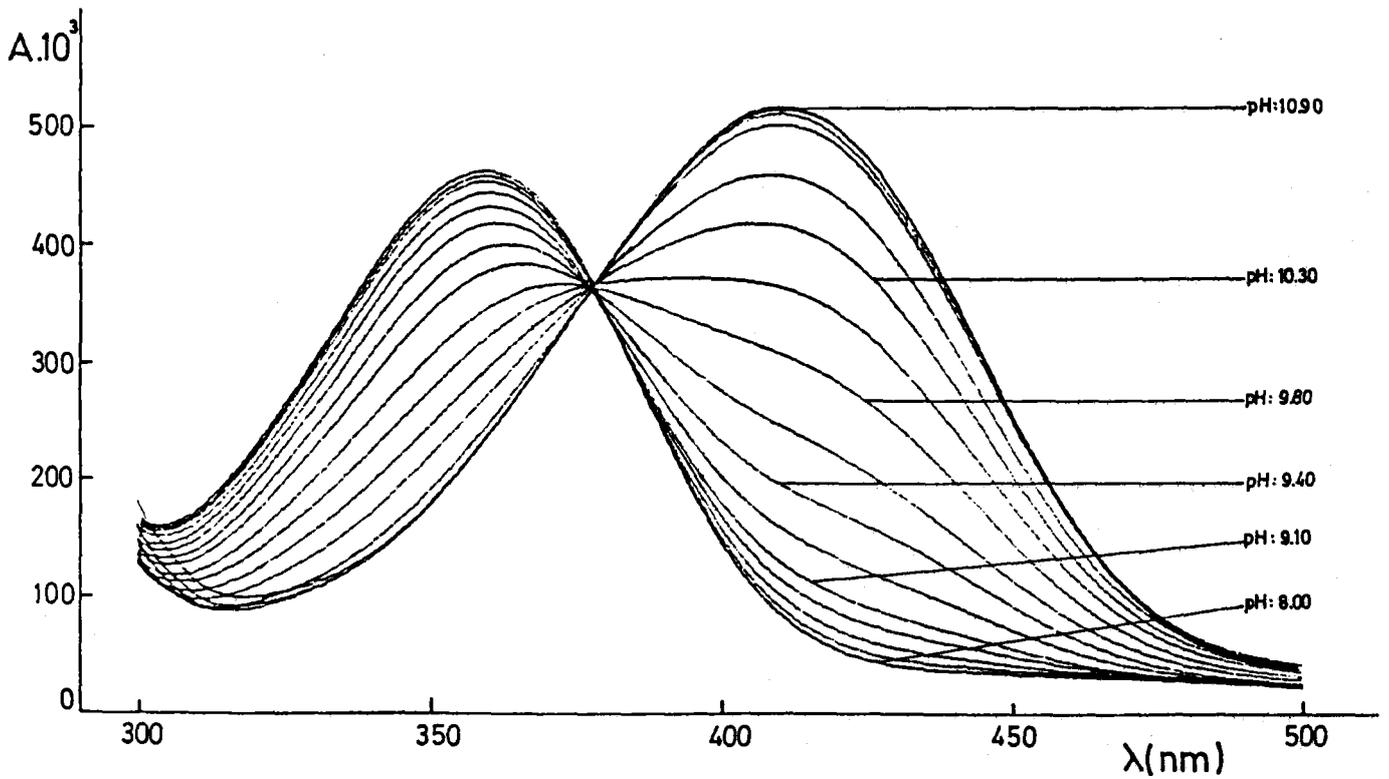


Figura nº 2.4. 5-Hidroxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Espectros de absorción UV-VIS en función del pH.

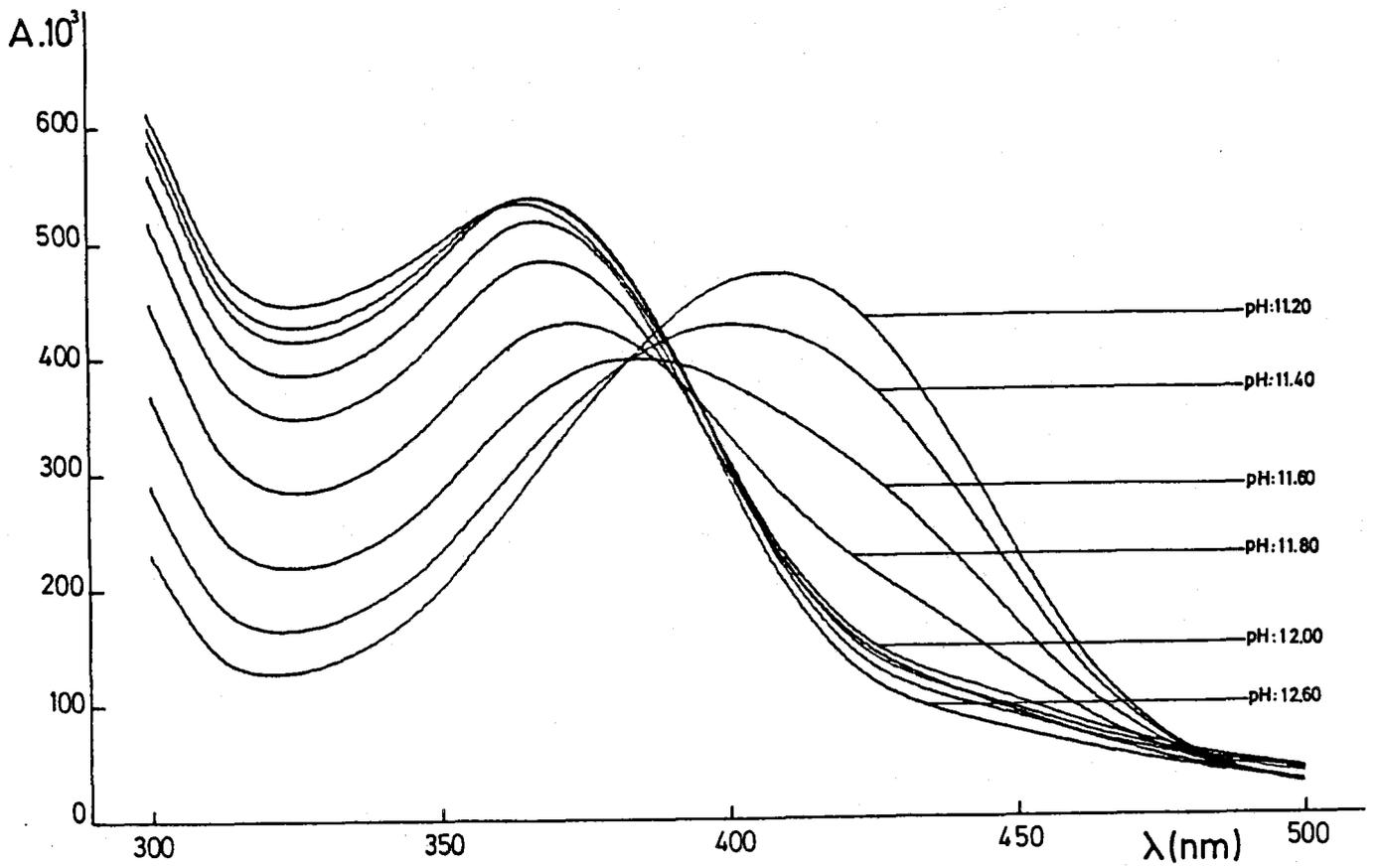
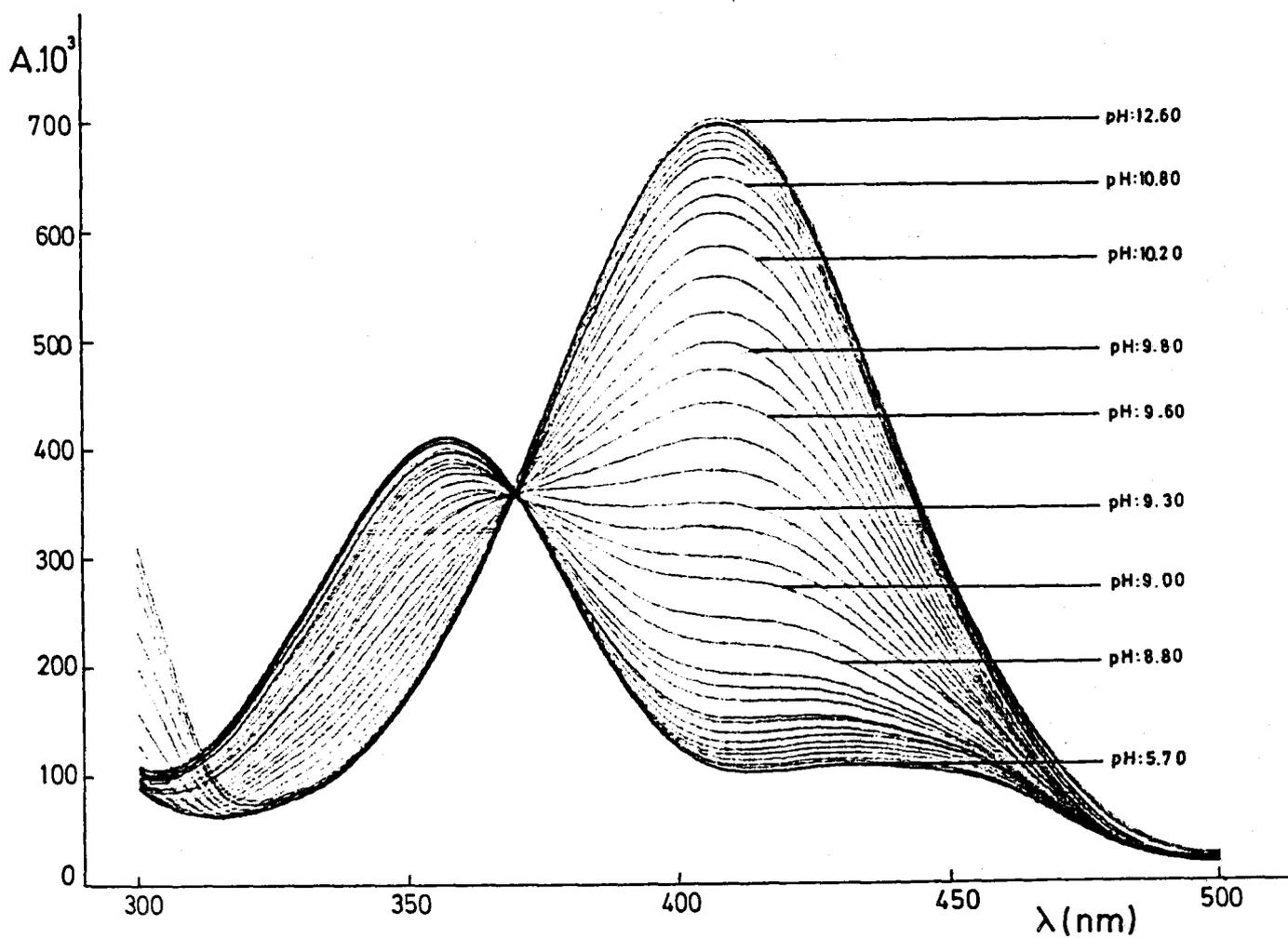


Figura nº 2.5. 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol  
Espectros de absorción UV-VIS en función del pH.

**5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol.-**

En la Figura nº 2.6 se muestran los espectros de absorción UV-VIS de esta azometina en función del pH.



**Figura nº 2.6. 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol**  
**Espectros de absorción UV-VIS en función del pH.**

**Saliciliden-anilina.-**

En la Figura nº 2.7 se muestran los espectros de absorción UV-VIS de esta azometina en función del pH.

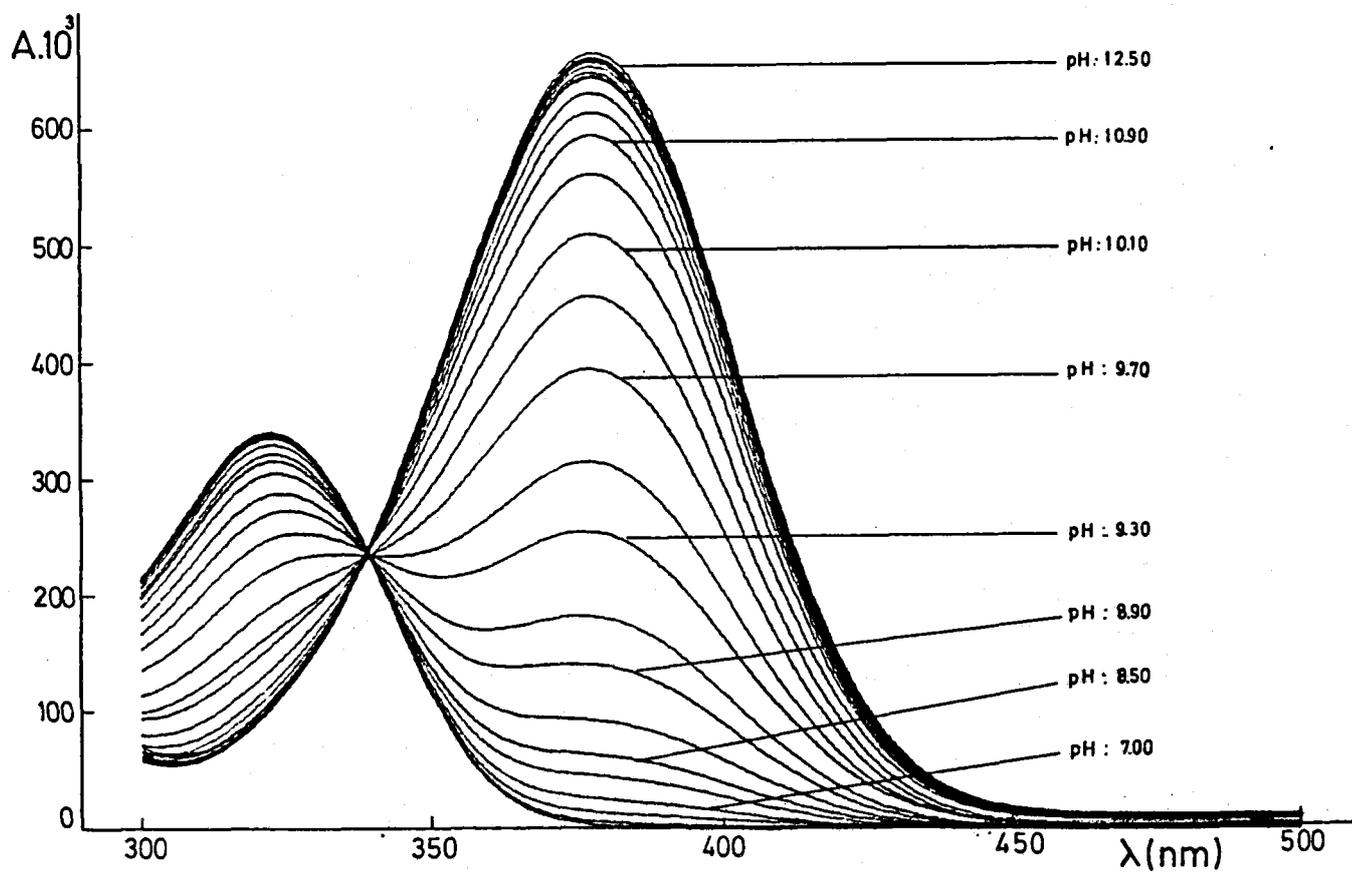


Figura nº 2.7. Saliciliden-anilina  
Espectros de absorción UV-VIS en función del pH.

*Benciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

Esta azometina no presenta absorción en el intervalo de longitudes de onda comprendidas entre 300 y 500 nm, a ninguno de los valores de pH de los ensayados.

En la Tabla 2.1 se reúnen los datos más importantes de los espectros de absorción UV-VIS en función del pH de las azometinas en estudio.

Tabla 2.1

Azometina	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\lambda_{\text{isob}}$ (nm)
	m. ácido	m. básico	
SOAF	322	379	340
5-ClSOAF	336	390	352
5-BrSOAF	336	389	352
5-OHSOAF	359	410	377
		366	387
5-MeOSOAF	357	408	370
SA	323	378	339
BOAF	---	---	---

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

La observación de las anteriores Figuras nº 2.1-2.7, donde se muestran los espectros de absorción UV-VIS de las azometinas en estudio, y de la Tabla 2.1, donde se resumen los datos esenciales de aquellos, nos permite llegar a las siguientes conclusiones:

1.- De las siete azometinas estudiadas tan solo una, el BOAF, no presenta actividad óptica alguna en el intervalo de pH estudiado (6.0-13.0) y margen de longitudes de onda registrado (300-500 nm).

2.- Todas las restantes azometinas, a excepción del 5-OHSOAF, presentan dos formas ópticamente activas, cuyos máximos de absorción están comprendidos en los intervalos de 322-359 nm y de 378-410 nm, según el pH del medio sea débilmente básico o fuertemente básico, respectivamente.

La existencia de estas dos especies ópticamente activas se pone de manifiesto por la aparición de un punto isobéptico para cada sistema, respectivamente.

3.- El 5-OHSOAF presenta tres formas ópticamente activas cuya respectiva existencia depende del pH del medio. Así, a pH inferior a 9 existe fundamentalmente la especie cuyo máximo de absorción aparece a 359 nm. Para pH comprendidos entre 10.1 y 11.4 existe mayoritariamente la especie que presenta máximo de absorción a 410 nm. A pH superior a 11.5 se observa ya perfectamente la especie cuyo máximo de absorción aparece a 366 nm.

La existencia de estas tres especies se pone de manifiesto por la aparición de dos puntos isobépticos a 377 nm y 387 nm.



*Determinación de las Constantes de  
Disociación Acida.*



*Hemos abordado la determinación de las constantes de disociación de los reactivos en estudio por tres vías y varios métodos: potenciométricamente por los métodos directo, algebraico directo, de Bjerrum, de Irving y Rossotti y de Schwarzenbach, mediante espectrofotometría por el método de Wilson y Lester y por espectrofluorimetría utilizando el método de Schulman y col.*



## DETERMINACION POTENCIOMETRICA DE LAS CONSTANTES DE DISOCIACION ACIDA.

### INTRODUCCION.

Las moléculas en estudio presentan dos tipos de grupos funcionales con características acido-base netamente diferentes. Por una parte los OH fenólicos, que se comportan generalmente como ácidos débiles o muy débiles, y el nitrógeno de la agrupación azometínica que es susceptible de protonarse, si el pH del medio es suficientemente bajo, comportandose por tanto como una base, generalmente, muy débil.

Con estas premisas hemos abordado la determinación potenciométrica de las distintas constantes de disociación ácida de los reactivos en estudio. Para ello hemos aplicado en primer lugar el método directo, que aunque muy simple en su fundamento, nos orienta acerca del orden de magnitud de las diferentes constantes y en consecuencia poder, a continuación, aplicar el método adecuado para cada caso concreto.

### EXPERIMENTAL.

#### *Aparatos utilizados.-*

- Potenciógrafo METROHM-HERISAU E-536, provisto de bureta automática E-535 y célula de valoración E-495.

#### *Disoluciones empleadas.-*

- Disolución etanólica 0.01 M de la correspondiente azometina. Las disoluciones se prepararon en el momento de ser utilizadas.
- Disolución 0.02 M ( $f = 0.875$ ) de NaOH en etanol al 50 % (v/v).
- Disolución acuosa de  $\text{HClO}_4$  0.01 M ( $f = 0.999$ ).
- Disolución acuosa de  $\text{NaClO}_4$  1 M.

**Curvas de valoración.-**

Como se indicó anteriormente, el caracter débilmente básico del nitrógeno del grupo azometínico determina que éste se protone a valores del pH suficientemente bajos, los cuales sólo se pueden conseguir mediante la presencia de un ácido mineral fuerte. Este hecho nos ha inducido a obtener las curvas de neutralización en dos condiciones diferentes:

- 1.- *En ausencia de ácido mineral fuerte.*
- 2.- *En presencia de ácido mineral fuerte.*

**Curvas de valoración en ausencia de ácido mineral fuerte.-**

Para ello en una célula de 20 mL se pipetearon 5 mL de disolución etanólica 0.01 M de la azometina correspondiente, 4 mL de disolución de  $\text{NaClO}_4$  1 M, 1 mL de agua bidestilada y etanol al 50 % (v/v) hasta el volumen final.

Como puede apreciarse, la fuerza iónica se mantuvo constante en 0.2 M.

Efectuamos la valoración con NaOH 0.02 M ( $f = 0.875$ ) en etanol al 50 % (v/v) en una célula de dobles paredes por entre las que circulaba una corriente de agua, al objeto de mantener constante la temperatura e igual a  $25 \pm 0.1$  °C, y en atmosfera inerte de nitrógeno, para lo cual se cerraba aquella herméticamente por medio de un tapón con 5 orificios, por los que entraban respectivamente el electrodo de vidrio, el de calomelanos, la microbureta, un tubo para la entrada del nitrógeno y un termómetro.

Para cada una de las azometinas se repitió la experiencia tres veces.

Los resultados obtenidos para la primera curva de valoración de cada reactivo se muestran en las Figuras nº 2.8-2.14.

**Curvas de valoración en presencia de ácido mineral fuerte.-**

Cada experiencia constó de dos valoraciones: una del ácido mineral ( $\text{HClO}_4$ ) solo; y otra de dicho ácido mineral más la correspondiente base de Schiff.

Las soluciones a valorar, cuyo volumen final fué de 20 mL, estaban compuestas por:

- a) 5 mL de  $\text{HClO}_4$  (0.01 M), 4 mL de  $\text{NaClO}_4$  (1 M), 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  y 10 mL de etanol.
- b) 5 mL de  $\text{HClO}_4$  (0.01), 4 mL de  $\text{NaClO}_4$  (1M), 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ , 5 mL de etanol y 5 mL de disolución etanólica de la base de Schiff (0.01 M).

La fuerza iónica se mantuvo constante en 0.2 M mediante la adición de la cantidad adecuada de  $\text{NaClO}_4$  1 M.

La valoración se realizó con  $\text{NaOH}$  0.02 M ( $f = 0.875$ ), en etanol al 50 % (v/v), en las mismas condiciones operatorias especificadas anteriormente.

Para cada una de las azometinas se repitió la experiencia tres veces.

Los resultados obtenidos para la primera experiencia de cada reactivo se muestran en las Figuras nº 2.15-2.21

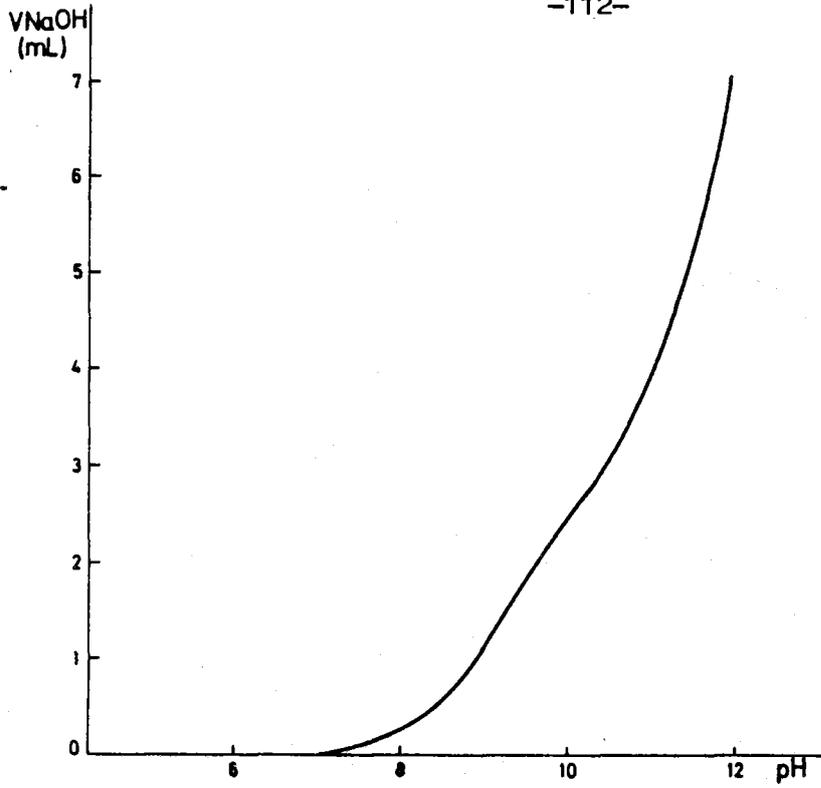


Figura nº 2.8. Saliciliden-o-aminofenol  
Curva de valoración.

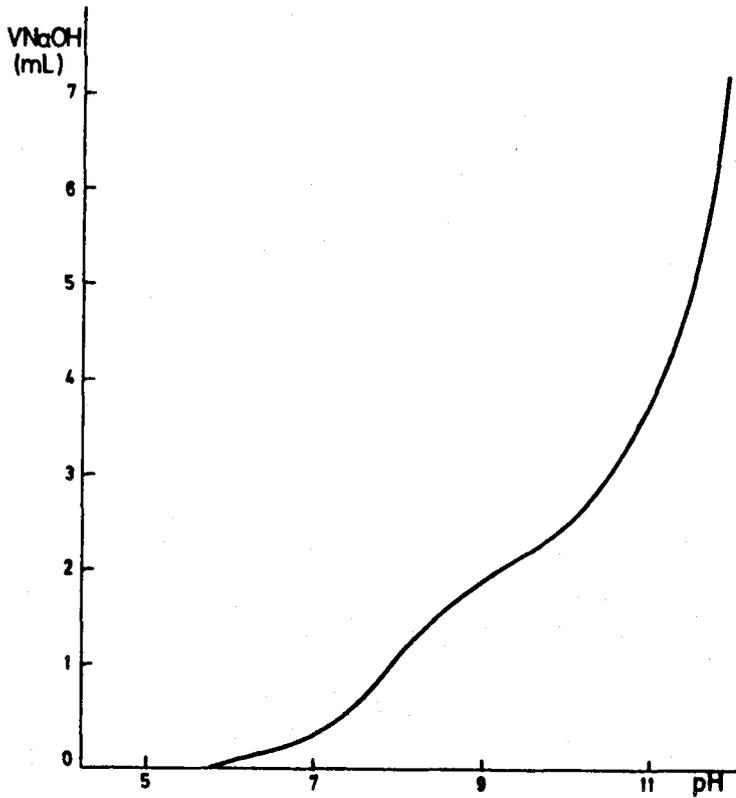


Figura nº 2.9. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol  
Curva de valoración.

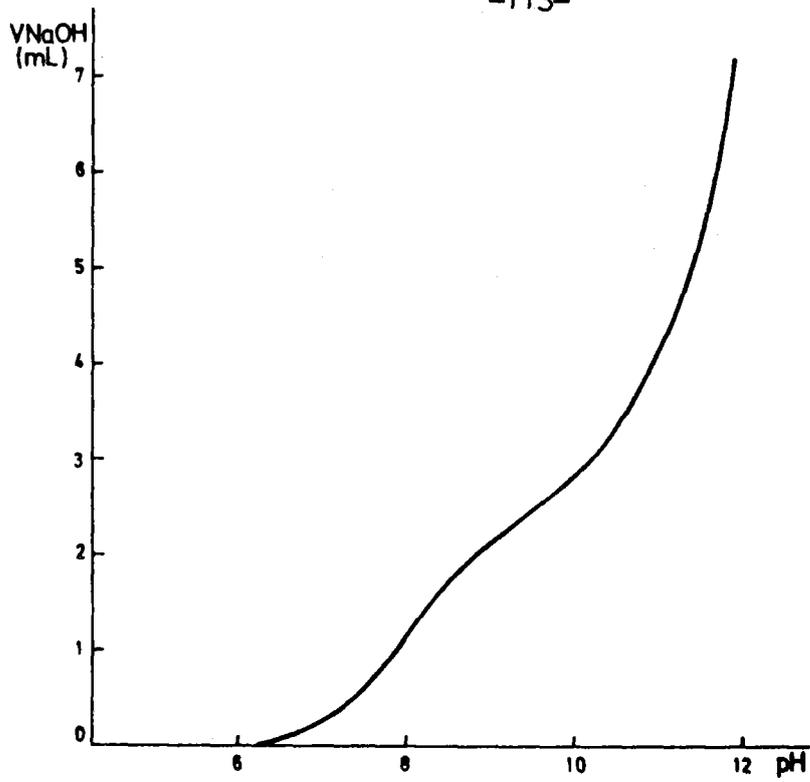


Figura nº 2.10. 5-Bromosaliciliden-*o*-aminofenol  
Curva de valoración.

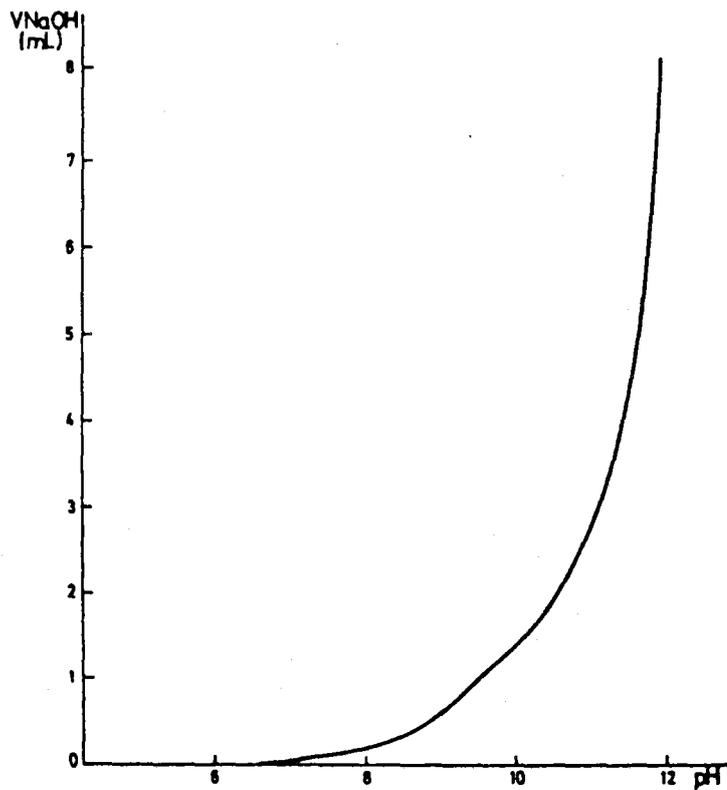


Figura nº 2.11. 5-Hidroxisaliciliden-*o*-aminofenol  
Curva de valoración.

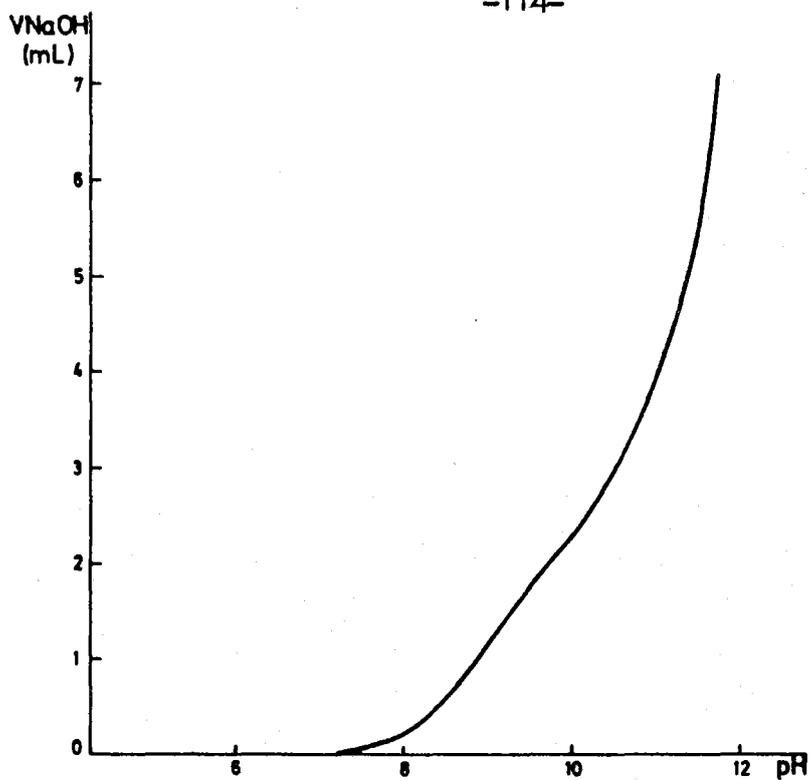


Figura nº 2.12. 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol  
Curva de valoración.

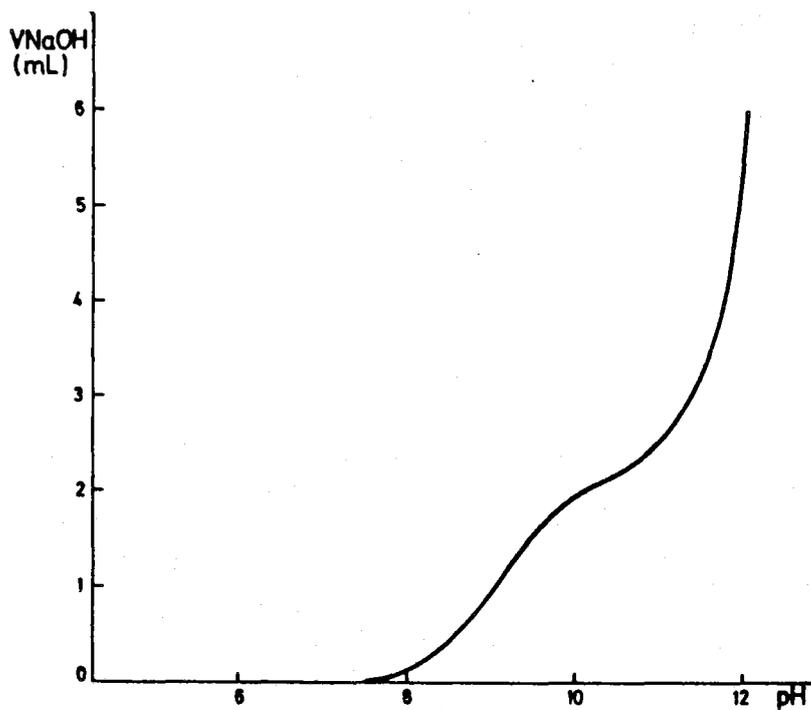


Figura nº 2.13. Saliciliden-anilina  
Curva de valoración.

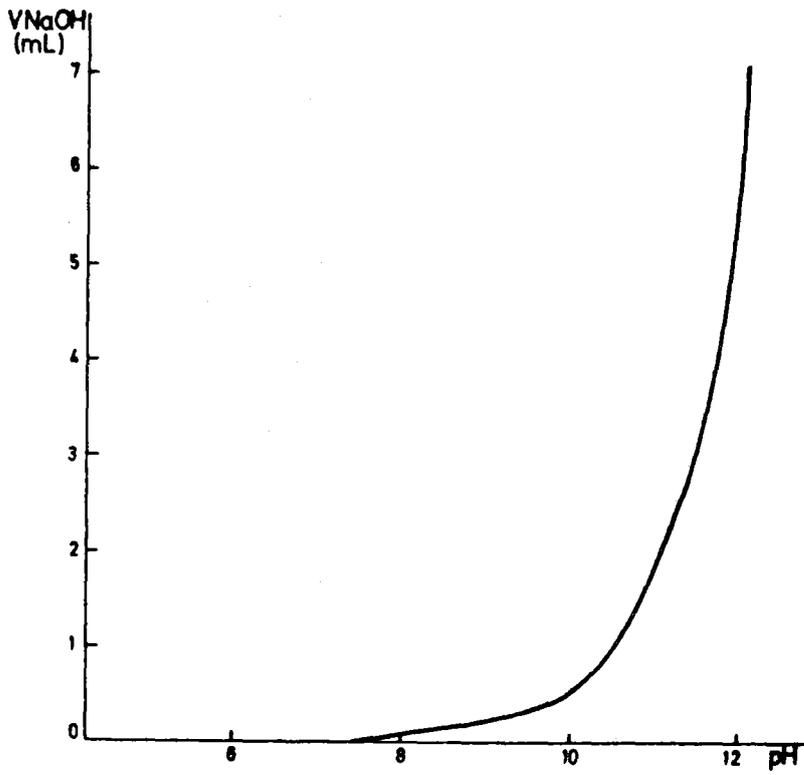


Figura nº 2.14. Benziliden-o-aminofenol  
Curva de valoración.

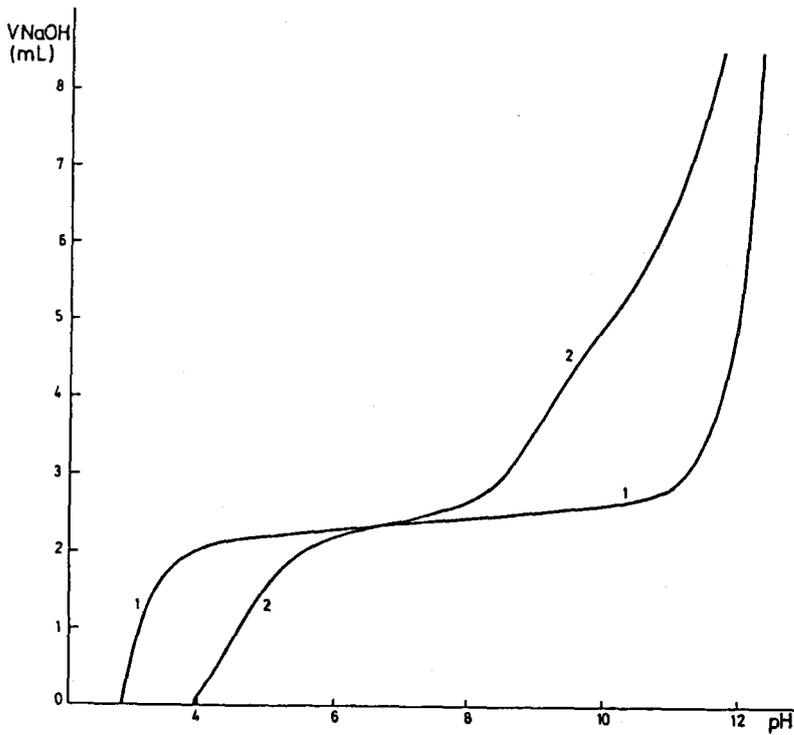


Figura nº 2.15. Curva 1: valoración de  $\text{HClO}_4$   
Curva 2: valoración de SOAF +  $\text{HClO}_4$

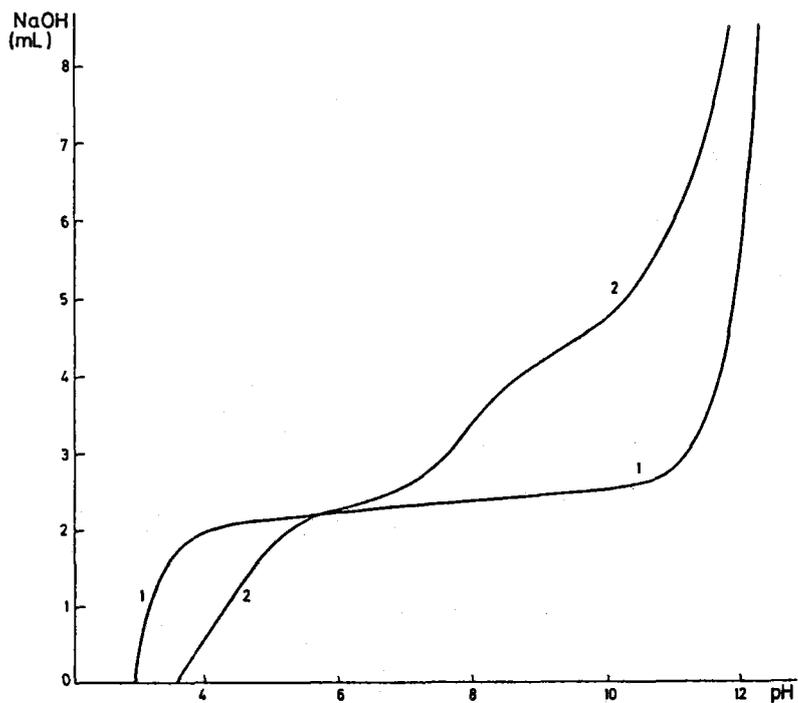


Figura nº 2.16. Curva 1: valoración de  $\text{HClO}_4$   
Curva 2: valoración de 5-ClSOAF +  $\text{HClO}_4$

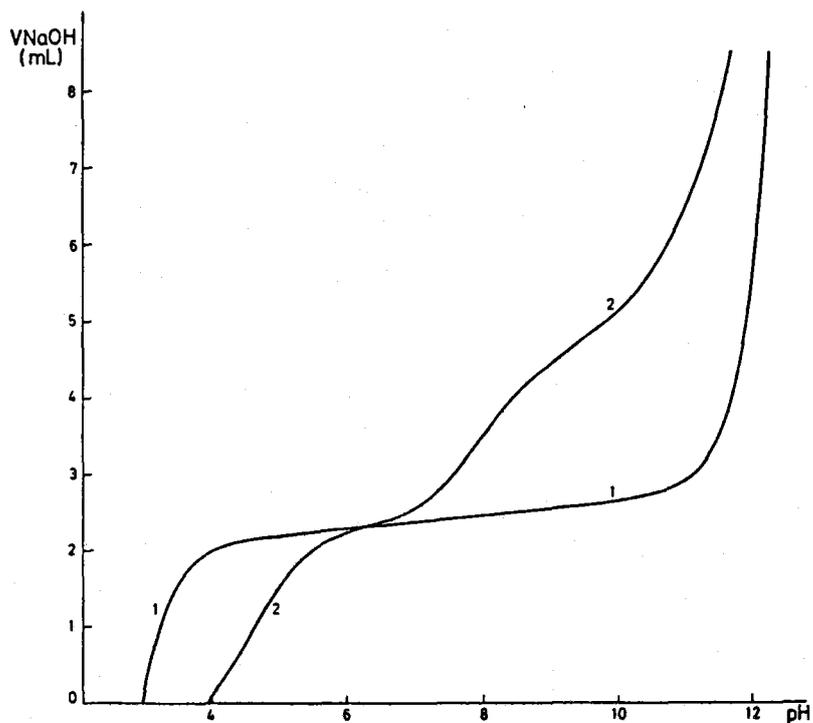


Figura nº 2.17. Curva 1: valoración de  $\text{HClO}_4$   
Curva 2: valoración de 5-BrSOAF +  $\text{HClO}_4$

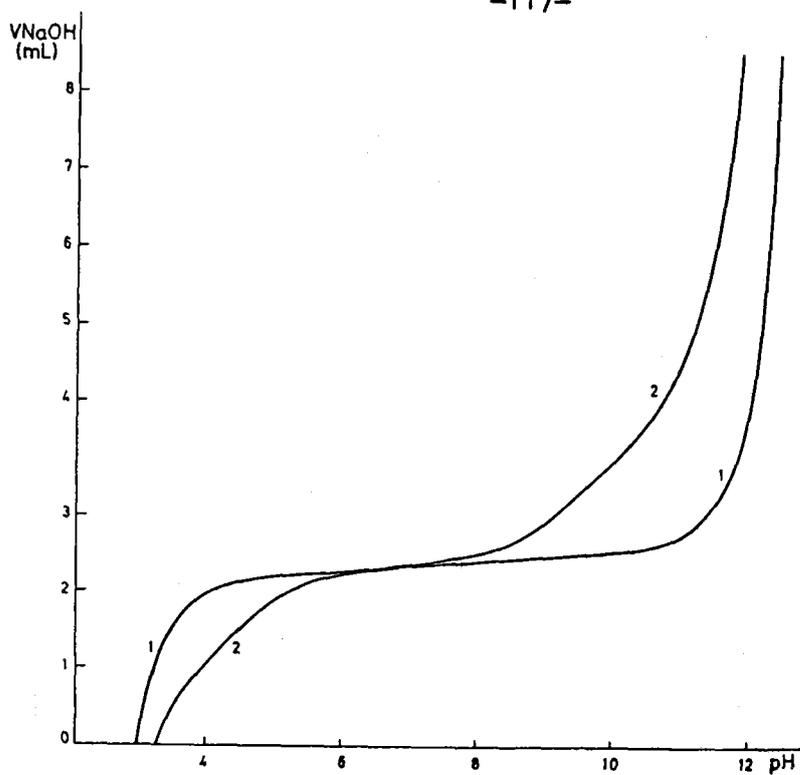


Figura nº 2.18. Curva 1: valoración de  $\text{HClO}_4$   
Curva 2: valoración de 5-OHSOAF +  $\text{HClO}_4$

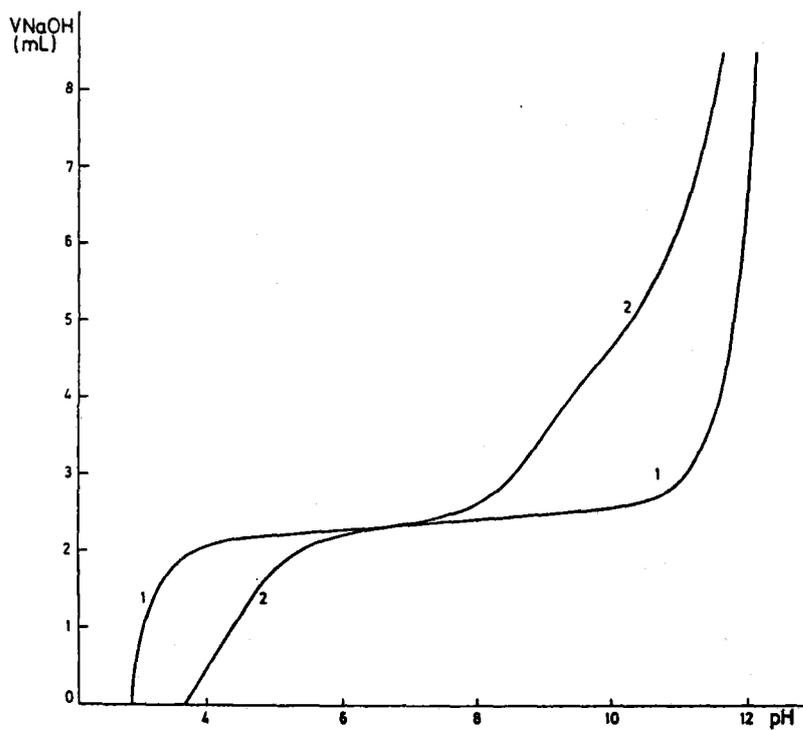


Figura nº 2.19. Curva 1: valoración de  $\text{HClO}_4$   
Curva 2: valoración de 5-MeOSOAF +  $\text{HClO}_4$

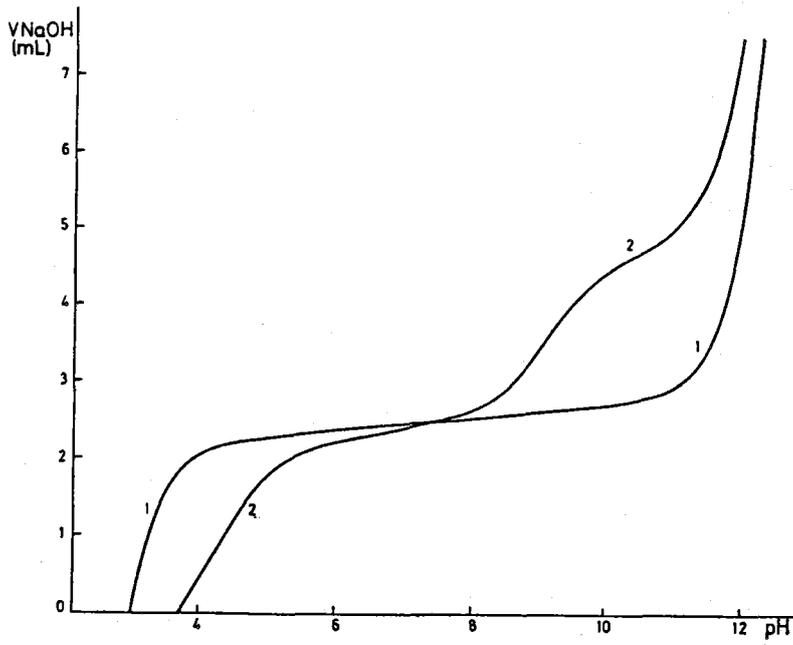


Figura nº 2.20 . Curva 1: valoración de  $\text{HClO}_4$   
Curva 2: valoración de SA +  $\text{HClO}_4$

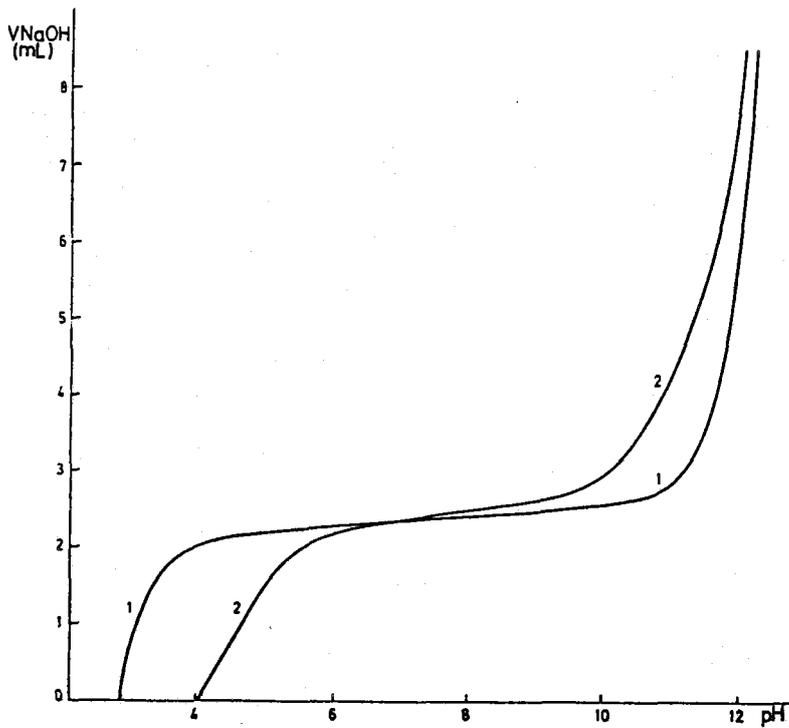


Figura nº 2.21. Curva 1: valoración de  $\text{HClO}_4$   
Curva 2: valoración de BOAF +  $\text{HClO}_4$

**METODO DIRECTO.**

Aunque muy simple en su fundamento, pues sólo considera las especies implicadas en cada etapa concreta de disociación, suministra los datos necesarios para orientar acerca del orden de magnitud de las correspondientes constantes de disociación ácida y poder aplicar en consecuencia el método más adecuado para su determinación.

Como es sabido, en este método directo, los valores de pKa se obtienen leyendo sobre la curva de valoración (Figuras nº 2.8-2.14) el valor de pH correspondiente a  $a = 0.5, 1.5 \dots$  etc.

En la Tabla 2.2 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 2.2

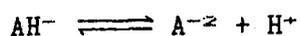
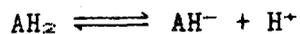
Azometina	pK <sub>2</sub>	pK <sub>3</sub>	pK <sub>4</sub>
SOAF	9.09±0.03	11.00±0.03	---
5-ClSOAF	8.19±0.03	11.15±0.03	---
5-BrSOAF	8.14±0.01	11.00±0.03	---
5-OHSOAF	9.57±0.09	11.40±0.03	11.75±0.03
5-MeOSOAF	9.15±0.03	11.00±0.03	---
SA	9.32±0.01	---	---
BOAF	10.70±0.03	---	---

Los resultados obtenidos nos indican, en una primera aproximación, que todos los valores de pKa están lo suficientemente alejados como para poder determinarlos por aplicación de los métodos Algebraico Directo (67) y de Bjerrum (68). Para establecer los valores de los pK<sub>3</sub> y pK<sub>4</sub> del 5-OHSOAF convendrá aplicar otros métodos. Seleccionamos para tal fin el método de Schwarzenbach (70). Por otra parte, para el cálculo del pKa correspondiente al nitrógeno azometínico protonado y que denominamos pK<sub>1</sub> aplicaremos el método de Irving y Rossotti (69) a las curvas de valoración de las distintas azometinas obtenidas en presencia de ácido mineral fuerte.

**METODO ALGEBRAICO DIRECTO. (67)**

**FUNDAMENTO TEORICO.**

La disociación de un ácido diprótico podemos expresarla según los equilibrios:



y sus constantes de disociación serán:

$$K_1 = [\text{AH}^-] [\text{H}^+] / [\text{AH}_2] \quad (1)$$

$$K_2 = [\text{A}^{2-}] [\text{H}^+] / [\text{AH}^-] \quad (2)$$

Si  $K_1$  fuera mucho mayor que  $K_2$ , cada etapa de disociación podría considerarse por separado.

Denominando "a" al número de moles de base agregada en cada instante por mol de ácido presente y "Ca" a la concentración total de especies ácidas, tendremos:

$$a = V_b M_b / V_a M_a \quad \text{y} \quad C_a = V_o M_a / V_o + V'$$

donde:

$V_o$  es el volumen inicial del ácido.

$V'$  es el volumen de base añadido.

Cuando el valor del pH sea bajo, es decir, el medio suficientemente ácido, se cumplirá:

$$C_a = [\text{AH}_2] + [\text{AH}^-] \quad (3)$$

Aplicando la condición de electroneutralidad:

$$aC_a + [\text{H}^+] = [\text{AH}^-] \quad (4)$$

Despejando  $[AH_2]$  en (3) y sustituyendo en (1):

$$K_1 = \frac{[AH^-][H^+]}{Ca - [AH^-]}$$

y teniendo en cuenta (4)

$$K_1 = \frac{[H^+](aCa - [H^+])}{Ca - (aCa + [H^+])}$$

expresión que nos permite el cálculo de la primera constante de disociación.

Cuando el valor del pH sea alto, la  $[AH_2]$  es despreciable frente a la  $[AH^-]$  y a la  $[A^{-2}]$ , por lo que las ecuaciones (3) y (4) se convierten en:

$$Ca = [AH^-] + [A^{-2}] \quad (5)$$

$$(a-1)Ca + [H^+] = [AH^-] + 2[A^{-2}] + [OH^-] \quad (6)$$

sustituyendo (6) en (5) y despejando  $[AH^-]$  tenemos:

$$[AH^-] = Ca - [A^{-2}] = Ca - \frac{(a-1)Ca + [H^+]}{2} \quad (7)$$

sustituyendo en (2), (5) y (7) resulta:

$$K_2 = \frac{2[H^+]\left(Ca - \frac{(Ca(3-a) - [OH^-])}{2}\right)}{Ca(3-a) - [OH^-]}$$

Hemos aplicado este método a las curvas de neutralización de todas y cada una de las azometinas en estudio (Figuras nº 2.8-2.14)

RESULTADOS OBTENIDOS.

*Saliciliden-o-aminofenol.-*

En las Tablas 2.3 y 2.4 se resumen los datos obtenidos para la primera valoración.

Tabla 2.3

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^{10}$	a	$C \times 10^3$	$K_2 \times 10^{10}$	$pK_2$
1.4	9.05	8.912	0.490	2.336	8.39	9.08
1.5	9.10	7.943	0.525	2.326	8.59	9.07
1.6	9.20	6.310	0.560	2.315	7.81	9.11
1.7	9.25	5.600	0.595	2.300	7.90	9.09

Valor medio:  $pK_2 = 9.09 \pm 0.02$

Tabla 2.4

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^{12}$	a	$C \times 10^3$	$[OH^-] \times 10^3$	$pK_3$
4.0	11.00	1.000	1.400	2.083	1.000	11.10
4.1	11.05	8.913	1.435	2.075	1.122	11.07
4.2	11.10	7.943	1.470	2.066	1.259	11.03
4.3	11.15	7.079	1.505	2.058	1.413	10.98
4.4	11.20	6.310	1.540	2.049	1.585	10.92

Valor medio:  $pK_3 = 11.02 \pm 0.07$

*5-Clorosaliciliden-o-aminofenol.-*

En las Tablas 2.5 y 2.6 se resumen los datos obtenidos para la primera valoración.

Tabla 2.5

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^8$	a	$C \times 10^3$	$K_2 \times 10^9$	$pK_2$
1.3	8.05	8.913	0.455	2.347	7.426	8.13
1.4	8.15	7.080	0.490	2.336	6.853	8.16
1.5	8.25	5.623	0.525	2.326	6.196	8.21
1.6	8.35	4.467	0.560	2.315	5.675	8.25

Valor medio:  $pK_2 = 8.21 \pm 0.08$

Tabla 2.6

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^{12}$	a	$C \times 10^3$	$[OH^-] \times 10^3$	$pK_3$
4.1	11.10	7.943	1.435	2.075	1.259	11.06
4.2	11.15	7.079	1.470	2.066	1.413	11.02
4.3	11.15	7.079	1.505	2.058	1.413	10.98
4.4	11.20	6.310	1.540	2.049	1.585	10.92

Valor medio:  $pK_3 = 11.00 \pm 0.06$

*5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.-*

En las Tablas 2.7 y 2.8 se resumen los datos obtenidos para la primera valoración.

Tabla 2.7

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^9$	a	$C \times 10^3$	$K_2 \times 10^9$	$pK_2$
1.2	7.95	11.220	0.420	2.358	8.11	8.10
1.3	8.03	9.333	0.455	2.347	7.78	8.11
1.4	8.10	7.943	0.490	2.336	7.61	8.12
1.5	8.20	6.310	0.525	2.326	6.96	8.16

Valor medio:  $pK_2 = 8.14 \pm 0.04$

Tabla 2.8

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^{12}$	a	$C \times 10^3$	$[OH^-] \times 10^9$	$pK_3$
4.1	10.90	12.590	1.435	2.075	0.794	11.06
4.2	10.95	11.220	1.470	2.066	0.891	11.04
4.3	11.00	10.000	1.505	2.058	1.000	11.01
4.4	11.05	8.913	1.540	2.049	1.122	10.97

Valor medio:  $pK_3 = 11.02 \pm 0.04$

*5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol.-*

En la Tabla 2.9 se resumen los datos obtenidos para la primera valoración.

Tabla 2.9

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^{10}$	$\alpha$	$C \times 10^3$	$K_2 \times 10^{10}$	$pK_2$
1.1	9.30	5.012	0.385	2.370	3.02	9.52
1.2	9.40	3.980	0.420	2.358	2.76	9.56
1.3	9.50	3.162	0.455	2.347	2.50	9.60
1.4	9.63	2.344	0.490	2.336	2.09	9.68

Valor medio:  $pK_2 = 9.59 \pm 0.07$

**5-Metoxisaliciliden-*o*-aminofenol.-**

En las Tablas 2.10 y 2.11 se resumen los datos obtenidos para la primera valoración.

**Tabla 2.10**

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^{10}$	$a$	$C \times 10^3$	$K_2 \times 10^{10}$	$pK_2$
1.3	9.00	10.000	0.455	2.347	8.20	9.09
1.4	9.10	7.943	0.490	2.336	7.47	9.13
1.5	9.20	6.310	0.525	2.326	6.78	9.17
1.6	9.25	5.623	0.560	2.315	6.94	9.16

Valor medio:  $pK_2 = 9.14 \pm 0.04$

**Tabla 2.11**

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^{12}$	$a$	$C \times 10^3$	$[OH^-] \times 10^3$	$pK_2$
4.1	10.90	12.590	1.435	2.075	0.794	11.06
4.2	11.00	10.000	1.470	2.066	1.000	11.04
4.3	11.00	10.000	1.505	2.058	1.000	11.01
4.4	11.05	8.913	1.540	2.049	1.122	10.97

Valor medio:  $pK_2 = 11.02 \pm 0.04$

*Saliciliden-anilina.-*

En la Tabla 2.12 se resumen los datos obtenidos para la primera valoración.

Tabla 2.12

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^{10}$	a	$C \times 10^3$	$K_2 \times 10^{10}$	$pK_2$
1.1	9.05	8.912	0.385	2.370	5.47	9.26
1.2	9.10	7.943	0.420	2.358	5.63	9.25
1.3	9.20	6.390	0.455	2.347	5.19	9.28
1.4	9.30	5.012	0.490	2.336	4.65	9.33

Valor medio:  $pK_2 = 9.28 \pm 0.04$

*Benciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

En la Tabla 2.13 se resumen los datos obtenidos para la primera valoración.

Tabla 2.13

$V_{NaOH}$	pH	$[H^+] \times 10^{11}$	a	$C \times 10^3$	$K_2 \times 10^{11}$	$pK_2$
1.1	10.50	3.162	0.385	2.370	1.06	10.97
1.2	10.55	2.818	0.420	2.358	1.04	10.98
1.3	10.60	2.512	0.455	2.347	1.00	11.00
1.4	10.65	2.239	0.490	2.336	0.95	11.02

Valor medio:  $pK_2 = 10.99 \pm 0.02$

En la siguiente Tabla 2.14 se muestran y resumen los resultados obtenidos.

Tabla 2.14. Constantes de disociación ácida. Método algebraico directo

Azometina	Experiencia	$pK_2$	$\overline{pK_2}$	$pK_3$	$\overline{pK_3}$
SOAF	1ª	9.09		11.02	
	2ª	9.11	9.09±0.02	11.00	11.02±0.02
	3ª	9.08		11.04	
5-ClSOAF	1ª	8.21		11.00	
	2ª	8.25	8.21±0.04	11.04	11.02±0.02
	3ª	8.17		11.01	
5-BrSOAF	1ª	8.14		11.02	
	2ª	8.11	8.14±0.03	11.00	11.03±0.03
	3ª	8.17		11.06	
5-OHSOAF	1ª	9.59			
	2ª	9.61	9.61±0.03		
	3ª	9.64			
5-MeOSOAF	1ª	9.14		11.02	
	2ª	9.16	9.16±0.03	11.05	11.05±0.03
	3ª	9.19		11.07	
SA	1ª	9.28			
	2ª	9.32	9.32±0.03		
	3ª	9.36			
BOAF	1ª	10.99			
	2ª	10.97	10.99±0.02		
	3ª	11.01			

**METODO DE BJERRUM. (68)**

**FUNDAMENTO TEORICO.**

En este método, Bjerrum considera a la sustancia ácida, a la que se desea determinar las constantes de disociación ácida, como un complejo en el que el hidrógeno es el ligando y la molécula azometínica el ión central. De esta forma, el número de moles de ligando complejado por mol de ión central " $\bar{n}$ " se define como:

$$\bar{n} = \frac{2[AH_2] + [AH^-]}{Ca}$$

Los valores de  $n$  representados en función del pH, nos darán para  $\bar{n} = 0.5$  y  $n = 1.5$  los valores de  $pK_3$  y  $pK_2$ .

Para el cálculo de  $\bar{n}$  se tienen en cuenta dos simplificaciones:

a) Para valores del pH suficientemente bajos, de todas las especies en equilibrio posibles ( $AH_2$ ,  $AH^-$  y  $A^{-2}$ ), solamente son significativas las concentraciones de  $AH_2$  y  $AH^-$ .

b) Para valores de pH suficientemente altos, la contribución de la concentración de  $AH_2$  es despreciable.

Teniendo en cuenta las premisas anteriores y operando convenientemente se llega a las siguientes expresiones:

$$\bar{n} = (2-a) - \frac{10^{-2pH} - 10^{-14}}{Ca 10^{-pH}} \quad (A)$$

$$\bar{n} = \frac{aCa - [OH^-]}{Ca} \quad (B)$$

RESULTADOS OBTENIDOS.

*Saliciliden- $\alpha$ -aminofenol.-*

En las Tablas 2.15-2.16 y Figuras nº 2.22-2.23 se muestran los datos obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.8).

Tabla 2.15

$V_{NaOH}$	pH	a	$\bar{n}$
1.0	8.75	0.350	1.65
1.1	8.85	0.385	1.62
1.2	8.90	0.420	1.58
1.3	8.95	0.455	1.55
1.4	9.05	0.490	1.52
1.5	9.10	0.525	1.48
1.6	9.20	0.560	1.45
1.7	9.25	0.595	1.41

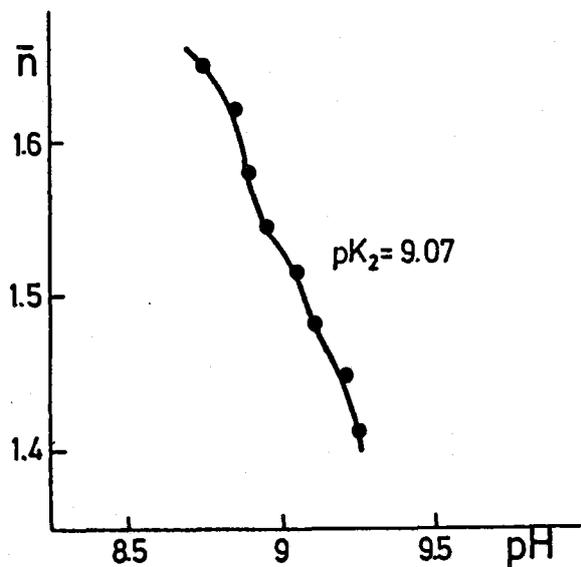


Figura nº 2.22. Saliciliden- $\alpha$ -aminofenol  
Método de Bjerrum. Cálculo de  $pK_2$ .

Tabla 2.16

$V_{NaOH}$	pH	$\alpha$	$C_{ax} \times 10^3$	$[OH^-] \times 10^3$	$\bar{n}$
5.0	11.25	1.750	2.000	1.778	0.86
5.2	11.35	1.824	1.980	1.995	0.81
5.4	11.40	1.894	1.970	2.512	0.62
5.6	11.45	1.960	1.950	2.818	0.51
5.8	11.50	2.030	1.938	3.162	0.40
6.0	11.55	2.100	1.923	3.548	0.25

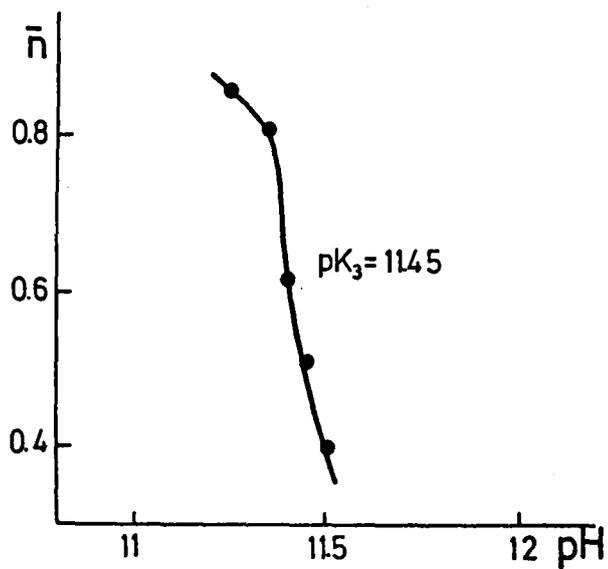


Figura nº 2.23. Saliciliden-*o*-aminofenol  
Método de Bjerrum. Cálculo de  $pK_3$ .

*5-Clorosaliciliden-o-aminofenol.-*

En las Tablas 2.17-2.18 y Figuras nº 2.24-2.25 se muestran los datos obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.9).

Tabla 2.17

$V_{\text{NaOH}}$	pH	a	$\bar{n}$
1.1	7.85	0.385	1.62
1.2	7.90	0.420	1.58
1.3	8.05	0.445	1.55
1.4	8.15	0.490	1.51
1.5	8.25	0.525	1.48
1.6	8.36	0.560	1.44
1.7	8.50	0.595	1.41

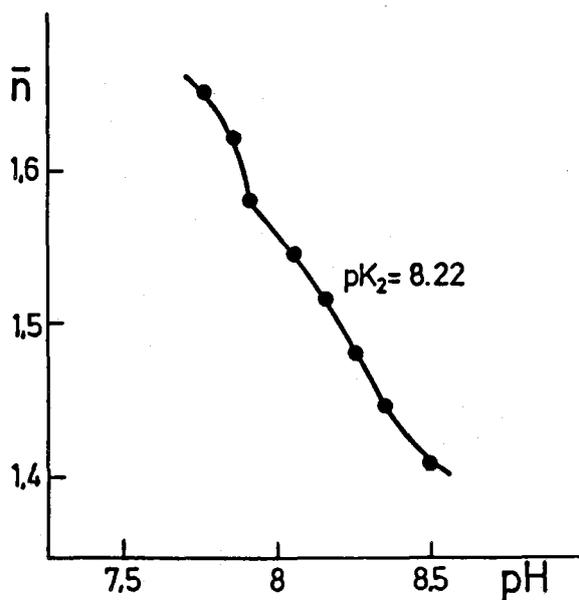


Figura nº 2.24. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol  
Método de Bjerrum. Cálculo de  $pK_2$ .

Tabla 2.18

$V_{NaOH}$	pH	$\alpha$	$C_{ax} \times 10^{-3}$	$[OH^-] \times 10^{-3}$	$\bar{n}$
4.4	11.25	1.540	2.049	1.778	0.68
4.6	11.30	1.610	2.033	1.995	0.63
4.8	11.35	1.680	2.016	2.239	0.57
5.0	11.45	1.750	2.000	2.818	0.34
5.2	11.50	1.824	1.980	3.162	0.22

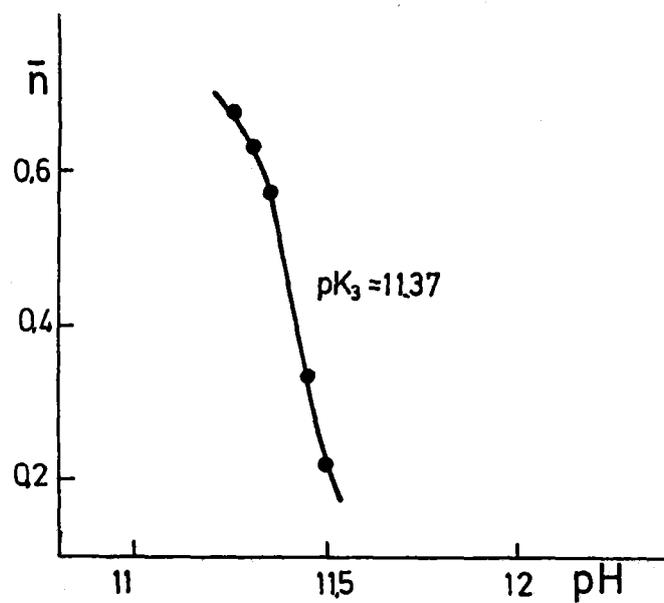


Figura nº 2.25. 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol  
Método de Bjerrum. Cálculo de  $pK_3$ .

*5-Bromosaliciliden- $\alpha$ -aminofenol.* -

En las Tablas 2.19-2.20 y Figuras nº 2.26-2.27 se muestran los datos obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.10).

Tabla 2.19

$V_{\text{NaOH}}$	pH	$a$	$\bar{n}$
1.1	7.85	0.385	1.62
1.2	7.95	0.420	1.58
1.3	8.03	0.445	1.55
1.4	8.10	0.490	1.51
1.5	8.20	0.525	1.48
1.6	8.30	0.560	1.44
1.7	8.40	0.595	1.41

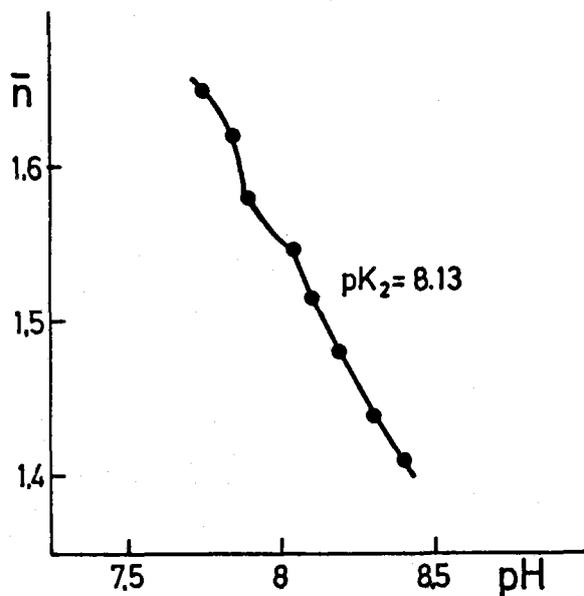


Figura nº 2.26. 5-Bromosaliciliden- $\alpha$ -aminofenol  
Método de Bjerrum. Cálculo de  $pK_2$ .

Tabla 2.20

$V_{N_{\text{aOH}}}$	pH	$a$	$C_{\text{ax}} \times 10^3$	$[\text{OH}^-] \times 10^3$	$\bar{n}$
4.6	11.12	1.610	2.033	1.318	0.96
4.8	11.20	1.680	2.016	1.585	0.89
5.0	11.28	1.750	2.000	1.905	0.80
5.2	11.35	1.824	1.980	2.239	0.69
5.4	11.40	1.894	1.970	2.515	0.62
5.6	11.48	1.960	1.950	3.020	0.41

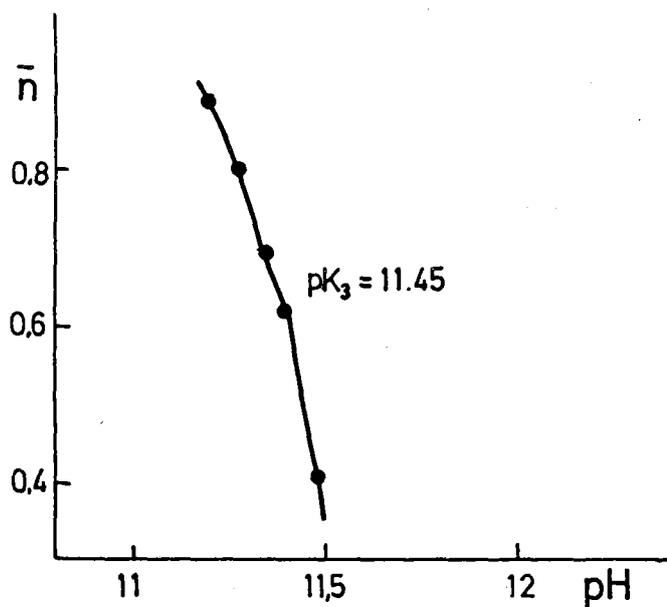


Figura nº 2.27. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol  
Método de Bjerrum. Cálculo de  $pK_3$ .

*5-Hidroxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

En la Tabla 2.21 y Figura nº 2.28 se muestran los datos obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.11).

Tabla 2.21

$V_{\text{NaOH}}$	pH	$\alpha$	$\bar{n}$
1.2	9.40	0.420	1.59
1.3	9.50	0.455	1.56
1.4	9.63	0.490	1.53
1.5	9.75	0.525	1.49
1.6	9.85	0.560	1.47
1.7	10.00	0.595	1.45

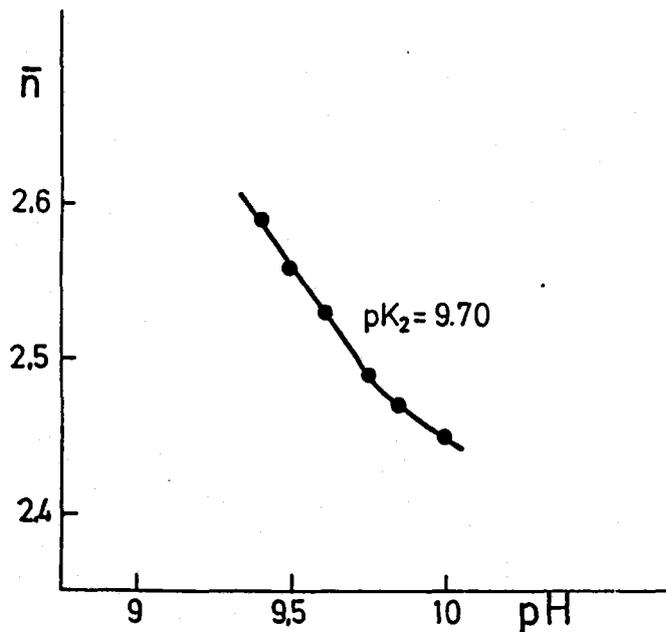


Figura nº 2.28. 5-Hidroxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Método de Bjerrum. Cálculo de  $pK_2$ .

**5-Metoxisaliciliden-*o*-aminofenol.-**

En las Tablas 2.22-2.23 y Figuras nº 2.29-2.30 se muestran los datos obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.12).

Tabla 2.22

$V_{\text{NaOH}}$	pH	a	$\bar{n}$
1.1	8.85	0.385	1.62
1.2	8.90	0.420	1.58
1.3	9.00	0.455	1.55
1.4	9.10	0.490	1.52
1.5	9.20	0.525	1.48
1.6	9.25	0.560	1.45
1.7	9.30	0.595	1.41

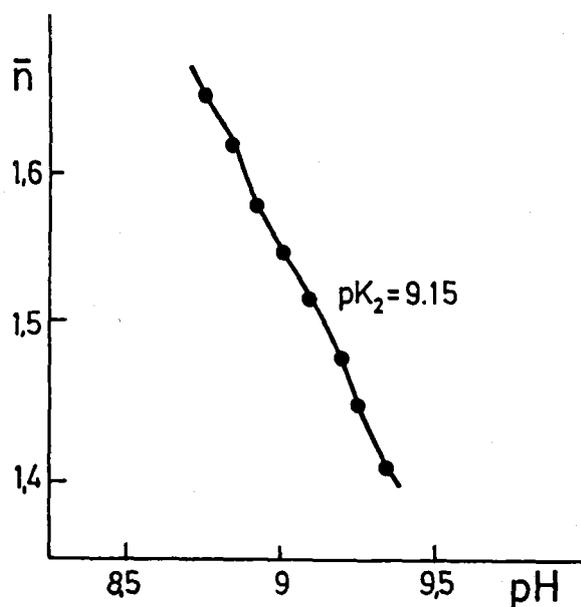


Figura nº 2.29. 5-Metoxisaliciliden-*o*-aminofenol  
Método de Bjerrum. Cálculo de  $pK_2$ .

Tabla 2.23

$V_{NaOH}$	pH	$a$	$C \times 10^3$	$[OH^-] \times 10^3$	$\bar{n}$
4.6	11.10	1.610	2.033	1.259	0.99
5.4	11.35	1.894	1.970	2.239	0.76
5.8	11.43	2.030	1.938	2.691	0.64
6.2	11.50	2.175	1.910	3.162	0.52
6.4	11.52	2.240	1.894	3.310	0.49
7.0	11.60	2,45	1.850	3.981	0.30

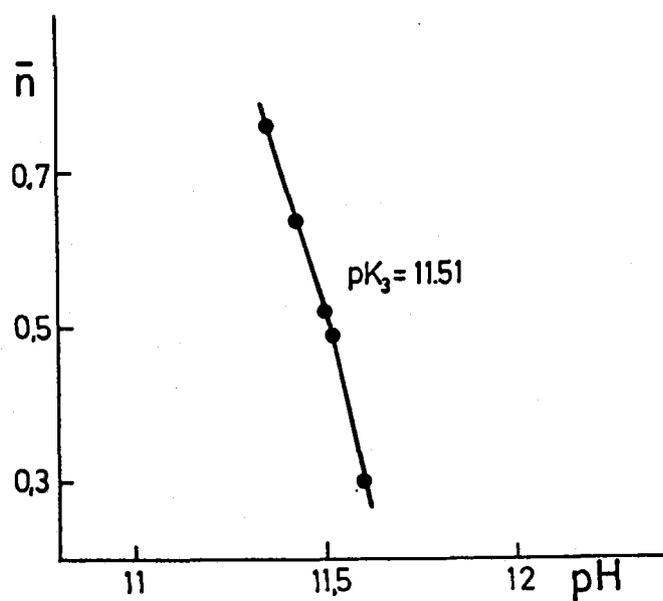


Figura nº 2.30. 5-Metoxisaliciliden- $\alpha$ -aminofenol  
Método de Bjerrum. Cálculo de  $pK_3$ .

En la siguiente Tabla 2.24 se reúne la totalidad de los resultados obtenidos por aplicación del método de Bjerrum.

Tabla 2.24. Constantes de disociación ácida. Método de Bjerrum.

Azometina	Experiencia	$pK_2$	$\bar{p}K_2$	$pK_3$	$\bar{p}K_3$
SOAF	1ª	9.07		11.45	
	2ª	9.09	9.08±0.02	11.43	11.45±0.02
	3ª	9.10		11.47	
5-ClSOAF	1ª	8.22		11.37	
	2ª	8.25	8.22±0.03	11.40	11.40±0.03
	3ª	8.19		11.42	
5-BrSOAF	1ª	8.13		11.45	
	2ª	8.11	8.13±0.02	11.44	11.45±0.02
	3ª	8.15		11.47	
5-OHSOAF	1ª	9.70			
	2ª	9.68	9.68±0.02		
	3ª	9.67			
5-MeOSOAF	1ª	9.15		11.51	
	2ª	9.13	9.15±0.03	11.48	11.50±0.02
	3ª	9.18		11.507	

**METODO DE IRVING Y ROSSOTTI. (69)**

**FUNDAMENTO TEORICO.**

Como premisa esencial de su método Irving y Rossotti consideran a la sustancia ácida  $H_2A$  como un complejo formado por el ligando  $A^{2-}$  y el hidrógeno ( $H^+$ ).

Como punto de partida para el cálculo de las constantes de disociación de un compuesto por este método, los autores el concepto de la función  $n_a$  que definen como:

$$n_a = \frac{\text{concentración total de } H^+ \text{ unido a ligando}}{\text{concentración total de ligando}}$$

Las constantes de disociación se obtiene fácilmente de la representación del pH en función de  $n_a$ , para valores de  $n_a$ : 0.5; 1.5; 2.5; ..., respectivamente.

Como se deduce de su definición,  $n_a$ , se puede expresar como:

$$n_a = (C_n - [H^+]) / C_l \quad (1)$$

donde:

$C_n$ : es la concentración analítica de protones (ácido) en disolución.

$C_l$ : es la concentración analítica de ligando.

El término desconocido de (1) es el numerador, ya que, si bien se conoce  $C_n$ , la concentración de protones,  $[H^+]$ , puede variar bastante, y su variación hará variar, a su vez, a  $C_n$ .

Para evaluar  $n_a$  es por ello necesario recurrir pues a un artificio operatorio.

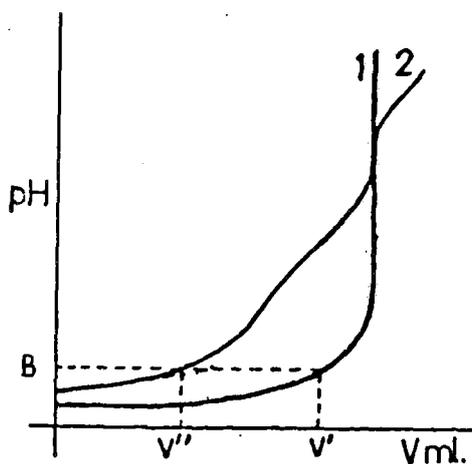
Si a una determinada cantidad de ácido mineral de concentración  $E$ , se añade una cantidad suficiente de ligando, se origina la formación de un complejo del tipo  $H_2A$ , dando lugar a una concentración total de ligando  $C_l$ .

Ahora, la concentración total de protones, inicialmente será  $E + yC_1$ , y durante el transcurso de una valoración con hidróxido sódico resultará:

$$C_n = E + yC_n - [Na^+] + [OH^-] \quad (2)$$

El cálculo de  $n_a$  mediante la ecuación (1) requiere un exacto conocimiento de  $[H^+]$ , lo que puede presentar dificultades. Si el dato se toma a partir de un único valor de pH de una curva de valoración de ácido mineral y ligando, tal que  $[Na^+]$  y  $[OH^-]$  sean despreciables y además  $E \gg C_1$ , entonces  $[H^+]$  es aproximadamente igual a  $E$ . El valor calculado pues para  $C_n - [H^+]$  será muy sensible a pequeños errores cometidos en la medida de  $[H^+]$ .

Para subsanar esta dificultad se recurre a un método operatorio que consiste en hacer una valoración potenciométrica del ácido mineral solo y otra del ácido mineral más el ligando, representando los correspondientes valores de pH frente al volumen de base añadido. Colocadas las dos curvas sobre los mismos ejes de coordenadas, resulta una representación como la que se muestra en la siguiente figura:



La curva 1 representa la valoración del ácido mineral, la curva 2 la valoración del ácido mineral y ligando.

Se elige un valor para la ordenada (pH) y se traza una paralela al eje de abscisas que cortará a las dos curvas con lo que se establecen sobre el eje de abscisas unos volúmenes determinados de base.

Para la curva de valoración del ácido mineral se cumplirá que:

$$[H^+]^{\prime} = E^{\prime} + [OH^-] - [Na^+]^{\prime} \quad (3)$$

y para la de ácido mineral y ligando, de la misma forma

$$[H^+]^{\prime\prime} = E^{\prime\prime} + [OH^-]^{\prime\prime} - [Na^+]^{\prime\prime} + yC_1 - n_a C_1 \quad (4)$$

Para una misma ordenada, de la figura anterior, y si la fuerza iónica de ambas disoluciones es la misma ocurrirá que:

$$[H^+]^{\prime} = [H^+]^{\prime\prime} \text{ y } [OH^-]^{\prime} = [OH^-]^{\prime\prime}$$

Restando la ecuación (3) de la (4) y despejando  $n_a$  se obtiene:

$$n_a = \{(E^{\prime\prime} - E^{\prime}) - ([Na^+]^{\prime\prime} - [Na^+]^{\prime}) + yC_1\} / C_1 \quad (5)$$

Suponiendo un volumen inicial de disolución  $V^{\circ}$ , unas concentraciones iniciales de ácido mineral y ligando  $E^{\circ}$  y  $C_1^{\circ}$ , respectivamente, las mismas en cada valoración y que los volúmenes  $v^{\prime}$  y  $v^{\prime\prime}$  de base de concentración  $N$  fueran añadidos en los puntos respectivos A y B, entonces:

$$E^{\prime\prime} = (V^{\circ} E^{\circ}) / (V^{\circ} + v^{\prime\prime}) \quad E^{\prime} = (V^{\circ} E^{\circ}) / (V^{\circ} + v^{\prime})$$

$$[Na^+]^{\prime\prime} = (v^{\prime\prime} N) / (V^{\circ} + v^{\prime\prime}) \quad [Na^+]^{\prime} = (v^{\prime} N) / (V^{\circ} + v^{\prime})$$

$$C_1 = (V^{\circ} C_1^{\circ}) / (V^{\circ} + v^{\prime\prime})$$

Sustituyendo estos valores en la ecuación (5) obtenemos, después de simplificar y reagrupar que:

$$n_a = y + \{(v^{\prime} - v^{\prime\prime}) / (V^{\circ} + v^{\prime})\} \{(E + E) / C_1^{\circ}\}$$

De la representación del pH frente a  $n_a$  obtenemos los valores de los pK, para valores de  $n_a$ : 0.5; 1.5; 2.5 ...

RESULTADOS OBTENIDOS.

*Saliciliden-o-aminofenol.-*

Los resultados obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.15) se muestran en las siguientes Tablas 2.25-2.26 y Figuras nº 2.31-2.32

Tabla 2.25

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
4.00	2.050	0.15	2.69
4.10	2.050	0.30	2.64
4.20	2.100	0.45	2.60
4.30	2.100	0.55	2.56
4.40	2.125	0.70	2.52
4.50	2.150	0.90	2.45
4.60	2.175	1.05	2.41
4.70	2.200	1.20	2.36

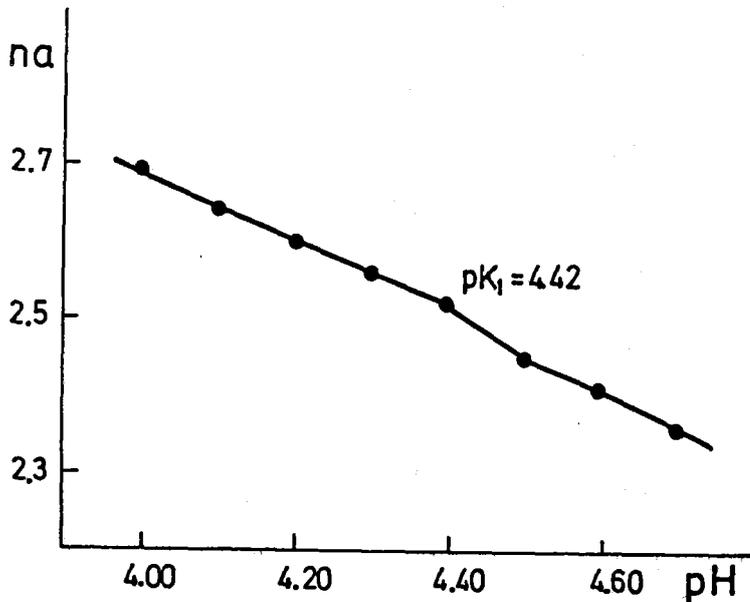


Figura nº 2.31. Saliciliden-o-aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_1$ .

Tabla 2.26

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
8.70	2.500	3.30	1.72
8.80	2.500	3.45	1.66
8.90	2.500	3.60	1.61
9.00	2.525	3.75	1.57
9.10	2.550	3.90	1.52
9.20	2.550	4.00	1.49
9.30	2.575	4.15	1.44
9.40	2.600	4.30	1.40
9.50	2.600	4.45	1.35

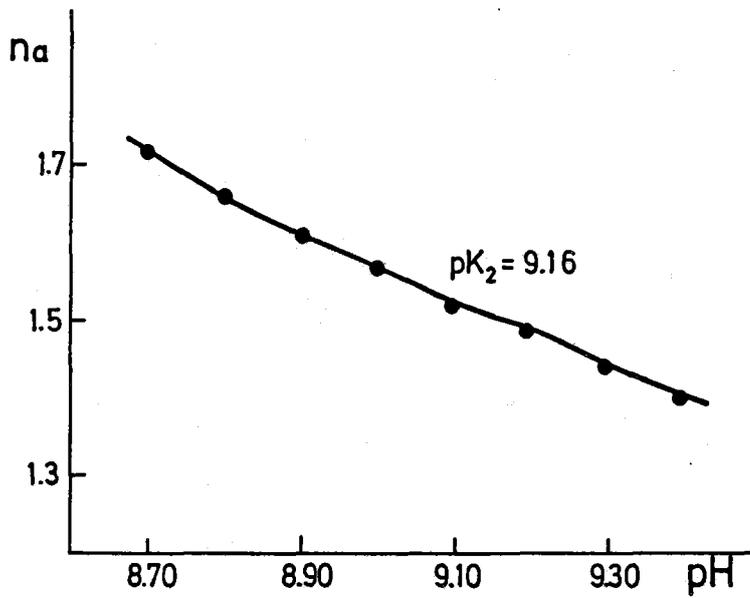


Figura nº 2.32. Saliciliden-o-aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_2$ .

*5-Clorosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

Los resultados obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.16) se muestran en las siguientes Tablas 2.27-2.28 y Figuras nº 2.33-2.34.

Tabla 2.27

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
3.70	1.800	0.15	2.61
3.80	1.900	0.30	2.58
3.90	1.950	0.45	2.55
4.00	2.000	0.60	2.51
4.10	2.025	0.70	2.48
4.20	2.050	0.85	2.44
4.30	2.075	1.00	2.39
4.40	2.100	1.10	2.36

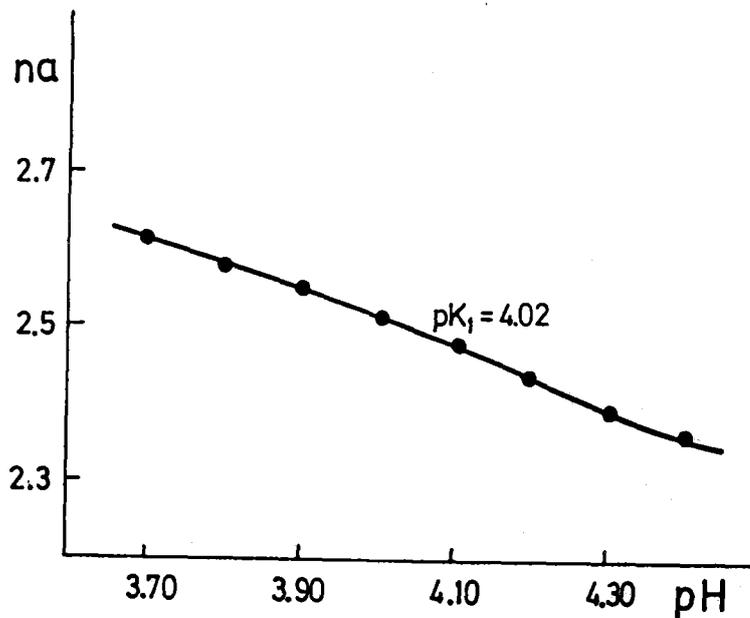


Figura nº 2.33. 5-Clorosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_1$ .

Tabla 2.28

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
8.20	2.400	3.625	1.56
8.30	2.400	3.725	1.53
8.40	2.400	3.800	1.50
8.50	2.400	3.850	1.48
8.60	2.425	3.950	1.46
8.70	2.450	4.000	1.45
8.80	2.450	4.050	1.43

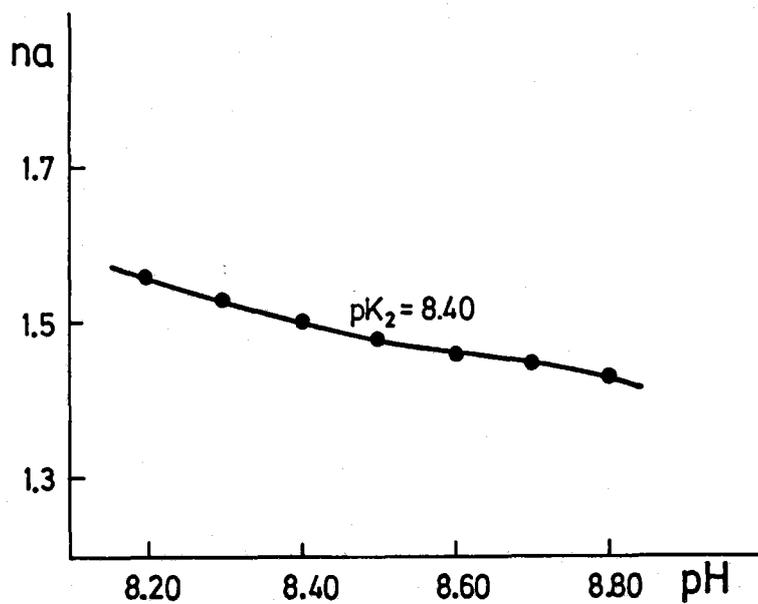


Figura nº 2.34. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol.  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de pK<sub>2</sub>.

*5-Bromosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

Los resultados obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.17) se muestran en las siguientes Tablas 2.29-2.30 y Figuras nº 2.35-2.36.

Tabla 2.29

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
4.00	2.000	0.15	2.67
4.10	2.050	0.25	2.65
4.20	2.075	0.40	2.61
4.30	2.100	0.55	2.56
4.40	2.125	0.70	2.52
4.50	2.150	0.85	2.47
4.60	2.150	1.00	2.42
4.70	2.175	1.15	2.37

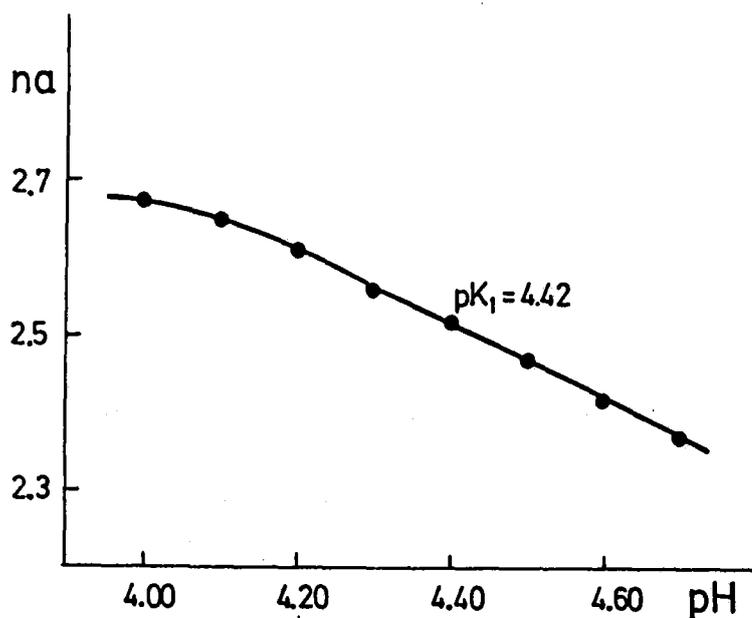


Figura nº 2.35. 5-Bromosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_1$ .

Tabla 2.30

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
7.90	2.450	3.40	1.66
8.00	2.450	3.55	1.61
8.10	2.475	3.65	1.58
8.20	2.500	3.80	1.54
8.30	2.500	3.90	1.50
8.40	2.500	4.00	1.47
8.50	2.500	4.10	1.43
8.60	2.525	4.15	1.42

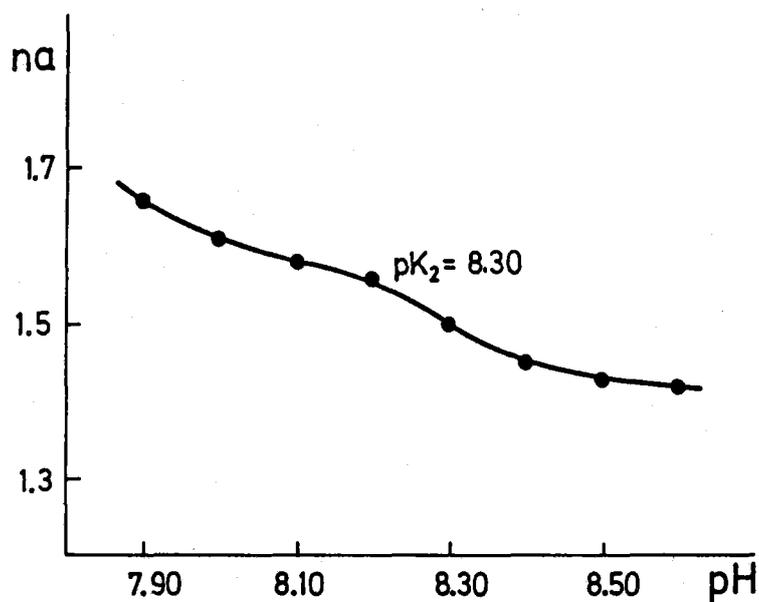


Figura nº 2.36. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_2$ .

*5-Hidroxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

Los resultados obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.18) se muestran en las siguientes Tablas 2.31-2.32 y Figuras nº 2.37-2.38.

Tabla 2.31

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
4.00	2.00	1.10	3.66
4.10	2.05	1.20	3.62
4.20	2.05	1.30	3.54
4.30	2.10	1.40	3.51
4.40	2.10	1.50	3.43
4.50	2.15	1.60	3.40
4.60	2.15	1.65	3.36
4.70	2.15	1.70	3.33

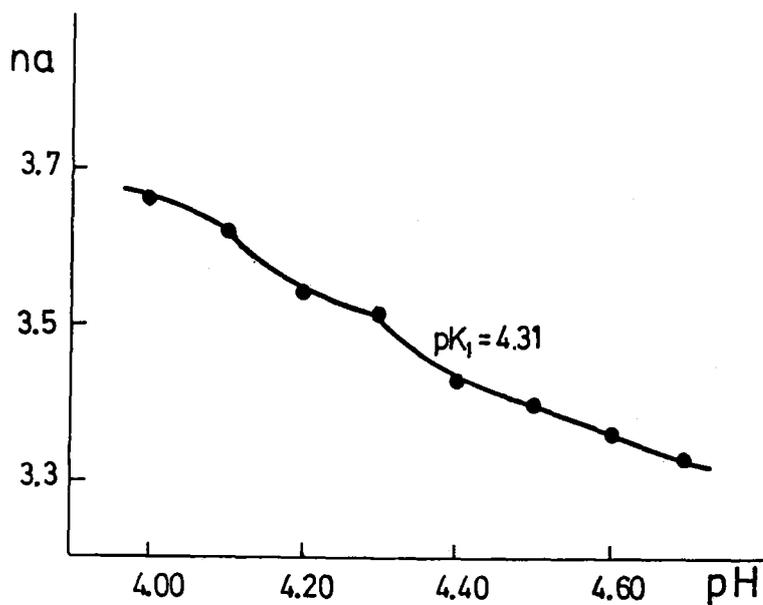


Figura nº 2.37. 5-Hidroxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de pK<sub>1</sub>.

Tabla 2.32

pH	v'	v''	n <sub>∞</sub>
9.30	2.625	3.15	2.66
9.40	2.650	3.25	2.58
9.50	2.700	3.35	2.54
9.60	2.700	3.40	2.51
9.70	2.700	3.45	2.47
9.80	2.725	3.50	2.45
9.90	2.750	3.55	2.44

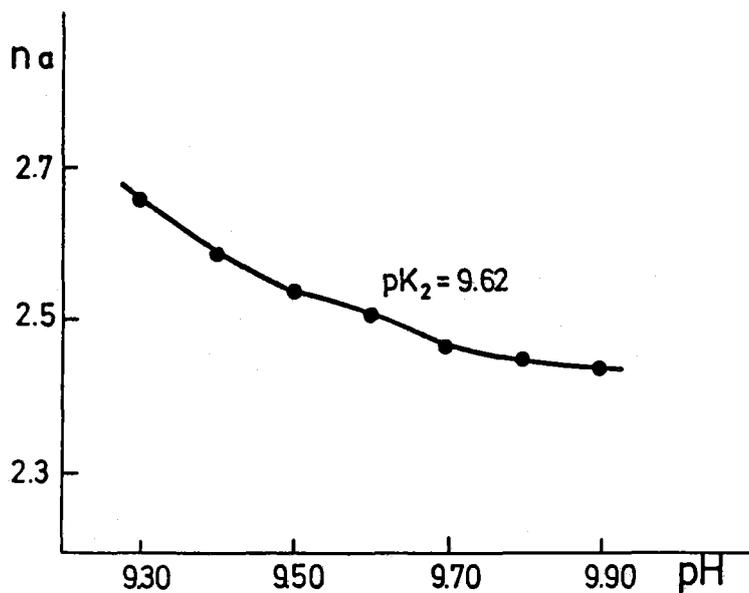


Figura nº 2.38. 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_2$ .

*5-Metoxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

Los resultados obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.19) se muestran en las siguientes Tablas 2.33-2.34 y Figuras nº 2.39-2.40.

Tabla 2.33

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
3.80	2.000	0.25	2.64
3.90	2.050	0.40	2.60
4.00	2.075	0.55	2.55
4.10	2.100	0.65	2.53
4.20	2.100	0.80	2.47
4.30	2.100	0.95	2.42
4.40	2.150	1.10	2.38
4.50	2.150	1.20	2.34

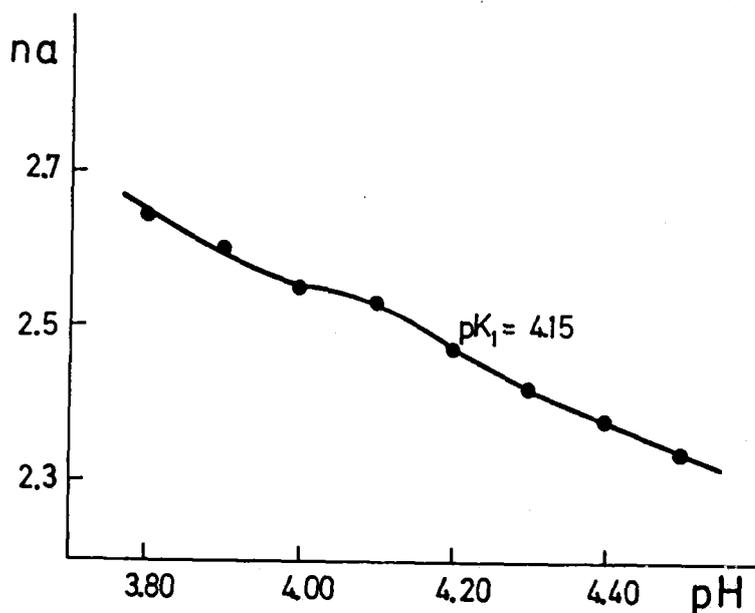


Figura nº 2.39. 5-Metoxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_2$ .

Tabla 2.34

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
8.80	2.475	3.45	1.65
8.90	2.500	3.55	1.63
9.00	2.500	3.70	1.57
9.10	2.500	3.80	1.54
9.20	2.500	3.90	1.50
9.30	2.500	4.00	1.47
9.40	2.500	4.15	1.41
9.50	2.525	4.25	1.39

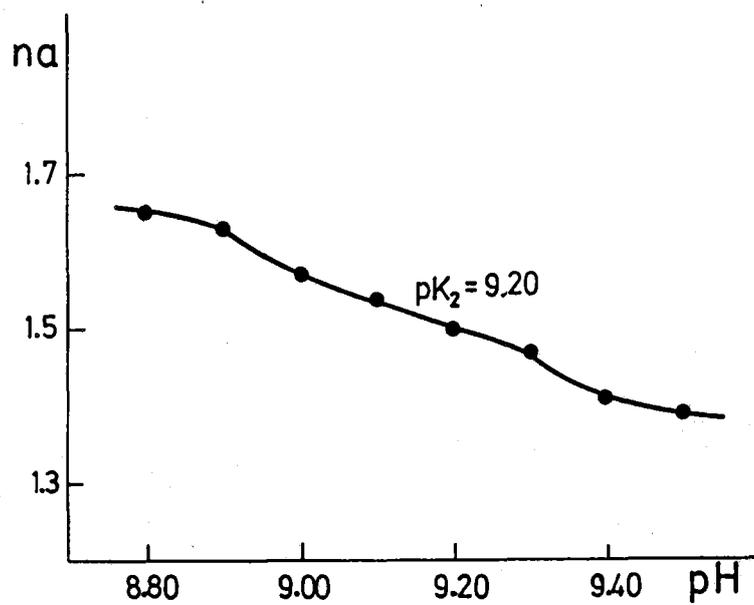


Figura nº 2.40. 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_2$ .

*Saliciliden-anilina.-*

Los resultados obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.20) se muestran en las siguientes Tablas 2.35-2.36 y Figuras nº 2.41-2.42.

Tabla 2.35

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
3.90	2.00	0.35	1.60
4.00	2.05	0.50	1.56
4.10	2.10	0.65	1.53
4.20	2.15	0.85	1.47
4.30	2.20	1.00	1.43
4.40	2.20	1.10	1.40
4.50	2.20	1.25	1.34

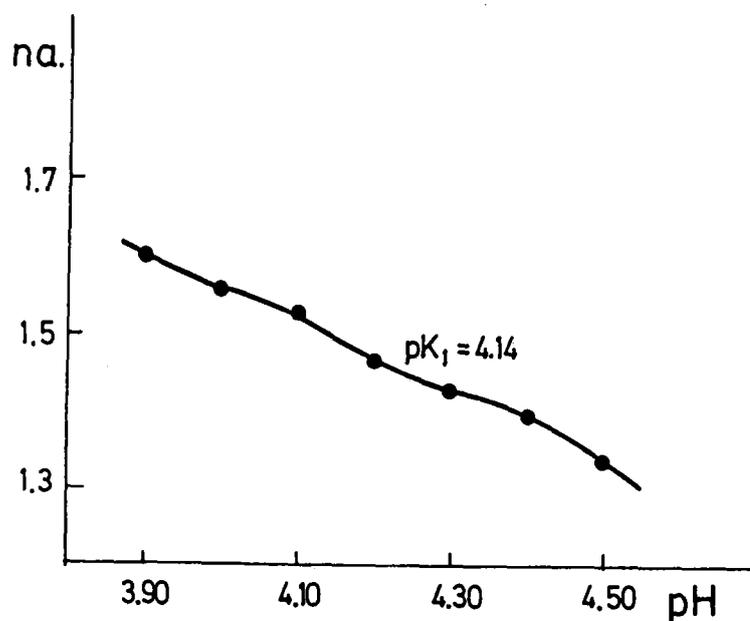


Figura nº 2.41. Saliciliden-anilina

Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_1$ .

Tabla 2.36

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
9.20	2.650	3.800	0.59
9.30	2.650	3.900	0.56
9.40	2.650	4.000	0.52
9.50	2.650	4.100	0.49
9.60	2.675	4.200	0.46
9.70	2.700	4.275	0.44
9.80	2.700	4.350	0.42

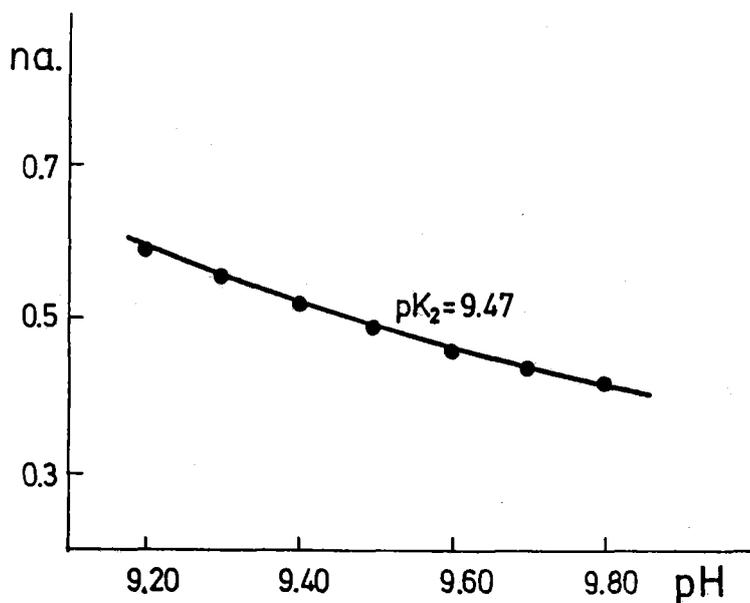


Figura nº 2.42. Saliciliden-anilina

Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_2$ .

*Benciliden-o-aminofenol.-*

Los resultados obtenidos para la primera valoración (Figura nº 2.21) se muestran en las siguientes Tablas 2.37-2.38 y Figuras nº 2.43-2.44

Tabla 2.37

pH	v'	v''	n <sub>a</sub>
4.00	2.05	0.00	1.74
4.10	2.05	0.20	1.67
4.20	2.10	0.34	1.63
4.30	2.10	0.50	1.58
4.40	2.15	0.65	1.54
4.50	2.15	0.85	1.47
4.60	2.15	1.00	1.42
4.70	2.15	1.15	1.36

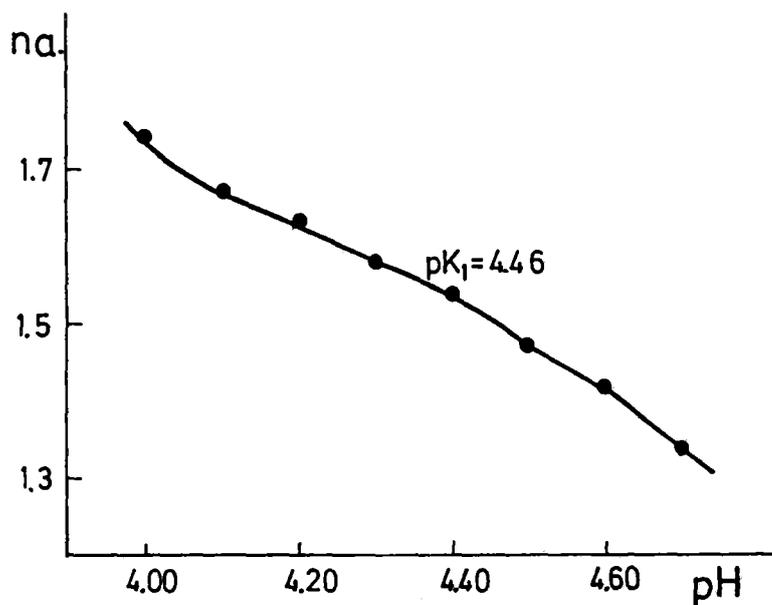


Figura nº 2.43. Benciliden-o-aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de pK<sub>1</sub>.

Tabla 2.38

pH	v'	v''	n <sub>av</sub>
10.50	2.65	3.50	0.70
10.60	2.70	3.70	0.65
10.70	2.70	3.90	0.58
10.80	2.75	4.10	0.53
10.90	2.80	4.25	0.49
11.00	2.90	4.40	0.48
11.10	3.00	4.60	0.44

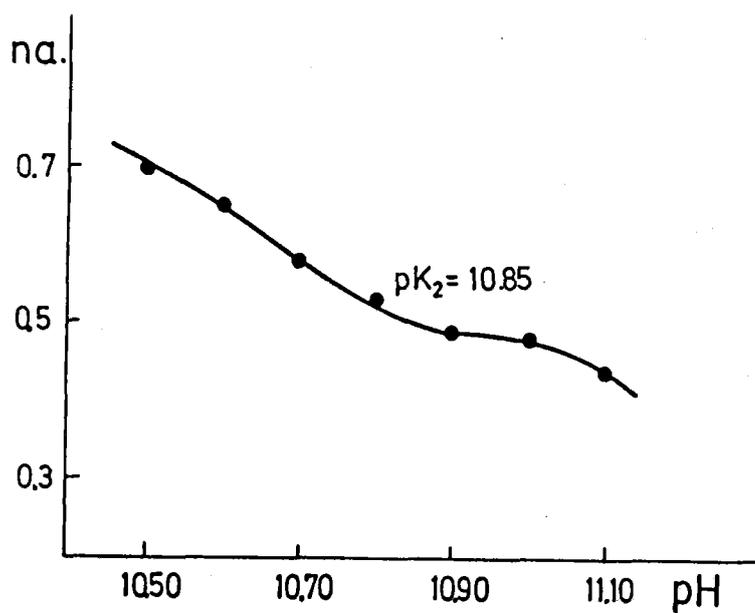


Figura nº 2.44. Benciliden-o-aminofenol  
Método de Irving y Rossotti. Cálculo de  $pK_2$ .

En la siguiente Tabla 2.39 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 2.39. Constantes de disociación ácida. Método de Irving y Rossotti.

Azometina	Experiencia	$pK_1$	$p\bar{K}_1$	$pK_2$	$p\bar{K}_2$
SOAF	1 <sup>a</sup>	4.42		9.16	
	2 <sup>a</sup>	4.43	4.42±0.02	9.18	9.17±0.02
	3 <sup>a</sup>	4.40		9.18	
5-ClSOAF	1 <sup>a</sup>	4.02		8.40	
	2 <sup>a</sup>	4.02	4.02±0.01	8.45	8.43±0.03
	3 <sup>a</sup>	4.01		8.43	
5-BrSOAF	1 <sup>a</sup>	4.42		8.30	
	2 <sup>a</sup>	4.38	4.40±0.02	8.31	8.31±0.01
	3 <sup>a</sup>	4.40		8.31	
5-OHSOAF	1 <sup>a</sup>	4.31		9.62	
	2 <sup>a</sup>	4.34	4.32±0.02	9.67	9.64±0.03
	3 <sup>a</sup>	4.31		9.64	
5-MeOSOAF	1 <sup>a</sup>	4.15		9.20	
	2 <sup>a</sup>	4.21	4.18±0.03	9.21	9.20±0.01
	3 <sup>a</sup>	4.17		9.20	
SA	1 <sup>a</sup>	4.14		9.47	
	2 <sup>a</sup>	4.22	4.18±0.04	9.52	9.47±0.05
	3 <sup>a</sup>	4.17		9.42	
BOAF	1 <sup>a</sup>	4.46		10.85	
	2 <sup>a</sup>	4.48	4.48±0.03	10.86	10.85±0.01
	3 <sup>a</sup>	4.51		10.84	

**METODO DE SCHWARZENBACH. (70)**

**FUNDAMENTO TEORICO.**

Este método es adecuado para el cálculo de constantes de disociación ácida cuyos valores sean del mismo orden de magnitud, razón por la cual nosotros lo hemos aplicado a la determinación de  $pK_3$  y  $pK_4$  del 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol.

Sea un ácido triprótico cuyo primer grupo ácido se encuentre desprotonado, luego los equilibrios de disociación serán:



$$\text{Ca} = [\text{AH}_2^-] + [\text{AH}^{-2}] + [\text{A}^{-3}]$$

La condición de electroneutralidad conduce a la expresión:

$$[\text{OH}^-] + [\text{AH}_2^-] + 2[\text{AH}^{-2}] + 3[\text{A}^{-3}] = [\text{H}^+] + a\text{Ca}$$

Sustituyendo en esta última expresión  $[\text{AH}_2^-]$ ,  $[\text{AH}^{-2}]$  y  $[\text{A}^{-3}]$  y operando convenientemente se llega a la expresión:

$$K_3 = \frac{\text{Ca}(a-2) - [\text{OH}^-]}{(3-a)\text{Ca} + [\text{OH}^-]} \cdot \frac{1}{K_2} \cdot \frac{[\text{H}^+] (\text{Ca}(1-a) + [\text{OH}^-])}{\frac{(3-a)\text{Ca}}{[\text{H}^]} + \frac{[\text{OH}^-]}{[\text{H}^]}} \quad (1)$$

ecuación que puede resolverse conociendo cada pareja de valores experimentales de "a" y pH o bien gráficamente si se expresa en la forma:

$$\begin{aligned} 1/K_2 &= K_3 (A/B) - B & \text{donde:} \\ A &= \frac{\text{Ca}(a-2) - [\text{OH}^-]}{(3-a)\text{Ca} + [\text{OH}^-]} [\text{H}^+] & \text{y} & B = \frac{\text{Ca}(a-2) - [\text{OH}^-]}{(3-a)\text{Ca} + [\text{OH}^-]} \end{aligned}$$

**RESULTADOS OBTENIDOS.**

Este método se ha aplicado exclusivamente a la determinación de  $pK_3$  y  $pK_4$  del 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol.

En la Tabla 2.40 se resumen los datos obtenidos, operando sobre la primera curva de valoración (Figura nº 2.11).

**Tabla 2.40**

pH	a	$Cax10^{-3}$	$[H^+]x10^{12}$	$[OH^-]x10^{-3}$	$Ax10^{12}$	$Bx10^{-11}$
11.22	1.26	2.119	6.026	1.660	3.64	4.83
11.25	1.33	2.100	5.623	1.778	3.34	5.22
11.30	1.40	2.083	5.012	1.995	3.05	5.57
11.38	1.47	2.066	4.169	2.399	2.62	5.87
11.40	1.58	2.040	3.980	2.512	2.48	6.34

Representando la recta correspondiente a cada pareja de A y B se obtiene un haz de rectas cuya intersección  $(X_0, Y_0)$  es la solución de la ecuación (1), pudiéndose calcular, conocido este punto, los valores de  $pK_3$  y  $pK_4$  ya que:

$$Y_0 = \frac{1}{K_3} \quad X_0 = K_4$$

En el caso que nos ocupa, como puede apreciarse en la Figura 2.45, las coordenadas del punto de intersección del haz de rectas resultan ser  $X_0 = 1.50x10^{-12}$  e  $Y_0 = 2.85x10^{11}$ .

Realizados los correspondientes cálculos, teniendo en cuenta las anteriores expresiones, resulta para la primera valoración:

$$pK_3 = 11.45 \quad y \quad pK_4 = 11.82$$

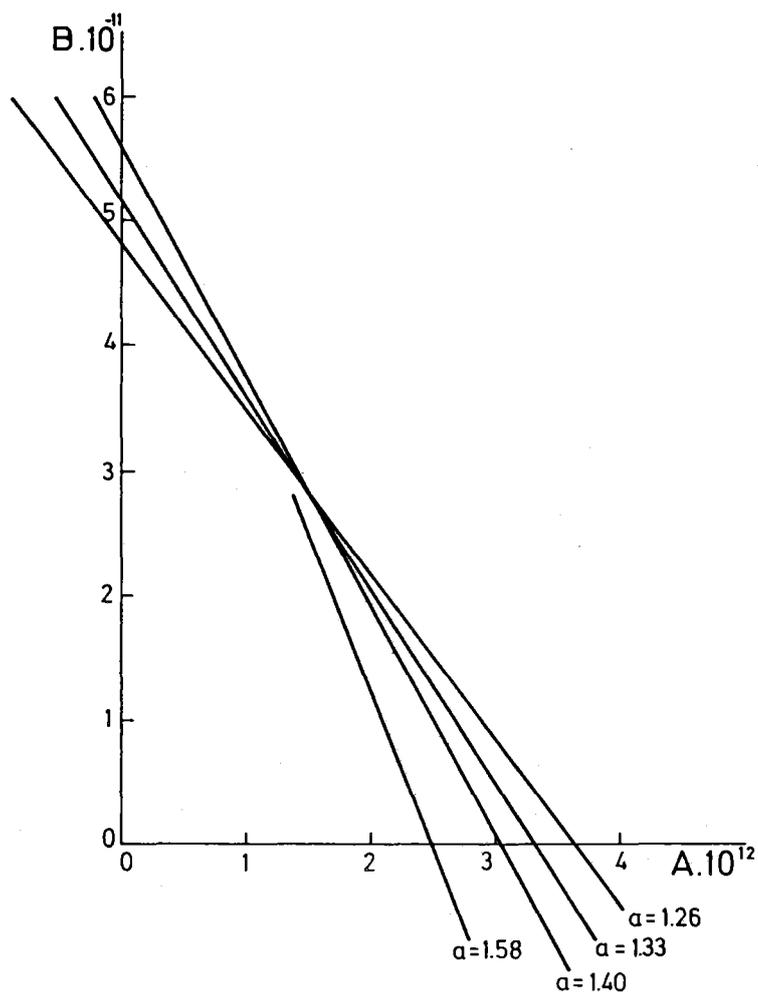


Figura nº 2.45. 5-Hidroxisaliciliden- $\alpha$ -aminofenol  
Método de Schwarzenbach. Cálculo de  $pK_3$  y  $pK_4$ .

En la Tabla 2.41 se resumen los datos obtenidos en las tres valoraciones realizadas.

Tabla nº 2.41. Constantes de disociación ácida. Método de Schwarzenbach.

Experiencia	$pK_3$	$p\bar{K}_3$	$pK_4$	$p\bar{K}_4$
1ª	11.45		11.82	
2ª	11.43	$11.45 \pm 0.02$	11.84	$11.82 \pm 0.03$
3ª	11.47		11.79	

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

1.- Se han determinado las constantes de disociación ácida de todos los grupos funcionales con propiedades ácido-base existentes en las azometinas en estudio, por los métodos potenciométricos Algebraico Directo, de Bjerrum, de Irving y Rossotti y de Schwarzenbach, encontrando resultados plenamente concordantes.

En la Tabla 2.42 se resumen los resultados obtenidos.

2.- La comparación de los valores de pK obtenidos para cada reactivo, que se muestra en la citada Tabla 2.42, permite, con elevado grado de fiabilidad, su asignación a un grupo ácido concreto y como consecuencia el poder proponer la secuencia de disociaciones correspondiente. Son válidas, a nuestro entender, las siguientes afirmaciones:

- a) Los valores de pK<sub>a</sub> más bajos, que en todos los casos oscilan alrededor de 4, corresponden a la disociación del grupo azometínico protonado.
- b) Los valores de pK<sub>2</sub> de la Saliciliden-anilina (pK<sub>2</sub> = 9.32) y del Benciliden-o-aminofenol (pK<sub>2</sub> = 10.99), nos indican claramente (véase página 128) que el OH en posición X tiene mayor facilidad para disociarse que si está en posición Y. Hecho este que puede hacerse extensivo a las demás azometinas estudiadas.
- c) En el 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol el pK<sub>4</sub> = 11.82 debe corresponder a la disociación del grupo OH en posición R, ya que, si el pK<sub>2</sub>, según la consideración anterior, corresponde a la disociación del grupo OH en posición X, la desprotonación de un nuevo OH en el mismo anillo bencénico en posición para entrañaría gran dificultad.

3.- Las anteriores consideraciones nos permiten proponer el siguiente esquema general de disociación para las azometinas estudiadas que se muestra en la Figura nº 2.46.

En la siguiente Tabla 2.42 se reúnen todos los valores hallados para las constantes de disociación de las azometinas en estudio, establecidos mediante métodos potenciométricos.

Tabla 2.42. Constantes de disociación ácida. Métodos potenciométricos.

Azometina	Método	$\bar{p}K_1$	$\bar{p}K_2$	$\bar{p}K_3$	$\bar{p}K_4$
SOAF	Alg. Directo	---	9,09±0,02	11,02±0,02	---
	Bjerrum	---	9,08±0,02	11,45±0,02	---
	Irving y Rossotti	4,42±0,02	9,17±0,02	---	---
5-ClSOAF	Alg. Directo	---	8,21±0,04	11,02±0,02	---
	Bjerrum	---	8,22±0,03	11,40±0,03	---
	Irving y Rossotti	4,02±0,01	8,43±0,03	---	---
5-BrSOAF	Alg. Directo	---	8,14±0,03	11,03±0,03	---
	Bjerrum	---	9,22±0,03	11,45±0,02	---
	Irving y Rossotti	4,40±0,02	8,31±0,01	---	---
5-DHSOAF	Alg. Directo	---	9,61±0,03	---	---
	Bjerrum	---	9,68±0,02	---	---
	Irving y Rossotti	4,32±0,02	9,64±0,03	---	---
	Schwarzenbach	---	---	11,45±0,02	11,82±0,03
5-MeOSOAF	Alg. Directo	---	9,16±0,03	11,05±0,03	---
	Bjerrum	---	9,15±0,06	11,50±0,02	---
	Irving y Rossotti	4,18±0,03	9,20±0,01	---	---
SA	Alg. Directo	---	9,32±0,03	---	---
	Irving y Rossotti	4,18±0,04	9,47±0,05	---	---
BOAF	Alg. Directo	---	10,99±0,02	---	---
	Irving y Rossotti	4,48±0,03	10,85±0,01	---	---

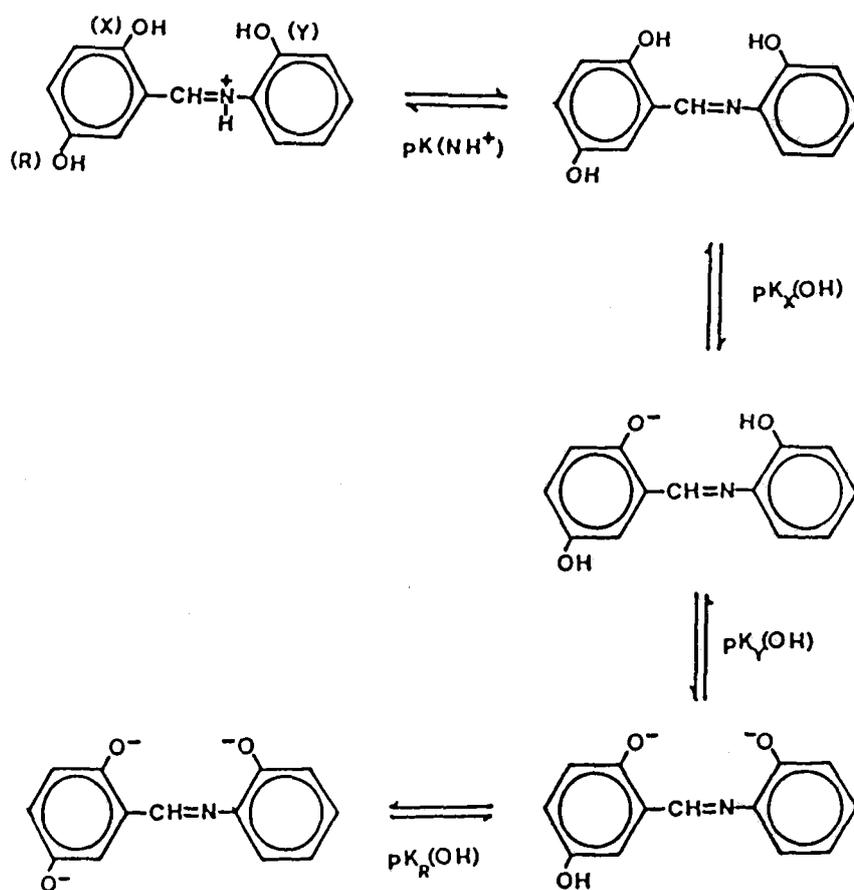


Figura nº 2.46. Esquema general de disociación de las azometinas en estudio.



DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE LAS CONSTANTES DE DISOCIACION ACIDA.

METODO DE WILSON Y LESTER. (71)

FUNDAMENTO TEORICO.

Sea un ácido débil, que se ioniza según el proceso:



Los métodos espectrofotométricos de determinación de constantes de disociación se basan en la medida de la modificación que sufre la absorbancia del compuesto en función del pH, a una longitud de onda apropiada.

Al medir la absorbancia a los distintos valores de pH, se mide la absorbancia debida a la forma AH y la debida a la forma A<sup>-</sup>

$$A_m = A_{AH} + A_{A^-} \quad (3)$$

Esta ecuación se puede expresar en función de los índices de absorbancia molar y de las concentraciones de ambas especies, quedando:

$$A_m = \epsilon_{AH} C_{AH} + \epsilon_{A^-} C_{A^-} \quad (4)$$

donde se ha supuesto que el espesor de la solución absorbente (espesor de la cubeta de medida) es 1 cm y siendo

$$C_{AH} + C_{A^-} = C_T = \text{concentración analítica} \quad (5)$$

En medio básico el equilibrio (1) estará desplazado hacia la derecha ( $C_{A^-} \approx C_T$ ) y podemos suponer que la absorbancia será debida unicamente a la forma básica ( $A_m \approx A_{A^-}$ ), por tanto

$$\epsilon = A_{A^-} / C_T$$

De forma análoga, cuando el medio es suficientemente ácido

$$C_{AH} \approx C_T ; A_m \approx A_{AH} \quad \text{y} \quad \epsilon_{AH} = A_{AH} / C_T$$

Sustituyendo en (4) y reordenando

$$A_m C_T = A_{AH} C_{AH} + A_{A-} C_{A-} \quad (6)$$

De las ecuaciones (5) y (6) tenemos que:

$$A_m + A_m (C_{A-} / C_{AH}) = A_{AH} + A_{A-} (C_{A-} / C_{AH})$$

de donde

$$(C_{A-} / C_{AH}) = (A_{AH} - A_m) / (A_m - A_{A-}) \quad (7)$$

Operando convenientemente, tras adoptar la ecuación (2) la forma cologarítmica, teniendo en cuenta la ecuación (7) y sabiendo que  $R = (A_{AH} - A_m) / (A_m - A_{A-})$  resulta:

$$pK_a = -\log R + pH \quad (8)$$

luego

$$\log R = pH - pK_a \quad (9)$$

Representando  $\log R$  frente al pH, para  $\log R = 0$  se cumple que  $pH = pK_a$ .

#### RESULTADOS OBTENIDOS.

Para la determinación de las constantes de disociación ácida de los reactivos en estudio hemos utilizado los espectros registrados de sus disoluciones en etanol-agua al 50 % (v/v) en función del pH, que han sido comentados anteriormente en este capítulo.

*Saliciliden-o-aminofenol.-*

En la Figura nº 2.47 se muestran los valores de absorbancia en función del pH a una  $\lambda = 379$  nm, obtenidos de la Figura nº 2.1.

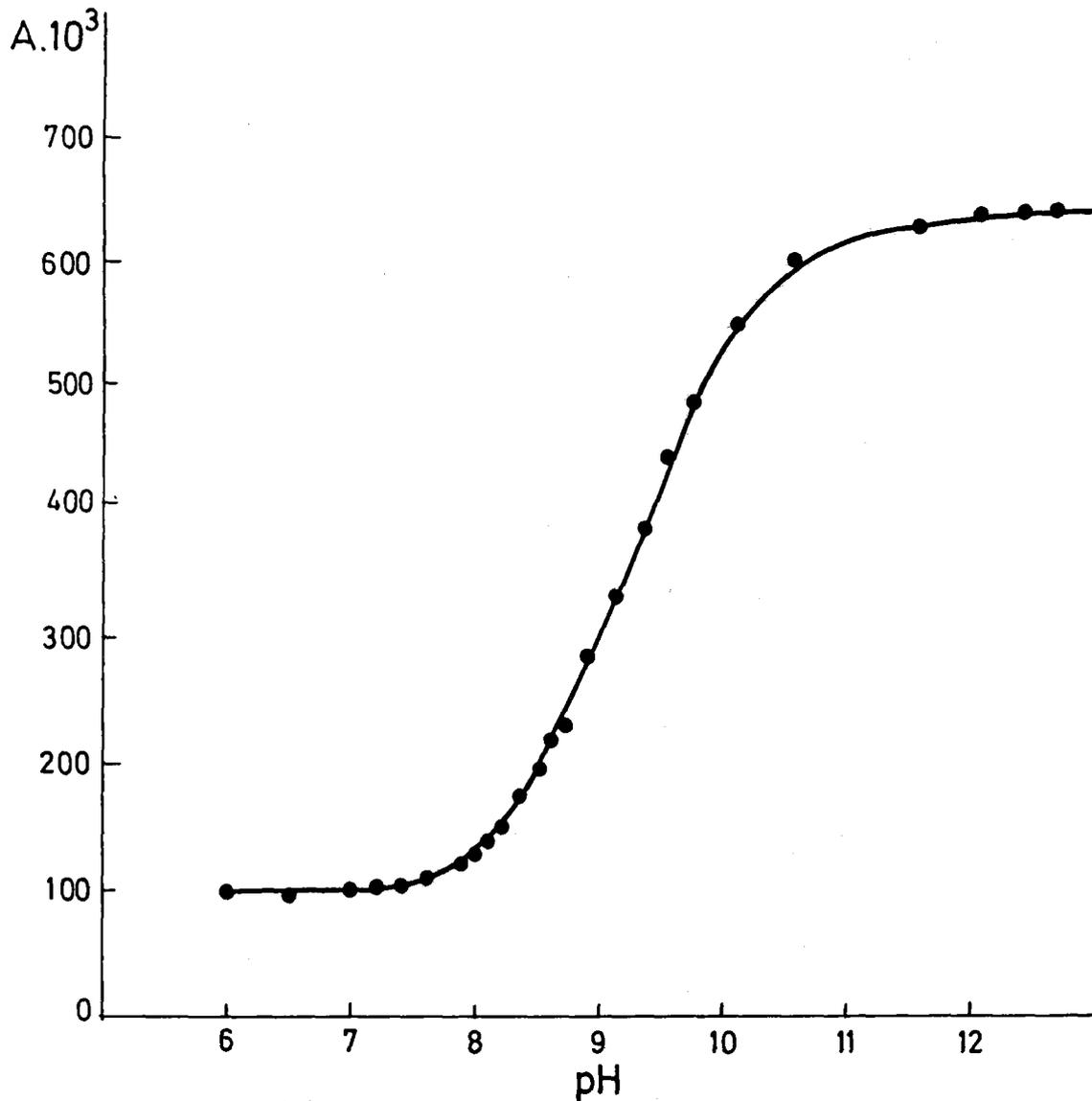


Figura nº 2.47. Saliciliden-o-aminofenol  
Representación de A frente al pH a  $\lambda = 379$  nm.

En la Tabla 2.43 se recogen los valores de pH, A, R y log R utilizados para el cálculo del pKa de la azometina en estudio y que han sido representados gráficamente en la Figura nº 2.48.

Tabla 2.43

pH	A	R	log R
9.70	0.485	2.50	0.40
9.50	0.430	1.56	0.20
9.30	0.385	1.12	0.05
9.10	0.330	0.74	-0.13
8.90	0.285	0.52	-0.28
8.70	0.230	0.32	-0.50

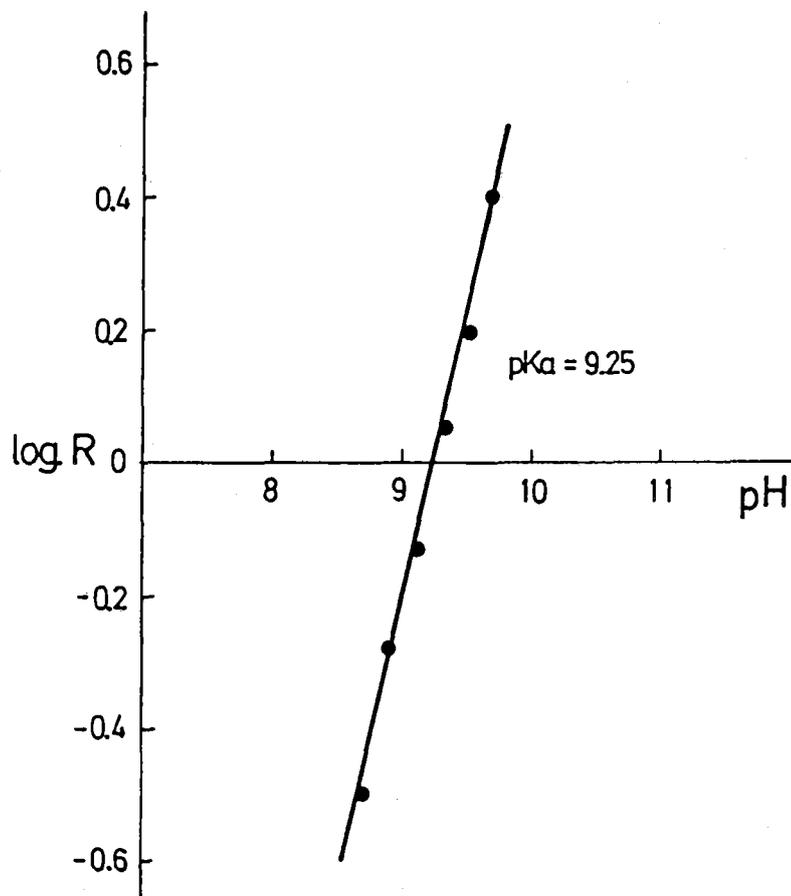


Figura nº 2.48. Saliciliden-o-aminofenol  
Método de Wilson y Lester.

*5-Clorosaliciliden-o-aminofenol.-*

En la Figura nº 2.49 se muestran los valores de absorbancia en función del pH a una  $\lambda = 390$  nm, obtenidos de la Figura nº 2.2.

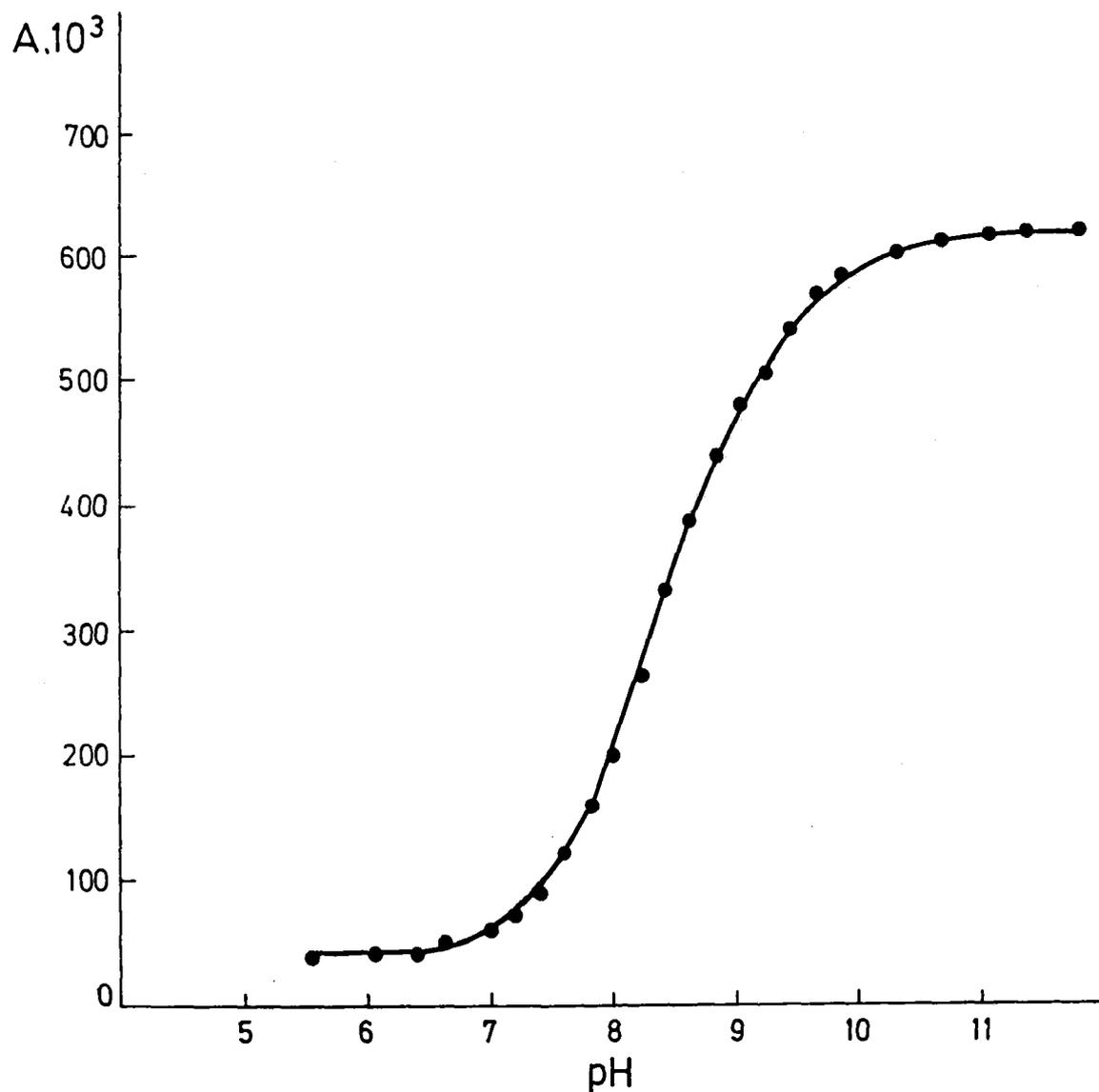


Figura nº 2.49. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol  
Representación de A frente al pH a  $\lambda = 390$  nm.

En la Tabla 2.44 se han reunido los valores de pH, A, R y log R utilizados para el cálculo del pKa de la azometina en estudio y que permiten el trazado de la Figura nº 2.50.

Tabla 2.44

pH	A	R	log R
9.00	0.475	1.78	0.25
8.80	0.440	1.43	0.15
8.60	0.390	1.06	0.03
8.40	0.330	0.74	-0.13
8.20	0.260	0.48	-0.32
8.00	0.200	0.31	-0.51

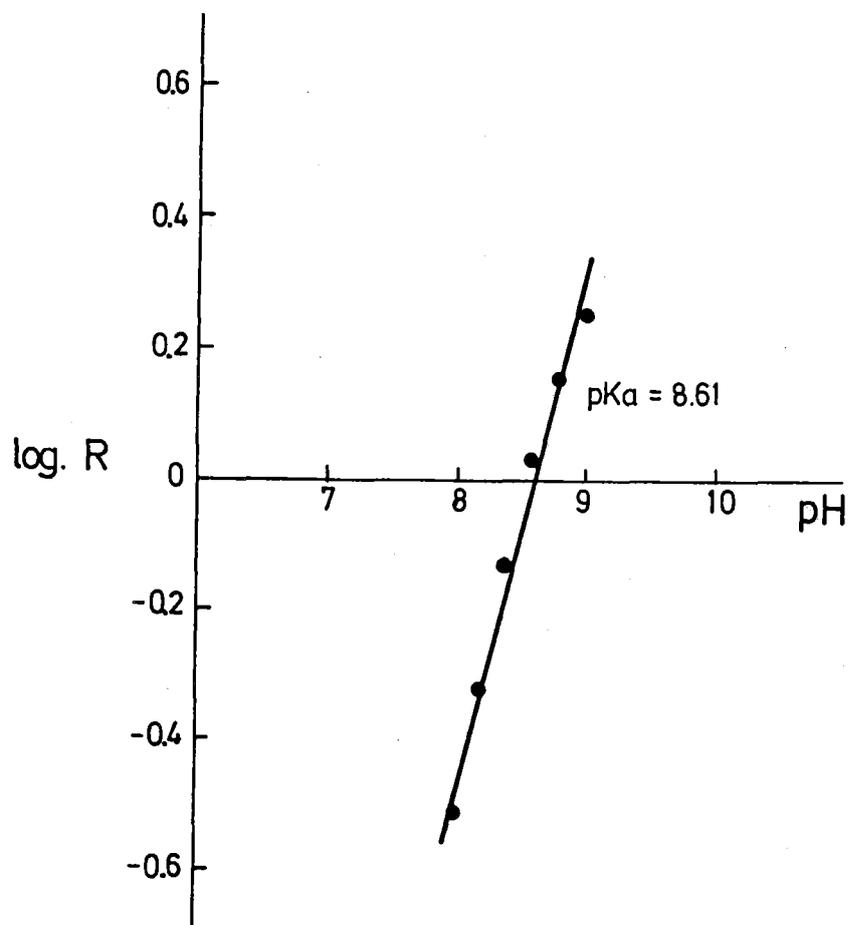


Figura nº 2.50. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol  
Método de Wilson y Lester.

*5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.-*

La Figura nº 2.51 muestra gráficamente la variación de los valores de absorbancia en función del pH a una  $\lambda = 389$  nm, tomados de la Figura nº 2.3.

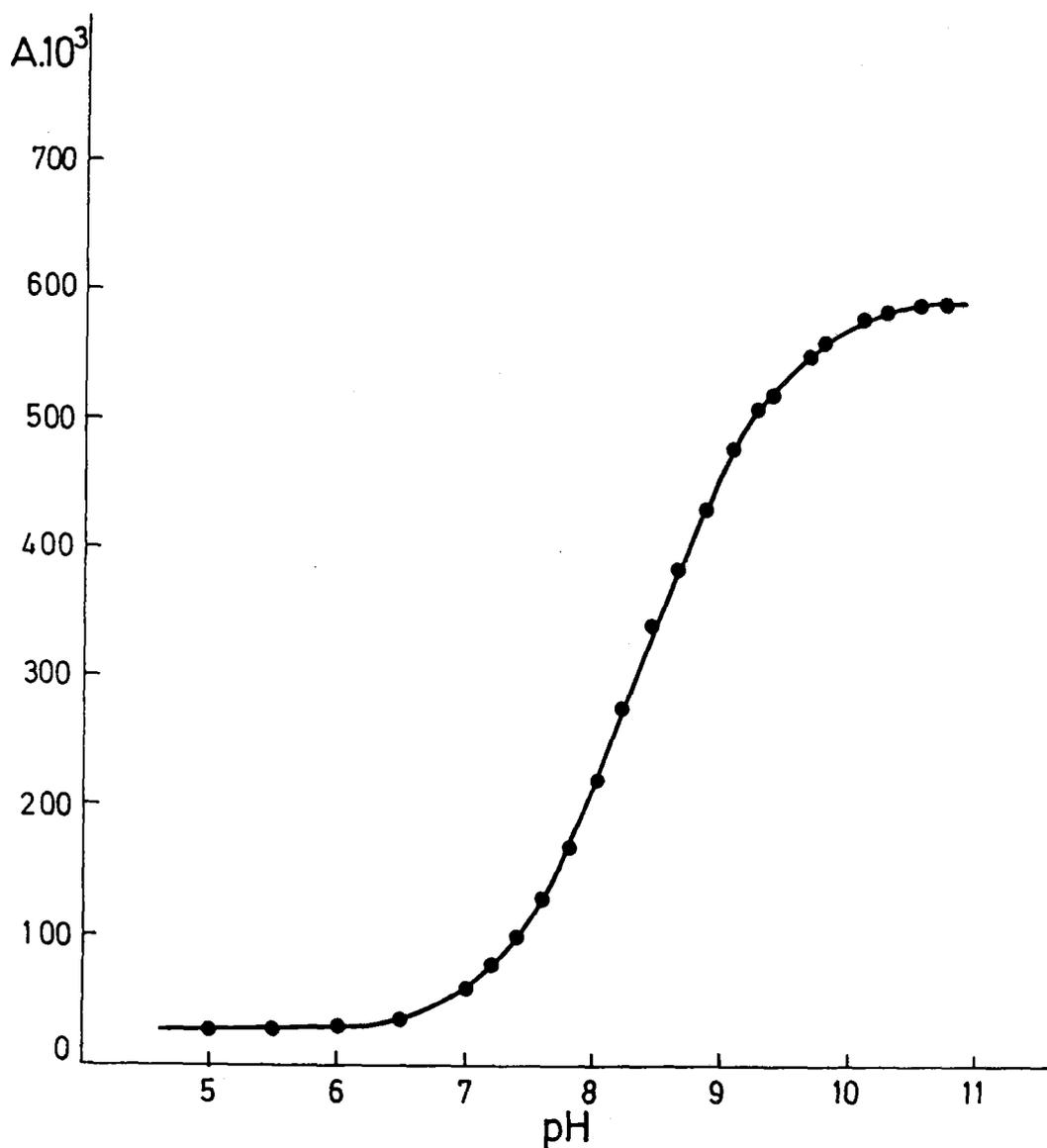


Figura nº 2.51. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol  
Representación de A frente al pH a  $\lambda = 389$  nm.

La Tabla 2.50 contiene los valores de pH, A, R y log R utilizados para el cálculo del pKa de la azometina en estudio y que han sido utilizados para trazar la gráfica que aparece en la Figura nº 2.52.

Tabla 2.50

pH	A	R	log R
8.60	0.385	1.73	0.24
8.40	0.340	1.24	0.09
8.20	0.275	0.78	-0.11
8.00	0.220	0.51	-0.29
7.80	0.170	0.33	-0.48
7.60	0.130	0.22	-0.66

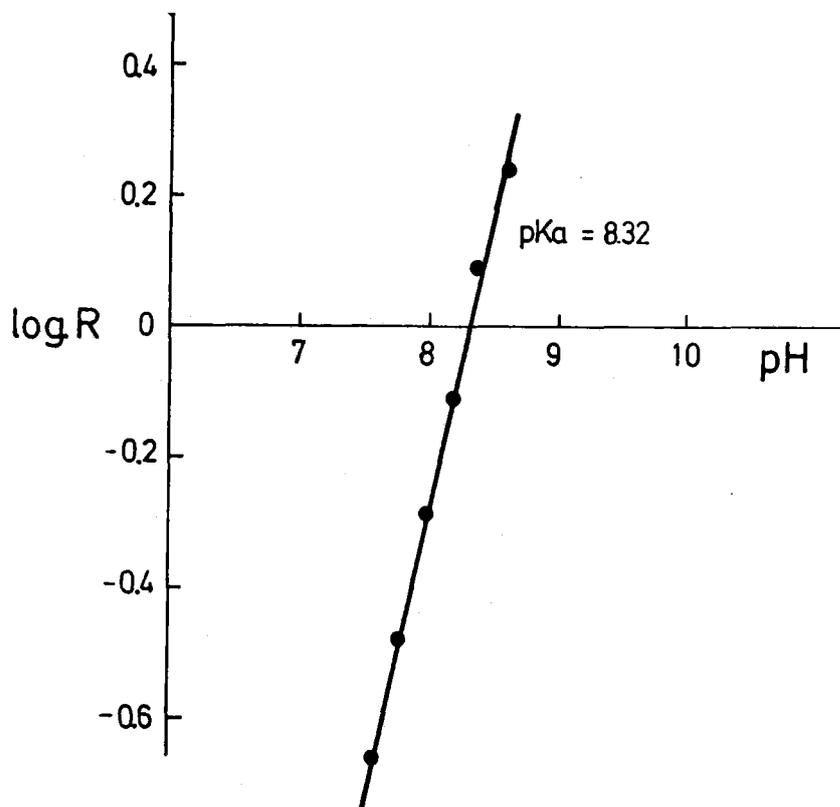


Figura nº 2.52. 5-Bromosaliciliden-*o*-aminofenol  
Método de Wilson y Lester.

*5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol.*

En la Figura nº 2.53 se muestra como varían los valores de absorbancia en función del pH a una  $\lambda = 410 \text{ nm}$ , obtenidos de las Figuras nº 2.4-2.5.

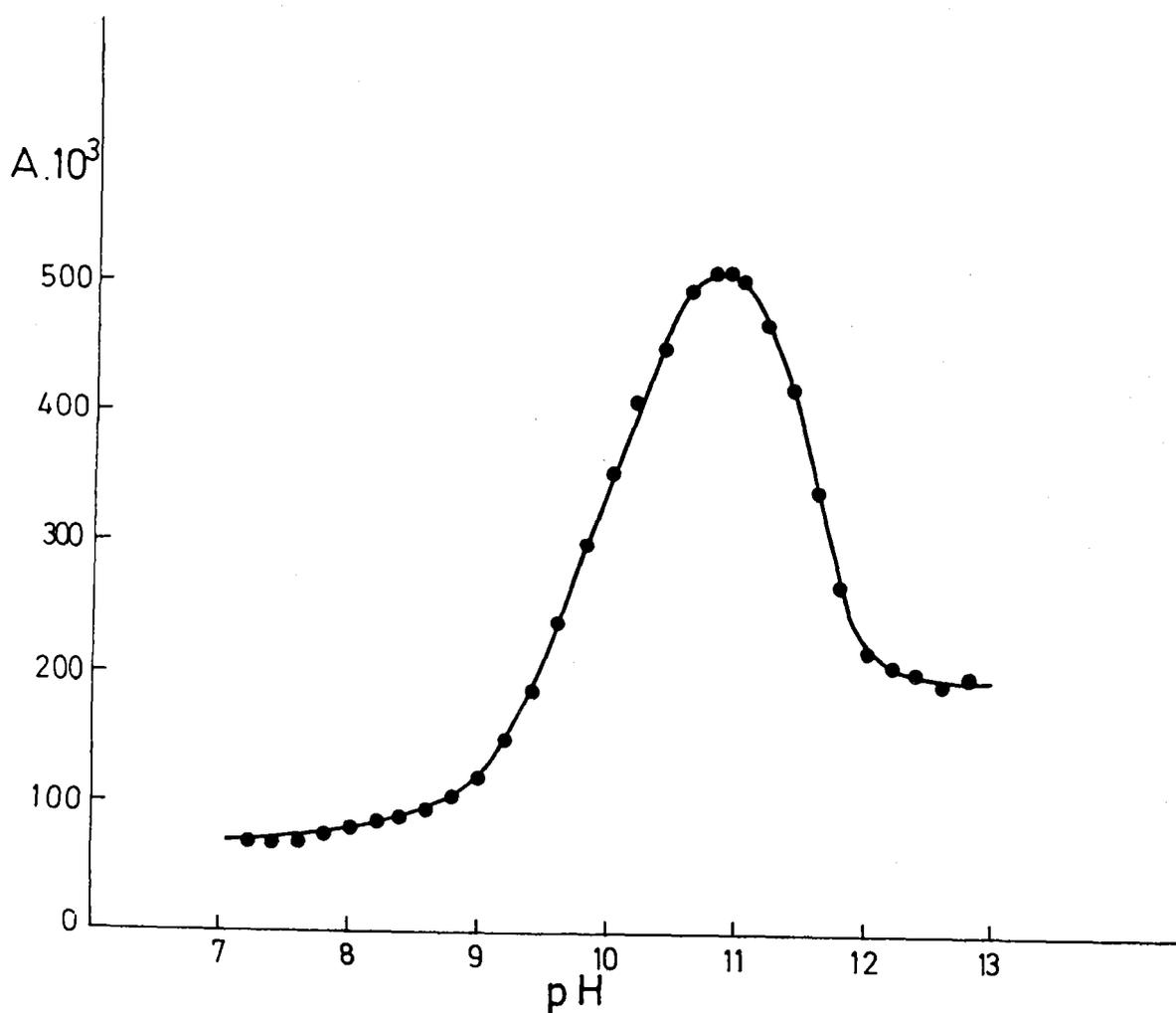


Figura nº 2.53. 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol  
Representación de A frente al pH a  $\lambda = 410 \text{ nm}$ .

En las Tablas 2.51-2.52 se recogen los valores de pH, A, R y log R utilizados para el cálculo de los pKa de esta azometina (Figuras nº 2.54-2.55).

Tabla 2.51

pH	A	R	log R
10.20	0.410	3.40	0.53
10.00	0.355	1.84	0.26
9.80	0.300	1.10	0.04
9.60	0.240	0.63	-0.20
9.40	0.190	0.38	-0.43
9.20	0.150	0.22	-0.65

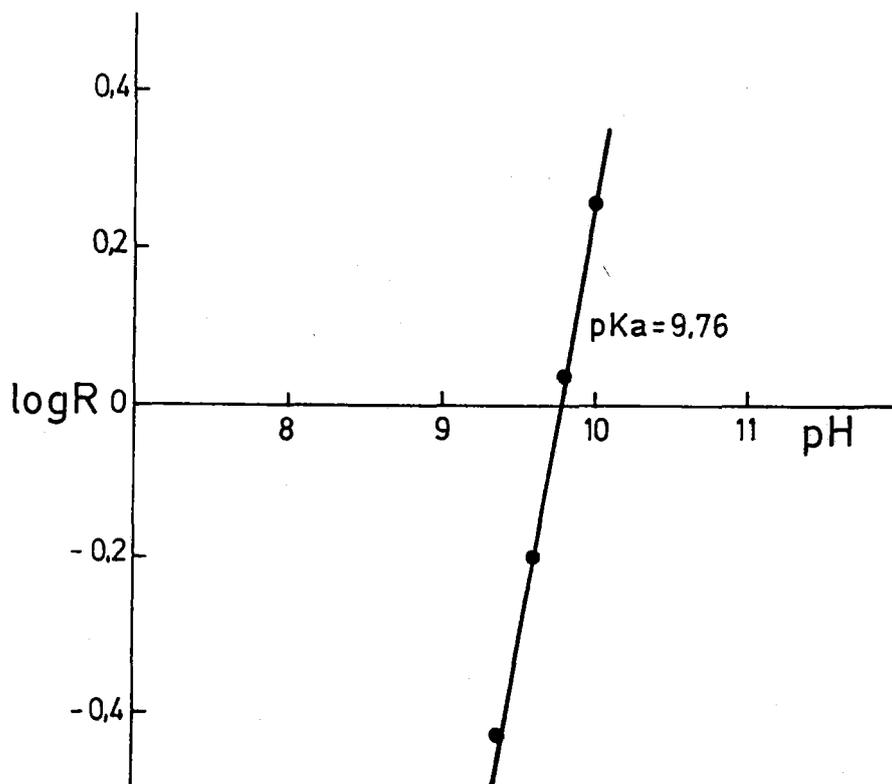


Figura nº 2.54. 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol  
Método de Wilson y Lester.

Tabla 2.52

pH	A	R	log R
11.80	0.270	3.43	0.54
11.60	0.345	1.14	0.06
11.40	0.420	0.41	-0.39
11.20	0.470	0.15	-0.83

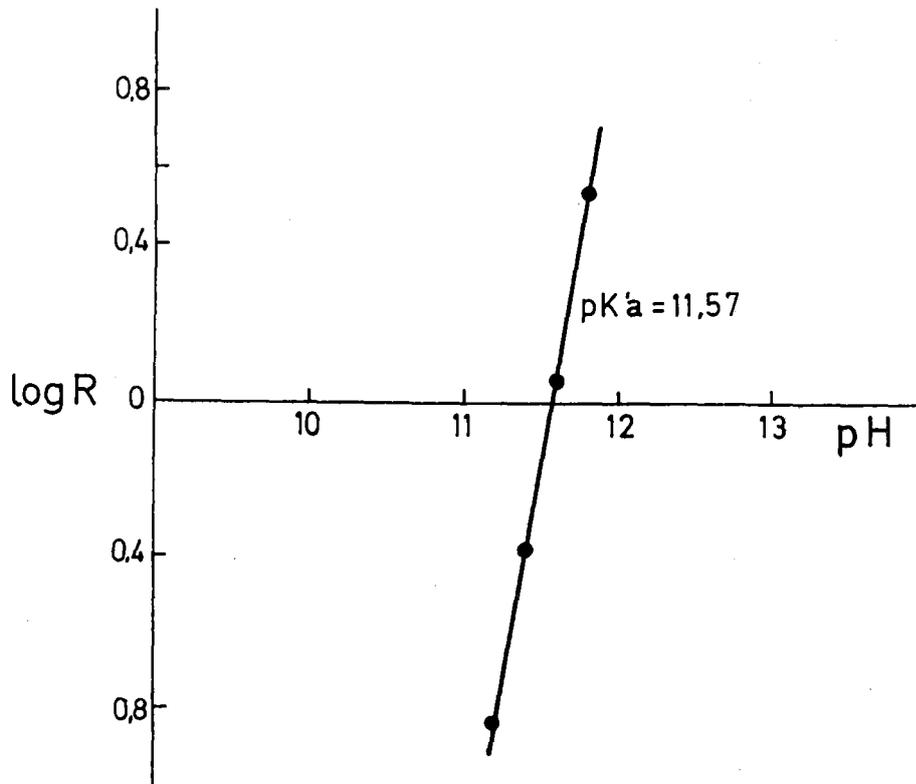


Figura nº 2.55. 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol  
Método de Wilson y Lester.

*5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol.-*

En la Figura nº 2.56 se muestran los valores de absorbancia en función del pH a una  $\lambda = 408$  nm, obtenidos de la Figura nº 2.6.

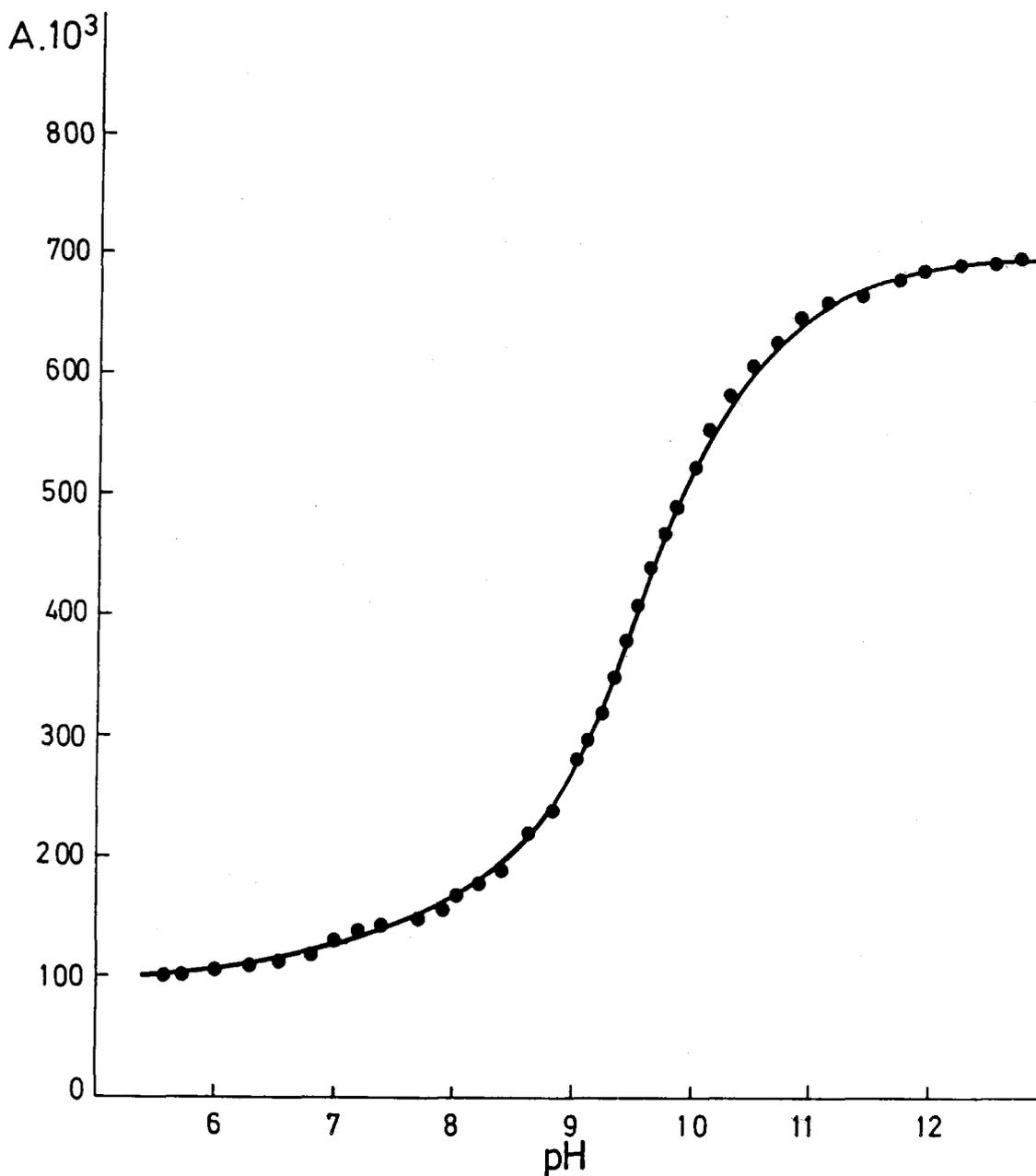


Figura nº 2.56. 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol  
Representación de A frente al pH a  $\lambda = 408$  nm.

En la Tabla 2.53 se hallan reunidos los valores de pH, A, R y log R que han sido utilizados para el cálculo del pKa de la azometina en estudio a través de la Figura nº 2.57.

Tabla 2.53

pH	A	R	log R
9.70	0.470	1.61	0.21
9.60	0.440	1.31	0.12
9.50	0.410	1.07	0.03
9.40	0.380	0.88	-0.06
9.30	0.350	0.71	-0.15
9.20	0.320	0.88	-0.24
9.10	0.300	0.50	-0.30

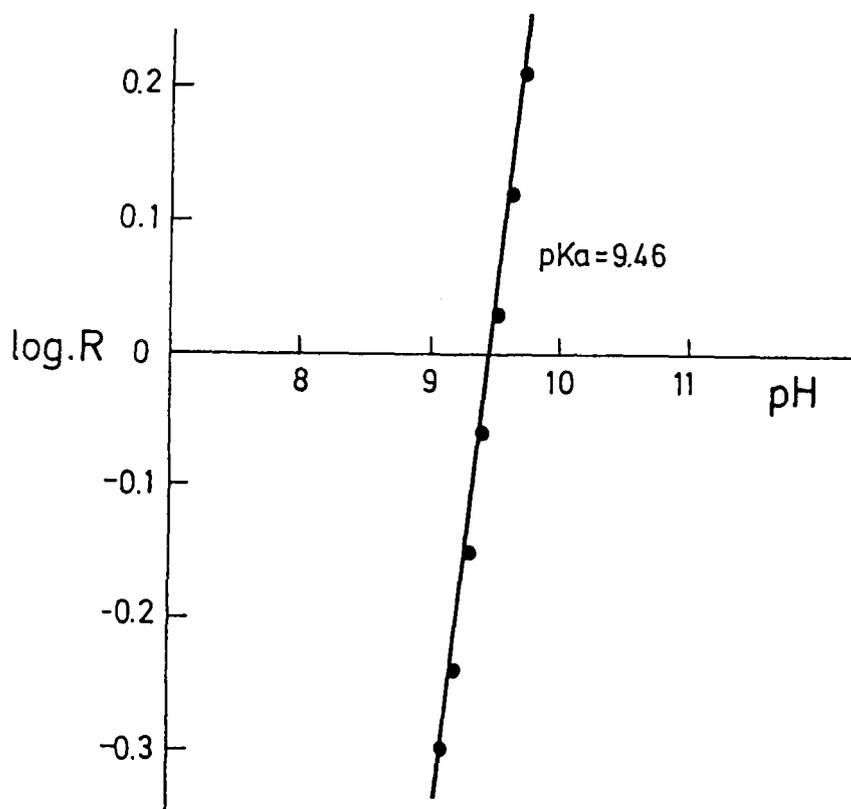


Figura nº 2.57. 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol  
Método de Wilson y Lester.

*Saliciliden-anilina.*

En la Figura nº 2.58 se muestran los valores de absorbancia en función del pH a una  $\lambda = 378$  nm, obtenidos de la Figura nº 2.7.

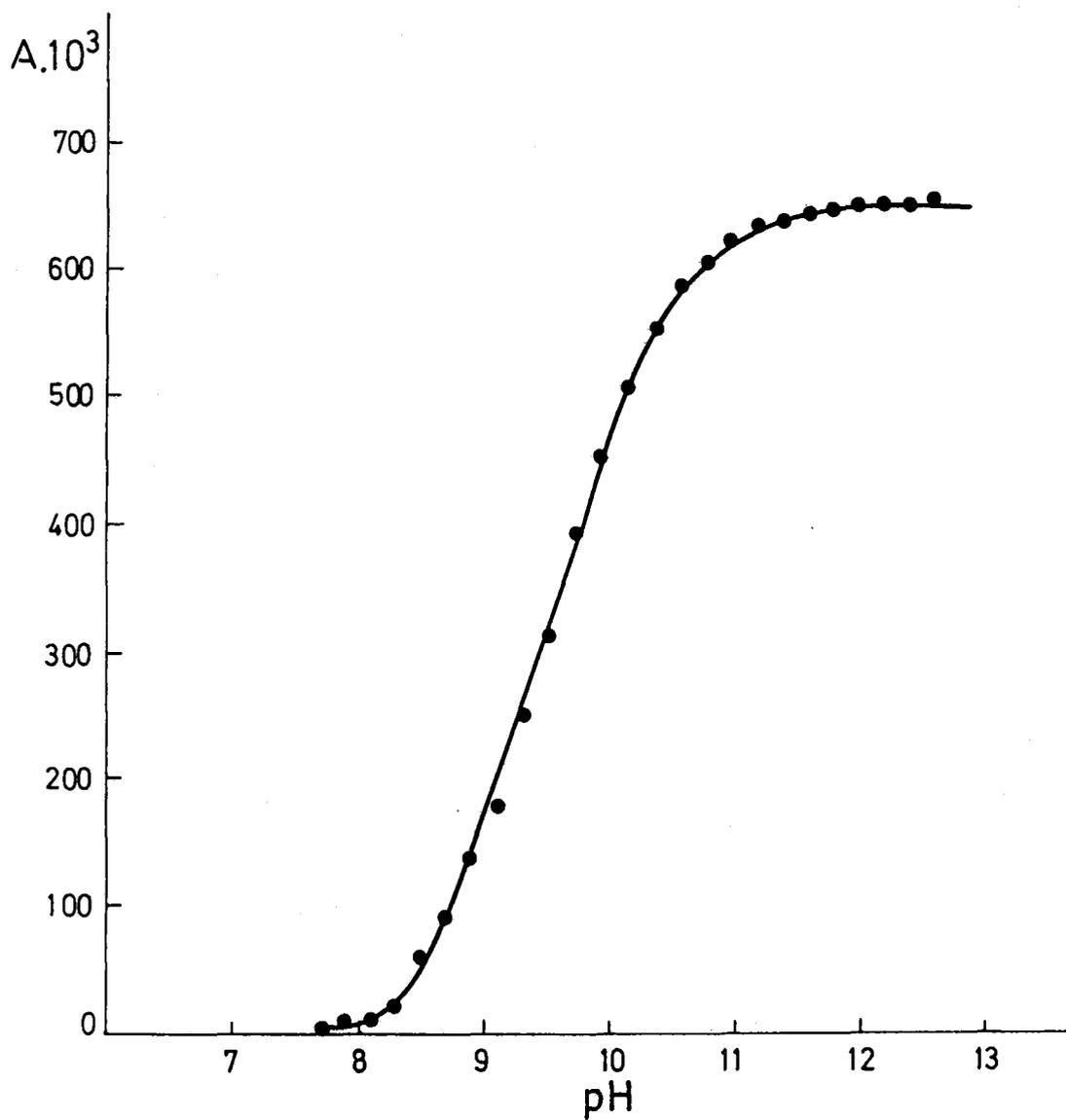


Figura nº 2.58. Saliciliden-anilina  
Representación de A frente al pH a  $\lambda = 378$  nm.

En la Tabla 2.54 se recogen los valores de pH, A, R y log R utilizados para el cálculo del pKa de la azometina en estudio (Figura nº 2.59).

Tabla 2.54

pH	A	R	log R
10.10	0.480	2.67	0.43
9.90	0.430	1.87	0.27
9.70	0.365	1.24	0.09
9.50	0.300	0.83	-0.08
9.30	0.230	0.53	-0.27
9.10	0.170	0.35	-0.46
8.90	0.130	0.25	-0.61

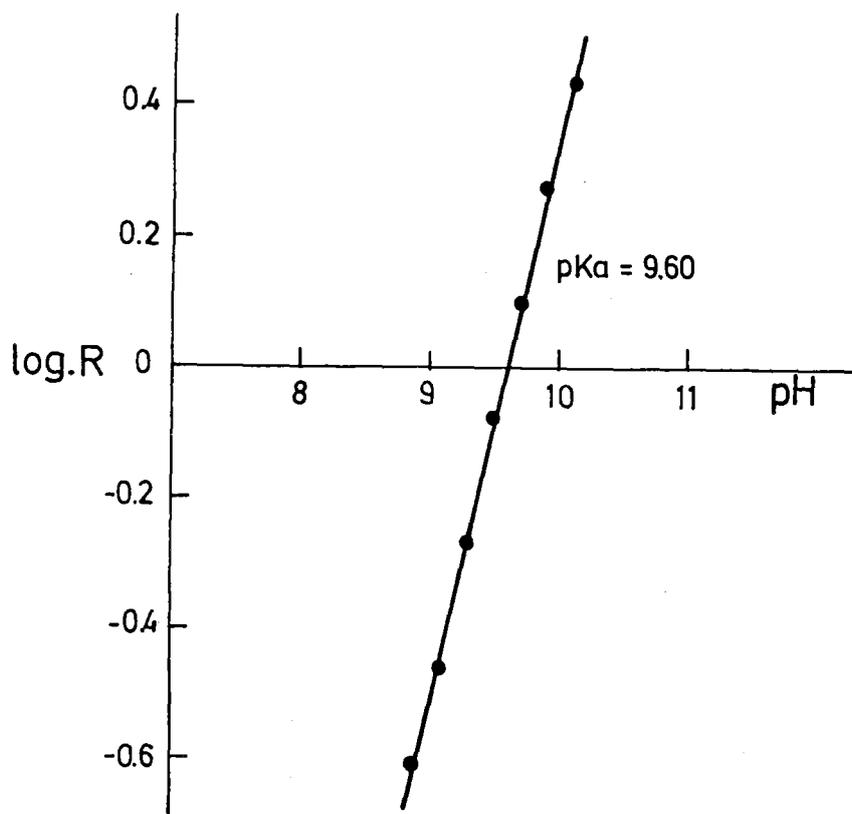


Figura nº 2.59. Saliciliden-anilina  
Método de Wilson y Lester.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

En la siguiente Tabla 2.55, se han reunido los valores de pKa obtenidos espectrofotométricamente por el método de Wilson y Lester.

Tabla 2.55

Azometina	pKa	$\bar{p}K_a$	pK <sub>a</sub>	$\bar{p}K_a$
SOAF	9.25			
	9.35	<b>9.34±0.09</b>		
	9.42			
5-ClSOAF	8.61			
	8.66	<b>8.63±0.03</b>		
	8.62			
5-BrSOAF	8.32			
	8.34	<b>8.33±0.01</b>		
	8.32			
5-OHSOAF	9.76		11.57	
	9.69	<b>9.76±0.07</b>	11.52	<b>11.55±0.03</b>
	9.83		11.57	
5-MeOSOAF	9.46			
	9.54	<b>9.49±0.05</b>		
	9.46			
SA	9.60			
	9.71	<b>9.62±0.09</b>		
	9.54			

La comparación de la anterior Tabla 2.55, en la que se muestran los valores de pKa obtenidos espectrofotométricamente, con los obtenidos por métodos potenciométricos (página 162), nos induce a pensar que los cambios observados en los espectros de absorción UV-VIS de las azometinas estudiadas en función del pH, se deben a la disociación del grupo OH en posición 2 en el anillo salicílico.

El 5-Hidroxisaliciliden-o-aminofenol muestra además otro pKa de valor superior, que atribuimos asimismo a la disociación del grupo OH en posición 5 en el mismo anillo salicílico.



DETERMINACION ESPECTROFLUORIMETRICA DE LAS CONSTANTES DE DISOCIACION ACIDA.

METODO DE SCHULMAN Y COL. (72)

FUNDAMENTO TEORICO.

En un sistema fluorescente ácido-base, la intensidad de fluorescencia  $F$ , a cualquier pH, es la suma de las intensidades de fluorescencia del ácido y su base conjugada a la longitud de onda analítica de emisión.

Veller demostró (73) que los compuestos hidroxil-aromáticos son invariablemente más ácidos en el estado excitado que en el estado fundamental. Consecuentemente existen valores del pH para los cuales al excitar el ácido, puede tener lugar, en alguna extensión, un proceso de fotodisociación del ácido excitado para dar lugar a su base conjugada y por tanto observarse fluorescencia por parte de esta última aún cuando el pH de la disolución sea suficiente ácido como para que la única especie existente en el estado fundamental sea el ácido libre y por tanto la única capaz de absorber.

A bajas concentraciones de analito, la intensidad de fluorescencia  $F$  será:

$$F = 2.3 \phi_A I_0 \epsilon_A [A] l + 2.3 \phi_B I_0 \epsilon_A [A] l + 2.3 \phi_B^o I_0 \epsilon_B [B] l \quad (1)$$

En el segundo término de la ecuación (1), el primer sumando corresponde a la fluorescencia que resulta de excitación directa de A, en el caso de disociación en el estado excitado, el segundo sumando corresponde a la fluorescencia de B, como resultado de la ionización del estado excitado, cuando se excita directamente A, y el tercer sumando corresponde a la fluorescencia que resulta de la excitación directa de B.

$I_0$  = intensidad de la luz incidente a la longitud de onda de excitación.

- $l$  = longitud del camino óptico de la muestra.  
 $\epsilon_A$  y  $\epsilon_B$  = absortividad molar del ácido y su base conjugada, respectivamente, a la longitud de onda analítica de excitación.  
 $[A]$  y  $[B]$  = concentraciones de equilibrio en el estado fundamental, a un determinado pH del ácido y su base conjugada respectivamente.  
 $\phi_A$  y  $\phi_B$  = rendimientos cuánticos de fluorescencia de A y B, cuando tiene lugar la transferencia de protones en el estado excitado (primer estado singlete excitado).  
 $\phi_B^\circ$  = rendimiento cuántico de fluorescencia de B en ausencia de transferencia de protones en el estado excitado.

Si se definen  $F_A^\circ$  y  $F_B^\circ$  como las intensidades de fluorescencia cuando la solución es suficientemente ácida o básica como para considerar que todo el analito se encuentra en la forma A ó B, respectivamente, tendremos que:

$$F_A^\circ = 2.3 \phi_A^\circ I_0 \epsilon_A C_T l \quad (2)$$

$$F_B^\circ = 2.3 \phi_B^\circ I_0 \epsilon_B C_T l \quad (3)$$

donde  $C_T$  es la concentración analítica ( $C_T = [A] + [B]$ )

La combinación de las ecuaciones (2) y (3) con la ecuación (1) da:

$$F = F_A^\circ (\phi_A/\phi_A^\circ) ([A]/C_T) + F_B^\circ (\phi_B/\phi_B^\circ) ([A]/C_T) (\epsilon_A/\epsilon_B) + F_B^\circ ([B]/C_T) \quad (4)$$

Por otro lado, las fracciones de A y B presentes en el sistema, a un valor de pH dado, están relacionadas con la concentración de protones  $[H_3O^+]$  y la constante de disociación ácida  $K_a$  por:

$$[A] / C_T = [H_3O^+] / ([H_3O^+] + K_a) \quad (5)$$

$$[B] / C_T = K_a / ([H_3O^+] + K_a) \quad (6)$$

Combinando estas ecuaciones con la ecuación (4), y reordenando los términos queda que:

$$K_a = (F - F_{A^{\circ}} (\phi_A/\phi_A) - F_{B^{\circ}} (\phi_B/\phi_B) (\epsilon_A/\epsilon_B)) [H_3O^+] / (F_{B^{\circ}} - F) \quad (7)$$

Schulman y col.(72) proponen dos métodos alternativos para la determinación de las constantes de disociación ácida:

- 1) *Por excitación selectiva de la base conjugada.*
- 2) *Utilizando como longitud de onda de excitación, la correspondiente al punto isobéstico de los espectros de absorción UV-VIS.*

Nosotros hemos utilizado el segundo método, porque el estudio espectrofotométrico en función del pH de las azometinas de que nos venimos ocupando nos puso de manifiesto la existencia de puntos isobésticos.

Puesto que para todo punto isobéstico  $\epsilon_A = \epsilon_B$ , si se excita a la longitud de onda de un punto isobéstico la ecuación (7) se convierte en:

$$K_a = (F - F_{A^{\circ}} (\phi_A/\phi_{A^{\circ}}) - F_{B^{\circ}} (\phi_B/\phi_{B^{\circ}})) [H_3O^+] / (F_{B^{\circ}} - F) \quad (8)$$

En el caso en que no haya transferencia protónica en el estado excitado  $\phi_A/\phi_{A^{\circ}} \rightarrow 1$  y  $\phi_B/\phi_{B^{\circ}} \rightarrow 0$ , por lo que:

$$K_a = (F - F_{A^{\circ}}) [H_3O^+] / (F_{B^{\circ}} - F) \quad (9)$$

expresión análoga a la utilizada en la determinación espectrofotométrica de  $K_a$  (71).

Cuando hay transferencia protónica en estado excitado  $K_a$  puede ser determinada fluorimétricamente o no, dependiendo de la constante de protonación y del tiempo de vida media del primer estado singlete excitado de la base conjugada.

Veller (74) ha demostrado, por medio de métodos cinéticos a tiempo fijo, que si ocurre transferencia protónica en el estado excitado en compuestos hidroxil-aromáticos:

$$\phi_A/\phi_{A^{\circ}} = (1 + \tilde{k} \tau_B [H_3O^+]) / (1 + \tilde{k} \tau_A + \tilde{k} \tau_B [H_3O^+])$$

$$\phi_B/\phi_{B^{\circ}} = \tilde{k} \tau_A / (1 + \tilde{k} \tau_A + \tilde{k} \tau_B [H_3O^+])$$

donde  $\tilde{k}$  y  $\tilde{k}$  son las constantes de velocidad de disociación del ácido excitado y de protonación de la base conjugada excitada, respectivamente.

$\tau_A$  y  $\tau_B$  son los respectivos tiempos de vida media de los estados singletes excitados más bajos del ácido y de la base conjugada en ausencia de transferencia protónica.

Los valores máximos para  $k$  y  $k$  son del orden de  $10^{10} \text{ s}^{-1}$  y  $10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , respectivamente.

Los valores máximos para  $\tau_A$  y  $\tau_B$  son del orden de  $10^{-7} \text{ s}$ .

Consecuentemente los valores máximos posibles para  $k \tau_A$  y  $k \tau_B$  son del orden de  $10^3$  y  $10^3 \text{ M}^{-1}$ , respectivamente.

Usualmente a  $\text{pH} > 4$ ,  $k \tau_B [H_3O^+] \ll 1$ , por lo que  $\phi_A/\phi_{A^{\circ}}$  y  $\phi_B/\phi_{B^{\circ}}$  son virtualmente independientes del pH, por lo que:

$$(\phi_A/\phi_{A^{\circ}})_{ctc} = 1 / (1 + \tilde{k} \tau_A)$$

$$(\phi_B/\phi_{B^{\circ}})_{ctc} = \tilde{k} \tau_A / (1 + \tilde{k} \tau_A)$$

La independencia de  $\phi_A/\phi_{A^{\circ}}$  y  $\phi_B/\phi_{B^{\circ}}$  con la  $[H_3O^+]$  a  $\text{pH} > 4$  se manifiesta por la independencia de la intensidad de fluorescencia del ácido y de la base conjugada con el pH en el intervalo  $4 < \text{pH} < \text{pKa} - 2$

Si se define como  $F_A^{ctc} = F_{A^{\circ}} (\phi_A/\phi_{A^{\circ}})$  y

$F_B^{ctc} = F_{B^{\circ}} (\phi_B/\phi_{B^{\circ}})$ , la ecuación (8) quedaría:

$$K_a = (F - F_A^{ctc} - F_B^{ctc}) [H_3O^+] / (F_{B^{\circ}} - F) \quad (10)$$

En nuestro caso, lo que medimos es la intensidad de fluorescencia de la forma básica, por lo que  $F_{A^{ct*}} = 0$ , y por tanto la ecuación (10) se transforma en:

$$K_a = (F - F_{B^{ct*}}) [H_3O^+] / (F_{B^o} - F)$$

que reordenando:

$$K_a = [H_3O^+] \left( (F - F_{B^{ct*}}) / (F_{B^o} - F) \right)$$

y tomando  $-\log$  quedaría:

$$-\log K_a = -\log [H_3O^+] - \log \left( (F - F_{B^{ct*}}) / (F_{B^o} - F) \right)$$

$$pK_a = pH - \log S$$

donde

$$S = (F - F_{B^{ct*}}) / (F_{B^o} - F)$$

luego

$$\log S = pH - pK_a$$

Representando  $\log S$  en función del pH, para  $\log S = 0$ , se cumple que  $pH = pK_a$

## EXPERIMENTAL

### *Aparatos utilizados.-*

- Espectrofluorímetro PERKIN ELMER LS 5
- pH-metro digital CRISON mod. 501, provisto de electrodo combinado INGOLD

**Disoluciones empleadas.-**

- Disoluciones  $10^{-4}$  M de las azometinas correspondientes en etanol-agua 1:1 (v/v). Preparadas en el momento de ser utilizadas.
- Disoluciones de HCl y NaOH de distintas concentraciones.

**Método operatorio.-**

En un matraz aforado de 250 mL se introduce la cantidad necesaria de la base de Schiff correspondiente, para que, al enrasar, la concentración de la misma sea  $10^{-4}$  M, se añade etanol al 50 % (v/v), se agita hasta conseguir la total disolución de la azometina y se enrasa con etanol al 50 % (v/v).

Esta disolución se transfirió a un vaso de precipitados y el pH se fue modificando convenientemente mediante la adición de pequeñas cantidades de disoluciones diluidas de HCl o NaOH, de modo que la concentración del reactivo, así como el porcentaje etanólico, no se modificasen de forma apreciable.

La  $\lambda_{exc}$  fue en cada caso la longitud de onda del punto isobéstico de los espectros UV-VIS en función del pH de la correspondiente azometina.

Las  $\lambda_{em}$  fueron seleccionadas por el aparato mediante un "pre-scan" de emisión realizado a disoluciones de las correspondientes bases de Schiff, que tenían un pH suficientemente básico.

Las medidas de la intensidad de fluorescencia se realizaron puntualmente, siendo el factor de sensibilidad 1 y las rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm.

RESULTADOS OBTENIDOS.

*Saliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

Las medidas de la intensidad de fluorescencia se realizaron a una  $\lambda_{em}$  de 469 nm siendo la  $\lambda_{exc}$  = 340 nm.

En la Figura nº 2.60 se representa la variación de la intensidad de fluorescencia (IFR) con el pH.

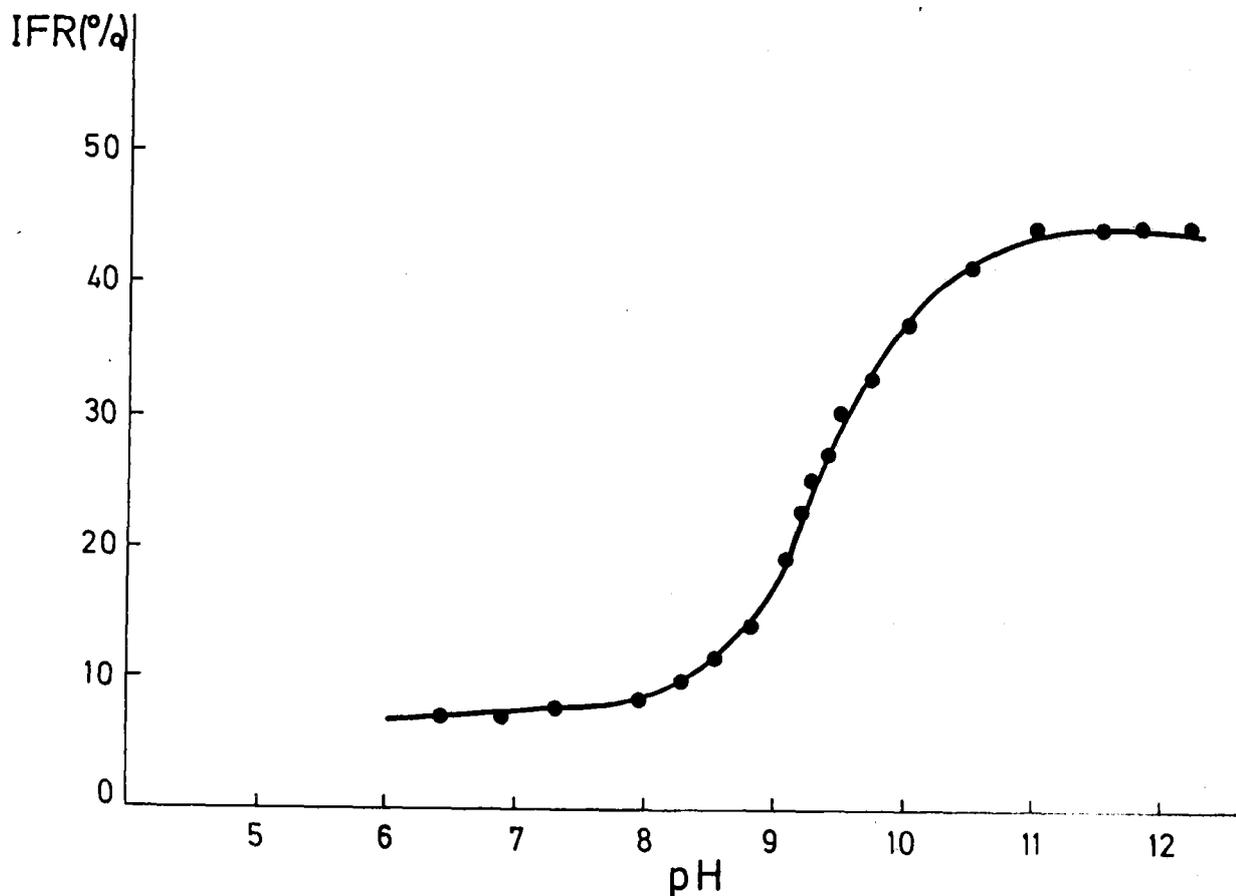


Figura nº 2.60. Saliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Representación de IFR frente al pH a  $\lambda_{em}$  = 469 nm.

En la Tabla 2.56 se recogen los valores de pH, S y log S, que han sido utilizados para el cálculo del pKa (Figura nº 2.61).

Tabla 2.56

pH	S	log S
9.50	1.61	0.21
9.40	1.09	0.04
9.30	0.92	-0.04
9.20	0.70	-0.16
9.10	0.46	-0.34
9.00	0.33	-0.49

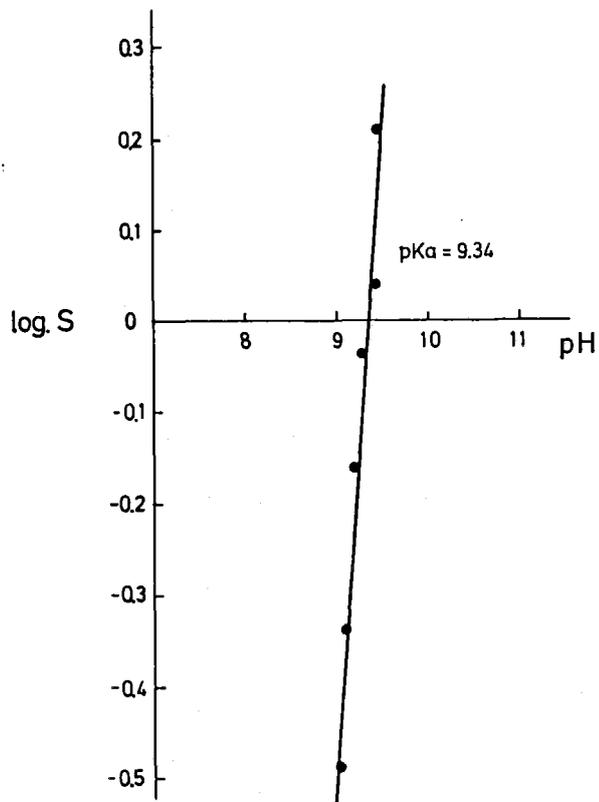


Figura nº 2.61. Saliciliden-o-aminofenol  
Método de Schulman y col.

**5-Clorosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-**

Las medidas de la intensidad de fluorescencia se realizaron a una  $\lambda_{em}$  de 510 nm, siendo la  $\lambda_{exc}$  = 352 nm.

En la Figura nº 2.62 se representa la variación de la intensidad de fluorescencia (IFR) con el pH.

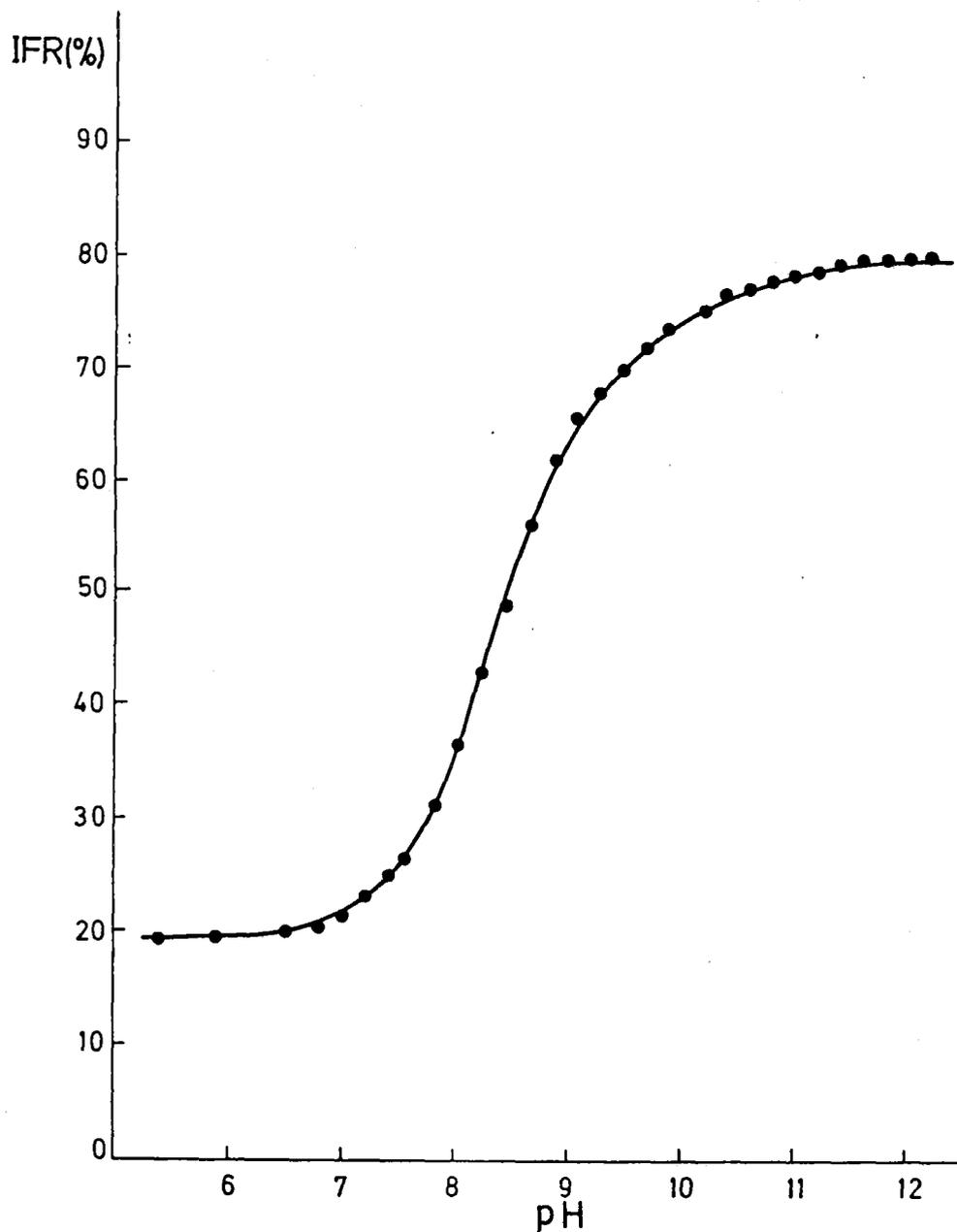


Figura nº 2.62. 5-Clorosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Representación de IFR frente al pH  $\lambda_{em}$  = 510 nm.

Los valores de pH, S y log S, que han sido utilizados para el cálculo del pKa de esta base de Schiff se recogen en la Tabla 2.57. (Figura nº 2.63).

Tabla 2.57

pH	S	log S
8.80	2.39	0.38
8.60	1.54	0.19
8.40	0.97	-0.01
8.20	0.65	-0.19
8.00	0.40	-0.40

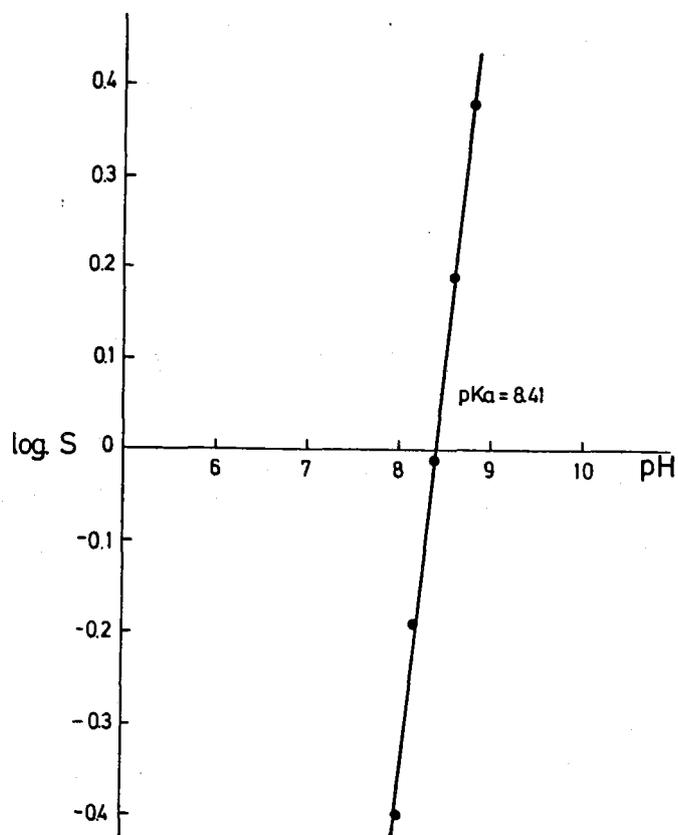


Figura nº 2.63. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol  
Método de Schulman y col.

*5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.-*

Las medidas de la intensidad de fluorescencia se realizaron a una  $\lambda_{exc}$  de 508 nm siendo la  $\lambda_{em}$  = 352 nm.

En la Figura nº 2.64 se representa la variación de la intensidad de fluorescencia (IFR) con el pH.

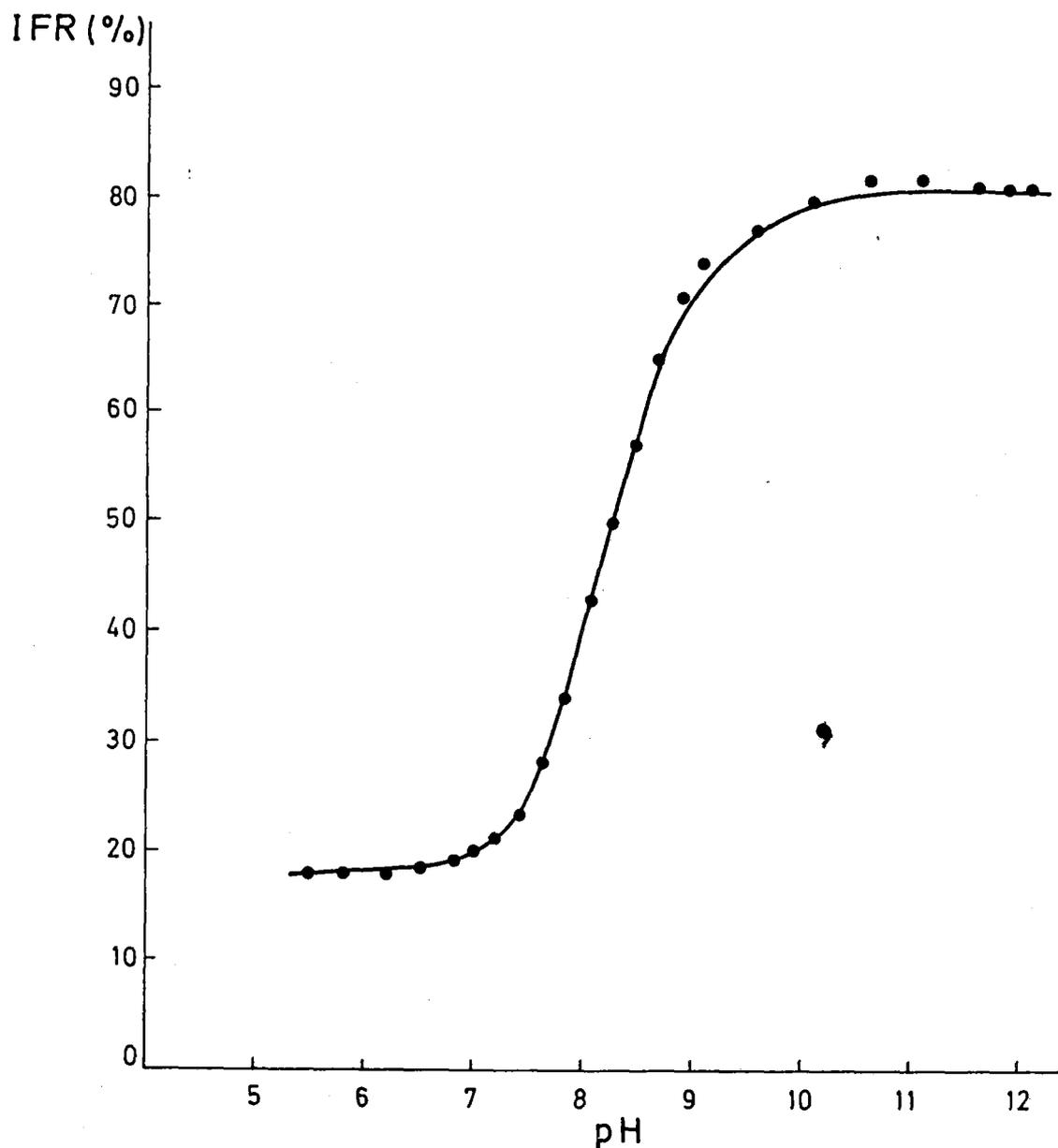


Figura nº 2.64. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol  
Representación de IFR frente al pH a  $\lambda_{exc}$  = 508 nm.

En la Tabla 2.58 se hallan los valores de pH, S y log S, que han sido utilizados para el cálculo del pKa de dicha azometina (Figura nº 2.65).

Tabla 2.58

pH	S	log S
8.60	2.94	0.47
8.40	1.63	0.21
8.20	1.03	0.01
8.00	0.66	-0.18
7.80	0.34	-0.47
7.60	0.20	-0.70

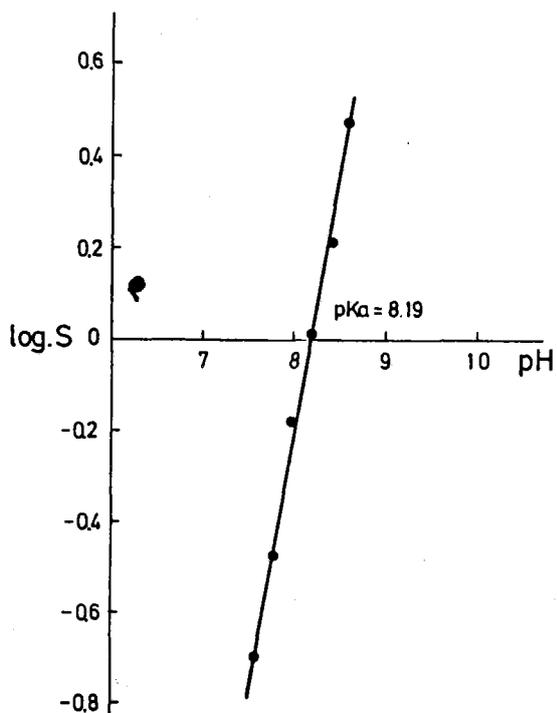


Figura nº 2.65. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol  
Método de Schulman y col.

**Saliciliden-anilina.-**

Las medidas de la intensidad de fluorescencia se realizaron a una  $\lambda_{em}$  de 500 nm, siendo la  $\lambda_{exc}$  = 339 nm.

En la Figura nº 2.66 se representan la variación de la intensidad de fluorescencia (IFR) con el pH.

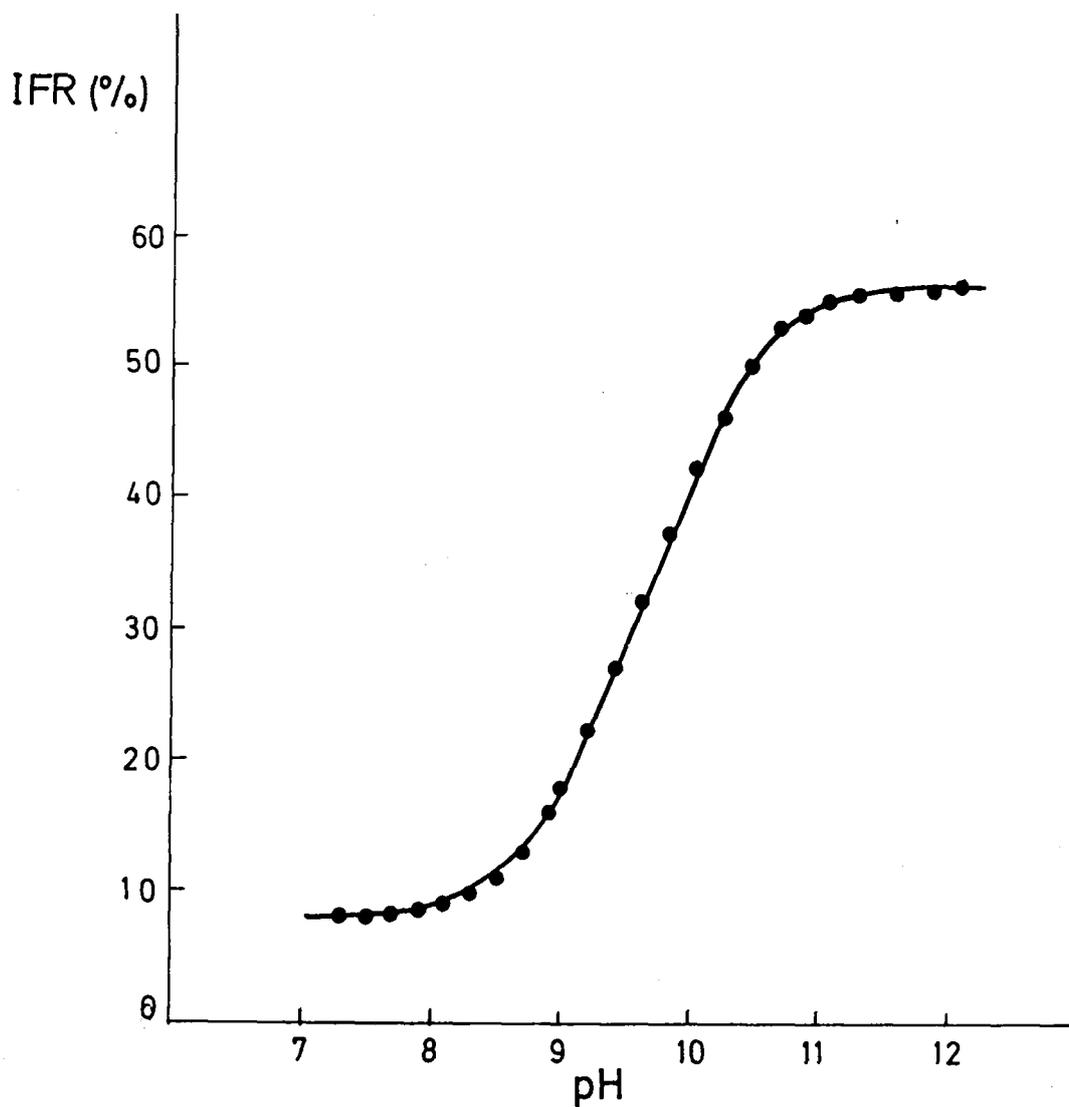


Figura nº 2.66. Saliciliden-anilina

Representación de IFR frente al pH  $\lambda_{em}$  = 500 nm.

En la Tabla 2.59 se encuentran los valores de pH, S y log S, utilizados para el cálculo del pKa de esta base de Schiff (Figura nº 2.67).

Tabla 2.59

pH	S	log S
10.00	2.21	0.35
9.90	1.90	0.28
9.70	1.20	0.08
9.50	0.76	-0.12
9.30	0.48	-0.32
9.10	0.29	-0.54

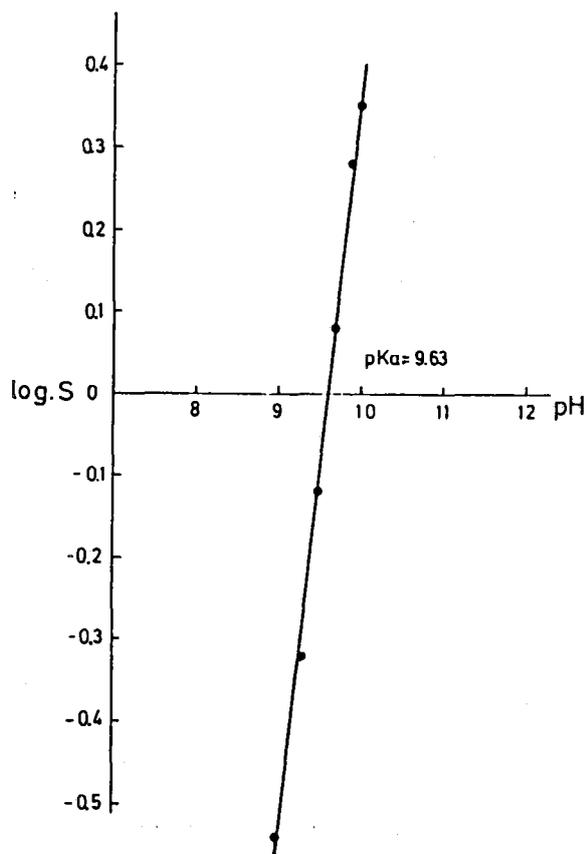


Figura nº 2.67. Saliciliden-anilina  
Método de Schulman y col.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

Los valores de pKa, obtenidos espectrofluorimétricamente por el método de Schulman y col. se han resumido en la siguiente Tabla 2.60.

Tabla 2.60

Azometina	pKa	pKa
SOAF	9.34	
	9.40	9.33±0.09
	9.25	
5-ClSOAF	8.41	
	8.50	8.45±0.05
	8.45	
5-BrSOAF	8.19	
	8.21	8.20±0.01
	8.20	
SA	9.63	
	9.56	9.59±0.04
	9.58	
BOAF	--	---

*Nota.*- En el 5-OHSOAF y 5-MeOSOAF no se han podido determinar los pKa debido a la aparición de fenómenos hidrolíticos.

La comparación de la anterior Tabla 2.60, donde se muestran los resultados de pKa obtenidos espectrofluorimétricamente, con los obtenidos potenciométricamente, nos permite afirmar que, en todos los casos, las especies que muestran fluorescencia son aquellas en las que el grupo OH en posición 2 en el anillo salicílico se encuentra disociado. Esta hipótesis la corrobora el hecho de que el Benciliden-o-aminofenol es la única molécula de las estudiadas por nosotros que no presenta fluorescencia a ningún valor del pH.

*Estudio del Tipo  
de Transiciones Electrónicas*



## ESTUDIO DEL TIPO DE TRANSICIONES ELECTRONICAS.

### INTRODUCCION.

El tipo de transición electrónica que produce cada una de las bandas de absorción de las azometinas en estudio se ha estudiado en base a los trabajos de Kosower (75,76), analizando la influencia que la polaridad del disolvente ejerce sobre el desplazamiento de sus máximos de absorción.

En dichos trabajos, Kosower define una nueva variable  $Z$  como medida standard de la polaridad de un disolvente. Los valores de  $Z$  para los distintos disolventes fueron asignados por el autor a las energías de transición del complejo que forma el ión yoduro con la 1-etil-4-carbometoxipiridina, en dichos disolventes.

Fainberg y Winstein (77) han demostrado que la constante dieléctrica de un disolvente no es una medida cuantitativa de la polaridad de dicho disolvente, por lo que no es de extrañar que no exista una relación entre los valores de  $Z$  y la constante dieléctrica de un disolvente (Tabla 2.61).

Tabla 2.61

Disolvente	$\epsilon$	$Z$
Cloroformo	4.81	63.2
Acetona	20.70	65.5
Dimetilformamida	36.71	68.4
Acetonitrilo	37.50	71.3
Dioxano	2.21	76.7
Etanol	24.55	79.6
Metanol	32.70	83.6

Los valores de  $Z$  dependen, en cierto modo, de la concentración del electrolito y, de forma general, cuanto más bajo sea el valor de  $Z$  mayor es la sensibilidad a la concentración de dicho electrolito.

En los disolventes de la serie ROH, el alargamiento del radical R produce una disminución en el valor de  $Z$ , como se puede observar al comparar los valores de dicha variable para el Metanol ( $Z = 83.6$ ) y para el Etanol ( $Z = 79.6$ ).

$Z$  es una medida microscópica de la interacción soluto-disolvente, mientras que la constante dieléctrica es una medida macroscópica del comportamiento del disolvente en un campo eléctrico.

De este hecho deriva la gran utilidad del estudio de la influencia del disolvente sobre los espectros de absorción al objeto de conocer el tipo de transición electrónica que tiene lugar.

La representación de los valores de las energías de transición  $E_T$  calculados a partir de la expresión:

$$E_T = 2.859 \times 10^{-3} \tilde{\nu}$$

donde  $E_T$  se expresa en Kcal/mol y  $\tilde{\nu}$  en  $\text{cm}^{-1}$

en función de los valores de  $Z$  para los distintos disolventes, nos pone de manifiesto el tipo de transición electrónica que tiene lugar.

Si dicha representación es una recta de pendiente negativa, podemos atribuir la banda en estudio a una transición  $\pi \rightarrow \pi^*$  y, si por el contrario la representación es una recta de pendiente positiva la transición electrónica que tiene lugar es  $n \rightarrow \pi^*$  (76).

## **EXPERIMENTAL.**

### ***Aparatos utilizados.-***

- Espectrofotómetro BAUSCH & LOMB mod. Spectronic 2000, provisto de registrador X-Y HOUSTON mod. 33-35-08.

*Disoluciones y disolventes empleados.-*

- Disoluciones  $8 \times 10^{-5}$  M de las distintas azometinas en estudio en los diversos disolventes usados. Las demás disoluciones utilizadas fueron preparadas a partir de éstas por dilución.
- Cloroformo, Acetona, Dimetilformamida, Acetonitrilo, Dioxano, Etanol y Metanol MERCK, reactivos para análisis. Estos disolventes fueron purificados por destilación (a vacío cuando fué necesario).

**RESULTADOS.**

En las Figuras nº 2.68-2.74, se muestran los espectros de absorción UV-VIS de las bases de Schiff objeto de estudio en los diferentes disolventes empleados.

Los espectros han sido registrados en la zona 500-300 nm de longitud de onda y frente a un blanco de referencia que era el respectivo disolvente.

La velocidad de registro, en todos los casos, fue de 100 nm/min.

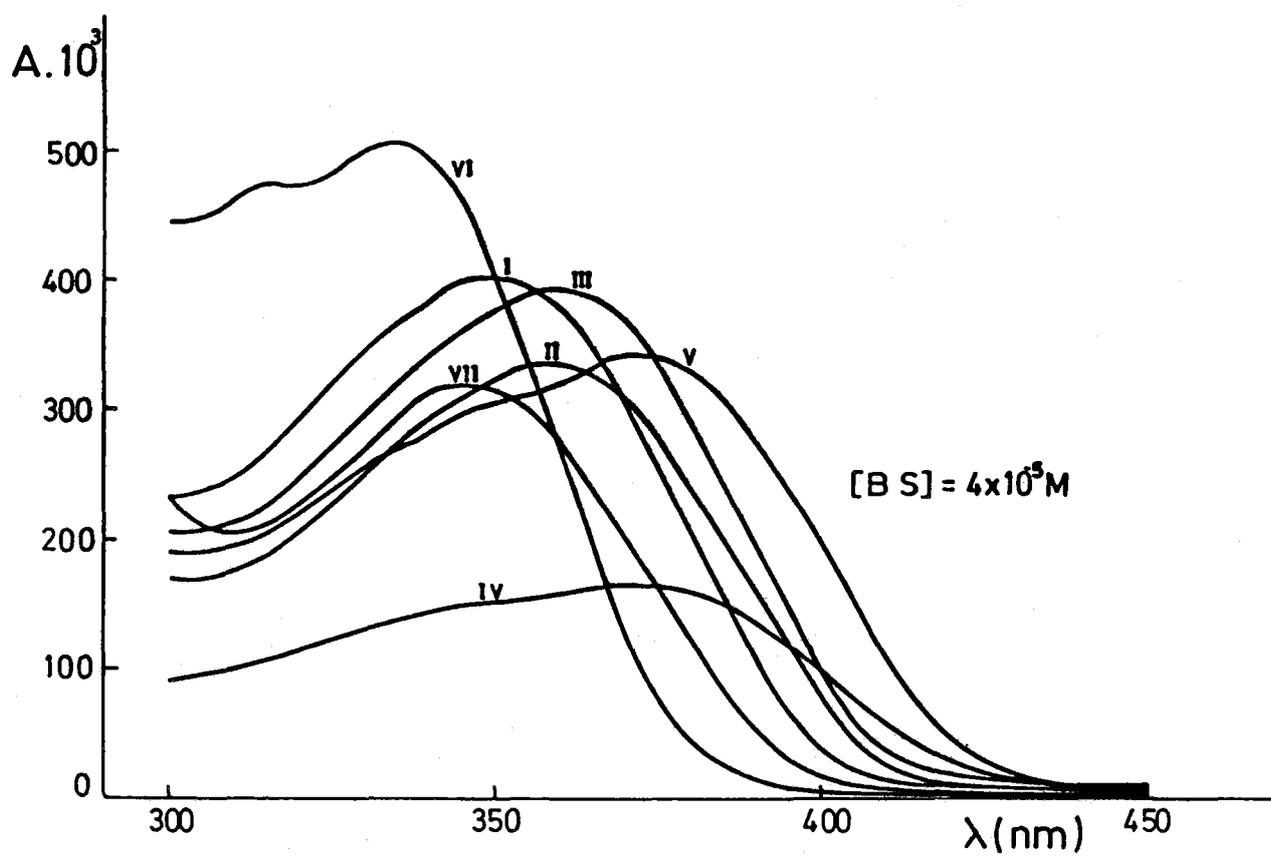


Figura nº 2.68. Espectros de absorción UV-VIS de las azometinas en Cloroformo.

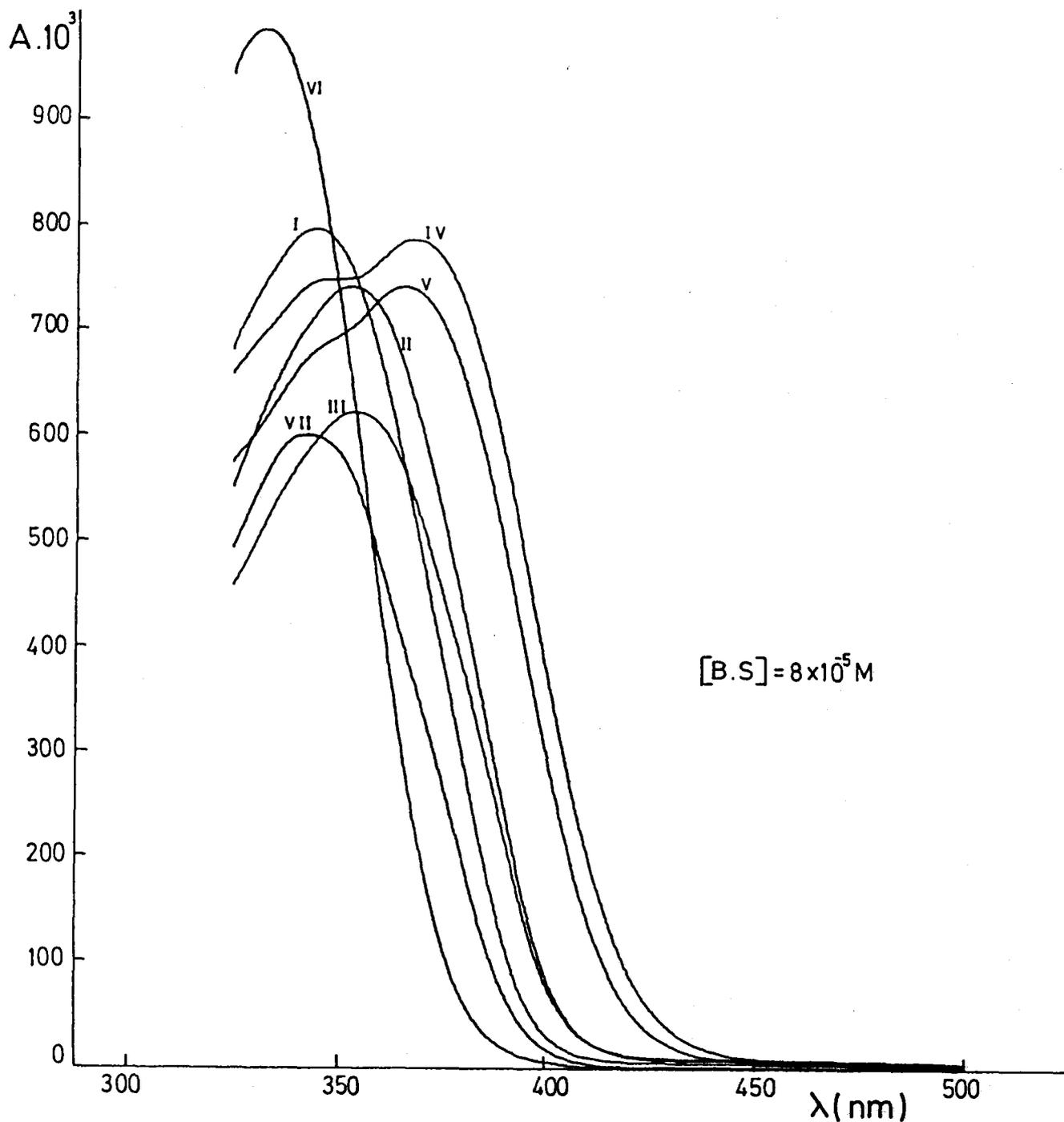


Figura nº 2.69. Espectros de absorción UV-VIS de las azometinas en Acetona.

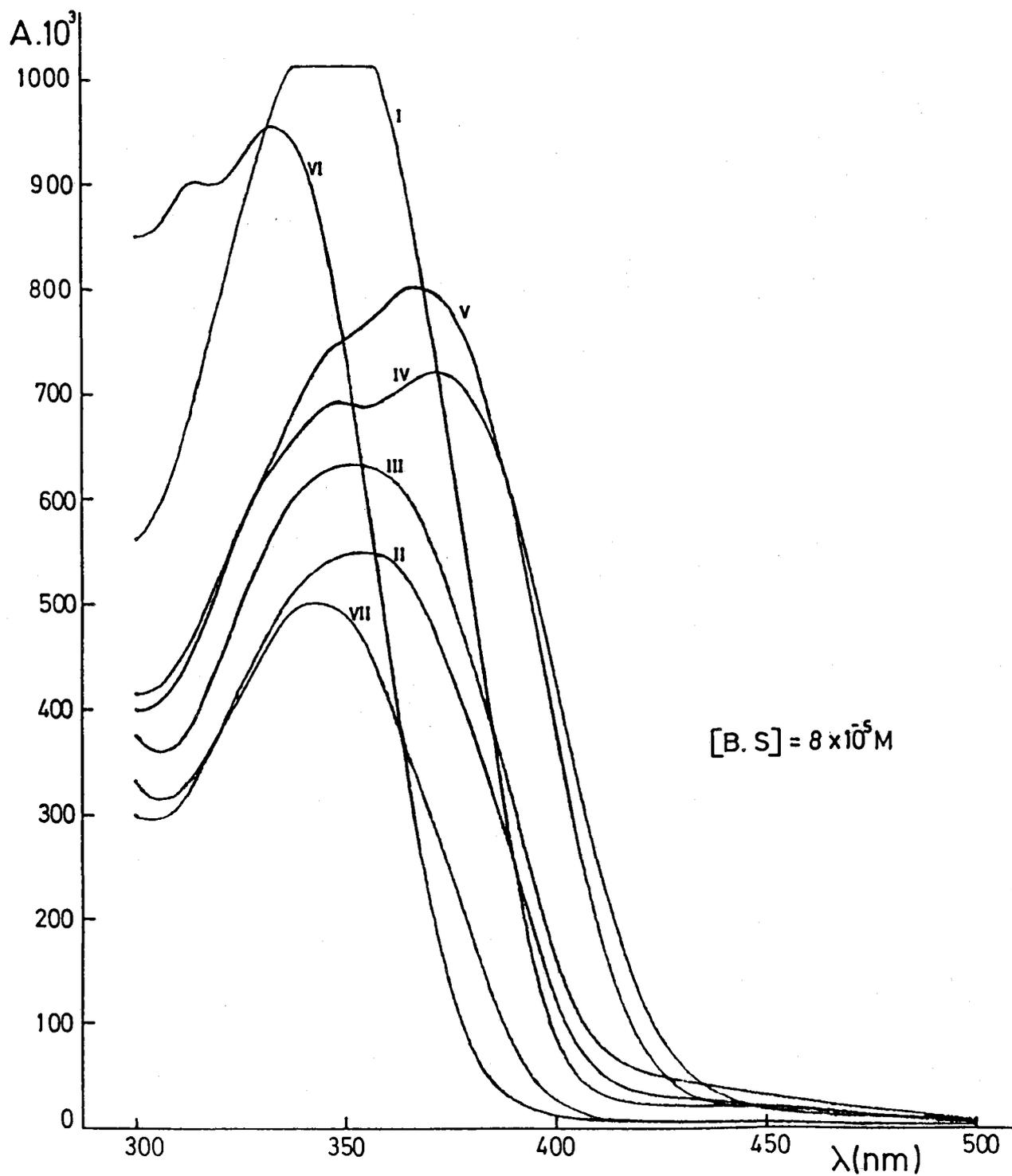


Figura nº 2.70. Espectros de absorción UV-VIS de las azometinas en Dimetilformamida.

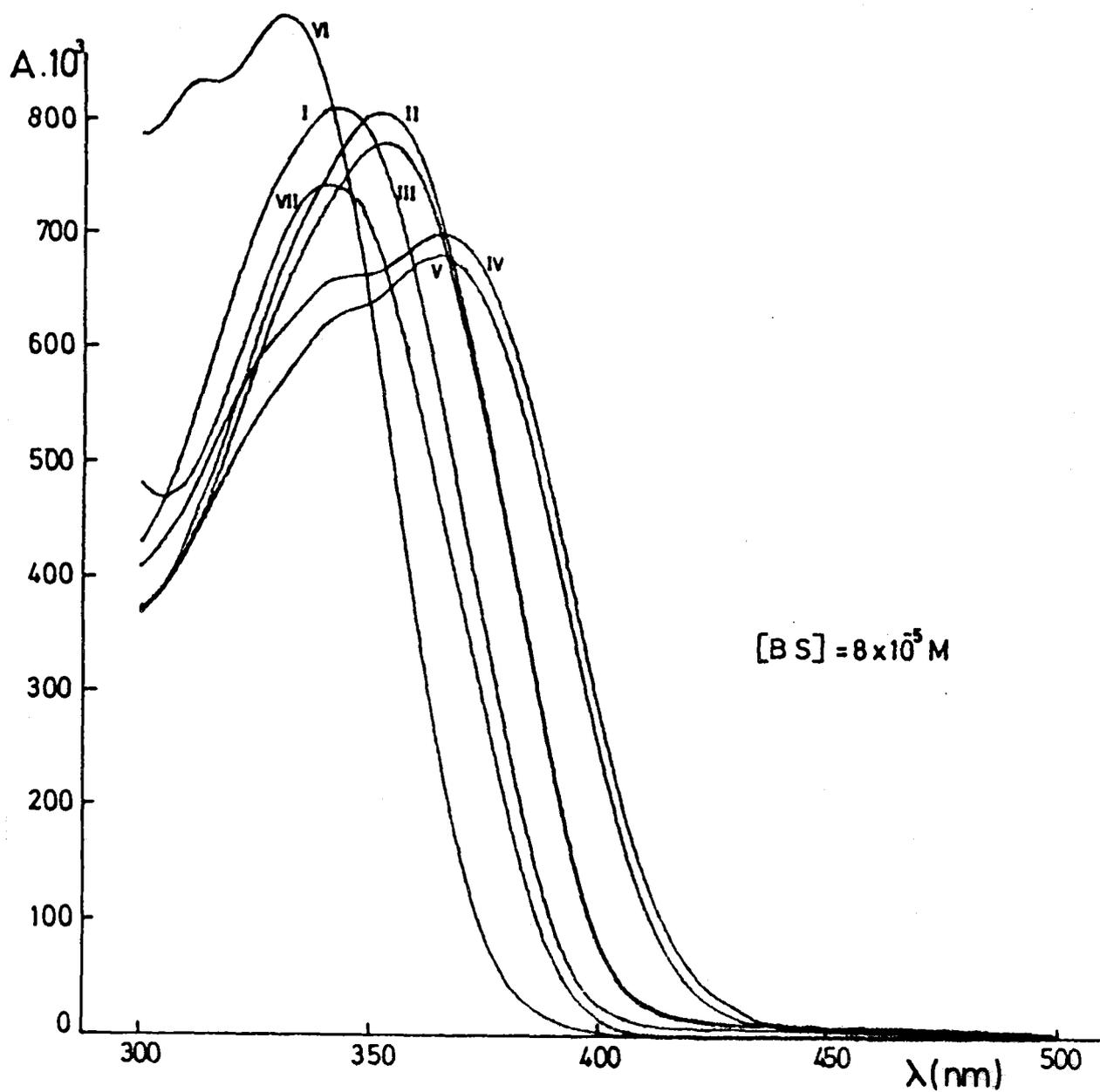


Figura nº 2.71. Espectros de absorción UV-VIS de las azometinas en Acetonitrilo.

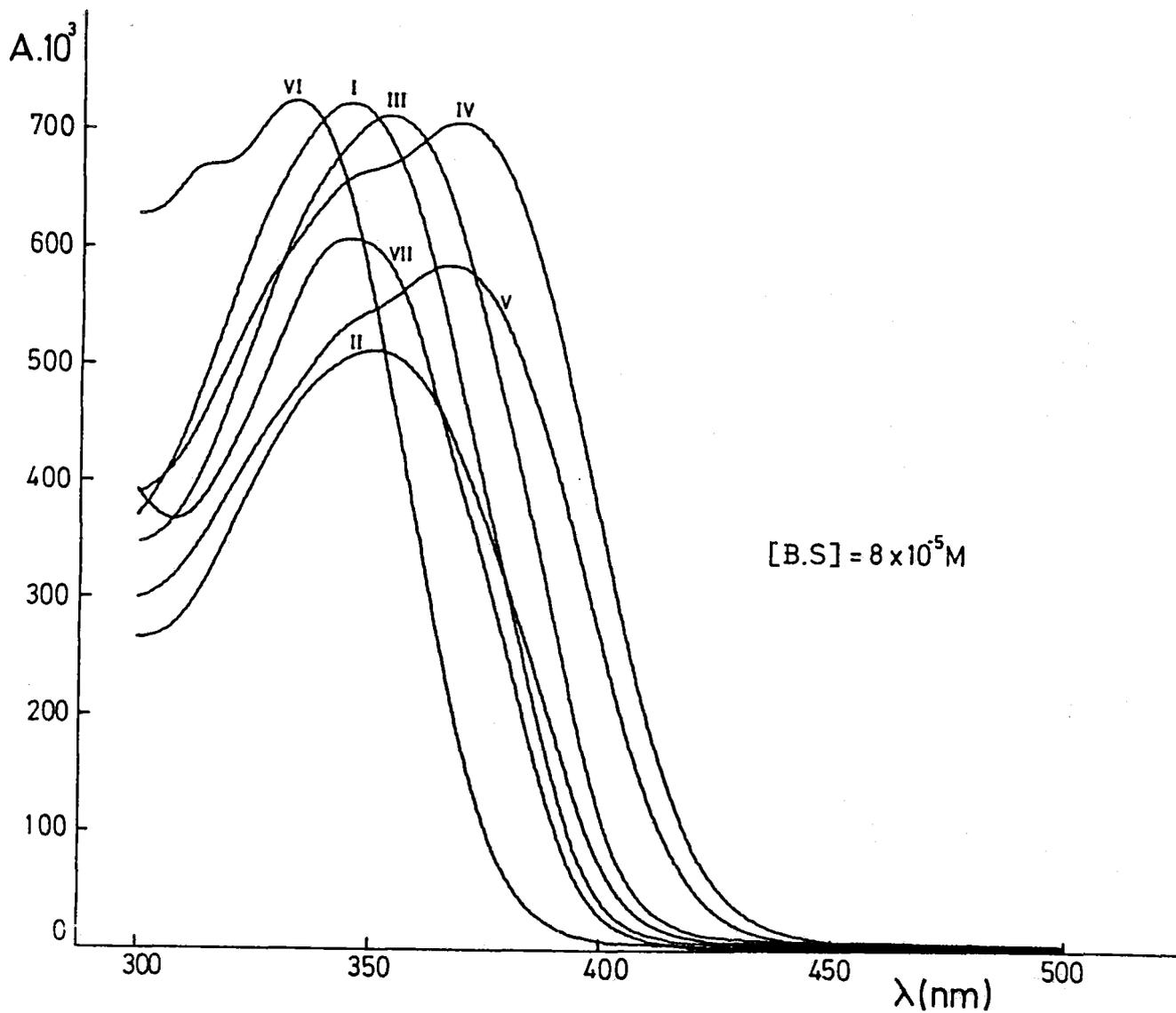


Figura nº 2.72. Espectros de absorción UV-VIS de las azometinas en Dioxano.

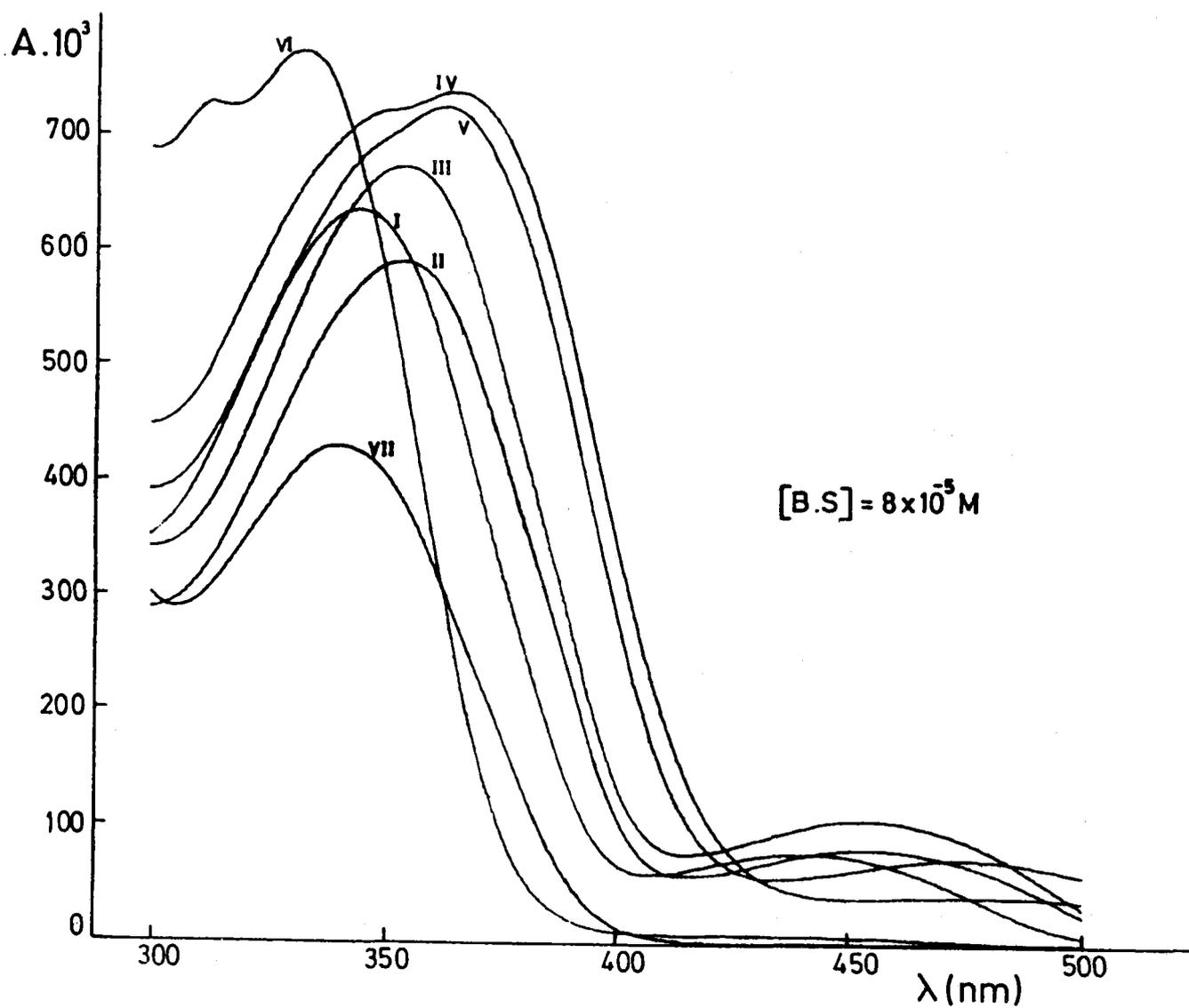


Figura nº 2.73. Espectros de absorción UV-VIS de las azometinas en Etanol.

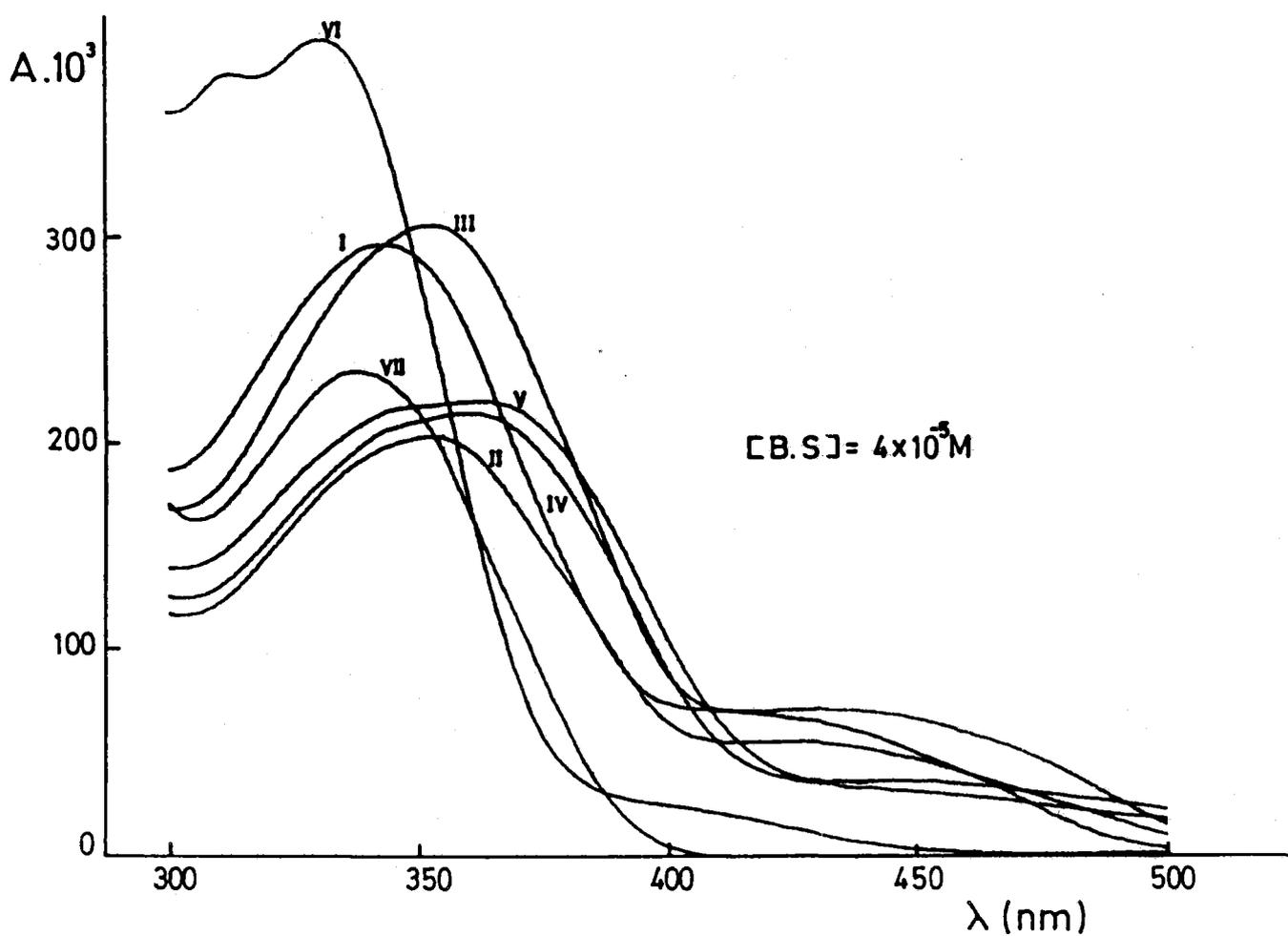


Figura nº 2.74. Espectros de absorción UV-VIS de las azometinas en Metanol.

En la Tabla 2.62 se recogen las longitudes de onda de los máximos de absorción UV-VIS de las azometinas en estudio en los diferentes disolventes empleados.

Tabla 2.62

Azometina	$\lambda_{\text{máx}}$ , (nm)						
	Cloroformo	Acetona	Dimetilformamida	Acetonitrilo	Dioxano	Etanol	Metanol
SOAF	350	345	349	343	346	345	344
5-ClSOAF	359	353	354	352	351	354	353
5-BrSOAF	360	354	353	353	354	354	353
5-OHSOAF	373	368	372	366	369	366	362
5-MeOSOAF	373	366	368	365	367	363	362
SA	335	333	334	331	334	333	331
BOAF	346	343	344	341	346	340	338

A continuación, se han realizado los cálculos de  $E_T$  para las longitudes de los máximos de absorción UV-VIS de las azometinas en los diferentes disolventes, resultados que se muestran en las Tablas 2.63-2.69 y que han sido representados frente a  $Z$  en las Figuras nº 2.75-2.81.

*Saliciliden-o-aminofenol.-*

En la Tabla 2.63 se recogen los datos más importantes de los espectros UV-VIS de esta azometina en los diferentes disolventes.

Tabla 2.63

Disolvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$ (-----) dm <sup>3</sup> mol cm	$E_T$ (Kcal/mol)
Cloroformo	350	10175	81.69
Acetona	345	9950	82.87
Dimetilformamida	349	13350	82.04
Acetonitrilo	343	10138	83.47
Dioxano	346	8988	82.63
Etanol	345	7925	82.87
Metanol	344	7425	83.23

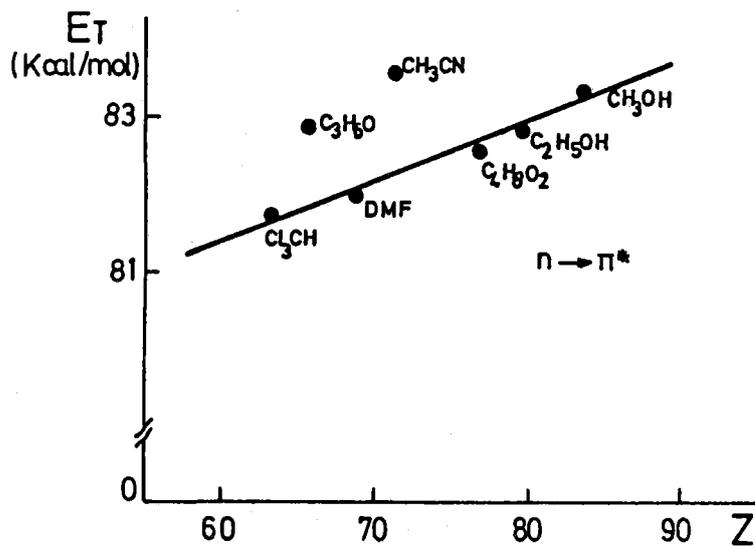


Figura nº 2.75. Saliciliden-o-aminofenol  
Representación de  $E_T$  frente a  $Z$ .

5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol.-

En la Tabla 2.64 se recogen los datos más importantes de los espectros UV-VIS de esta azometina en los diferentes disolventes.

Tabla 2.64

Disolvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$ (-----) dm <sup>3</sup> mol cm	E <sub>T</sub> (Kcal/mol)
Cloroformo	359	8425	79.75
Acetona	353	9263	80.99
Dimetilformamida	354	6850	80.76
Acetonitrilo	352	10100	81.11
Dioxano	351	6388	81.45
Etanol	354	7363	80.76
Metanol	353	5075	80.99

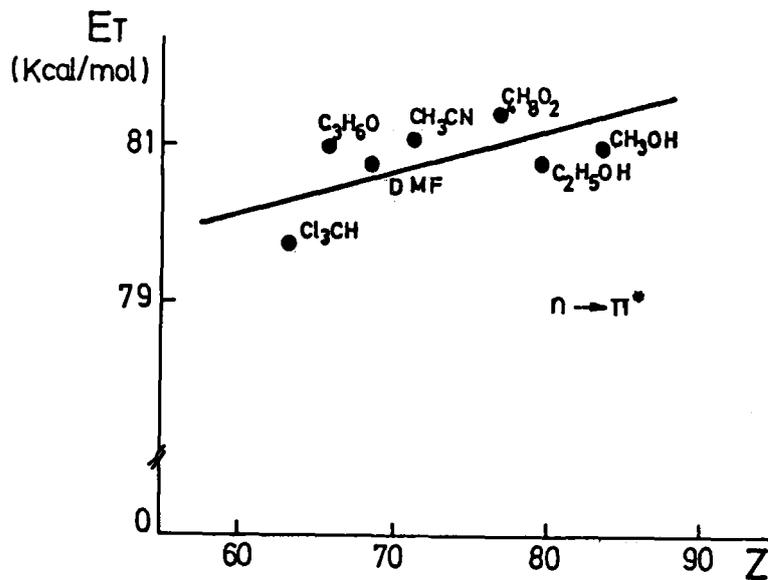


Figura nº 2.76. 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol  
Representación de E<sub>T</sub> frente a Z.

**5-Bromosaliciliden-*o*-aminofenol.-**

En la Tabla 2.65 se recogen los datos más importantes de los espectros UV-VIS de esta azometina en los diferentes disolventes.

Tabla 2.65

Disolvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$ (-----) dm <sup>3</sup> mol cm	E <sub>T</sub> (Kcal/mol)
Cloroformo	360	9875	79.42
Acetona	354	7750	80.76
Dimetilformamida	353	7863	80.99
Acetonitrilo	353	9750	80.99
Dioxano	354	8850	80.76
Etanol	354	8388	80.76
Metanol	353	7625	80.99

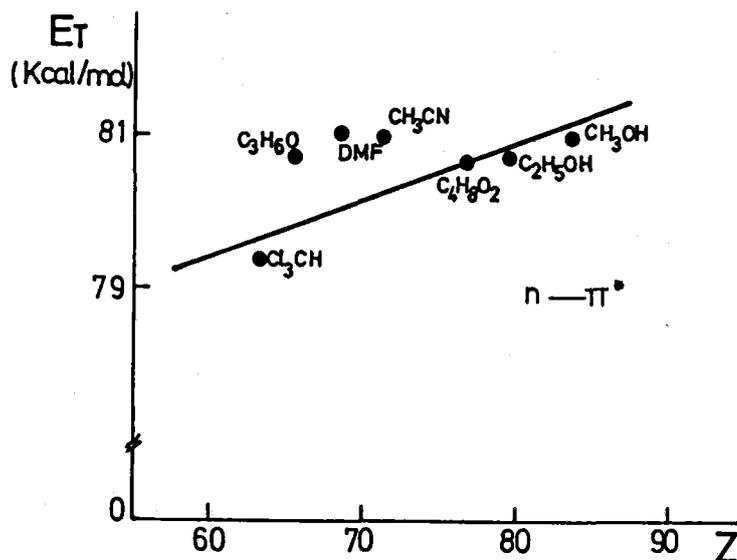


Figura nº 2.77. 5-Bromosaliciliden-*o*-aminofenol  
Representación de E<sub>T</sub> frente a Z.

*5-Hidroxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.-*

En la Tabla 2.66 se recogen los datos más importantes de los espectros UV-VIS de esta azometina en los diferentes disolventes.

Tabla 2.66

Disolvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$ (-----) dm <sup>3</sup> mol cm	E <sub>T</sub> (Kcal/mol)
Cloroformo	373	4225	76.65
Acetona	368	9825	77.69
Dimetilformamida	372	8975	76.85
Acetonitrilo	366	8750	78.11
Dioxano	369	8788	77.48
Etanol	366	9200	78.11
Metanol	362	5500	78.98

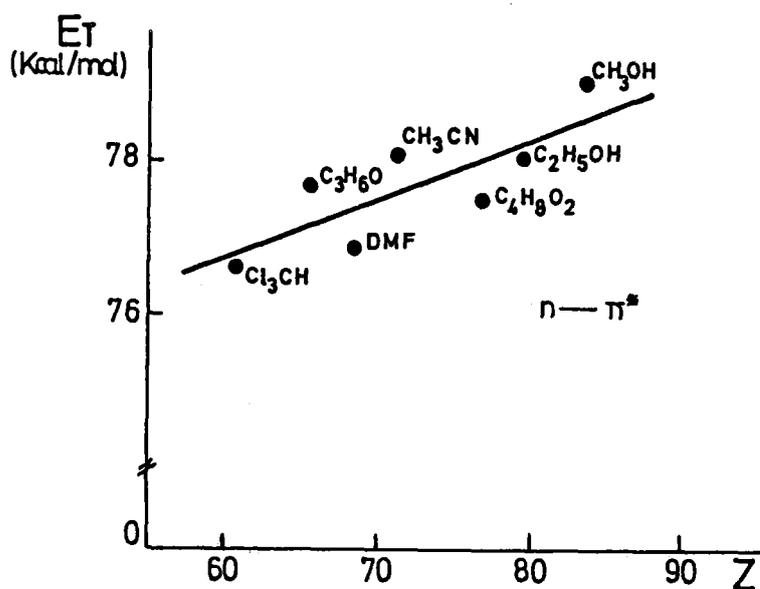


Figura nº 2.78. 5-Hidroxisaliciliden- $\sigma$ -aminofenol  
Representación de  $E_T$  frente a  $Z$ .

**5-Metoxisaliciliden-*o*-aminofenol.-**

En la Tabla 2.67 se recogen los datos más importantes de los espectros UV-VIS de esta azometina en los diferentes disolventes.

Tabla 2.67

Disolvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$ (-----) dm <sup>3</sup> mol cm	E <sub>T</sub> (Kcal/mol)
Cloroformo	373	8600	76.65
Acetona	366	9263	78.11
Dimetilformamida	368	10013	77.69
Acetonitrilo	365	8525	78.33
Dioxano	367	7275	77.90
Etanol	363	9050	78.76
Metanol	362	5350	78.98

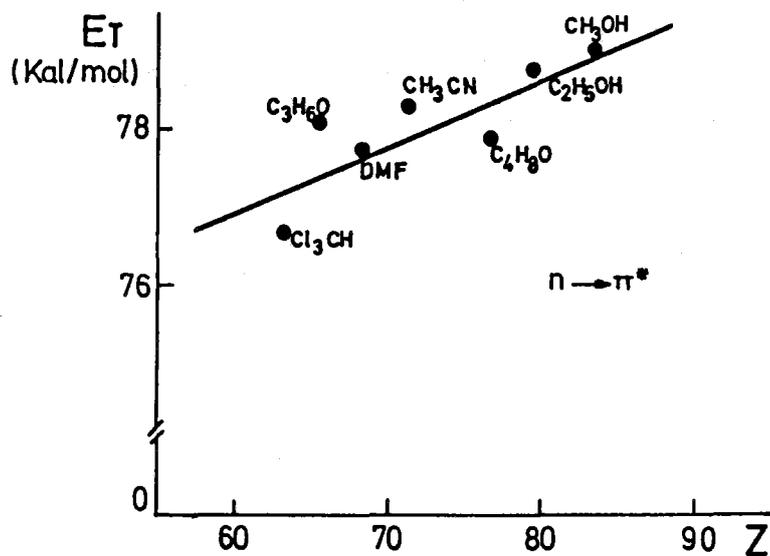


Figura nº 2.79. 5-Metoxisaliciliden-*o*-aminofenol  
Representación de E<sub>T</sub> frente a Z.

*Saliciliden-anilina.-*

En la Tabla 2.68 se recogen los datos más importantes de los espectros UV-VIS de esta azometina en los diferentes disolventes.

Tabla 2.68

Disolvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$ (-----) dm <sup>3</sup> mol cm	E <sub>r</sub> (Kcal/mol)
Cloroformo	335	12725	85.36
Acetona	333	12388	85.86
Dimetilformamida	334	11938	85.60
Acetonitrilo	331	11150	86.37
Dioxano	334	9050	85.60
Etanol	333	9675	85.86
Metanol	331	9900	86.37

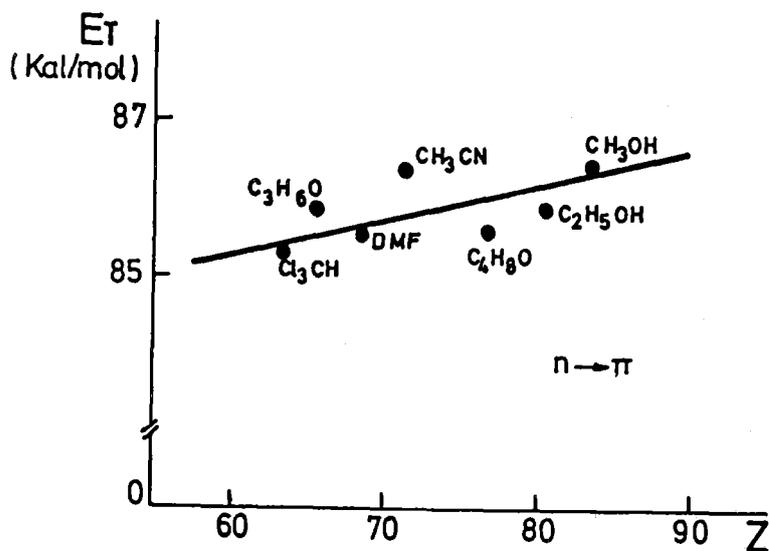


Figura nº 2.80. Saliciliden-anilina  
Representación de  $E_r$  frente a  $Z$ .

*Benciliden-o-aminofenol.-*

En la Tabla 2.69 se recogen los datos más importantes de los espectros UV-VIS de esta azometina en los diferentes disolventes.

Tabla 2.69

Disolvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$ (-----) dm <sup>3</sup> mol cm	$E_T$ (Kcal/mol)
Cloroformo	346	8025	82.63
Acetona	343	7500	83.35
Dimetilformamida	344	6250	83.11
Acetonitrilo	341	9300	83.96
Dioxano	346	7563	82.63
Etanol	340	5388	84.09
Metanol	338	5875	84.59

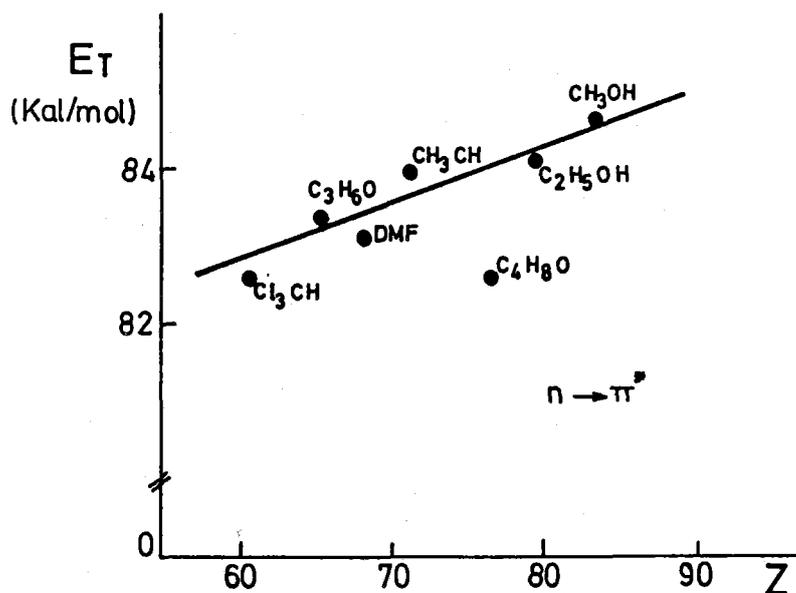


Figura nº 2.81. Benciliden-o-aminofenol  
Representación de  $E_T$  frente a  $Z$ .

**DISCUSION DE LOS RESULTADOS.**

De la observación de las Figuras nº 2.75-2.81 podemos deducir que en todos los casos la transición electrónica, correspondiente al máximo de absorción que muestran los espectros UV-VIS de las azometinas en estudio, es del tipo  $n \rightarrow \pi^*$ .



## **CAPITULO III**

**REACCIONABILIDAD CUALITATIVA FLUORESCENTE**



## REACCIONABILIDAD CUALITATIVA FLUORESCENTE

### EXPERIMENTAL.

#### *Disoluciones Empleadas.-*

- Disolución de la azometina correspondiente de 1 g/L en etanol del 99.5 %.
- Disoluciones de ácido clorhídrico de concentraciones 2; 0.2 y 0.02 M.
- Disoluciones de ácido acético de concentraciones 2; 0.2 y 0.02 M.
- Disoluciones de amoníaco de concentraciones 2; 0.2 y 0.02 M.
- Disoluciones de hidróxido sodico de concentraciones 2; 0.2 y 0.02 M.
- Disoluciones de cationes de 1 g/L en catión preparadas por disolución de las sales que se indican en la Tabla 3.1.

#### *Técnica empleada en los ensayos realizados.-*

Realizadas numerosas experiencias preliminares se adoptó, por ser el más adecuado, el siguiente método operatorio:

Cada catión se ha ensayado en los intervalos de pH comprendidos entre 1-3 (HCl), 3-6 (HAc), 6-8 (Neutro), 8-10 (NH<sub>3</sub>) y 10-12 (NaOH), en medio hidroalcohólico del 50 %.

Para ello en 5 tubos de ensayo de 1 cm de diámetro y 15.5 cm de longitud se introducían 10 gotas (0.5 mL) de disolución etanólica de 1 g/L de la base de Schiff en estudio y 10 gotas (0.5 mL) de disolución del catión correspondiente.

A continuación se ajustaba el pH aparente al valor deseado mediante la adición de la cantidad necesaria de HCl, HAc, NH<sub>3</sub>(ac.) ó NaOH y se diluía con una mezcla de etanol-agua destilada (1:1) hasta un volumen final de 2 mL, comprobándose de nuevo en cada ocasión el valor del pH aparente por medida potenciométrica.

La observación de los fenómenos originados se realizó bajo iluminación con luz ultravioleta (lámpara UVATOM que permite la observación a dos longitudes de onda: 360 y 245 nm).

En cada ensayo se comparó la reacción frente a un ensayo en blanco que contenía las mismas sustancias, en idénticas concentraciones, a excepción del catión objeto de estudio.

Las sensibilidades se determinaron de idéntica forma a partir de disoluciones de catión cada vez más diluidas, hasta alcanzar la máxima dilución para la cual la reacción era todavía claramente perceptible. Se confirmó por último el límite de dilución repitiendo el ensayo tres veces. Solo en el caso de que todos los ensayos de esta serie resultasen positivos se tomó como definitivo el límite de dilución.

Tabla 3.1. Sales empleadas en las disoluciones de cationes.

Catión	Sal empleada	Catión	Sal empleada
Ag(I)	AgNO <sub>3</sub>	V(V)	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>
Pb(II)	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Be(II)	Be(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O
Hg(II)	Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O (*)	Co(II)	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O
Tl(I)	TlNO <sub>3</sub>	Th(IV)	Th(NO <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O (*)
Tl(III)	TlCl <sub>3</sub>	Zn(II)	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O
Hg(II)	HgCl <sub>2</sub>	Mn(II)	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O
Bi(III)	Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O (*)	Ni(II)	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O
V(VI)	Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	Ca(II)	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O
Cu(II)	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	Sr(II)	Sr(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O
Pd(II)	PdCl <sub>2</sub> (*)	Ba(II)	Ba(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Cd(II)	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	Mg(II)	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O
As(III)	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Li(I)	LiNO <sub>3</sub>
As(V)	Na <sub>2</sub> HAsO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Rb(I)	RbNO <sub>3</sub>
Sb(III)	SbCl <sub>3</sub> (*)	Sn(II)	SnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O (*)
Mo(VI)	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	Y(III)	Y(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O
Au(III)	AuCl <sub>3</sub>	In(III)	InCl <sub>3</sub> (*)
Fe(II)	Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	Rh(III)	RhCl <sub>3</sub>
Fe(III)	Fe(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O	Os(VIII)	OsO <sub>4</sub>
Al(III)	Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O	Ce(IV)	Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O (*)
Cr(III)	Cr(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O	Sc(III)	Sc(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>
Ti(IV)	TiCl <sub>4</sub> (*)	Se(IV)	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>
UO <sub>2</sub> (II)	UO <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> -COO) <sub>2</sub>	Pt(IV)	H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub> .6H <sub>2</sub> O (*)
La(III)	La(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	Ga(III)	Ga(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .8H <sub>2</sub> O
Zr(IV)	ZrCl <sub>4</sub> .8H <sub>2</sub> O	Cs(I)	CsNO <sub>3</sub>
Na(I)	NaNO <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub> (I)	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>
Ce(III)	Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	Ge(IV)	GeO <sub>2</sub>

(\*) Sales disueltas en el ácido correspondiente al anión.

RESULTADOS OBTENIDOS.

REACCIONABILIDAD FLUORESCENTE DEL SALICILIDEN-*o*-AMINOFENOL FRENTE  
A CATIONES INORGANICOS.

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3.2, figurando la sensibilidad de la reacción como pD (cologaritmo de la concentración límite).

Tabla 3.2

*Medio HCl (pH 1-3). -*

Al(III)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 7.3
Ga(III)	fluorescencia anarillo-naranja	pD: 6.4

*Medio HAc (pH 3-6). -*

Al(III)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 7.3
Ga(III)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 6.4

*Medio Neutro (pH 6-8). -*

Al(III)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 6.5
Be(II)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 5.1
Ga(III)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 5.7
In(III)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 5.0
Sc(III)	fluorescencia naranja	pD: 6.0
Tl(III)	fluorescencia amarilla	pD: 6.1
Zn(II)	precipitado con fluorescencia amarilla	pD: 4.5

Medio  $\text{NH}_3$  (pH 8-10).-

Be(II)	precipitado con fluorescencia blanco-azulada	pD: 4.7
Zn(II)	fluorescencia amarillo-naranja	pD: 5.0

De la observación de la anterior Tabla 3.2 se deduce la selectividad de este compuesto ya que tan solo presenta reacción con siete cationes de los ensayados.

Salvo en los casos en que son los precipitados los que muestran la fluorescencia, las sensibilidades de las reacciones fluorescentes son, en general, elevadas, destacando la reacción con el catión Al(III) en los medios HCl y HAC con un pD de 7.3 en ambos casos. La reacción con Ga(III) en los mismos medios y pD de 6.4, Sc(III) en medio neutro y pD de 6.0 y Tl(III) en medio neutro con un pD de 6.1.

**REACCIONABILIDAD FLUORESCENTE DEL 5-CLOROSALICILIDEN-*o*-AMINOFENOL  
FRENTE A CATIONES INORGANICOS.**

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3.3.

**Tabla 3.3**

*Medio HCl (pH 1-3).-*

Ga(III) fluorescencia amarillo-naranja pD: 6.1

*Medio HAc (pH 3-6).-*

Ga(III) fluorescencia amarillo-naranja pD: 6.1

In(III) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 7.0

*Medio neutro (pH 6-8).-*

Al(III) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 7.3

Be(II) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 5.3

Ga(III) fluorescencia amarillo-naranja pD: 6.0

Sc(III) fluorescencia naranja pD: 6.1

*Medio NH<sub>3</sub> (pH 8-10).-*

Be(II) precipitado con fluorescencia  
blanco-azulada pD: 4.5

En la Tabla 3.3 se observa que el reactivo en estudio solo muestra reacción fluorescente con cinco de los iones ensayados, lo que pone de manifiesto su elevada selectividad.

Son de destacar por su sensibilidad las reacciones con Ga(III) e In(III) en medio HAc y las reacciones con Al(III) y Sc(III) en medio neutro, todas ellas con un pD superior a 6.0.

**REACCIONABILIDAD FLUORESCENTE DEL 5-BROMOSALICILIDEN-O-AMINOFENOL FRENTE A CATIONES INORGANICOS.**

En la Tabla 3.4 se resumen los datos obtenidos.

Tabla 3.4

*Medio HCl (pH 1-3). -*

Ga(III) fluorescencia amarillo-naranja pD: 6.0

*Medio HAc (pH 6.8). -*

Al(III) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 6.8

Ga(III) fluorescencia amarillo-naranja pD: 6.1

*Medio neutro (pH 6-8). -*

Al(III) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 6.5

Ga(III) fluorescencia amarillo-naranja pD: 5.5

In(III) fluorescencia amarillo-verdosa muy débil

Sc(III) fluorescencia naranja pD: 5.7

Zn(II) fluorescencia naranja muy débil

*Medio NH<sub>3</sub> (pH 8-10). -*

Zn(II) fluorescencia amarillo-naranja pD: 5.7

En la Tabla 3.4 podemos observar que la azometina en estudio solo reacciona con cinco de los cationes ensayados, mostrando pues, una elevada selectividad.

Son de destacar, por su sensibilidad las reacciones con Al(III) y Ga(III) en medio HAc, con pD de 6.8 y 6.1, respectivamente.

**REACCIONABILIDAD FLUORESCENTE DEL 5-HIDROXISALICILIDEN-O-AMINOFENOL FRENTE A CATIONES INORGANICOS.**

Los resultados obtenidos se recogen en la siguiente Tabla 3.5.

**Tabla 3.5**

*Medio HCl (pH 1-3).-*

Al(III)	fluorescencia naranja-rojizo	muy débil
---------	------------------------------	-----------

*Medio HAc (pH 3-6).-*

Al(III)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 6.7
Ga(III)	fluorescencia amarillo-naranja	pD: 6.0

*Medio neutro (pH 6-8).-*

Al(III)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 6.4
Ga(III)	fluorescencia amarillo-naranja	pD: 5.7
Zn(II)	fluorescencia naranja	muy débil

Como se puede observar en esta Tabla 2.5, el 5-Hidroxi-saliciliden-o-aminofenol presenta reacción fluorescente con tan solo tres cationes inorganicos: Al(III), Ga(III) y Zn(II) en medio neutro. Cuando el medio es ácido el reactivo se hace más selectivo dejando de reaccionar el Zn(II). Las sensibilidades de las reacciones son medias exceptuando el caso de Zn(II) que es muy baja.

**REACCIONABILIDAD FLUORESCENTE DEL 5-METOXISALICILIDEN-O-AMINOFENOL FRENTE A CATIONES INORGANICOS.**

En la Tabla 3.6 se resumen los resultados obtenidos.

**Tabla 3.6**

*Medio HCl (pH 1-3).-*

Ga(III) fluorescencia amarillo-naranja pD: 5.4

*Medio HAc (pH 3-6).-*

Al(III) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 6.4

Ga(III) fluorescencia amarillo-naranja pD: 6.0

*Medio Neutro (pH 6-8).-*

Al(III) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 6.6

Be(II) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 5.2

Ga(III) fluorescencia amarillo-naranja pD: 6.0

In(III) fluorescencia blanco-azulada pD: 6.5

Sc(III) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 6.0

Th(IV) fluorescencia blanco-azulada pD: 6.5

Zn(II) fluorescencia amarillo-verdosa pD: 5.0

*Medio NH<sub>3</sub> (pH 8-10).-*

Al(III) fluorescencia amarillo-naranja muy débil

Be(II) precipitado con fluorescencia  
blanco-azulada pD: 4.7

Ga(III) fluorescencia naranja muy débil

Zn(II) fluorescencia naranja muy débil

De los resultados de la Tabla 3.6, se deduce que este compuesto solo presenta reacción con siete de los cationes ensayados.

Son de destacar por su sensibilidad las reacciones con In(III) y Th(IV) en medio neutro, con pD de 6.5.

**REACCIONABILIDAD FLUORESCENTE DE LA SALICILIDEN-ANILINA FRENTE A CATIONES INORGANICOS.**

Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7

*Medio Neutro (pH 6-8).-*

Al(III)	fluorescencia blanco-azulada	muy débil
Be(II)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 6.8
Ga(III)	fluorescencia blanco-azulada	muy débil
Sc(III)	fluorescencia amarillo-verdosa	pD: 5.0
Zn(II)	fluorescencia amarillo-verdosa	muy débil

*Medio NH<sub>3</sub> (pH 8-10).-*

Be(II)	precipitado con fluorescencia blanco-azulada	pD: 4.6
Mg(II)	precipitado con fluorescencia blanco-azulada	pD: 4.3
Zn(II)	fluorescencia blanco-azulada	pD: 5.0

Como se puede observar en la Tabla 3.7, la Saliciden-anilina no presenta reacción fluorescente con ninguno de los cationes ensayados en medios HCl y HAc.

En medio neutro reacciona con cinco de los cationes ensayados, presentando un pD de 6.8 la reacción con Be(II).

**REACCIONABILIDAD FLUORESCENTE DEL BENCLIDEN-O-AMINOFENOL FRENTE  
A CATIONES INORGANICOS.**

Este reactivo no presenta reaccionabilidad fluorescente frente a los cationes indicados anteriormente en ninguno de los medios ensayados.

En la siguiente Tabla 3.8, se resumen, para mayor claridad, los resultados obtenidos en los ensayos de reaccionabilidad cualitativa fluorescente de las azometinas en estudio frente a cationes inorgánicos.

Tabla nº 2.8

Azometina	pH (1-3)	pH (3-6)	pH (6-8)	pH (8-10)
I	Al(7.3) Ga(6.4)	Al(7.3) Ga(6.4)	Al(6.5) Be(5.1) Ga(5.7) In(5.0) Sc(6.0) Zn(4.5)	Be(4.7) Zn(5.0)
II	Ga(6.1)	Ga(6.1) In(7.0)	Al(7.3) Be(5.3) Ga(6.0) Sc(6.1)	Be(4.5)
III	Ga(6.0)	Al(6.8) Ga(6.1)	Al(6.5) Ga(5.5) Sc(5.7) In,Zn	Zn(5.7)
IV	Al	Al(6.7) Ga(6.0)	Al(6.4) Ga(5.7) Zn	---
V	Ga(5.4)	Al(6.4) Ga(6.0)	Al(6.6) Be(5.2) Ga(6.0) In(6.5) Sc(6.0) Th(6.5) Zn(5.0)	Be(4.7) Al,Ga,Zn
VI	---	---	Be(6.8) Sc(5.0) Al,Ga,Zn	Be(4.6) Mg(4.3) Zn(5.0)
VII	---	---	---	---

*Nota.*- La sensibilidad se indica entre paréntesis, como pD, después de cada símbolo.

**OBSERVACIONES DEDUCIBLES DE LOS DATOS QUE ANTECEDEN.**

Podemos observar dos tipos de influencia en los ensayos de reaccionabilidad realizados:

**1.- Influencia del medio operatorio.-**

La observación de las anteriores tablas demuestra la influencia que el medio ejerce sobre la reaccionabilidad cualitativa fluorescente de los reactivos en estudio. Así:

*- Medio Clorhídrico (pH 1-3).-*

Dan reacción positiva cinco de las azometinas ensayadas: 5-ClSOAF, 5-BrSOAF y 5-MeOSOAF reaccionan con Ga(III), 5-OHSOAF reacciona con Al(III) y el SOAF reacciona con ambos cationes.

Las sensibilidades son elevadas presentando un pD igual o superior a 6 las reacciones SOAF-Al(III) (pD = 7.3), SOAF-Ga(III) (pD = 6.4), 5-ClSOAF-Ga(III) (pD = 6.1) y 5-BrSOAF-Ga(III) (pD = 6.0).

*- Medio Acético (pH 3-6).-*

Dan reacción positiva las mismas azometinas que lo hacen en medio clorhídrico. Todas reaccionan con los cationes Al(III) y Ga(III) excepto la 5-ClSOAF que no lo hace con Al(III) y sí con In(III).

Las sensibilidades son asimismo elevadas. El pD en todas ellas es superior a 6.

*- Medio Neutro (pH 6-8).-*

Dan reacción positiva las azometinas que lo hacían en medio acético y además el 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol y la Saliciliden-anilina. En este medio puede apreciarse una disminución de la selectividad de todas las azometinas pues aumenta el número de cationes que originan reacción fluorescente y que no lo hacían en medio ácido. La máxima reaccionabilidad la presentan el SOAF y el 5-MeOSOAF que reaccionan con 7 de los cationes ensayados y la mínima el 5-OHSOAF que solo reacciona con 3.

Las sensibilidades son medias o altas destacando las reacciones del 5-ClSOAF con Al(III) (pD = 7.3), y con Sc(III) (pD = 6.1), del 5-MeOSOAF con In(III) (pD = 6.5), y con Th(IV) (pD = 6.5), y la de la SA con Be(II) (pD = 6.8).

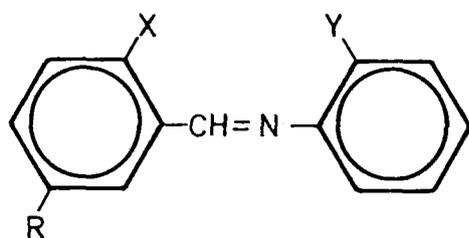
- Medio Amoniacal (pH 8-10).-

Reaccionan en este medio las mismas azometinas que lo hacen en medio neutro, apreciandose un considerable aumento de selectividad. Así el 5-BrSOAF reacciona específicamente con Zn(II) y el 5-ClSOAF con Be(II). El compuesto que mayor reaccionabilidad presenta en este medio es el 5-MeOSOAF que lo hace con Al(III), Ga(III), Be(II) y Zn(II).

En las sensibilidades se observa una notable disminución respecto al medio neutro, ya que el pD de la más sensible que es la reacción 5-BrSOAF-Be(II) solo es de 5.7.

2.- Influencia de los Grupos Funcionales presentes.-

Como se indica en la página las azometinas estudiadas presentan la misma estructura, la de la Benciliden-anilina, diferenciandose en los grupos funcionales que ocupan las posiciones X, Y y R.



Azometina	X	Y	R
SOAF	OH	OH	H
5-ClSOAF	OH	OH	Cl
5-BrSOAF	OH	OH	Br
5-OHSOAF	OH	OH	OH
5-MeOSOAF	OH	OH	OCH <sub>3</sub>
SA	OH	H	H
BOAF	H	OH	H

La presencia de los distintos grupos funcionales seleccionados en la estructura azometínica en estudio, condiciona su reaccionabilidad cualitativa. La observación de la anterior Tabla 3.8 nos permite llegar a las siguientes conclusiones:

1.- La reaccionabilidad de la Saliciliden-anilina (SA) y la ausencia de reaccionabilidad del Benciliden-o-aminofenol (BOAF), nos demuestra que es necesaria la presencia de un grupo OH en la posición X para que estos reactivos actúen como agentes quelantes. Tal hecho se justifica admitiendo que este OH permite la posibilidad de originar quelatos con anillos de seis miembros de suficiente estabilidad. Sin embargo si el mismo OH estuviese en la posición Y los anillos serían de cinco miembros y las probables tensiones originadas no favorecerían su formación. Esta afirmación ha sido corroborada mediante la construcción de modelos moleculares a escala.

2.- Las azometinas que poseen grupos OH en las posiciones X e Y presentan reaccionabilidad similar en los medios clorhídrico y acético. La existencia en estas moléculas de un grupo electronegativo en posición R disminuye la reaccionabilidad en los medios neutro y amoniacal. Este aumento de la selectividad es particularmente acusado en el caso de que R sea un grupo OH, pues solo reacciona con Al(III) y Ga(III) y muy débilmente con Zn(II) en medio neutro, no presentando reaccionabilidad alguna en medio amoniacal.

De todas las reacciones fluorescentes observadas hemos seleccionado para un estudio más detallado, por sus características de sensibilidad, selectividad e interés analítico las siguientes:

- *5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga (III)*
- *5-Clorosaliciliden-o-aminofenol-In (III)*
- *Saliciliden-anilina-Be (II)*
- *Saliciliden-o-aminofenol-Ga (III)*



## CAPITULO IV

ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA  
5-BROMOSALICILIDEN-*o*-AMINOFENOL-Ga (III)



## ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA 5-BROMOSALICILIDEN-o-AMINOFENOL-Ga(III).

### INTRODUCCION.

En el estudio de la reaccionabilidad cualitativa del 5-Bromo-saliciliden-o-aminofenol realizado y cuyos resultados se comentan en la Tabla 3.4, se observa que esta sustancia reacciona con el catión Ga(III) formando un producto -un quelato muy probablemente- que muestra fluorescencia amarillo-anaranjada de elevada sensibilidad ( $pD = 6.1$ ), y que en medio ácido es específica para dicho catión. Estos hechos nos han inducido a realizar el estudio detallado que a continuación se resume.

### EXPERIMENTAL.

#### *Disoluciones empleadas.-*

- Disolución de Ga(III)  $10^{-2}$  M, preparada por pesada directa de la cantidad necesaria de  $Ga(NO_3)_3 \cdot 8H_2O$  MERCK, reactivo para análisis. Esta disolución fue contrastada complexométricamente ( $f = 1.005$ ). Todas las demás disoluciones de Ga(III) fueron preparadas a partir de ésta por dilución.
- Disolución de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M en etanol del 99.5 %.
- Disoluciones reguladoras NaAc/HAc 0.5 M de diferentes valores de pH.

#### *Aparatos utilizados.-*

- Espectrofluorímetro PERKIN-ELMER LS 5, provisto de registrador X-Y HOUSTON mod. OMNIGRAPHIC.
- pH-metro digital CRISON mod. 501, provisto de electrodo combinado INGOLD.
- Termostato BRAUN MELSUNGEN mod. Thermomix 1441.

### *Espectros de Excitación y Emisión.-*

Se han registrado los espectros de excitación y emisión del sistema 5-BrSOAF-Ga(III) en relación molar 1:1 y en concentración  $4 \times 10^{-6}$  M, en disolución hidroalcohólica al 50 % (v/v) a pH\* 6.10, una vez comprobada que a este valor de pH\* el sistema es fluorescente.

Para ello, en un matraz aforado de 50 mL se introdujeron 2 mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, 2 mL de disolución de Ga(III)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 5.00, 5 mL de etanol del 99.5 % y se enrasó con etanol al 50 % (v/v).

Las longitudes de onda de los máximos de excitación y emisión se han obtenido realizando en primer lugar un "pre-scan" secuencial de excitación y emisión, lo que nos permite conocer en una primera aproximación las longitudes de onda de los máximos de excitación y emisión. A continuación se realizaron "pre-scan" de excitación y emisión alternativos hasta conseguir una pareja de valores que se repitiesen un número de veces representativo.

Una vez realizada esta operación orientadora se registraron los correspondientes espectros de fluorescencia del sistema en estudio. Para la obtención del espectro de excitación se utilizó una  $\lambda_{em} = 520$  nm y para la del espectro de emisión una  $\lambda_{exc} = 425$  nm.

En ambos casos se usaron rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm y un factor de sensibilidad de 1.

La Figura nº 4.1 nos muestra los espectros obtenidos. Los espectros de fluorescencia correspondientes al reactivo en idénticas condiciones experimentales no se han registrado dado que éste no presenta una fluorescencia apreciable.

El espectro de excitación presenta un máximo a una longitud de onda de 425 nm, mientras que el espectro de emisión tiene un máximo a una longitud de onda de 520 nm, lo cual representa un desplazamiento de Stokes de  $4298.64 \text{ cm}^{-1}$ .

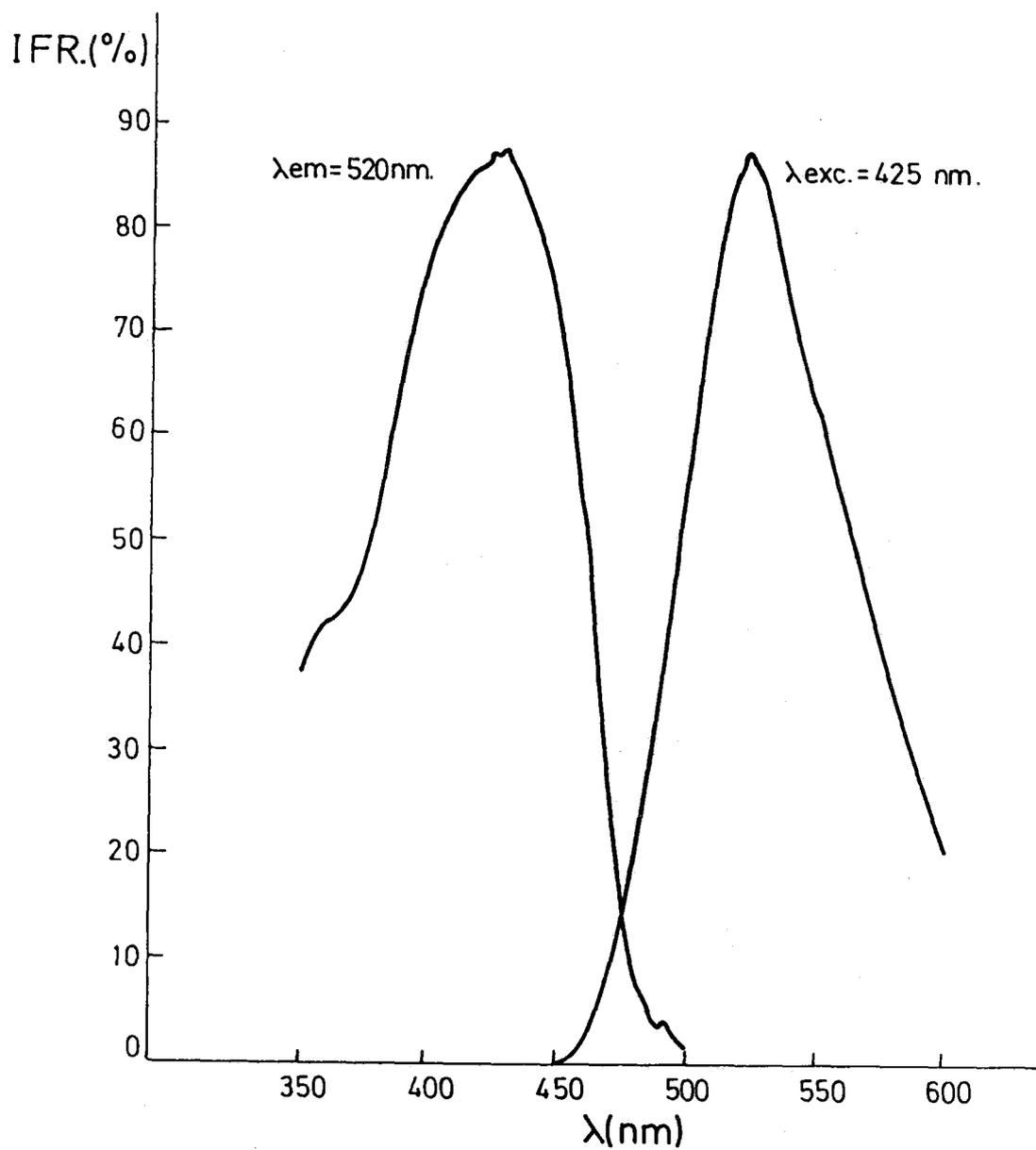


Figura nº 4.1. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III).  
Espectros de excitación y emisión.

*Influencia del pH.-*

Para conocer la influencia que sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio ejerce la acidez del medio y determinar el pH óptimo de fluorescencia del mismo, se preparó una serie de matraces aforados de 50 mL que contenían 1 mL de disolución etanólica  $10^{-3}$  M de 5-BrSOAF, 1 mL de disolución  $10^{-3}$  M de Ga(III), 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de distintos pH, y las cantidades de etanol del 99.5% y agua bidestilada adecuadas para que en todos los casos el porcentaje de etanol fuera del 50 % (v/v).

A continuación se registraron los espectros de excitación y emisión a una temperatura de 20 °C, usando una  $\lambda_{em} = 520$  nm y una  $\lambda_{exc} = 425$  nm, respectivamente, una vez comprobado que el valor de éstas es independiente del pH. Por otra parte las rendijas empleadas fueron de 2.5 nm en todos los casos y el factor de sensibilidad 1.

En la Tabla 4.1 se recogen los datos obtenidos que han sido representados en la Figura nº 4.2.

Tabla 4.1

pH*	IFR(%)
4.46	42.5
4.69	50.5
4.88	57.5
5.00	77.0
5.12	84.0
5.36	84.5
5.60	85.5
5.84	81.5
6.08	63.5
6.31	50.0
6.55	36.0

En la Figura nº 4.2 se puede observar que la intensidad de fluorescencia aumenta progresivamente hasta alcanzar un valor máximo para el intervalo de pH\* comprendido entre 5.10 y 5.80.

A valores superiores de pH\* la intensidad de fluorescencia disminuye.

Para experiencias posteriores se fijó en 5.60 el valor del pH aparente (pH\*) de trabajo, valor de pH\* que se consigue mediante la adición de 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.50.

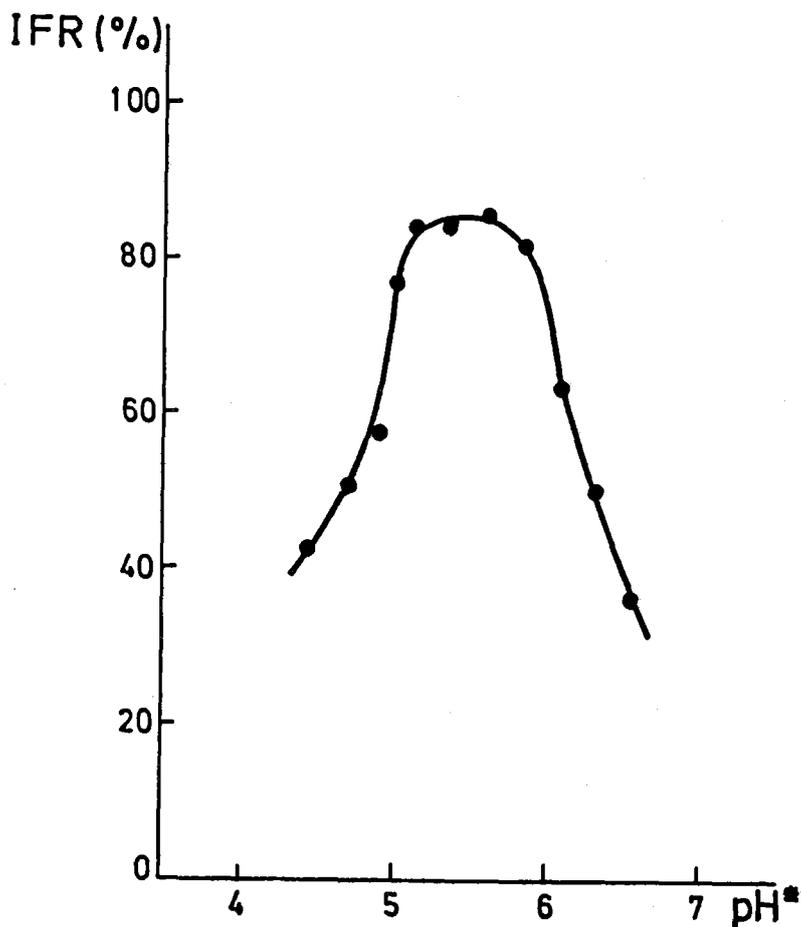


Figura nº 4.2. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III).  
Influencia del pH.

*Estabilidad del sistema 5-BrSOAF-Ga(III).-*

Habiendo observado incidentalmente que la intensidad de fluorescencia del sistema se intensifica con el transcurso del tiempo, creimos conveniente estudiar como afecta el tiempo a ésta antes de pasar a experiencias posteriores.

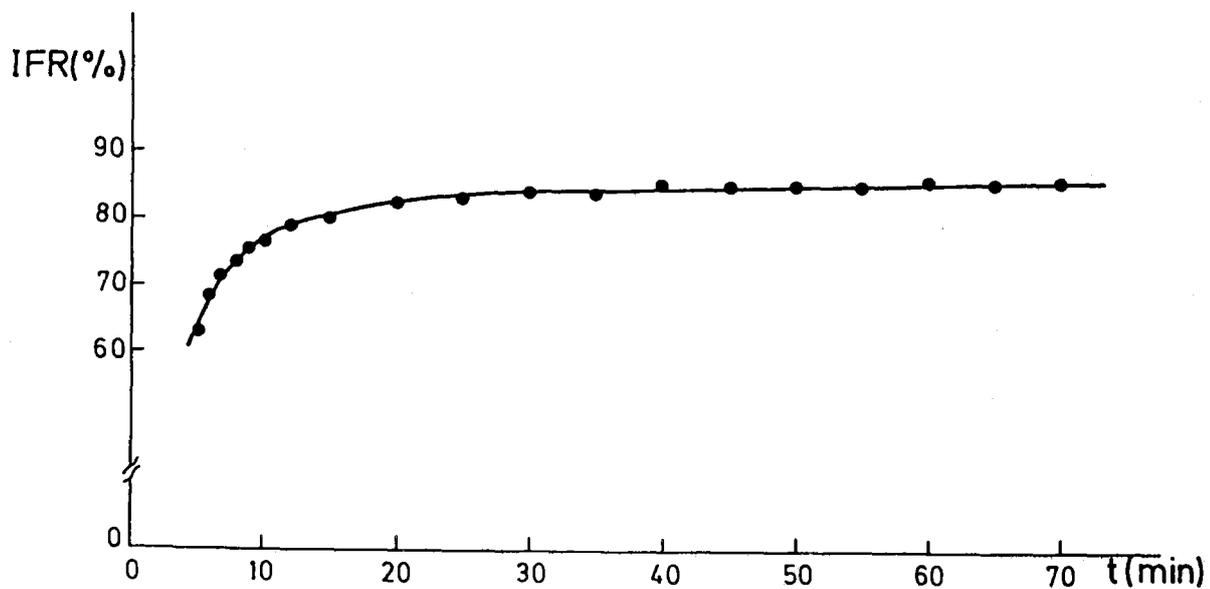
Con tal fin preparamos una disolución que contenía, en un volumen final de 50 mL, 1 mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, 1 mL de disolución de Ga(III)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.50 y las cantidades necesarias de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico del medio fuera del 50 %(v/v).

Se registraron los espectros de emisión del sistema, excitando a una  $\lambda_{exc} = 425$  nm, a intervalos regulares de tiempo, usando rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm y un factor de sensibilidad de 1.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.2 y en la Figura nº 4.3.

Tabla 4.2

Tiempo (min)	IFR(%)	Tiempo (min)	IFR(%)
5	63.2	30	84.1
6	68.1	35	84.4
7	71.3	40	85.0
8	73.5	45	85.1
9	75.6	50	85.2
10	76.4	55	85.4
12	78.5	60	85.5
15	80.6	65	85.5
20	82.5	70	85.7
25	83.4	150	86.4



**Figura 4.3. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III)**  
Influencia del tiempo sobre la intensidad de fluorescencia.

En la anterior Figura nº 4.3, que muestra la variación de la intensidad de fluorescencia a la longitud de onda del máximo de emisión ( $\lambda_{em} = 520 \text{ nm}$ ), puede observarse que durante los primeros 20 minutos ésta aumenta con el tiempo, alcanzándose un valor máximo que permanece estable al menos durante dos horas y media.

Es pues conveniente esperar un tiempo, que hemos fijado en 30 minutos, antes de efectuar las medidas espectrofluorimétricas.

*Influencia del Orden de adición de los reactivos.-*

Al objeto de conocer cuál era el orden de adición óptimo de los reactivos para conseguir que la intensidad de fluorescencia del sistema 5-BrSOAF-Ga(III) fuese máxima, se realizó la siguiente experiencia:

En una serie de 6 matraces aforados de 50 mL se introdujeron 1 mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, 1 mL de disolución de Ga(III)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.50 y cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar el porcentaje etanólico de todas las muestras fuese del 50 % (v/v), cambiando en cada uno de los matraces el orden de adición en la forma que se especifica en la Tabla 4.3

Las condiciones operatorias en todos los casos fueron:  $\lambda_{exc} = 425$  nm,  $\lambda_{em} = 520$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 1 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 4.3 se resumen los resultados obtenidos.

**Tabla 4.3**

Muestra	Orden de adición	IFR(%)
1	5-BrSOAF + Ga(III) + Tampón	85.5
2	5-BrSOAF + Tampón + Ga(III)	42.2
3	Ga(III) + 5-BrSOAF + Tampón	85.8
4	Ga(III) + Tampón + 5-BrSOAF	84.0
5	Tampón + 5-BrSOAF + Ga(III)	47.4
6	Tampón + Ga(III) + 5-BrSOAF	83.1

Como se puede observar en la Tabla 4.3, las muestras en las que la base de Schiff se mezcla con la disolución tampón antes de hacerlo con el Ga(III) (muestras 2 y 5) presentan una intensidad de fluorescencia menor que las restantes.

Esta disminución de la intensidad de fluorescencia puede atribuirse a que el 5-BrSOAF se hidrolice parcialmente a dicho pH\*, por lo que al disminuir la concentración real de base de Schiff, la cantidad de sistema fluorescente formado sería menor.

En los demás casos la variación de la intensidad de fluorescencia no es significativa, por lo que el orden de adición de los reactivos es indiferente. Sin embargo hemos seleccionado para futuras experiencias el correspondiente a la muestra 1, es decir: 5-BrSOAF + Ga(III) + Tampón.

*Influencia de la relación Etanol/Agua del medio.-*

Con objeto de determinar el porcentaje etanólico óptimo en el disolvente, se llevó a cabo una experiencia en la que se midió la intensidad de fluorescencia de disoluciones  $2 \times 10^{-5}$  M en 5-BrSOAF y Ga(III), manteniendo en todos los casos el valor del pH\* en 5.60, mediante la adición de las cantidades necesarias de disoluciones diluidas (0.5 M) de HAc y NaOH y variando las proporciones de agua y etanol.

A continuación se registraron los espectros de excitación y emisión en las siguientes condiciones experimentales:  $\lambda_{exc} = 425$  nm,  $\lambda_{em} = 520$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 1 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 4.4 y en la Figura nº 4.4 se muestran los valores de intensidad de fluorescencia frente al porcentaje etanólico del medio.

Tabla 4.4

% Etanol	IFR(%)
20	52.4
30	66.2
40	74.9
50	85.5
60	91.4
70	92.2
80	91.6

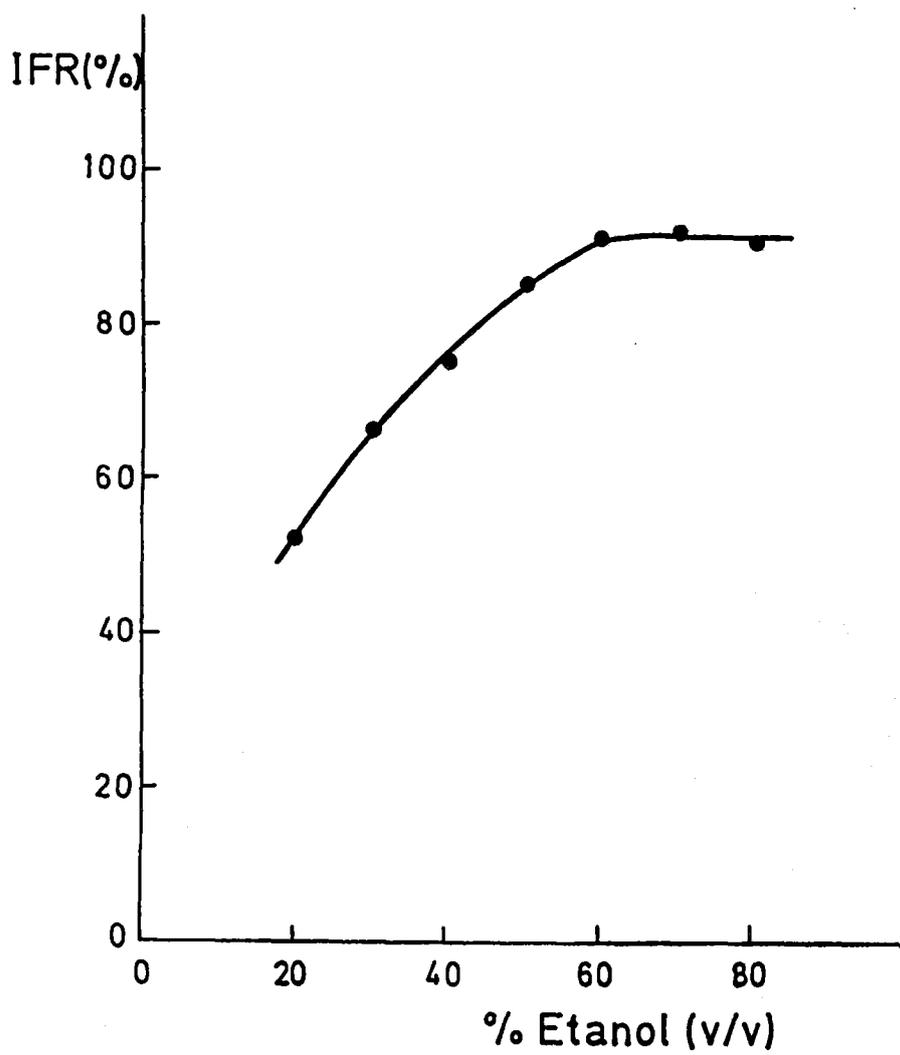


Figura nº 4.4. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III).  
Influencia del porcentaje etanólico del medio.

Como puede apreciarse en la Figura nº 4.4, se observa una clara dependencia de la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio con el porcentaje etanólico del medio, pudiendose destacar los siguientes hechos:

- 1.- Al ir aumentando la cantidad de etanol en el medio tiene lugar un aumento progresivo de la intensidad de fluorescencia, hasta llegar a un porcentaje del 60 % (v/v).
- 2.- Para porcentajes de etanol superiores al 60 % (v/v) no se observa una variación apreciable de la intensidad de fluorescencia.

De estos hechos se deduce la necesidad de controlar el porcentaje etanólico del medio.

Para futuras experiencias lo hemos fijado en el del 60 % (v/v).

Por otra parte, hemos comprobado que la posición de los máximos de excitación y de emisión del sistema no depende del porcentaje etanólico del medio. Este hecho nos sugiere:

- Que no tienen lugar cambios sustanciales en la polaridad de las moléculas del sistema con la excitación (78).
- Que la energía de solvatación de dichas moléculas no difiere apreciablemente de uno a otro disolvente (79).

En el caso en que alguno de estos dos hechos tuviese lugar, se traducirían en cambios en la energía relativa de los estados fundamental y excitado de la molécula del sistema en un disolvente con respecto a otro, es decir, en desplazamientos en los máximos de excitación y/o emisión.

*Influencia del pH. Optimización del pH\* de trabajo para un porcentaje etanólico del 60 % (v/v).-*

Dado que los resultados obtenidos en la experiencia anterior, nos indicaron que se debe trabajar a un porcentaje etanólico del 60 % (v/v), nos propusimos comprobar si el rango de pH\* óptimo establecido con anterioridad se mantenía para este nuevo porcentaje. Para ello, se introdujeron en una serie de matraces aforados de 50 mL 1 mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, 1 mL de disolución de Ga(III)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de diferentes valores de pH y las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para conseguir en todos los casos que al enrasar el porcentaje etanólico de las muestras fuese del 60 % (v/v).

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 425$  nm,  $\lambda_{em} = 520$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 1 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 4.5 se muestran los resultados obtenidos, que han sido representados gráficamente en la Figura nº 4.5.

Tabla 4.5

pH*	IFR(%)
4.56	67.0
4.73	77.2
4.96	91.5
5.14	106.1
5.35	110.2
5.58	100.3
5.80	92.1
6.06	70.3
6.32	52.2
6.53	34.5
6.76	20.4

En la Figura nº 4.5 se puede observar que el rango de pH\* óptimo para este porcentaje de etanol (60 % (v/v)) es más estrecho que en el caso de un porcentaje etanólico del 50 % (v/v), aunque se encuentra comprendido en el intervalo de pH\* óptimo encontrado para este último porcentaje de etanol en el medio.

De acuerdo con los resultados obtenidos se decidió que el pH\* de trabajo fuese el de 5.35, conseguido por la adición de 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00.

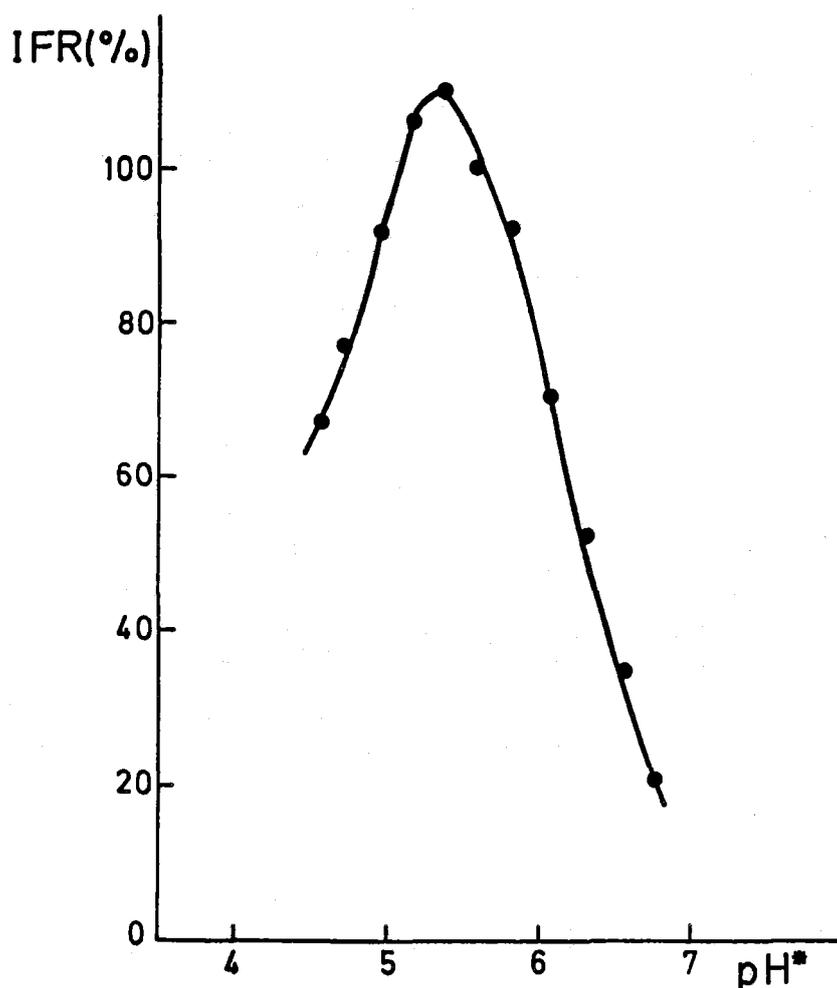


Figura nº 4.5. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III).  
Influencia del pH para un porcentaje etanólico del 60% (v/v)

**Influencia de la Temperatura.-**

Sabido es que la temperatura afecta, en general, notablemente a la intensidad de fluorescencia.

Para comprobar si en nuestro caso existía tal dependencia y de ser así en qué grado, planificamos la siguiente experiencia.

Se preparó una disolución que, en un volumen final de 50 mL, contenía 1 mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, 1 mL de disolución de Ga(III)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00 y las cantidades necesarias de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico del medio fuera del 60 % (v/v).

A continuación se midió la intensidad de fluorescencia de la disolución a diferentes temperaturas, utilizando un termostato, siendo las condiciones operatorias:  $\lambda_{exc} = 425$  nm,  $\lambda_{em} = 520$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm y factor de sensibilidad 0.6.

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.6 y han sido representados gráficamente en la Figura nº 4.6.

**Tabla 4.6**

Temperatura (°C)	IFR(%)
10	65.7
15	66.2
20	65.1
25	64.8
30	60.2
35	52.6
40	41.2
45	30.6
50	19.2
55	13.1
60	9.3

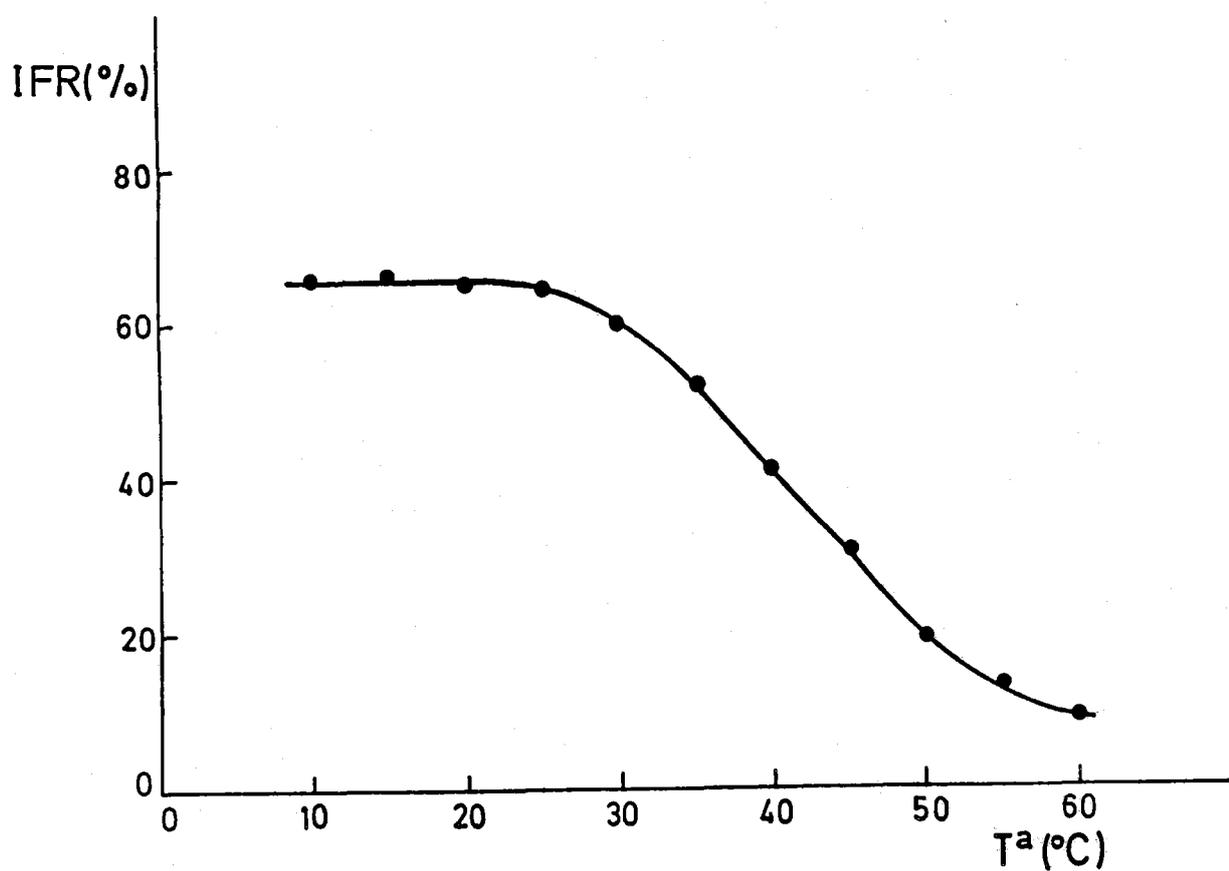


Figura nº 4.6. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III).  
Influencia de la Temperatura.

La Figura nº 4.6 nos muestra que para valores de temperatura inferiores a 25 °C, ésta no influye de manera apreciable sobre la intensidad de fluorescencia. Pero sin embargo, a partir de los 30 °C se produce una notable disminución de la fluorescencia al aumentar la temperatura.

Este comportamiento se puede explicar dependiendo de cuál de los dos principales procesos que compiten en la desactivación no radiativa de las moléculas excitadas del sistema, sea el que predomine.

Así, para temperaturas inferiores a los 25 °C podemos pensar que el principal proceso de desactivación no radiativa sea el cruce entre sistemas ( $S_1 \rightsquigarrow T_1$ ), proceso que es esencialmente independiente de la temperatura, para pasar posteriormente al estado fundamental por desactivación colisional.

Para temperaturas superiores a los 30 °C, donde la temperatura afecta notablemente a la intensidad de fluorescencia, posiblemente sea la conversión interna el proceso que predomine en la desactivación no radiativa de las moléculas excitadas, por ser ésta marcadamente dependiente de la temperatura (80).

Como consecuencia de los datos obtenidos, para posteriores experiencias, se ha optado por termostatar las cubetas de medida a  $20 \pm 0.5$  °C, ya que pequeñas oscilaciones de la temperatura no afectan de manera apreciable a la intensidad de fluorescencia y porque esta temperatura es fácil de controlar dado que es del orden de la ambiental.

*Influencia de la concentración del 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol.-*

La influencia de la concentración del reactivo (5-BrSOAF) sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio, se ha establecido siguiendo dos métodos operatorios:

1.- A concentración de Ga(III) constante.

Para ello se preparó una serie de matraces de 50 mL que contenían 1 mL de disolución de Ga(III)  $5 \times 10^{-6}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00, cantidades crecientes de disolución etanólica de reactivo  $2 \times 10^{-3}$  M y cantidades adecuadas de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para conseguir que al enrasar los matraces el porcentaje etanólico en todos ellos fuese del 60 % (v/v).

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 425$  nm,  $\lambda_{em} = 520$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 5 nm, factor de sensibilidad 1 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.7 y se han representado gráficamente en la Figura nº 4.7.

Tabla 4.7

[5-BrSOAF]	IFR(%)
$1.0 \times 10^{-5}$	13.5
$2.0 \times 10^{-5}$	24.2
$3.0 \times 10^{-5}$	33.1
$4.0 \times 10^{-5}$	41.9
$8.0 \times 10^{-5}$	57.8
$1.2 \times 10^{-4}$	63.3
$1.6 \times 10^{-4}$	68.1
$2.0 \times 10^{-4}$	72.2
$2.4 \times 10^{-4}$	77.1
$2.8 \times 10^{-4}$	81.0
$3.2 \times 10^{-4}$	75.1
$3.6 \times 10^{-4}$	63.8

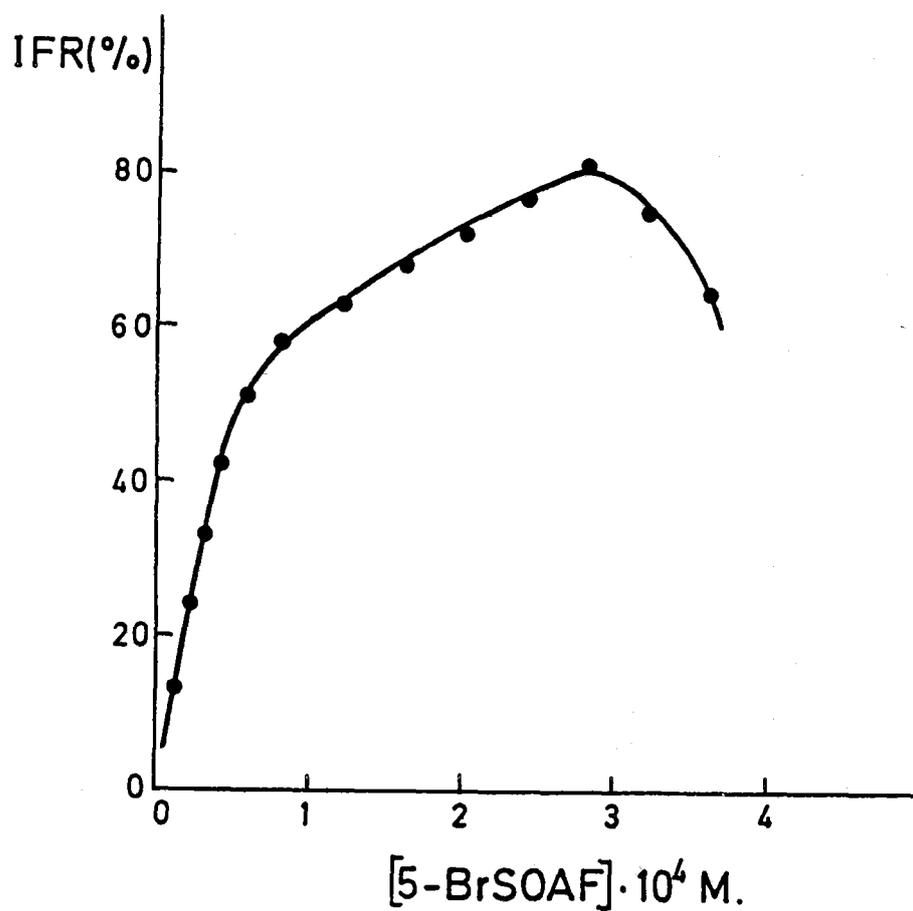


Figura nº 4.7. 5-Bromosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol - Ga(III).  
Influencia de la concentración de 5-Bromosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol.

En la Figura nº 4.7 puede observarse una marcada dependencia entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de reactivo, pudiéndose establecer:

1.- Una primera zona, hasta una concentración de reactivo de  $4 \times 10^{-5}$  M, en la que al aumentar la concentración de reactivo se produce un aumento lineal de la intensidad de fluorescencia.

2.- Una segunda zona, comprendida entre  $1.2 \times 10^{-4}$  M y  $3.2 \times 10^{-4}$  M, donde la variación de la intensidad de fluorescencia varía también de forma lineal con la concentración de reactivo, pero con una pendiente menor.

3.- Por encima de una concentración de reactivo de  $3.2 \times 10^{-4}$  M, aparece el fenómeno de "inversión de fluorescencia" probablemente como consecuencia de la absorción de la luz de excitación por las moléculas del reactivo. Esto puede deberse a que el 5-BrSOAF presenta un máximo de excitación a 425 nm, aunque de intensidad muy pequeña en comparación con la que presenta la banda de excitación del sistema, hecho que se ha comentado en el apartado correspondiente a los espectros de excitación y emisión. La baja concentración de Ga(III) usada en esta experiencia,  $10^{-6}$  M, apoya la hipótesis de que la atenuación de la fluorescencia se deba a las moléculas de ligando libre y no a las del sistema 5-BrSOAF-Ga(III), ya que una concentración de éste tan baja sería insuficiente para producir una alteración apreciable de la intensidad de fluorescencia como consecuencia de la reabsorción de la fluorescencia por las propias moléculas del fluorógeno.

La existencia de dos tramos lineales bien diferenciados nos hace pensar en la posibilidad de existencia de dos complejos fluorescentes de distinta estequiometría, hecho que se tratará de corroborar cuando se aborde el estudio de la estequiometría de los posibles complejos fluorescentes.

2.- A concentración de Ga(III) creciente.

Para su establecimiento se prepararon tres series de 5 matraces conteniendo cada una de ellas la misma cantidad de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-5}$  M (1, 2 y 3 mL, respectivamente) y cantidades crecientes de disolución de Ga(III) de 500 ppb (0.5 - 2.5 mL), 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00 y las cantidades adecuadas de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para obtener un porcentaje etanólico del 60% (v/v).

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 425$  nm,  $\lambda_{em} = 520$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 10 nm, factor de sensibilidad 0.6 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.8 y se han representado gráficamente en la Figura nº 4.8.

Tabla 4.8

$$[5\text{-BrSOAF}] = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$$

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	19.6	29.9	40.0	48.0	58.0

$$\text{IFR} = 1.91 [\text{Ga(III)}] + 10.5 \quad r^2 = 0.997$$

$$[5\text{-BrSOAF}] = 4 \times 10^{-5} \text{ M}$$

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	34.1	45.5	54.3	64.0	75.0

$$\text{IFR} = 2.03 [\text{Ga(III)}] + 24.0 \quad r^2 = 0.999$$

[5-BrSOAF] =  $6 \times 10^{-6}$  M

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	39.0	48.6	57.6	68.0	76.8

$$\text{IFR} = 1.90 [\text{Ga(III)}] + 29.5$$

$$r^2 = 0.999$$

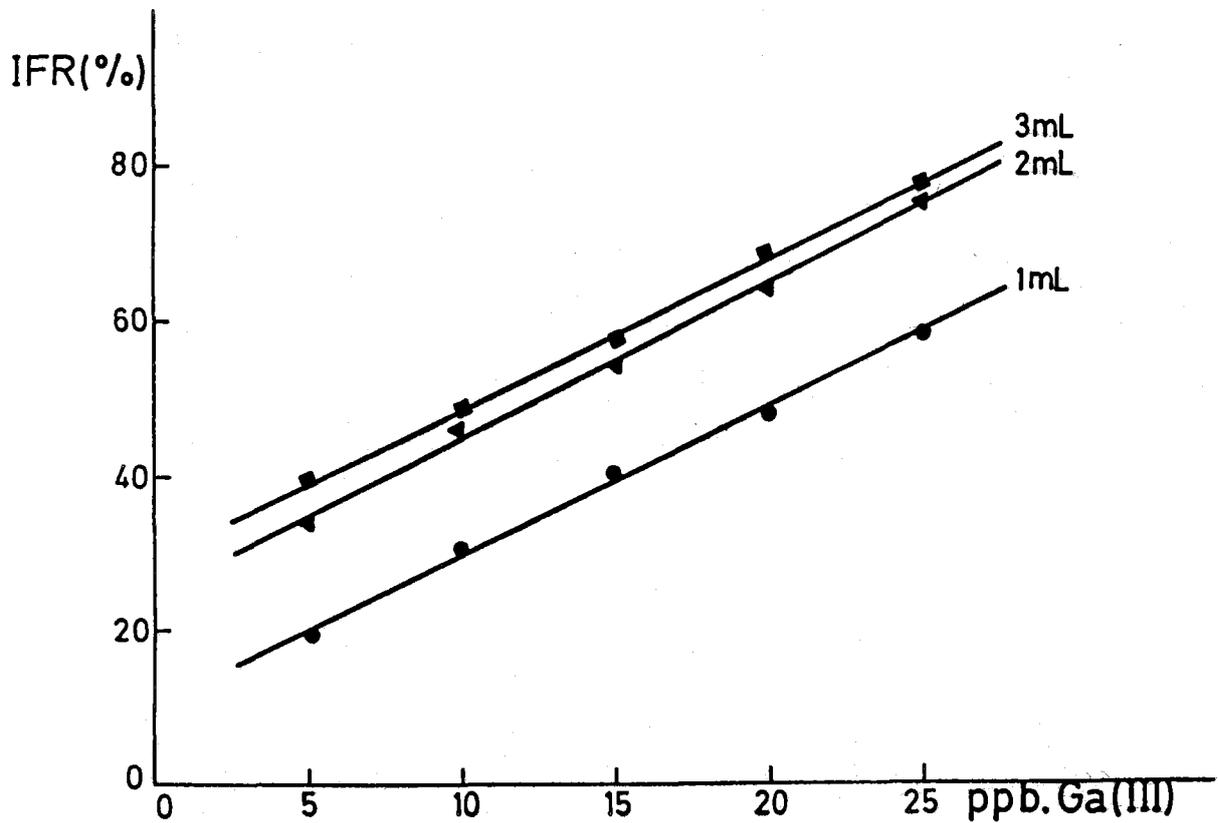


Figura nº 4.8. 5-Bromosaliciliden-*o*-aminofenol-Ga(III)  
Influencia de la concentración del reactivo a concentraciones  
de Ga(III) crecientes.

La observación de las anteriores Tabla 4.8 y Figura nº 4.8 nos demuestra que existe una relación lineal entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de Ga(III) para las tres concentraciones de 5-BrSOAF ensayadas.

Las pendientes son muy similares, alcanzándose un valor máximo de 2.03 cuando se emplea una concentración de 5-BrSOAF de  $4 \times 10^{-5}$  M.

Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en la experiencia anterior, pues se eligieron deliberadamente tres concentraciones de reactivo dentro del intervalo que corresponde a la primera zona de influencia allí definida (la de mayor pendiente) permitiéndonos aquí una mayor precisión en la elección del exceso de reactivo.

**Rectas de Calibrado.-**

Teniendo en cuenta los resultados aportados por las experiencias previas de optimización se ha establecido la recta de calibrado en el rango de concentraciones de Ga(III) comprendido entre 5 y 25 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), para el cual la intensidad de fluorescencia del complejo en estudio es una función lineal de la concentración del catión metálico.

Se preparó a tal fin una serie de matraces aforados de 50 mL en los que se introdujeron 2 mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-9}$  M, de 0.5 a 2.5 mL de disolución de Ga(III) de 500 ppb, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00 y las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar los matraces el porcentaje etanólico en todas las muestras fuera del 60 % (v/v).

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc}$  = 425 nm,  $\lambda_{em}$  = 520 nm, rendija de excitación 2.5 nm, rendija de emisión de 5 nm, factor de sensibilidad 4 y temperatura 20 °C.

La experiencia se repitió ocho veces, al objeto de obtener las correspondientes rectas de calibrado que nos aportasen los datos suficientes para poder determinar con posterioridad el límite de detección, reproducibilidad y sensibilidad del método.

Los datos obtenidos se muestran en la Tabla 4.9.

Tabla 4.9

Recta nº 1.

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	29.6	44.0	58.6	72.2	88.4

$$\text{IFR} = 2.92 [\text{Ga(III)}] + 14.8$$

$$r^2 = 0.999$$

Recta nº 2.

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	28.8	43.6	57.6	71.6	88.0

$$\text{IFR} = 2.93 [\text{Ga(III)}] + 14.0 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 3.

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	28.8	43.2	57.5	71.2	87.6

$$\text{IFR} = 2.91 [\text{Ga(III)}] + 14.0 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 4.

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	28.6	42.3	56.4	69.8	86.8

$$\text{IFR} = 2.88 [\text{Ga(III)}] + 13.6 \quad r^2 = 0.998$$

Recta nº 5.

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	29.6	44.0	58.6	72.2	88.4

$$\text{IFR} = 2.92 [\text{Ga(III)}] + 14.8 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 6.

---

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	28.7	41.2	57.2	69.6	86.1

---

$$\text{IFR} = 2.86 [\text{Ga(III)}] + 13.6 \quad r^2 = 0.998$$

Recta nº 7.

---

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	29.2	41.6	57.3	70.0	86.0

---

$$\text{IFR} = 2.84 [\text{Ga(III)}] + 14.2 \quad r^2 = 0.998$$

Recta nº 8.

---

ppb Ga(III)	5	10	15	20	25
IFR (%)	29.4	44.0	58.2	72.4	88.2

---

$$\text{IFR} = 2.92 [\text{Ga(III)}] + 14.6 \quad r^2 = 0.999$$

En la Figura nº 4.9 se han representado los datos correspondientes a la recta de calibrado nº 1.

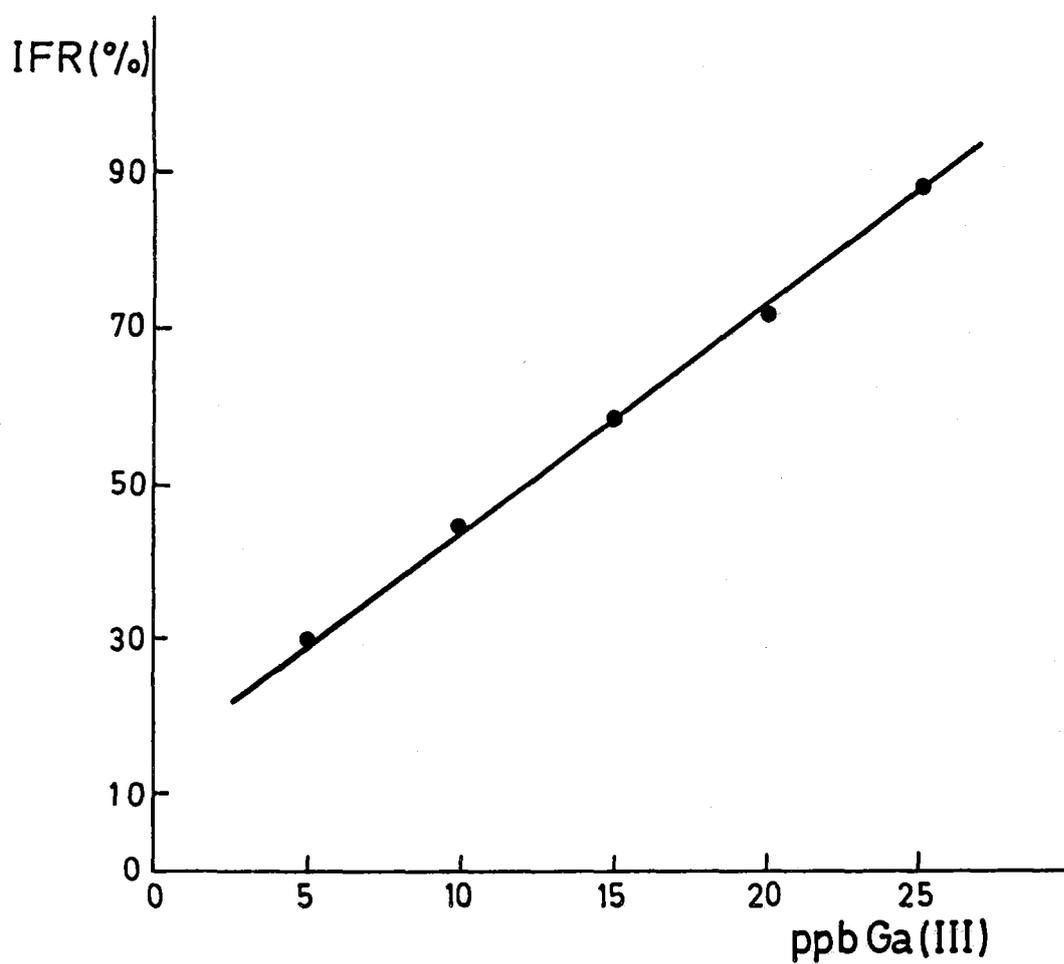


Figura nº 4.9. 5-Bromosaliciliden-*o*-aminofenol-Ga(III).  
Recta de calibrado.

**Determinación de Ga(III).-**

La optimización de las variables que influyen sobre la intensidad de fluorescencia del sistema 5-BrSOAF-Ga(III), realizada anteriormente, nos ha permitido proponer el siguiente procedimiento operatorio para la determinación de este catión.

**Procedimiento operatorio.-**

**Recta de calibrado.-** La recta de calibrado se obtiene preparando 5 disoluciones con una concentración de Ga(III) de 5, 10, 15, 20 y 25 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), para lo cual en matraces aforados de 50 mL se pipetea 2 mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, se añaden 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 y 2.5 mL de disolución de Ga(III) de 500 ppb, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00 y las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar el porcentaje etanólico sea en todos los casos del 60 % (v/v). Transcurridos 30 minutos se mide su intensidad de fluorescencia.

La intensidad de fluorescencia se mide a una  $\lambda_{em} = 520$  nm, siendo la  $\lambda_{exc} = 425$  nm.

**Disolución problema.-** La disolución problema se prepara introduciendo en un matraz aforado de 50 mL 2 mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, el volumen necesario de disolución problema original como para que la concentración final de Ga(III) esté comprendida entre 5 y 25 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00 y las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico de la disolución sea del 60 % (v/v).

Se dejan transcurrir 30 minutos y se mide su intensidad de fluorescencia en las mismas condiciones operatorias empleadas en la recta de calibrado.

**Reproducibilidad del método.-**

A partir de los datos obtenidos en el establecimiento de las rectas de calibrado, estudio anteriormente realizado, hemos seleccionado los correspondientes a un contenido de Ga(III) de 5, 15 y 25 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ).

Los resultados correspondientes a cada una de las tres series se encuentran recogidos en la Tabla 4.10.

**Tabla 4.10**

IFR(%) (5 ppb)	IFR(%) (15 ppb)	IFR(%) (25 ppb)
29.6	58.6	88.4
28.8	57.6	88.0
28.8	57.5	87.6
28.6	56.4	86.8
28.9	57.7	86.9
28.7	57.2	86.1
29.2	57.3	86.0
29.4	58.2	88.2

El cálculo estadístico efectuado con la primera serie de medidas, correspondiente a un contenido en Ga(III) de 5 ppb, nos da un valor para  $\sigma_{n-1} = 0.4$ .

Este valor para  $\sigma_{n-1}$  indica, con una probabilidad del 68 %, que una medida de intensidad de fluorescencia se encuentra comprendida en el intervalo  $\overline{\text{IFR}} \pm \sigma_{n-1}$ , es decir, entre 29.4 y 28.6.

Por consiguiente el error relativo sobre el valor medio será:

$$\text{Er} = (\sigma_{n-1} / \overline{\text{IFR}}) \times 100 = 1.38 \%$$

Si el análisis es efectuado sobre un número "n" de muestras el Er correspondiente decrece en  $\sqrt{n}$ .

En la Tabla 4.11 se resumen los resultados obtenidos en el cálculo estadístico realizado sobre las tres series.

Tabla 4.11

ppb Ga(III) puestas.	$\overline{\text{IFR}}(\%)$	$\sigma_{n-1}$	Er(%)
5	29.0	0.4	1.38
15	57.6	0.7	1.22
25	87.3	0.9	1.03

**Sensibilidad del método.-**

La sensibilidad de un procedimiento analítico se define como la derivada de la magnitud analítica dependiente de la concentración de analito, respecto de dicha concentración.

El valor de la sensibilidad, así definida, coincide con el de la pendiente de la curva de calibrado.

Utilizando los datos suministrados por la anterior experiencia, encaminada a establecer la relación entre la intensidad de fluorescencia del complejo en estudio y la concentración de Ga(III) (rectas de calibrado), hemos realizado el cálculo de la sensibilidad del nuevo método propuesto para la determinación de Ga(III).

Las condiciones operatorias son las descritas en el apartado correspondiente al estudio del establecimiento de las rectas de calibrado.

En la Tabla 4.12 se recogen los valores obtenidos, así como su tratamiento estadístico.

**Tabla 4.12**

R. calibrado	s
1	2.92
2	2.93
3	2.91
4	2.88
5	2.86
6	2.86
7	2.84
8	2.92

$\bar{s} = 2.89$   
 $\sigma_{n-1} = 0.03$

El valor de  $\sigma_{n-1}$  nos indica, con una probabilidad del 68 %, que una determinación aislada de la sensibilidad se encuentra comprendida en el intervalo  $\bar{S} \pm \sigma_{n-1}$ , es decir, entre 2.92 y 2.86 unidades relativas de intensidad de fluorescencia por ppb de Ga(III).

Por consiguiente el error relativo sobre el valor medio será:

$$Er = (\sigma_{n-1} / \bar{S}) \times 100 = 1.04 \%$$

*Límite de detección.-*

El concepto de límite de detección, basado en el tratamiento estadístico del análisis del blanco o disolución de referencia, fue adoptado por la I.U.P.A.C. en 1975 (81) y por el A.C.S. (Subcommittee on Environmental Analytical Chemistry) en 1980 (82).

El límite de detección de un procedimiento analítico se puede definir como la menor concentración " $C_L$ " o cantidad "q" que puede ser detectada en una disolución problema con una seguridad razonable.

El cálculo del límite de detección se realiza a través de la expresión:

$$C_L = (K \sigma_B) / m$$

donde:

$m$  es la sensibilidad analítica o pendiente de la recta de calibrado.

$\sigma_B$  es la desviación estandar calculada a partir de las medidas de la magnitud analítica de al menos siete disoluciones de referencia preparadas siguiendo el procedimiento analítico.

$K$  es un coeficiente que da la probabilidad de que una medida de la magnitud analítica  $X > X_B + \sigma_B$ , sea debida a la presencia de analito en una disolución problema y no a fluctuaciones del blanco. Un valor de  $K = 3$  corresponde a una certeza del 99.86 % (83).

En nuestro caso, en vez de trabajar sobre las medidas de la intensidad de fluorescencia de las disoluciones de referencia, el cálculo estadístico se realizó sobre las intensidades de fluorescencia correspondientes a las ordenadas en el origen de las rectas de calibrado, obtenidas anteriormente.

Este hecho se debe a que la intensidad de fluorescencia que presentan las disoluciones de referencia (blancos) es ligeramente menor que los valores de intensidad de fluorescencia correspondientes a las ordenadas en el origen de las rectas de calibrado.

Es evidente que la adopción de este criterio pesimista nos conduce a valores del límite de detección menos sugerentes, pero a nuestro juicio más próximos a la realidad.

Los resultados obtenidos, así como su tratamiento estadístico, se muestran en la Tabla 4.13.

Tabla 4.13

R. calibrado	(IFR) <sub>∞</sub>
1	14.8
2	14.0
3	14.0
4	13.6
5	14.2
6	13.6
7	14.2
8	14.6

-----

(IFR)<sub>∞</sub> = 14.1  
σ<sub>n-1</sub> = 0.4

Luego el límite de detección será:

$$C_L = (K \sigma_{n-1}) / \bar{x} = (3 \times 0.4) / 2.89 = 0.4 \text{ ppb.}$$

Si la intensidad de fluorescencia de una disolución problema es  $IFR > 14.1 + (3 \times 0.4) = 15.3$ , podemos afirmar con una certeza del 99.86 % que el Ga(III) está presente en la disolución.

**Interferencias.-**

Se ha estudiado la influencia que la presencia de iones extraños ejerce en la determinación de Ga(III) por el procedimiento operatorio propuesto.

Para ello, se preparó una serie de matraces para cada ión extraño ensayado, que contenían siempre 15 ppb de Ga(III) y concentraciones crecientes de aquel. Estas disoluciones fueron tratadas en la misma forma operatoria que se indica en el procedimiento propuesto, página 270.

De la medida de la intensidad de fluorescencia de cada disolución y con la ayuda de la recta de calibrado se determinó en cada caso el error relativo de aquella.

Hemos aceptado como límite de tolerancia para el ión extraño, la concentración de éste que origina un error relativo del 5%. No interfiriendo por tanto aquellas concentraciones de ión extraño que producían un error relativo igual o inferior a ese valor.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.14 y Figuras nº 4.10-4.14.

**Tabla 4.14**

Ión	C (ppb)	$C_{Ga(III)}$ (ppb)	$\log (C/C_{Ga(III)})$	Er (%)
Be(II)	1.5	15	-1	+ 1.1
	15	15	0	+ 4.1
	150	15	1	+ 9.7
	1500	15	2	+ 106.5
Mg(II)	150	15	1	0.0
	1500	15	2	- 1.2
	15000	15	3	- 3.5

Ión	C (ppb)	C <sub>Ca(III)</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Ca(III)</sub> )	Er(%)
Ca(II)	150	15	1	0.0
	1500	15	2	- 0.5
	15000	15	3	- 1.7
Sr(II)	15	15	0	0.0
	150	15	1	- 0.2
	1500	15	2	- 2.0
	15000	15	3	- 12.1
Ba(II)	150	15	1	0.0
	1500	15	2	- 0.6
	15000	15	3	- 1.1
Zn(II)	15	15	0	0.0
	150	15	1	- 0.2
	1500	15	2	- 0.7
	15000	15	3	- 5.2
Co(II)	15	15	0	0.0
	150	15	1	- 0.2
	1500	15	2	- 0.9
	15000	15	3	- 2.2
Ni(II)	150	15	1	0.0
	1500	15	2	- 1.2
	15000	15	3	- 3.5
Cu(II)	0.75	15	- 1.3	- 3.0
	1.5	15	- 1	- 5.2
	15	15	0	- 7.5
	150	15	1	- 20.6
	1500	15	2	- 54.0

Ión	C (ppb)	C <sub>Ca(III)</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Ca(III)</sub> )	Er (%)
Cd(II)	15000	15	3	0.0
Pb(II)	1.5	15	- 1	0.0
	15	15	0	- 0.2
	150	15	1	- 0.6
	1500	15	2	- 3.7
	15000	15	3	- 7.3
Mn(II)	1500	15	2	0.0
	15000	15	3	- 1.2
Fe(III)	1.5	15	- 1	0.0
	15	15	0	+ 2.1
	150	15	1	+ 8.7
	1500	15	2	+ 40.1
Cr(III)	150	15	1	0.0
	1500	15	2	- 3.1
	15000	15	3	- 46.3
Al(III)	0.75	15	- 1.3	+ 3.0
	1.5	15	- 1	+ 5.8
	2	15	- 0.88	+ 16.2
	3	15	- 0.69	+ 24.5
Y(III)	1.5	15	- 1	0.0
	15	15	0	- 0.2
	150	15	1	- 0.6
	1500	15	2	- 1.1
	15000	15	3	- 2.2

Ión	C (ppb)	C <sub>Ga(III)</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Ga(III)</sub> )	Er (%)
Tl(III)	15	15	0	0.0
	150	15	1	+ 5.3
	1500	15	2	+ 12.9
In(III)	1.5	15	- 1	0.0
	15	15	0	+ 3.2
	150	15	1	+ 10.0
	1500	15	2	+ 24.4
Bi(III)	15	15	0	0.0
	150	15	1	+ 0.3
	1500	15	2	+ 2.5
	15000	15	3	+ 12.5
Zr(IV)	1.5	15	- 1	0.0
	15	15	0	+ 0.5
	150	15	1	+ 3.6
	1500	15	2	+ 16.3
Ce(IV)	1.5	15	- 1	0.0
	15	15	0	+ 0.5
	150	15	1	+ 3.7
	1500	15	2	+ 17.3
V(V)	0.75	15	- 1.3	- 4.0
	1.5	15	- 1	- 5.8
	15	15	0	- 9.1
	150	15	1	- 20.3
	1500	15	2	- 49.5
As(V)	150	15	1	0.0
	1500	15	2	- 0.7
	15000	15	3	- 5.5

Ión	C (ppb)	C <sub>Ca(III)</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Ca(III)</sub> )	Er (%)
Cr(VI)	1.5	15	- 1	- 0.2
	15	15	0	- 1.2
	150	15	1	- 2.7
	1500	15	2	- 9.0
	15000	15	3	- 31.4
W(VI)	15	15	0	0.0
	150	15	1	- 0.2
	1500	15	2	- 1.1
	15000	15	3	- 12.8
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	1500	15	2	0.0
	15000	15	3	+ 4.4
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	15000	15	3	0.0
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	150	15	1	0.0
	1500	15	2	+ 1.2
	15000	15	3	+ 3.6
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1500	15	2	0.0
	15000	15	3	+ 5.3
F <sup>-</sup>	15	15	0	0.0
	150	15	1	- 4.9
	1500	15	2	- 24.0
	15000	15	3	- 28.2
Cl <sup>-</sup>	150	15	1	0.0
	1500	15	2	- 3.2
	15000	15	3	- 6.3

Ión	C (ppb)	C <sub>Ca(III)</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Ca(III)</sub> )	Er (%)
AEDT	1.5	15	- 1	0.0
	15	15	0	- 5.4
	150	15	1	- 44.0
	1500	15	2	- 70.0

En la Tabla 4.15 se resumen los datos de tolerancia, para los distintos iones extraños, obtenidos a partir de las Figuras nº 4.10-4.14 con el criterio adoptado

Tabla 4.15

Ión extraño	Tolerancia (ppb)	Ión extraño	Tolerancia (ppb)
Be(II)	27	Tl(III)	134
Mg(II)	> 15000	In(III)	34
Ca(II)	> 15000	Bi(III)	3360
Sr(II)	5320	Zr(IV)	212
Ba(II)	> 15000	Ce(IV)	1680
Zn(II)	13400	V(V)	1.3
Co(II)	> 15000	As(V)	13400
Ni(II)	> 15000	Cr(VI)	420
Cu(II)	1.3	W(VI)	4250
Cd(II)	> 15000	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	> 15000
Pb(II)	3360	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	> 15000
Mn(II)	> 15000	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	> 15000
Fe(III)	48	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	14200
Cr(III)	1890	F <sup>-</sup>	170
Al(III)	1.0	Cl <sup>-</sup>	6700
Y(III)	> 15000	AEDT	11

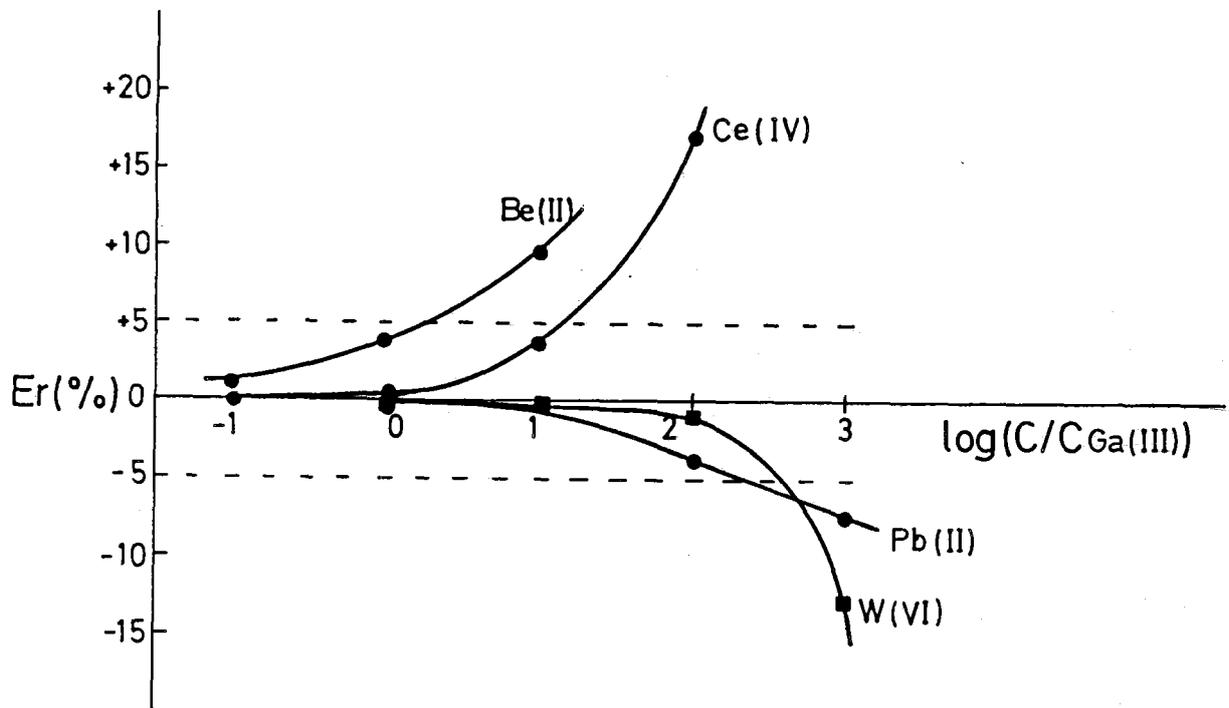


Figura nº 4.12. 5-Bromosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol-Ga(III)  
Interferencias.

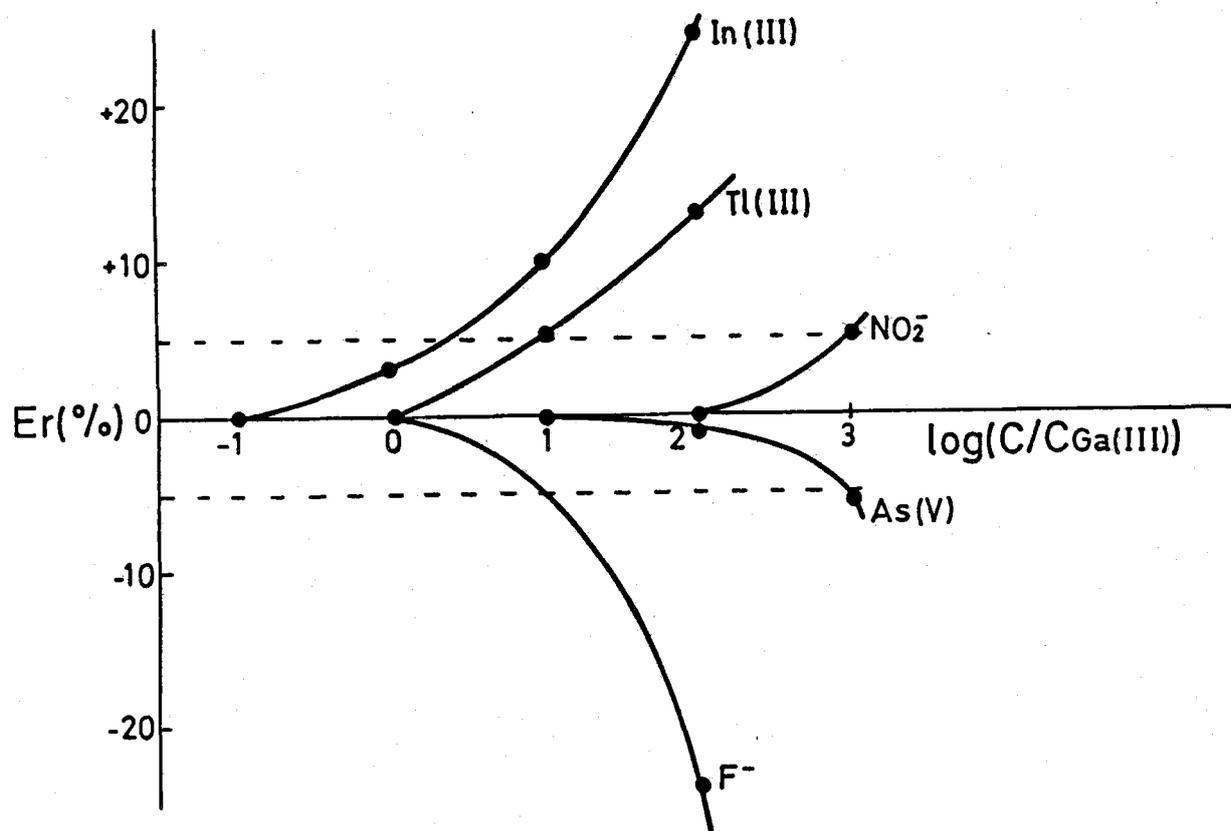


Figura nº 4.11. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III)  
Interferencias.

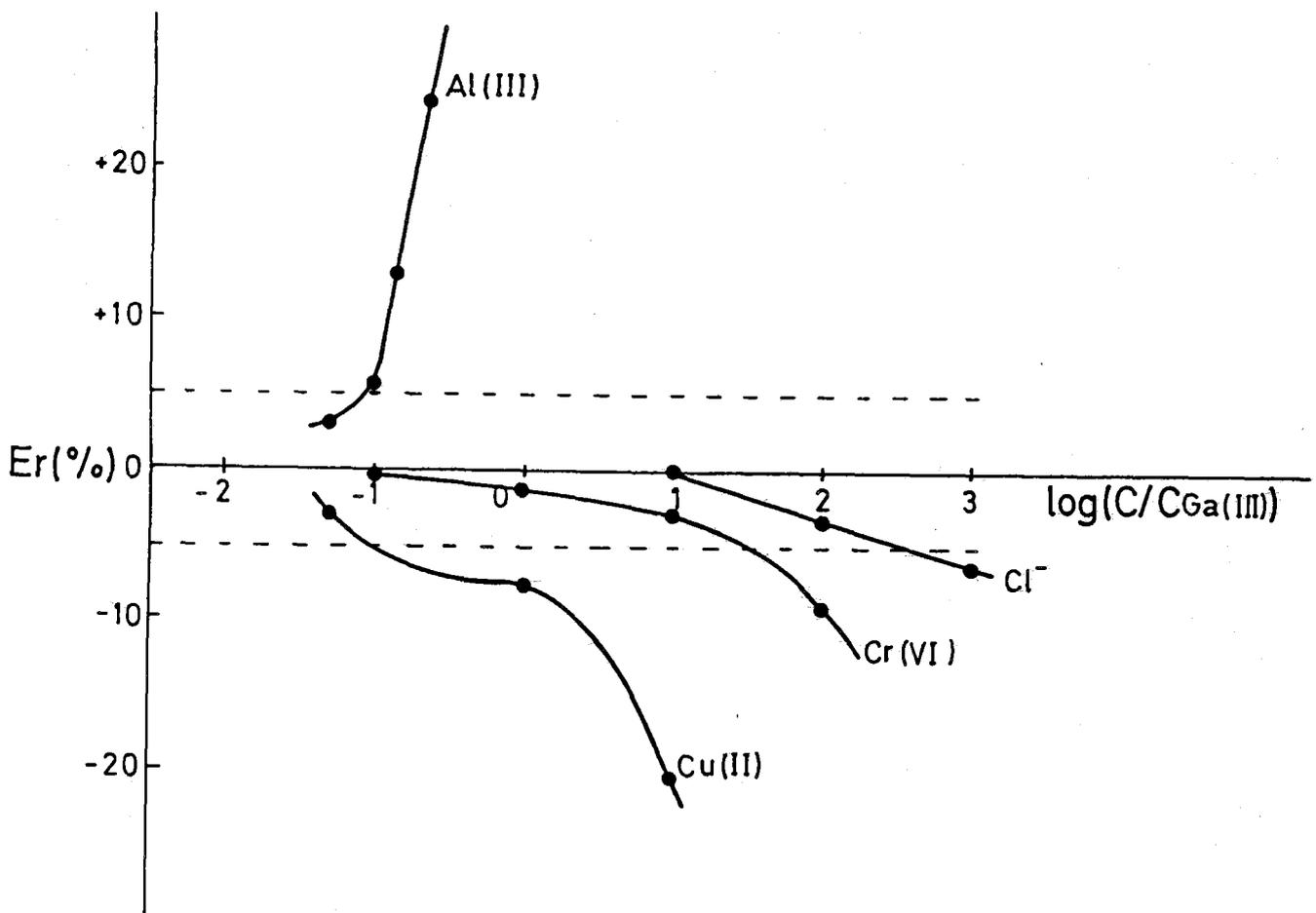


Figura nº 4.10. 5-Bromosaliciliden- $\alpha$ -aminofenol-Ga(III)  
Interferencias.

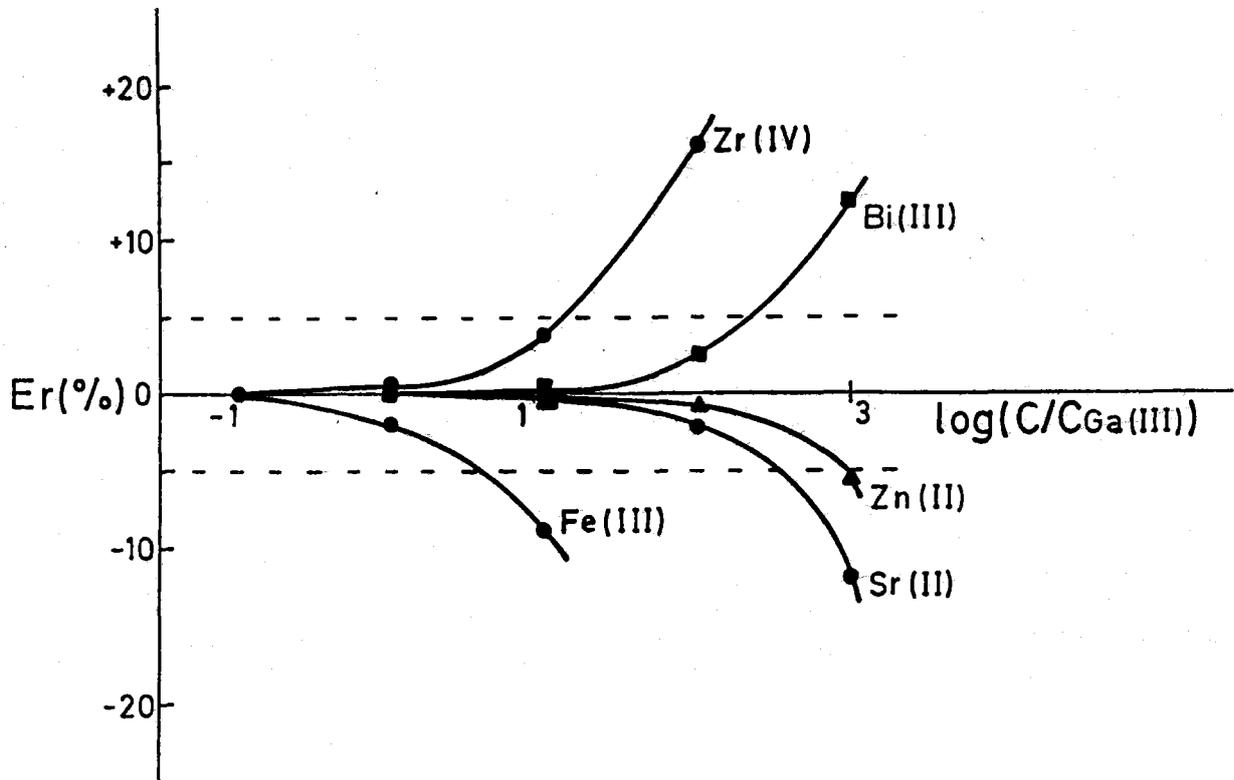


Figura 4.13. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III)  
Interferencias.

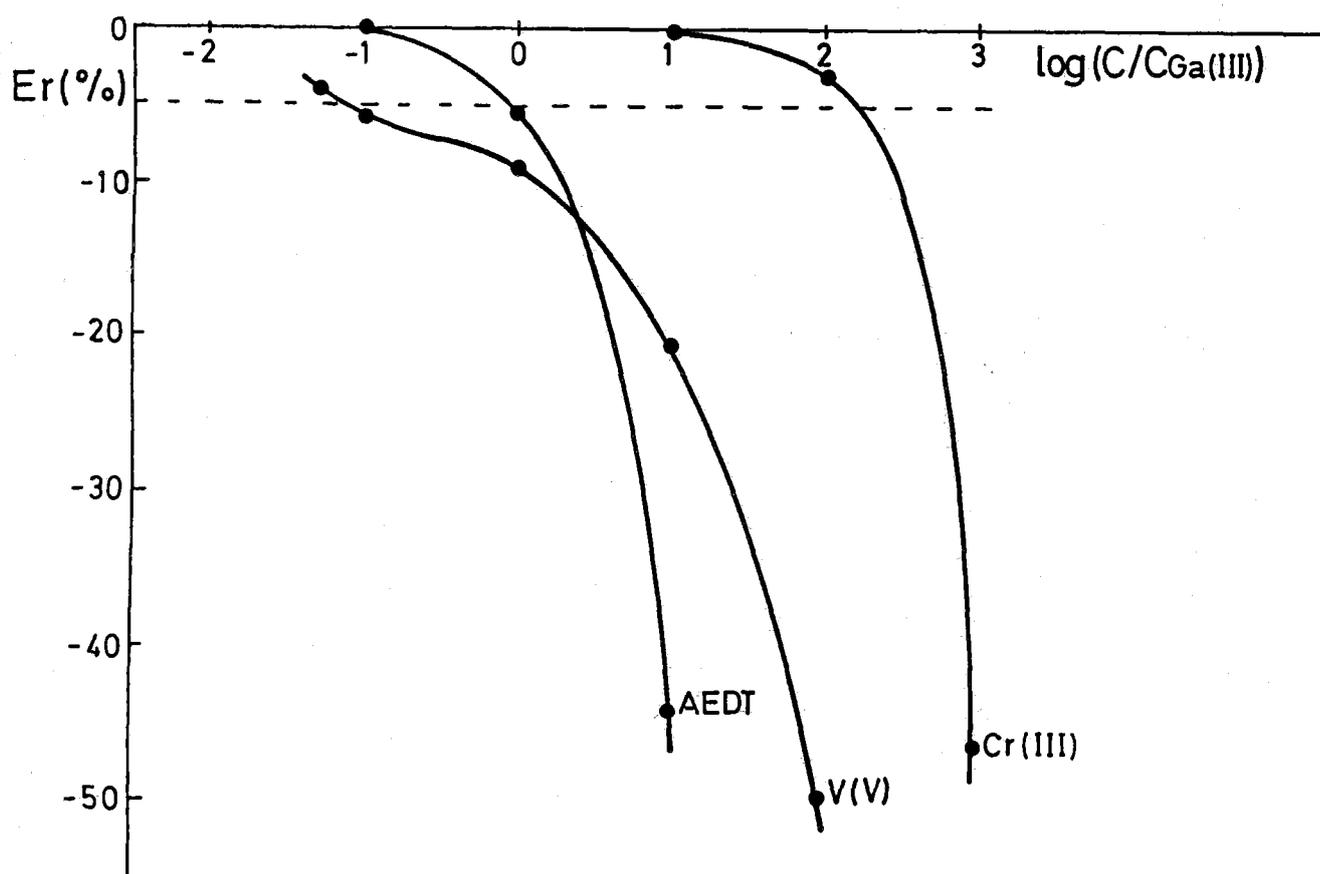


Figura nº 4.14. 5-Bromosaliciliden-*o*-aminofenol-Ga(III)  
Interferencias.

De la observación de la anterior Tabla 4.15 y Figuras nº 4.10-4.14, puede deducirse:

1.- No interfieren en relación molar ión extraño/Ga(III) igual o inferior a 100 los iones: Mg(II), Ca(II), Sr(II), Ba(II), Zn(II), Co(II), Ni(II), Cd(II), Pb(II), Mn(II), Cr(III), Y(III), Bi(III), Ce(IV), As(V), W(VI),  $PO_4^{-3}$ ,  $SO_4^{-2}$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$  y  $Cl^-$ . Es decir 21 de los 32 iones ensayados.

2.- Presentan interferencia moderada los iones: Tl(III), Zr(IV), Cr(VI) y  $F^-$ .

3.- Causa una gran interferencia la presencia de los iones: Be(II), Cu(II), Fe(III), Al(III), In(III), V(V) y AEDT.

4.- Los cationes con carácter paramagnético interfieren negativamente, exceptuando el caso del Fe(III).

5.- Todos los aniones que interfieren lo hacen negativamente. Destacan  $F^-$  y AEDT que lo hacen en gran extensión debido a su acción complejante frente al Ga(III).

### *Determinación de la Estequiometría.-*

Al realizar el estudio de la influencia de la concentración de 5-BrSOAF sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio ya se insinuó, en base a los datos obtenidos, la posibilidad de existencia de complejos de distinta estequiometría.

Al objeto de corroborar esta hipótesis y conocer la estequiometría de los posibles quelatos fluorescentes se diseñaron experiencias encaminadas a tal fin.

Los métodos elegidos para el cálculo de las estequiometrías de dichos complejos fueron el de Yoe y Jones (84) y el de Bent y French (85).

### *Método de Yoe y Jones.-*

Las experiencias realizadas han sido las siguientes:

#### *1.- A concentración de Ga(III) constante.*

Se preparó una serie de matraces aforados de 50 mL conteniendo volúmenes crecientes de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, 1 mL de disolución de Ga(III)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00 y cantidades apropiadas de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico en todas las muestras fuera del 60 % (v/v).

Se utilizaron como blancos disoluciones preparadas en idénticas condiciones que las muestras pero en ausencia de catión metálico.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 425$  nm,  $\lambda_{em} = 520$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.5 y temperatura 20 °C

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.16 y se han representado gráficamente en la Figura nº 4.15.

Tabla 4.16

Vol. 5-BrSOAF (mL)	IFR(%)	[5-BrSOAF]/[Ga(III)]
0.2	6.3	0.2
0.4	17.7	0.4
0.6	29.0	0.6
0.8	38.7	0.8
1.0	47.0	1.0
1.2	52.6	1.2
1.4	56.1	1.4
1.6	59.5	1.6
1.8	63.1	1.8
2.0	65.7	2.0
2.2	67.1	2.2
2.4	68.0	2.4
2.6	68.7	2.6
2.8	69.2	2.8
3.0	70.1	3.00

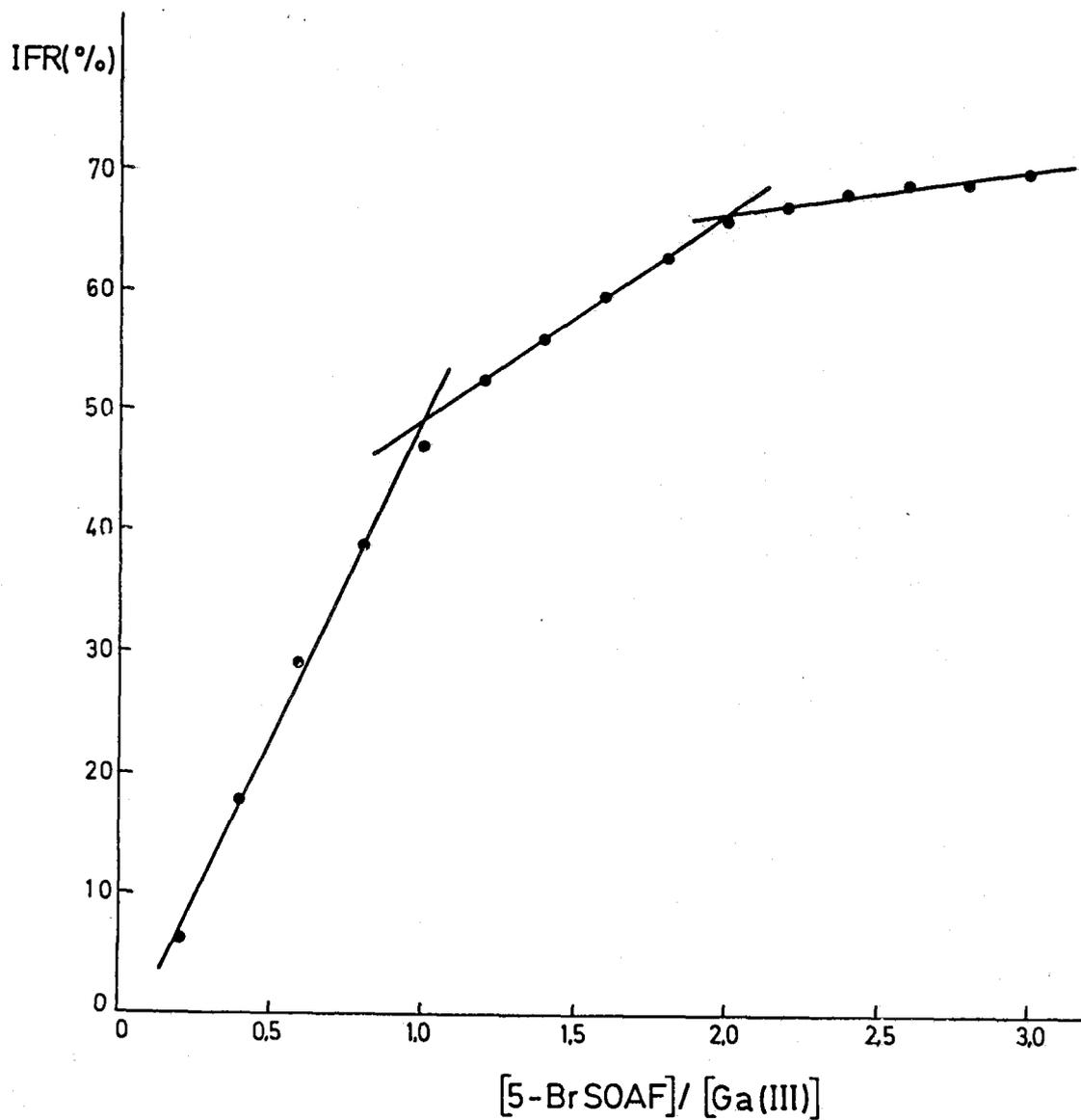


Figura nº 4.15. 5-Bromosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol-Ga(III).  
Método de Yoe y Jones a  $[\text{Ga(III)}]$  constante.

2.- A concentración de 5-BrSOAF constante.

Se preparó otra serie de matraces aforados de 50 mL que contenían 2 mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, cantidades crecientes de disolución de Ga(III)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00 y cantidades apropiadas de etanol de 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico de todas las muestras fuese del 60 % (v/v).

Las medidas de la intensidad de fluorescencia se realizaron en las mismas condiciones operatorias que la experiencia anterior salvo que el factor de sensibilidad en este caso fue 0.4.

Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 4.17 y se encuentran representados gráficamente en la Figura nº 4.16.

Tabla 4.17

Vol. Ga(III) (mL)	IFR(%)	[Ga(III)]/[5-BrSOAF]
0.2	27.1	0.1
0.4	34.4	0.2
0.6	43.0	0.3
0.8	51.2	0.4
1.0	56.0	0.5
1.2	59.1	0.6
1.4	61.5	0.7
1.6	62.9	0.8
1.8	64.2	0.9
2.0	66.0	1.0
2.2	67.1	1.1
2.4	68.0	1.2
2.6	68.9	1.3
2.8	70.1	1.4
3.0	70.7	1.5

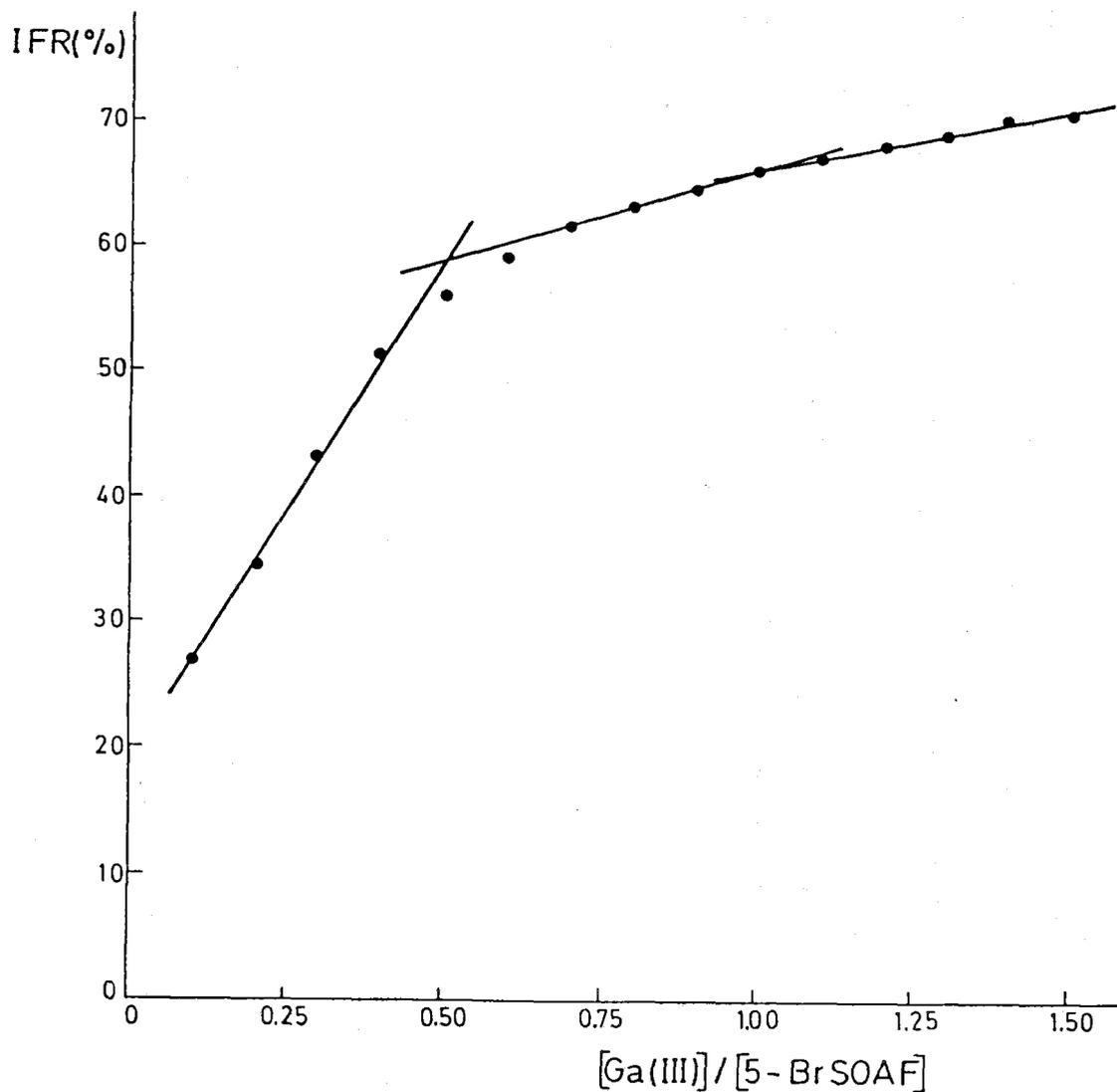


Figura nº 4.16. 5-Bromosaliciliden- $\alpha$ -aminofenol-Ga(III).

Método de Yoe y Jones a [5-BrSOAF] constante.

De la observación de las anteriores Figuras nº 4.15 y 4.16 se deduce que por el método de Yoe y Jones se pone de manifiesto la existencia de dos complejos fluorescentes de estequiometrías 2:1 y 1:1 (5-BrSOAF : Ga(III)).

Método de Bent y French.-

Se prepararon 2 series de matraces, manteniéndose constante en la primera la concentración de reactivo (5-BrSOAF) y la concentración de Ga(III) en la segunda.

En los matraces aforados de 50 mL de la primera serie se introdujeron 2mL de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, cantidades crecientes de disolución de Ga(III)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00 y cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar el porcentaje etanólico en todas las muestras fuera del 60 % (v/v).

En la segunda serie, los matraces aforados de 50 mL contenían cantidades crecientes de disolución etanólica de 5-BrSOAF  $10^{-3}$  M, 0.5 mL de disolución de Ga(III)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 4.00 y cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar el porcentaje etanólico en todas las muestras fuera del 60 % (v/v).

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 425$  nm,  $\lambda_{em} = 520$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.5 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 4.18 (A) y (B) se resumen los datos obtenidos para la primera y segunda serie, respectivamente, que han sido representados gráficamente en la Figura nº 4.17

Tabla 4.18

(A)

Vol. Ga(III) (mL)	$-\log[\text{Ga(III)}]$	IFR(%)	$\log(\text{IFR})$
0.2	5.40	22.9	1.36
0.3	5.22	29.5	1.47
0.4	5.10	36.3	1.56
0.6	4.92	45.7	1.66
0.8	4.80	55.0	1.74
1.0	4.70	58.9	1.77
1.2	4.62	61.7	1.79
1.4	4.55	66.1	1.82
1.6	4.49	69.2	1.84

(B)

Vol. 5-BrSOAF (mL)	$-\log[5\text{-BrSOAF}]$	IFR(%)	$\log(\text{IFR})$
0.7	4.85	26.3	1.42
1.0	4.70	32.4	1.51
1.3	4.59	38.0	1.58
1.6	4.49	43.6	1.64
1.9	4.42	48.9	1.69

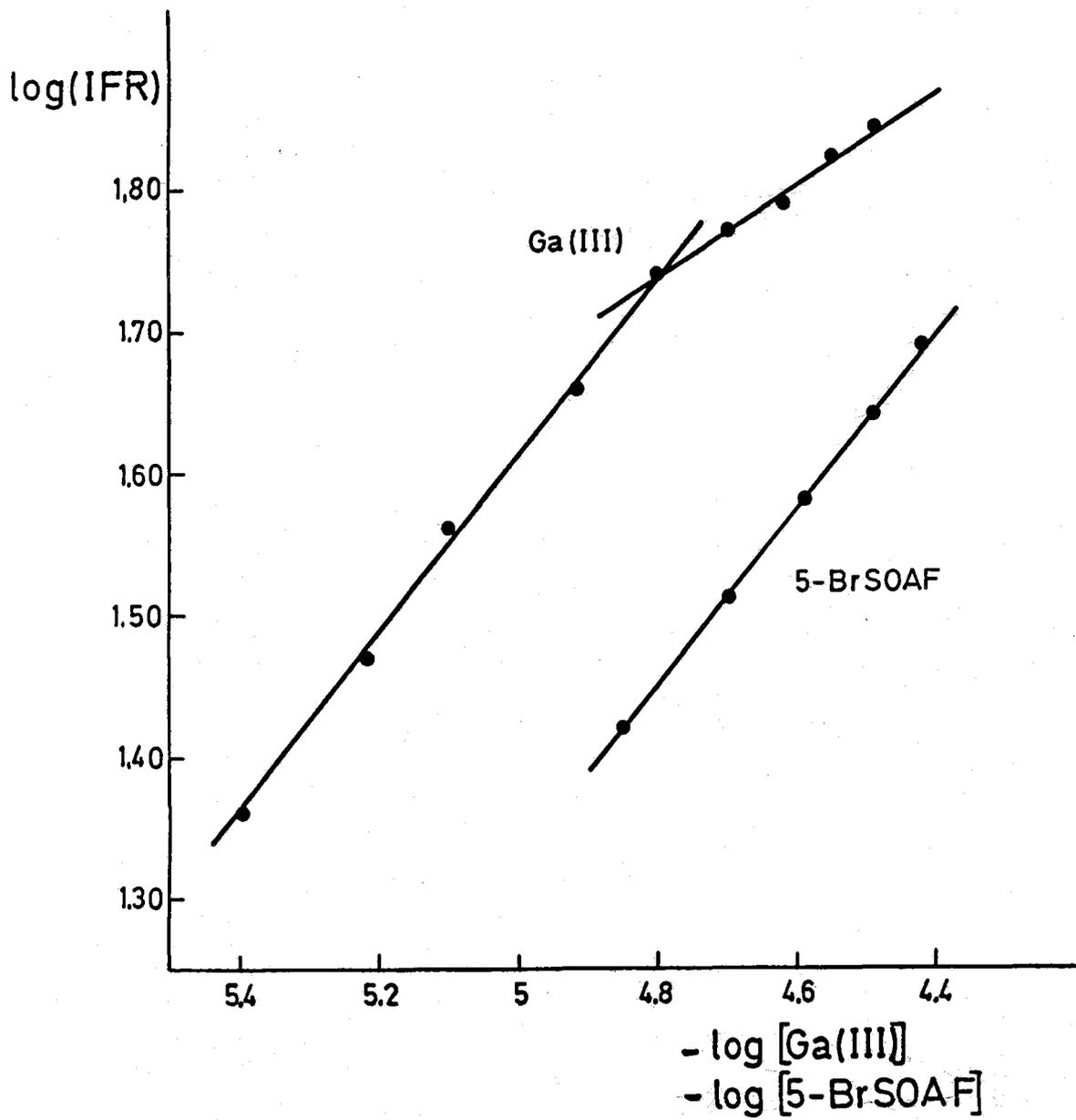


Figura nº 4.17. 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III).  
Método de Bent y French.

Como se puede observar en la Figura nº 4.17 la representación del logaritmo de la intensidad de fluorescencia frente al cologaritmo de la concentración de Ga(III) (primera serie) presenta dos tramos rectos. El primero, ajustado por mínimos cuadrados ( $r^2 = 0.999$ ), tiene una pendiente de 0.632; el segundo, ajustado por mínimos cuadrados ( $r^2 = 0.993$ ), tiene una pendiente de 0.320.

Igualmente, en la misma Figura nº 4.17, se puede apreciar que la representación del logaritmo de la intensidad de fluorescencia frente al cologaritmo de la concentración de 5-BrSOAF (segunda serie) es una línea recta, que ajustada por mínimos cuadrados ( $r^2 = 0.999$ ), tiene una pendiente de 0.624.

Estos valores obtenidos para las pendientes, nos ponen de manifiesto la existencia de dos complejos fluorescentes de estequiometrias 2:1 y 1:1 (5-BrSOAF : Ga(III)).



## CAPITULO V

ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA  
5-CLOROSALICILIDEN-o-AMINOFENOL-In(III)



**ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA  
5-CLOROSALICILIDEN-O-AMINOFENOL-In(III).**

**INTRODUCCION.**

En el estudio de la reaccionabilidad cualitativa fluorescente del 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol realizado y cuyos datos se resumen en la Tabla nº 3.3, se observa que en medio débilmente ácido reacciona con Ga(III) e In(III), presentando los productos de reacción fluorescencia amarillo-anaranjada y amarillo-verdosa, respectivamente. La elevada sensibilidad de esta última reacción ( $pD = 7.0$ ) nos ha inducido a realizar su estudio más detallado.

**EXPERIMENTAL.**

*Disoluciones empleadas.-*

- Disolución de In(III)  $10^{-2}$  M, preparada por pesada directa de la cantidad necesaria de  $InCl_3$  MERCK, reactivo para análisis. Esta disolución fue contrastada complexometricamente ( $f = 1.002$ ). Todas las demás disoluciones de In(III) fueron preparadas a partir de ésta por dilución
- Disolución de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M en etanol del 99.5 %.
- Disoluciones reguladoras  $HCOOH/HCOONa$  0.1 M de diferentes valores de pH.

*Aparatos utilizados.-*

- Los mismos que se relacionan en la página 243, en el estudio del sistema 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III).

*Espectros de Excitación y Emisión.-*

Se han registrado los espectros de excitación y emisión del sistema 5-ClSOAF-In(III) en relación molar 1:1 y en concentración  $2 \times 10^{-5}$  M, en disolución hidroalcohólica al 50 % (v/v) a pH\* 4.60, una vez comprobado que a este valor de pH\* el sistema es fluorescente.

Para ello, en un matraz aforado de 50 mL se introdujeron 1 mL de disolución etanólica de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, 1 mL de disolución de In(III)  $10^{-3}$  M. Se añadieron las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada necesarias para que al enrasar el porcentaje etanólico fuese del 50 % (v/v). A continuación se llevó la disolución a pH\* débilmente ácido (pH\* 4.60) mediante la adición de HCl diluido.

Para seleccionar las longitudes de onda de los máximos de excitación y emisión se ha seguido el mismo método operatorio indicado en la página 244. Es decir, realizando en primer lugar un "pre-scan" secuencial de excitación y emisión, lo que nos permite conocer en una primera aproximación las longitudes de onda de los máximos de excitación y emisión. A continuación, se realizan "pre-scan" de excitación y emisión alternativos hasta conseguir una pareja de valores que se repitan un número de veces representativo.

Una vez realizada esta operación se registraron los correspondientes espectros de fluorescencia del sistema en estudio. Para la obtención del espectro de excitación se utilizó una  $\lambda_{exc} = 519$  nm y para el espectro de emisión una  $\lambda_{em} = 420$  nm.

En ambos casos se usaron rendijas de excitación y emisión de 5 nm y un factor de sensibilidad de 1.6.

La Figura nº 5.1 muestra los espectros obtenidos, así como los espectros del reactivo en idénticas condiciones experimentales.

El espectro de excitación presenta un máximo a una longitud de onda de 420 nm, mientras que el espectro de emisión tiene un máximo a una longitud de onda de 519 nm, lo que representa un desplazamiento de Stokes de  $4541.70 \text{ cm}^{-1}$ .

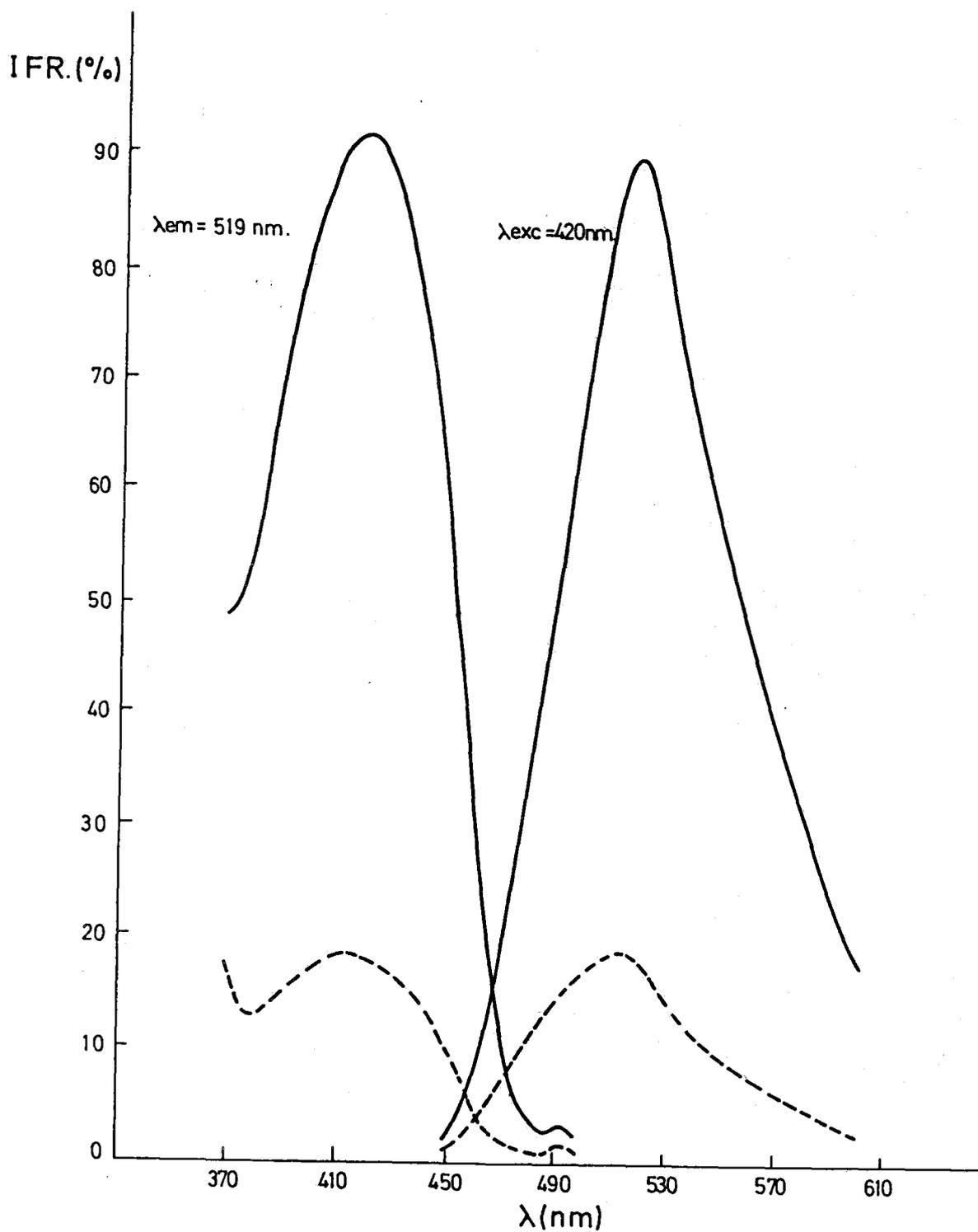


Figura nº 5.1. 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol-In(III).  
Espectros de excitación y emisión.

*Influencia del pH.-*

Se ha abordado el estudio de la influencia de la acidez del medio sobre la intensidad de fluorescencia del sistema 5-ClSOAF-In(III) siguiendo dos métodos operatorios diferentes:

1.- Fijando la acidez del medio sin empleo de disolución reguladora.

Para ello, se preparó una serie de matraces aforados de 50 mL que contenían 1 mL de disolución etanólica de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, 1 mL de disolución de In(III)  $10^{-3}$  M. Se añadieron las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada necesarias para conseguir un volumen final de unos 49 mL. A continuación se llevó la disolución al pH\* deseado por adición de HCl o NaOH diluidos y finalmente se enrasó con mezcla etanol-agua de tal forma que siempre la relación final quedase asegurada en el 50 % (v/v).

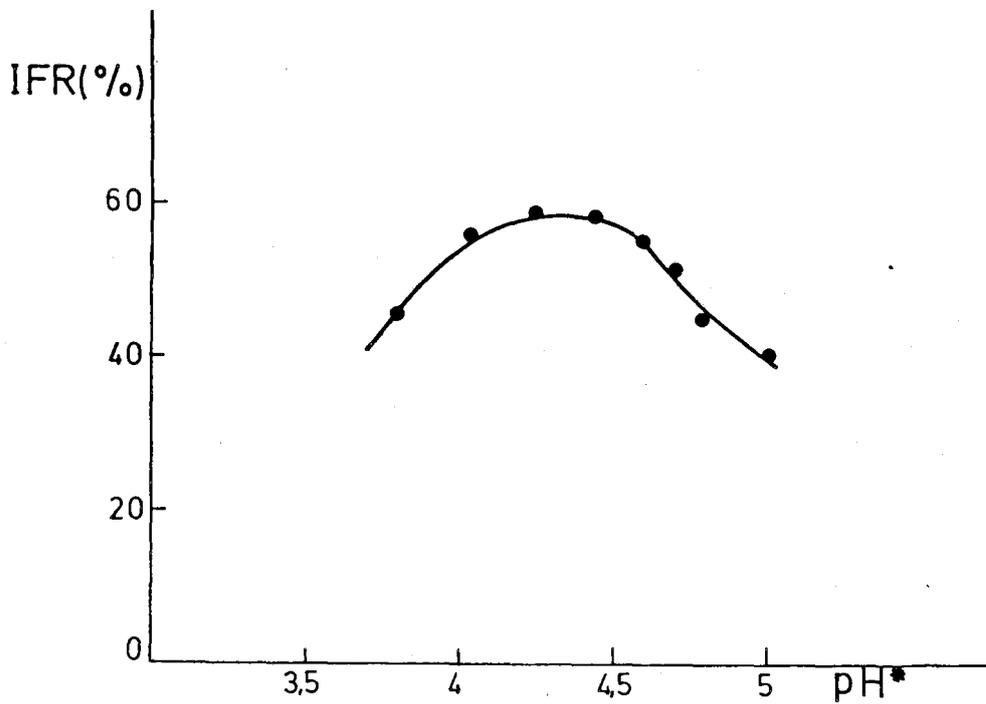
Una vez finalizada la preparación de las disoluciones se comprobó nuevamente el pH\* por medida potenciométrica.

Los espectros de excitación y emisión se registraron a una temperatura de 20 °C, usando una  $\lambda_{em} = 519$  nm y una  $\lambda_{exc} = 420$  nm, respectivamente, una vez comprobado que el valor de éstas es independiente del pH. Por otra parte, la rendijas empleadas fueron de 5 nm en todos los casos y el factor de sensibilidad 1.

En la Tabla 5.1 se recogen los datos obtenidos que han sido representados en la Figura nº 5.2.

Tabla 5.1

pH*	IFR(%)	pH*	IFR(%)
3.80	45.5	4.60	55.1
4.05	55.4	4.70	51.0
4.25	58.3	4.85	44.8
4.45	58.5	5.00	40.1



**Figura nº 5.2. 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol-In(III)**  
Influencia de la acidez del medio.

En la anterior Figura nº 5.2, donde se muestra la influencia que la acidez del medio ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio, puede observarse que en el intervalo de pH\* comprendido entre 4.25 y 4.50 la intensidad de fluorescencia muestra su valor máximo, disminuyendo para pH\* inferiores o superiores.

2.- Fijando la acidez del medio mediante la adición de disolución reguladora.

Ante la necesidad de tamponar el medio, puesta de manifiesto en la experiencia anterior, se realizaron una serie de experiencias orientadoras donde se ensayaron diversas disoluciones reguladoras (AcH/AcNa, ClAcH/ClAcNa, Cl<sub>3</sub>AcH/Cl<sub>3</sub>AcNa y HCOOH/HCOONa). Como resultado de la misma se seleccionó la disolución reguladora HCOOH/HCOONa por ser la más idónea para el sistema en estudio.

A continuación, se estudió cómo influye la acidez del medio, fijada con el empleo de este tampón, sobre la intensidad de fluorescencia del sistema. Para ello, se preparó una serie de matraces aforados de 50 mL que contenían 1 mL de disolución etanólica de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, 1 mL de disolución de In(III)  $10^{-3}$  M, 2 mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M de distintos pH y las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que en todos los casos el porcentaje etanólico del medio fuera del 50 % (v/v).

Los espectros de excitación y emisión se registraron a una temperatura de 20 °C, usando una  $\lambda_{em} = 519$  nm y una  $\lambda_{exc} = 420$  nm, respectivamente, una vez comprobado que el valor de éstas es independiente del pH. Por otra parte, la rendijas empleadas fueron de 5 nm en todos los casos y el factor de sensibilidad 1.

En la Tabla 5.2 se recogen los datos obtenidos que han sido representados en la Figura nº 5.3.

Tabla 5.2

pH*	IFR(%)	pH*	IFR(%)
4.10	24.1	4.85	71.1
4.30	34.2	4.90	57.6
4.50	55.0	5.00	43.2
4.60	68.1	5.15	30.1
4.70	72.2		

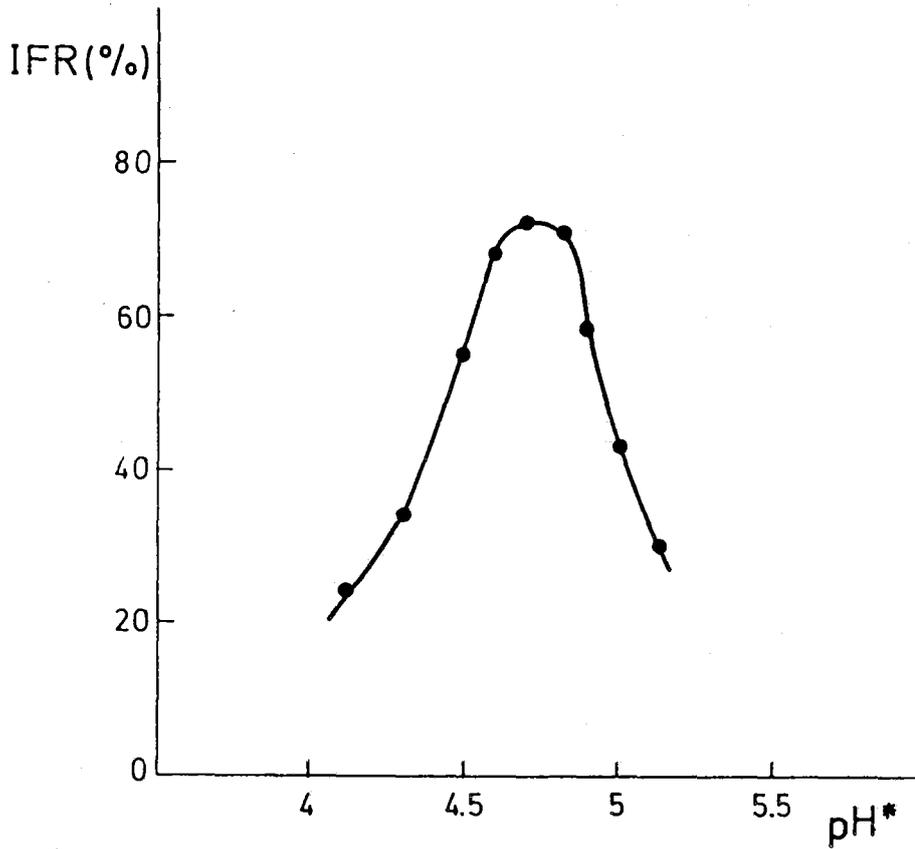


Figura nº 5.3. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol-In(III)  
Influencia del pH (disolución reguladora HCOOH/HCOONa).

En la anterior Figura nº 5.3 se puede observar la existencia de un estrecho intervalo de pH\* (4.60-4.85) donde la intensidad de fluorescencia del sistema es máxima, manteniéndose independiente de éste y decreciendo para valores inferiores o superiores.

Por otra parte, hemos de indicar que el empleo de la disolución reguladora HCOOH/HCOONa provoca un estrechamiento en el intervalo de pH\* óptimo así como un ligero desplazamiento de su valor hacia pH\* superiores.

Ante la conveniencia de tamponar el sistema se fijó en 4.70 el pH aparente (pH\*) de trabajo. Obteniéndose éste mediante la adición de 2 mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M en medio hidroalcohólico del 50 % (v/v) y de pH\* 4.70.

**Estabilidad del sistema 5-BrSOAF-In(III).-**

Con objeto de establecer la influencia que el tiempo ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio se preparó una serie de 4 matraces aforados de 50 mL que contenían todos ellos 1 mL de disolución de In(III)  $10^{-3}$  M, cantidades crecientes (3-6 mL) de disolución de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, 2 mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M en etanol al 50 % (v/v) de pH\* 4.70 y las cantidades necesarias de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico en todos los casos fuera del 50 % (v/v).

Se realizaron las medidas de la intensidad de fluorescencia a una  $\lambda_{em} = 519$  nm, excitando a una  $\lambda_{exc} = 420$  nm. Las rendijas de excitación y emisión fueron de 5 nm y el factor de sensibilidad 0.3.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.3 y Figura nº 5.4.

Tabla 5.3

Tiempo (min)	IFR(%)			
	[5-ClSOAF]			
	$6 \times 10^{-5}$ M	$8 \times 10^{-5}$ M	$10^{-4}$ M	$1.2 \times 10^{-4}$ M
2	63.0	76.5	82.0	84.0
5	62.0	75.0	80.0	80.0
10	63.0	73.0	79.0	78.0
15	66.0	72.0	77.0	78.0
20	67.0	71.0	78.0	76.0
25	67.0	71.0	78.0	76.0
30	68.0	71.2	78.3	76.1
45	68.1	71.1	78.2	76.0
60	68.0	71.0	78.0	76.2
120	67.8	71.4	78.3	76.1

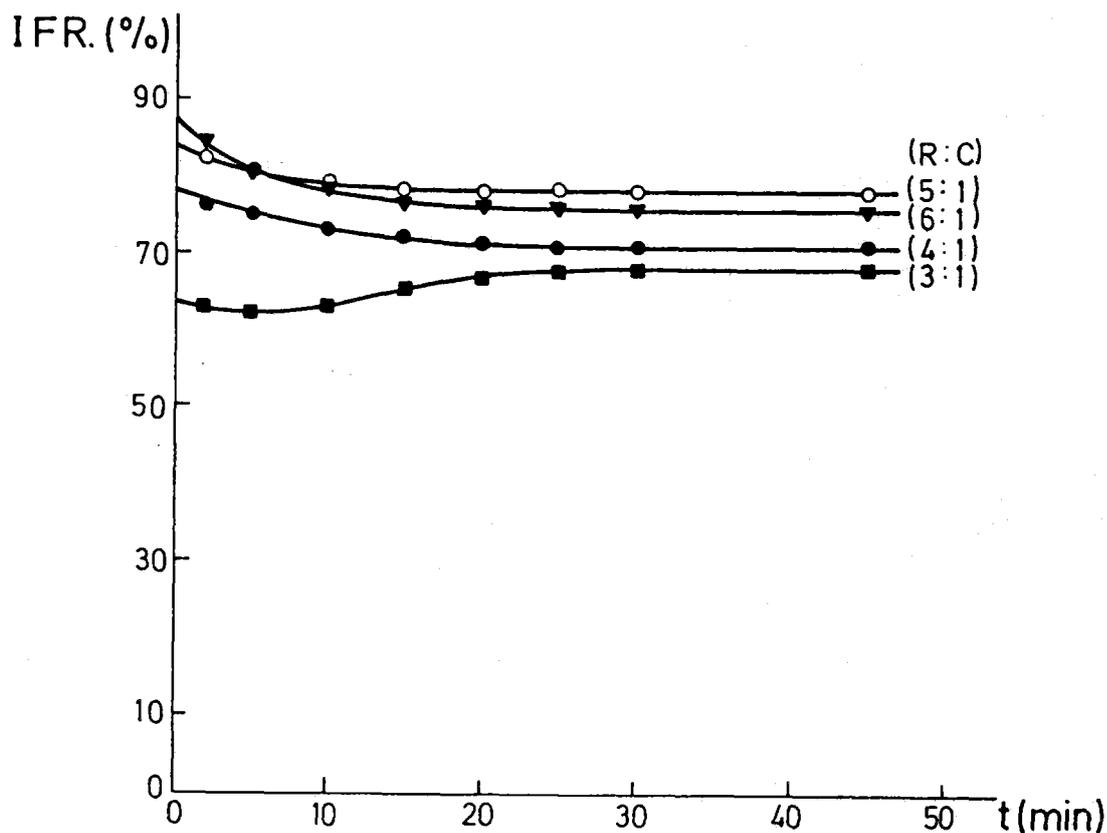


Figura nº 5.4. 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol-In(III)  
Influencia del tiempo sobre la intensidad de fluorescencia.

De la observación de la anterior Figura nº 5.4, donde se muestra la influencia que el tiempo ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema, puede deducirse:

1.- Para la relación molar 3:1 (reactivo:cación), la intensidad de fluorescencia aumenta ligeramente con el transcurso del tiempo. mientras que para relaciones molares superiores decrece, también ligeramente.

2.- En todos los casos, el sistema se estabiliza transcurridos 20 minutos desde su preparación, permaneciendo la medida de fluorescencia constante al menos durante 2 horas.

Es pues, conveniente esperar un tiempo, que hemos fijado en 20 minutos, antes de realizar la medida de fluorescencia.

*Influencia del Orden de adición de los reactivos.-*

Con objeto de conocer el orden de adición de los reactivos óptimo para conseguir que la intensidad de fluorescencia del sistema 5-ClSOAF-In(III) fuese máxima se realizó la siguiente experiencia.

En una serie de 6 matraces aforados de 50 mL, se introdujeron 5 mL de disolución etanólica de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, 1 mL de disolución de In(III)  $10^{-3}$  M, 2 mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M en etanol al 50 % (v/v) de pH\* 4.70 y cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas al objeto de que el porcentaje etanólico en todas las muestras fuese de 50 % (v/v), cambiando en cada uno de los matraces el orden de adición de los reactivos de la forma que se especifica en la Tabla 5.4.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc}$  = 420 nm,  $\lambda_{em}$  = 519 nm, rendija de excitación 5 nm, rendija de emisión 5 nm, factor de sensibilidad 0.3 y temperatura 20 °C.

Tabla 5.4

Muestra	Orden de adición	IFR(%)
1	5-ClSOAF + In(III) + Tampón	78.3
2	5-ClSOAF + Tampón + In(III)	78.1
3	In(III) + 5-ClSOAF + Tampón	77.9
4	In(III) + Tampón + 5-ClSOAF	78.6
5	Tampón + 5-ClSOAF + In(III)	77.8
6	Tampón + In(III) + 5-ClSOAF	78.0

Como se puede observar en la Tabla 5.4, en este caso, el orden de adición de los reactivos no influye sobre la intensidad de fluorescencia del sistema.

*Influencia de la Temperatura.-*

Al objeto de conocer la influencia de la temperatura sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio, se realizó una experiencia en la que se midió la intensidad de fluorescencia a una disolución  $2 \times 10^{-6}$  M en In(III) y  $10^{-4}$  M en 5-ClSOAF, a pH\* 4.70 y al 50 % (v/v) de etanol, a diversas temperaturas, utilizando un termostato.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 420$  nm,  $\lambda_{em} = 519$  nm, rendija de excitación de 5 nm, rendija de emisión de 5 nm y factor de sensibilidad 0.3.

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 5.5 y han sido representados gráficamente en la Figura nº 5.5

Tabla 5.5

Temperatura (°C)	IFR(%)
10	78.5
15	79.0
20	78.1
25	78.4
30	75.2
35	67.1
40	57.5
45	48.2
50	41.3
55	36.7
60	34.2

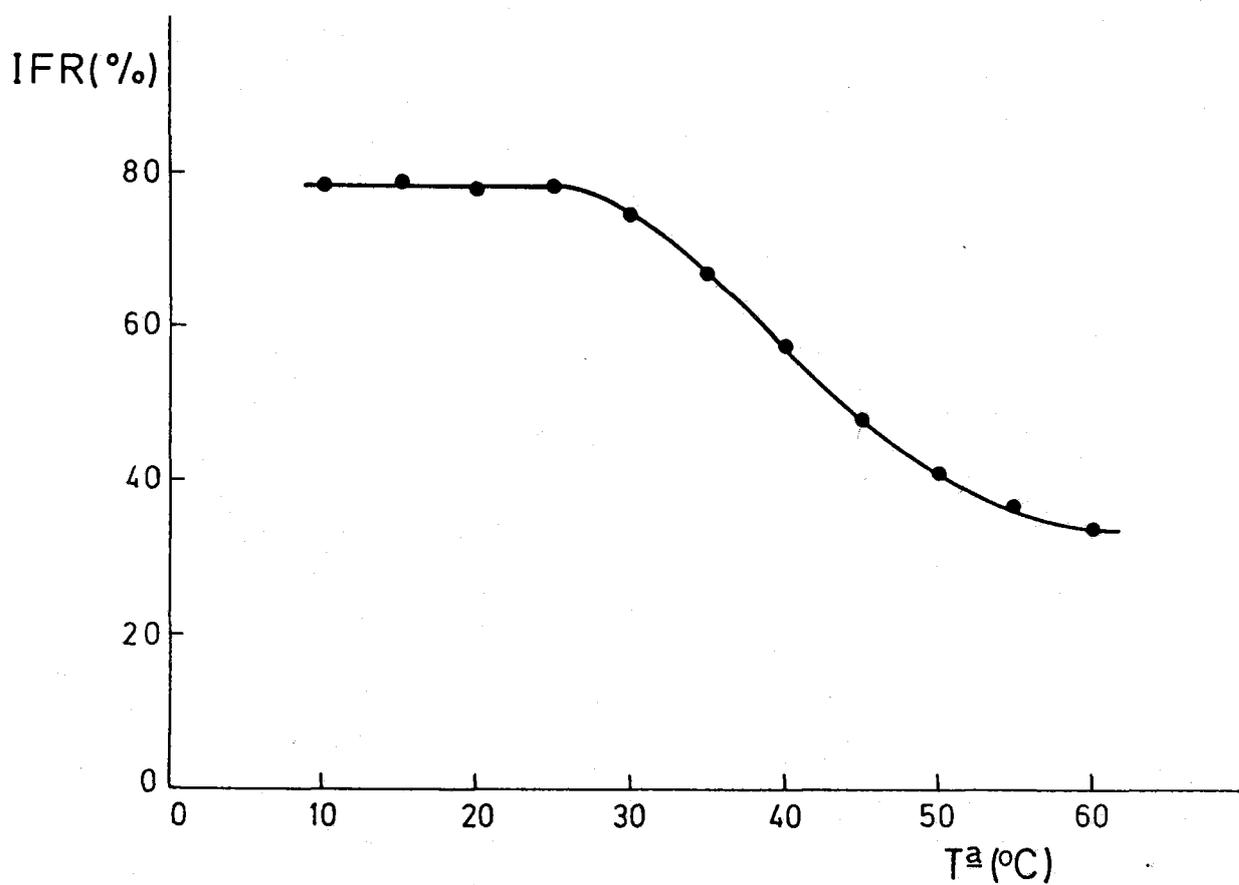


Figura nº 5.5. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol-In(III).  
Influencia de la Temperatura.

La Figura nº 5.5 nos muestra que para valores de temperatura inferiores a los 25 °C, ésta no influye de manera apreciable sobre la intensidad de fluorescencia. Pero, sin embargo, a partir de los 30 °C se produce una notable disminución de la fluorescencia al aumentar la temperatura.

Este comportamiento, similar al que presenta el sistema 5-BrSOAF-Ga(III), anteriormente estudiado, puede ser explicado considerando que para temperaturas inferiores a los 25 °C el principal proceso de desactivación no radiativa sea el cruce entre sistemas ( $S_1 \rightarrow T_1$ ), proceso que es esencialmente independiente de la temperatura, para pasar posteriormente al estado fundamental por desactivación colisional.

En el caso de temperaturas superiores a los 30 °C, donde la intensidad de fluorescencia se ve afectada notablemente por la temperatura, podemos pensar que sea la conversión interna el proceso que predomina en la desactivación no radiativa de las moléculas excitadas del sistema, por ser este proceso marcadamente dependiente de la temperatura (80).

A partir de los datos obtenidos se ha optado por termostatar las cubetas de medida a  $20 \pm 0.5$  °C en posteriores experiencias, dado que esta temperatura es fácil de controlar por ser del orden de la ambiental y, porque pequeñas oscilaciones de la misma no afectan de manera apreciable al valor de la intensidad de fluorescencia.

*Influencia de la relación Etanol/Agua del medio.-*

Al objeto de determinar el porcentaje etanólico óptimo de las disoluciones del complejo en estudio, se realizó una experiencia en la que se midió la intensidad de fluorescencia de disoluciones  $2 \times 10^{-6}$  M en In(III) y  $10^{-4}$  M en 5-ClSOAF, manteniéndose en todos los casos el valor de pH\* en 4.70 mediante la adición de las cantidades necesarias de disoluciones diluidas (0.1 M) de HCOOH y NaOH y variando las proporciones relativas de agua y etanol.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 420$  nm,  $\lambda_{em} = 519$  nm, rendija de excitación de 5 nm, rendija de emisión de 5 nm, factor de sensibilidad 0.3 y temperatura 20 °C.

Los resultados de esta experiencia se muestran en la Tabla 5.6 y se encuentran representados en la Figura nº 5.6.

Tabla 5.6

% Etanol	IFR(%)
20	45.2
30	60.1
40	72.0
50	78.5
60	79.1
70	80.4
80	80.0

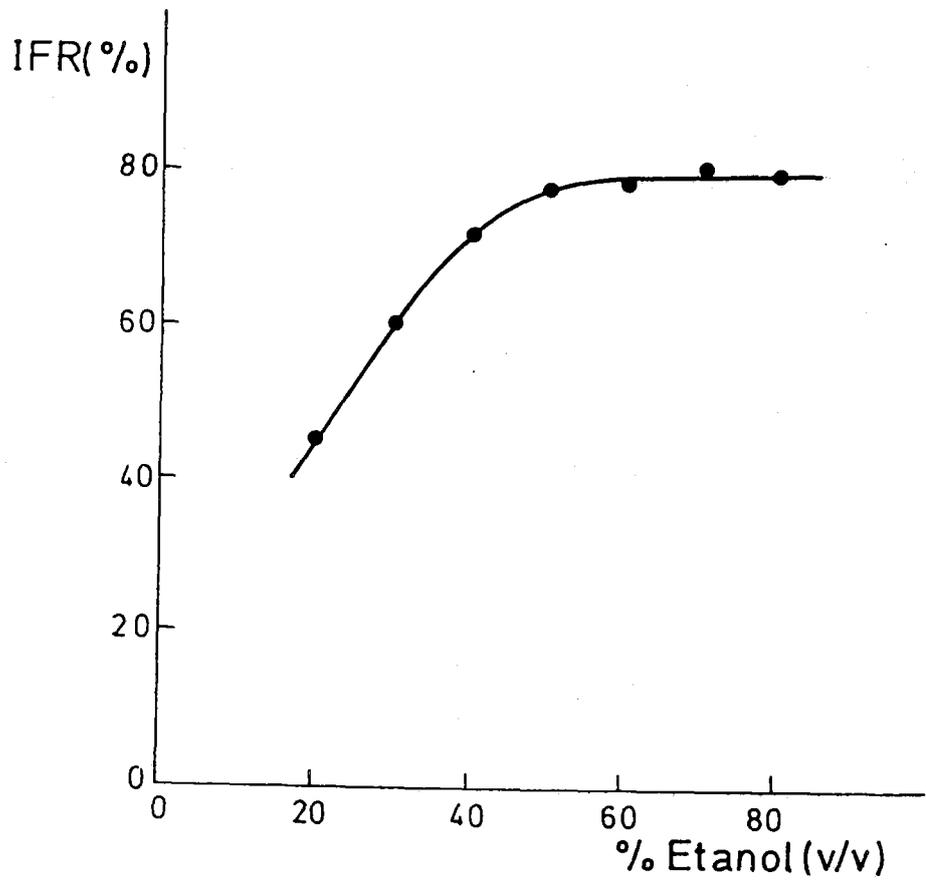


Figura nº 5.6. 5-Clorosaliciliden- $\alpha$ -aminofenol-In(III).  
Influencia del porcentaje etanólico del medio.

En la Figura nº 5.6 se puede observar que existe una marcada dependencia de la intensidad de fluorescencia con el porcentaje etanólico del medio, pudiendose destacar los siguientes hechos:

- 1.- Al ir aumentando la cantidad de etanol en el medio tiene lugar un aumento progresivo de la intensidad de fluorescencia hasta llegar a un porcentaje del 50 % (v/v)
- 2.- Para porcentajes de etanol superiores al 50 % (v/v) no se observa una variación apreciable de la intensidad de fluorescencia.

Este comportamiento nos pone de manifiesto la necesidad de controlar el porcentaje etanólico del medio. Para las siguientes experiencias se ha continuado manteniendo éste en el 50 % (v/v).

Como consecuencia de no existir desplazamientos significativos en la posición de los máximos de excitación y emisión al variar la constante dieléctrica del medio, podemos pensar que no tienen lugar cambios sustanciales en la polaridad de las moléculas del sistema con la excitación (78) y que la energía de solvatación de dichas moléculas no varía apreciablemente al variar el porcentaje etanólico del medio (79).

*Influencia de la concentración de 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol.-*

Para su establecimiento se prepararon cuatro series de 6 matraces, conteniendo cada una de ellas la misma cantidad de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M (7, 8, 9 y 10 mL, respectivamente) y cantidades crecientes de disolución de In(III) de 1250 ppb (0.5 - 3.0 mL), 2 mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M de pH\* 4.70 en etanol del 50 % (v/v) y cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada necesarias para que al enrasar a un volumen final de 50 mL el porcentaje etanólico del medio fuese del 50 % (v/v)

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 420$  nm,  $\lambda_{em} = 519$  nm, rendijas de excitación y emisión de 5 nm, factor de sensibilidad 3 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.7 y se han representado gráficamente en la Figura nº 5.7

Tabla 5.7

$$[5-ClSOAF] = 1.4 \times 10^{-4} \text{ M}$$

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	38.5	45.2	53.0	61.1	69.0	77.0

$$IFR = 0.63 [In(III)] + 29.9 \quad r^2 = 0.999$$

$$[5-ClSOAF] = 1.6 \times 10^{-4} \text{ M}$$

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	40.1	47.3	55.8	64.0	72.1	80.2

$$IFR = 0.65 [In(III)] + 31.5 \quad r^2 = 0.999$$

[5-ClSOAF] =  $1.8 \times 10^{-4}$  M

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	44.7	51.0	60.5	68.0	75.0	83.3

$$\text{IFR} = 0.62 [\text{In(III)}] + 36.1 \quad r^2 = 0.998$$

[5-ClSOAF] =  $2 \times 10^{-4}$  M

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	45.2	52.6	62.0	72.0	78.9	87.0

$$\text{IFR} = 0.68 [\text{In(III)}] + 36.5 \quad r^2 = 0.997$$

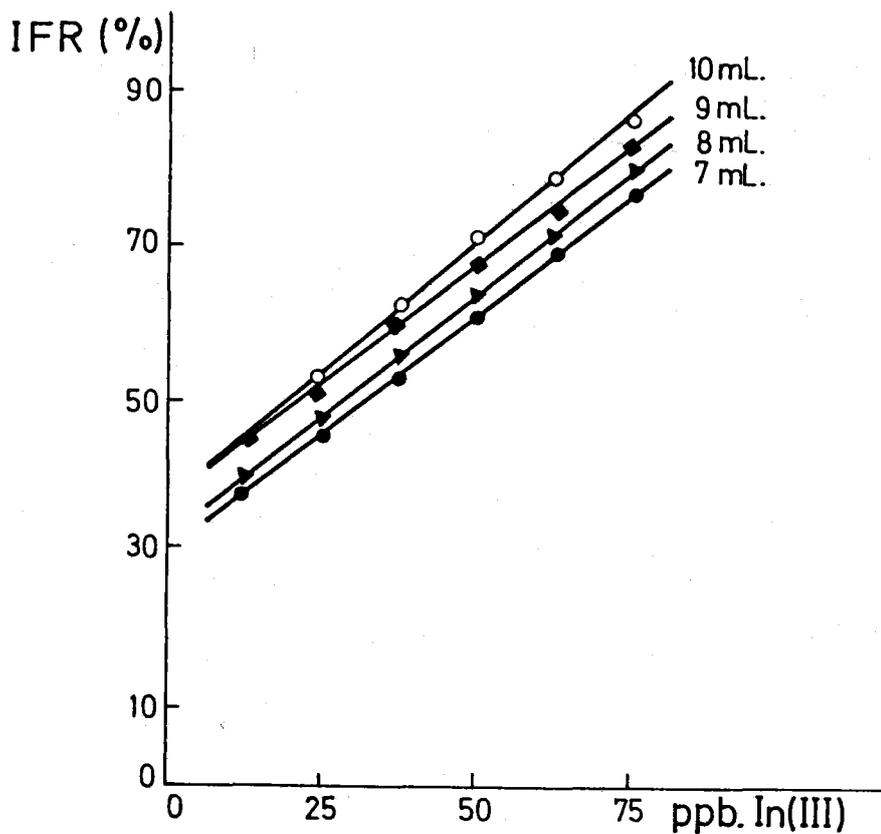


Figura nº 5.7. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol-In(III)  
Influencia de la concentración del reactivo.

La observación de la anterior Figura nº 5.7 nos demuestra que hay una relación lineal entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de In(III) para las cuatro concentraciones de 5-CISOAF ensayadas.

Las pendientes son del mismo orden, alcanzándose un valor máximo de 0.68 cuando se emplea una concentración de 5-CISOAF de  $2 \times 10^{-4}$  M.

**Rectas de Calibrado.-**

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las experiencias previas de optimización se ha establecido la recta de calibrado en el rango de concentraciones de In(III) comprendido entre 12.5 y 75.0 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), para el cual la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio es una función lineal de la concentración del catión metálico.

Con tal fin se preparó una serie de 6 matraces de 50 mL en los que se introdujeron 10 mL de disolución etanólica de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, de 0.5 a 3.0 mL de disolución de In(III) de 1250 ppb, 2mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M en etanol al 50 % (v/v) de pH\* 4.70, de 9.5 a 7 mL de agua bidestilada y etanol al 50 % (v/v) hasta enrase.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 420$  nm,  $\lambda_{em} = 519$  nm, rendija de excitación de 5 nm, rendija de emisión de 5 nm, factor de sensibilidad 3 y temperatura 20 °C.

La experiencia se repitió siete veces al objeto de obtener las correspondientes rectas de calibrado, que nos aportasen los datos suficientes para poder determinar con posterioridad el límite de detección, reproducibilidad y sensibilidad del método.

Los datos obtenidos se muestran en la Tabla 5.8.

Tabla 5.8

Recta nº 1

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	42.3	49.3	56.1	63.1	70.6	77.7

$$\text{IFR} = 0.57 [\text{In(III)}] + 35.1$$

$$r^2 = 0.999$$

Recta nº 2

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	43.2	51.7	57.6	64.7	71.8	79.0

$$\text{IFR} = 0.56 [\text{In(III)}] + 36.7 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 3

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	44.8	52.1	58.6	66.9	73.8	82.4

$$\text{IFR} = 0.60 [\text{In(III)}] + 37.0 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 4

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	44.9	52.2	58.5	66.0	72.3	80.3

$$\text{IFR} = 0.56 [\text{In(III)}] + 37.9 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 5

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	46.9	54.8	60.3	68.3	75.3	82.3

$$\text{IFR} = 0.56 [\text{In(III)}] + 40.0 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 6

---

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	48.4	54.8	60.3	68.3	75.3	82.3

---

$$\text{IFR} = 0.59 [\text{In(III)}] + 41.2 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 7

---

ppb In(III)	12.5	25.0	37.5	50.0	62.5	75.0
IFR (%)	45.9	53.6	60.1	68.5	76.5	84.2

---

$$\text{IFR} = 0.61 [\text{In(III)}] + 37.9 \quad r^2 = 0.999$$

En la Figura nº 5.8 se han representado los datos correspondientes a la recta de calibrado nº 1.

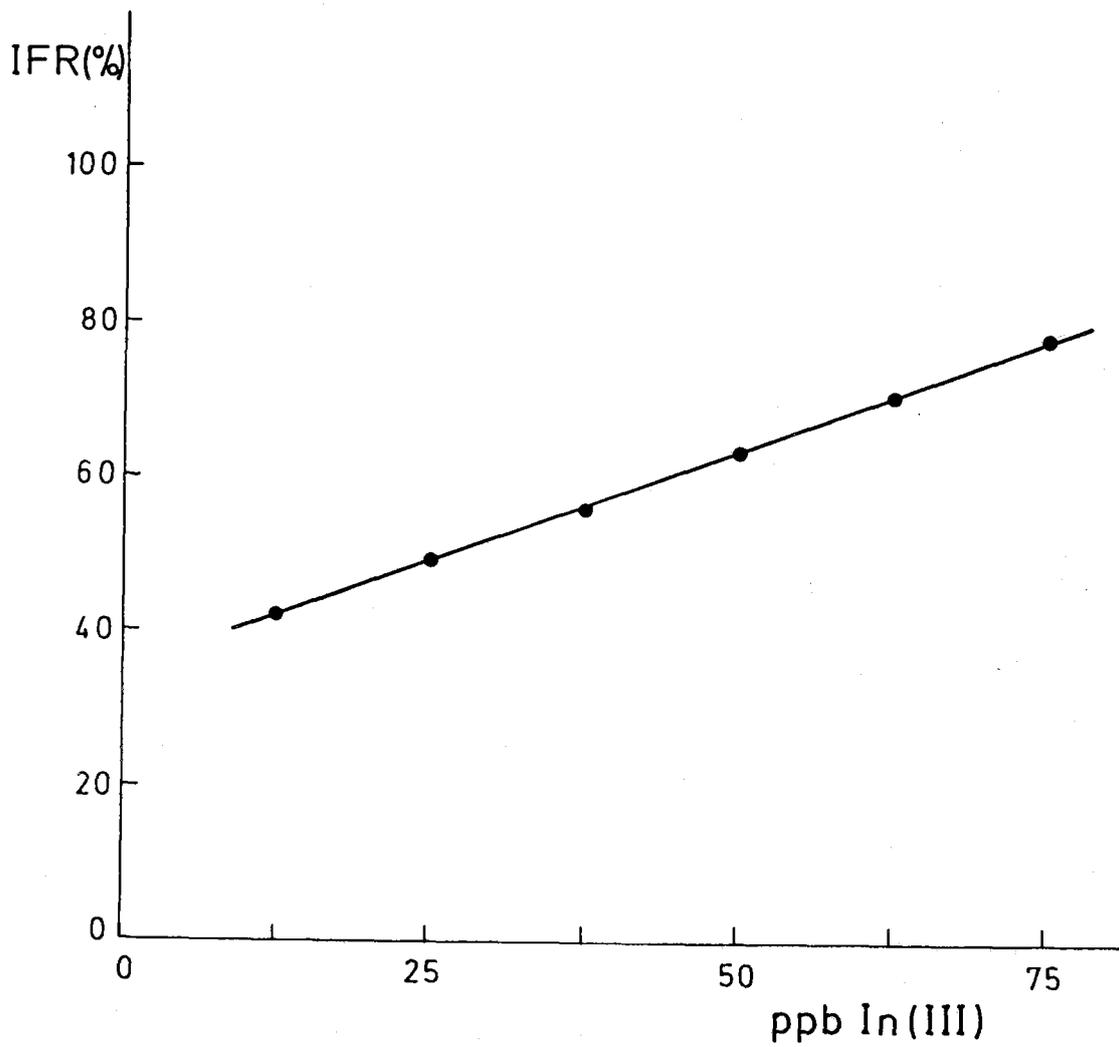


Figura nº 5.8. 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol-In(III).  
Recta de calibrado.

**Determinación de In(III).-**

La optimización de las variables que influyen sobre la intensidad de fluorescencia del sistema 5-ClSOAF-In(III), realizada anteriormente, nos ha permitido proponer el siguiente procedimiento operatorio para la determinación de este catión:

**Procedimiento operatorio.-**

**Recta de calibrado.-** La recta de calibrado se obtiene preparando 6 disoluciones con una concentración en In(III) de 12.5; 25.0; 37.5; 50.0; 62.5; y 75.0 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), para lo cual en matraces aforados de 50 mL se pipetea 10 mL de disolución etanólica de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, se añaden 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 y 3.0 mL de disolución de In(III) de 1250 ppb, 2 mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M en etanol al 50 % (v/v) de pH\* 4.70, de 9.5 a 7 mL de agua bidestilada y etanol al 50 % (v/v) hasta enrase. Transcurridos 20 minutos se mide la intensidad de fluorescencia a una  $\lambda_{em} = 519$  nm, siendo la  $\lambda_{exc} = 420$  nm.

**Disolución problema.-** La disolución problema se prepara introduciendo en un matraz aforado de 50 mL 10 mL de disolución etanólica de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, el volumen de disolución problema original como para que la concentración final de In(III) esté comprendida entre 12.5 y 75.0 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), 2 mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M en etanol al 50 % (v/v) de pH\* 4.70 y las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar el porcentaje etanólico de la disolución sea del 50 % (v/v).

Se dejan transcurrir 20 minutos y se mide la intensidad de fluorescencia en las mismas condiciones operatorias empleadas en la recta de calibrado.

**Reproducibilidad del método.-**

A partir de los datos obtenidos en el establecimiento de las rectas de calibrado, estudio anteriormente realizado, hemos seleccionado los correspondientes a un contenido en In(III) de 12.5: 37.5 y 62.5 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ).

Los resultados correspondientes a cada una de las tres series se encuentran recogidos en la Tabla 5.9.

**Tabla 5.9**

IFR(%) (12.5 ppb)	IFR(%) (37.5 ppb)	IFR(%) (62.5 ppb)
42.3	56.1	70.6
43.2	57.6	71.8
44.8	58.6	73.8
44.9	58.5	72.3
46.9	60.3	75.3
48.4	63.2	77.5
45.9	60.1	76.5

El cálculo estadístico efectuado con la primera serie, correspondiente a un contenido en In(III) de 12.5 ppb, nos da un valor para  $\sigma_{n-1} = 2.1$ .

Este valor para  $\sigma_{n-1}$  indica, con una probabilidad del 68 %, que una medida aislada de intensidad de fluorescencia se encuentra comprendida en el intervalo  $\overline{\text{IFR}} \pm \sigma_{n-1}$  ( $45 \pm 2$ ), es decir, entre 47 y 43.

Por consiguiente el error relativo sobre el valor medio será:

$$\text{Er} = (\sigma_{n-1} / \overline{\text{IFR}}) \times 100 = 4.65 \%$$

Si el análisis es efectuado sobre un número "n" de muestras el Er correspondiente decrece en  $\sqrt{n}$ .

En la Tabla 5.10 se resumen los resultados obtenidos en el cálculo estadístico realizado sobre las tres series.

Tabla 5.10

ppb In(III) puestas.	$\overline{\text{IFR}}(\%)$	$\sigma_{n-1}$	Er(%)
12.5	45.2	2.1	4.65
37.5	59.2	2.3	3.89
62.5	74.0	2.6	3.51

*Sensibilidad del método.-*

La sensibilidad del método se ha establecido de acuerdo con la definición de la sensibilidad de un procedimiento analítico, expuesto en anteriores apartados de la presente Memoria.

Utilizando los datos suministrados por la anterior experiencia, encaminada a establecer la relación entre la intensidad de fluorescencia del complejo en estudio y la concentración de In(III) (rectas de calibrado), hemos realizado el cálculo de la sensibilidad del nuevo método propuesto para la determinación de In(III).

Las condiciones operatorias son las descritas en el apartado correspondiente al establecimiento de las rectas de calibrado.

Los resultados obtenidos, así como el cálculo estadístico efectuado, se recogen en la Tabla 5.11.

Tabla 5.11

R. calibrado	s
1	0.57
2	0.56
3	0.60
4	0.56
5	0.56
6	0.59
7	0.61

$\bar{s} = 0.58$   
 $\sigma_{n-1} = 0.02$

El valor de  $\sigma_{n-1}$  nos indica, con una certeza del 68 %, que una determinación aislada de la sensibilidad se encuentra comprendida en el intervalo  $\bar{s} \pm \sigma_{n-1}$ , es decir entre 0.60 y 0.56 unidades relativas de intensidad de fluorescencia por ppb de In(III).

Por consiguiente el error relativo sobre el valor medio será:

$$Er = (\sigma_{n-1} / \bar{s}) \times 100 = 3.45 \%$$

*Límite de detección.-*

En el sistema en estudio, hemos comprobado que el valor de la intensidad de fluorescencia de la disolución de referencia (blanco) es ligeramente mayor, en todos los casos, que los de las intensidades de fluorescencia correspondientes a las ordenadas en el origen de las rectas de calibrado obtenidas anteriormente.

Por tanto, el cálculo estadístico se realizó con las medidas de la intensidad de fluorescencia de 10 muestras de referencia, preparadas en idénticas condiciones que las muestras utilizadas en el establecimiento de las rectas de calibrado, pero en ausencia de catión metálico.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron las mismas que las utilizadas en el apartado de las rectas de calibrado.

Los datos obtenidos, así como el cálculo estadístico realizado, se recogen en la Tabla 5.12.

Tabla 5.12

Muestra	(IFR) <sub>g</sub>
1	41.7
2	41.5
3	42.2
4	42.3
5	41.8
6	42.4
7	41.9
8	42.0
9	41.9
10	42.2

$$(\overline{\text{IFR}})_{\text{g}} = 42.0$$

$$\sigma_{n-1} = 0.3$$

A partir de los datos obtenidos en el apartado correspondiente a las rectas de calibrado, hemos establecido una recta de calibrado "media", que responde a la ecuación:

$$\text{IFR} = s [\text{In(III)}] + 0.0 \quad [\text{In(III)}] \text{ expresada en ppb.}$$

donde  $s = 0.58$  y  $0.0 = 38.0$ , por lo que

$$\text{IFR} = 0.58 [\text{In(III)}] + 38.0$$

Si asignamos a IFR el valor de  $(\overline{\text{IFR}})_s + K \sigma_{n-1}$ , donde  $K = 3$  tendremos que  $\text{IFR} = 42.0 + (3 \times 0.3) = 42.9$

Sustituyendo, quedaría:

$$42.9 = 0.58 [\text{In(III)}] + 38.0$$

de donde  $[\text{In(III)}] = 8.5$  ppb

valor que tomamos como límite de detección del nuevo método propuesto.

Luego, si la intensidad de fluorescencia de una disolución problema es  $\text{IFR} > 42.0 + (3 \times 0.3) = 42.9$ , podemos afirmar con una certeza del 99.68 % que el In(III) está presente en la disolución.

**Interferencias.-**

Se ha estudiado la influencia que la presencia de iones extraños ejerce en la determinación de In(III) por el procedimiento operatorio propuesto.

Para ello, se preparó una serie de matraces para cada ión extraño ensayado, que contenía siempre 50 ppb de In(III) y concentraciones crecientes de aquel. Estas disoluciones fueron tratadas de la misma forma operatoria que se indica en el procedimiento propuesto, página 324.

De la medida de la intensidad de fluorescencia de cada disolución y con la ayuda de la recta de calibrado se determinó en cada caso el error relativo de aquella.

Hemos aceptado como límite de tolerancia para el ión extraño, la concentración de éste que origina un error relativo del 5 %. No interfiriendo por tanto aquellas concentraciones de ión extraño que producían un error relativo igual o inferior a ese valor.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.13 y Figuras nº 5.9-5.12.

**Tabla 5.13**

Ión	C (ppb)	$C_{In(III)}$ (ppb)	$\log (C/C_{In(III)})$	Er (%)
Be(II)	2.5	50	- 1.3	+ 1.0
	5	50	- 1	+ 2.1
	50	50	0	+ 9.0
	500	50	1	+ 34.0
Mg(II)	500	50	1	+ 0.3
	5000	50	2	+ 2.9
	50000	50	3	+ 10.0

Ión	C (ppb)	C <sub>INCIII</sub> (ppb)	log (C/C <sub>INCIII</sub> )	Er(%)
Ca(II)	5000	50	2	- 0.1
	50000	50	3	- 1.1
Sr(II)	500	50	1	+ 1.9
	5000	50	2	+ 3.5
	50000	50	3	+ 5.9
Ba(II)	5000	50	2	+ 0.2
	50000	50	3	+ 1.7
Zn(II)	50	50	0	+ 0.8
	500	50	1	+ 3.2
	5000	50	2	+ 12.2
Co(II)	5	50	- 1	+ 3.0
	50	50	0	+ 8.5
	500	50	1	+ 31.2
Ni(II)	5000	50	2	- 0.9
	50000	50	3	- 3.7
Cu(II)	500	50	1	- 0.6
	5000	50	2	- 11.1
	50000	50	3	- 47.1
Cd(II)	5000	50	2	+ 0.9
	50000	50	3	+ 7.8
Pb(II)	5	50	- 1	+ 0.1
	50	50	0	+ 2.7
	500	50	1	+ 9.2

Ión	C (ppb)	C <sub>INCIII</sub> (ppb)	log (C/C <sub>INCIII</sub> )	Er(%)
Mn(II)	5000	50	2	+ 1.2
	50000	50	3	+ 2.3
Fe(III)	5	50	- 1	- 0.2
	50	50	0	- 3.1
	500	50	1	- 9.3
	5000	50	2	- 52.0
Cr(III)	5000	50	2	- 0.5
	50000	50	3	- 3.8
Al(III)	0.75	50	- 1.8	+ 1.2
	1.25	50	- 1.6	+ 4.9
	2.5	50	- 1.3	+ 12.0
	5	50	- 1	+ 55.2
La(III)	500	50	1	+ 0.6
	5000	50	2	+ 4.3
	50000	50	3	+ 12.6
Y(III)	50	50	0	+ 1.4
	500	50	1	+ 11.1
	5000	50	2	+ 61.0
Tl(III)	1.25	50	- 1.6	+ 0.8
	2.5	50	- 1.3	+ 2.5
	5	50	- 1	+ 8.0
Ga(III)	1.25	50	- 1.6	+ 0.7
	2.5	50	- 1.3	+ 2.6
	5	50	- 1	+ 9.8

Ión	C (ppb)	C <sub>INOCIII</sub> (ppb)	log (C/C <sub>INOCIII</sub> )	Er (%)
Sb(III)	50	50	0	- 0.5
	500	50	1	- 3.5
	5000	50	2	- 12.0
	50000	50	3	- 33.3
Bi(III)	5	50	- 1	- 0.6
	50	50	0	- 3.5
	500	50	1	- 15.8
Zr(IV)	1.25	50	- 1.6	+ 0.6
	2.5	50	- 1.3	+ 2.3
	5	50	- 1	+ 6.1
Ce(IV)	5	50	- 1	- 1.6
	50	50	0	- 11.1
	500	50	1	- 25.6
V(V)	1.25	50	- 1.6	- 1.2
	2.5	50	- 1.3	- 4.8
	5	50	- 1	- 9.7
	50	50	0	- 35.1
Cr(VI)	500	50	1	- 0.3
	5000	50	2	- 2.1
	50000	50	3	- 14.2
W(VI)	500	50	1	- 0.7
	5000	50	2	- 16.6
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	50	50	0	+ 2.1
	500	50	1	+ 5.8
	5000	50	2	+ 14.8

Ión	C (ppb)	C <sub>INCHEC</sub> (ppb)	log (C/C <sub>INCHEC</sub> )	Er(%)
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	500	50	1	+ 0.3
	5000	50	2	+ 2.1
	50000	50	3	+ 5.6
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5000	50	2	+ 0.2
	50000	50	3	+ 8.1
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	5000	50	2	+ 0.6
	50000	50	3	+ 7.6
F <sup>-</sup>	5	50	- 1	- 0.2
	50	50	0	- 1.5
	500	50	1	- 46.8
Cl <sup>-</sup>	500	50	1	+ 0.8
	5000	50	2	+ 1.6
	50000	50	3	+ 3.6
AEDT	5	50	- 1	- 1.4
	50	50	0	- 4.6
	500	50	1	- 43.1

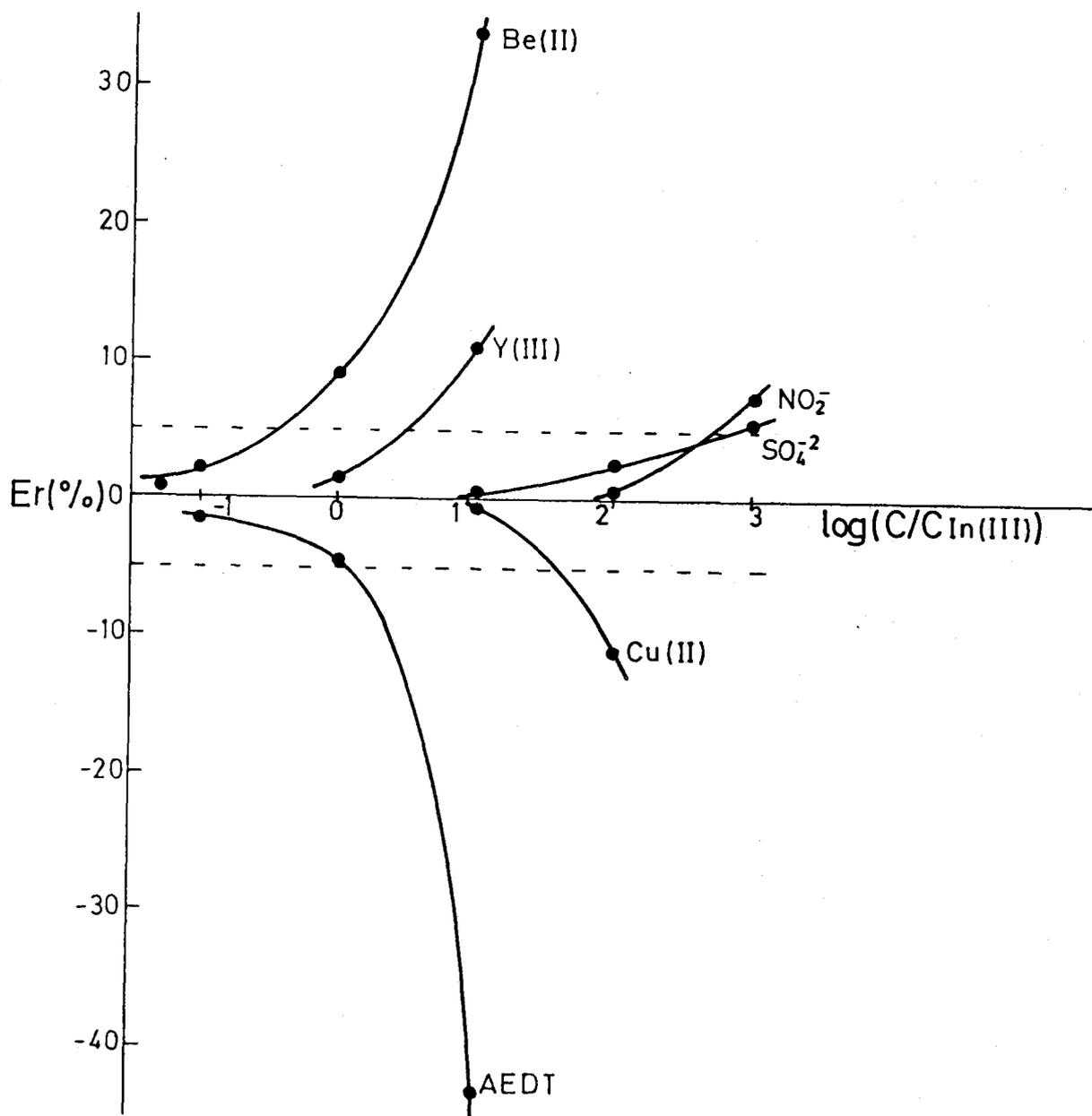


Figura nº 5.9. 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol-In(III)  
Interferencias.

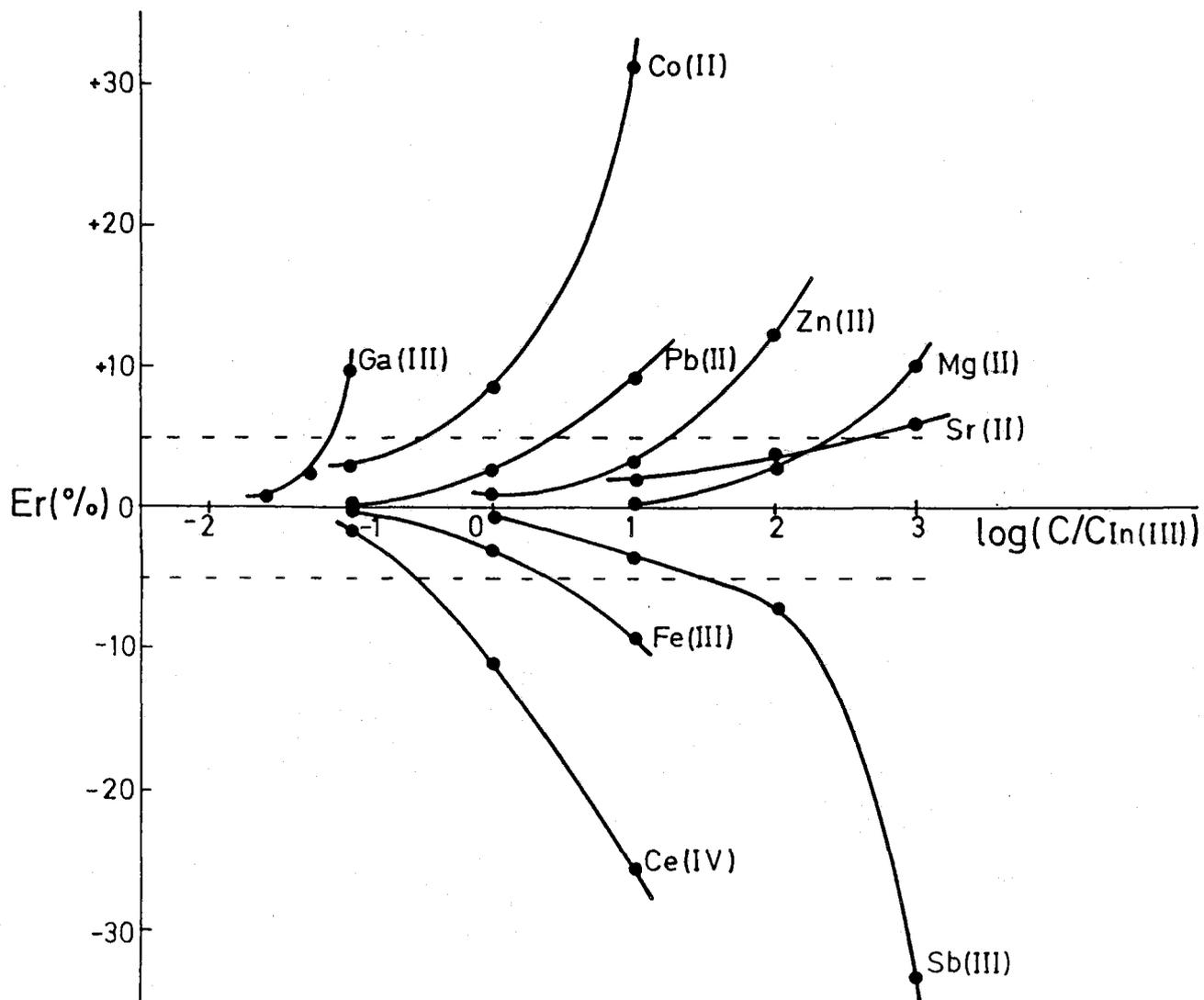


Figura nº 5.10. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol-In(III)  
Interferencias.

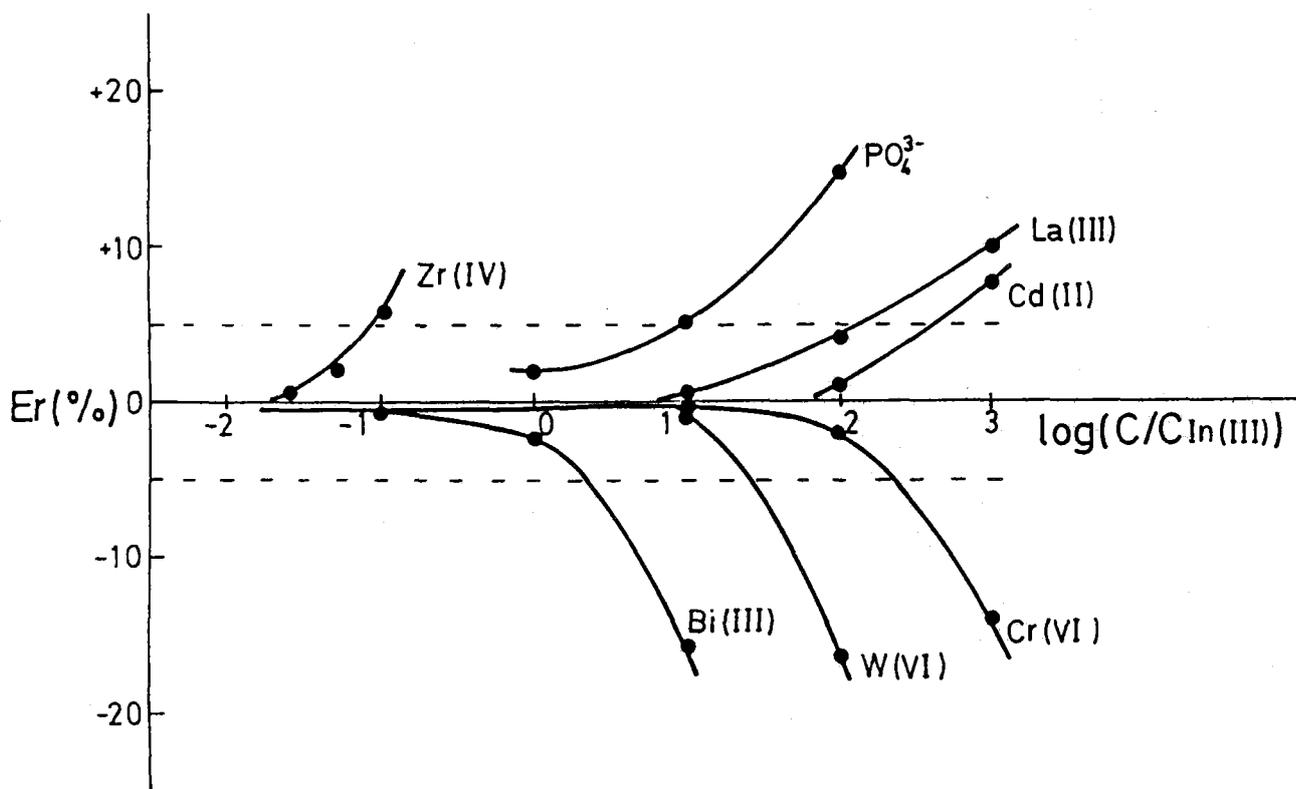


Figura nº 5.11. 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol-In(III)  
Interferencias.

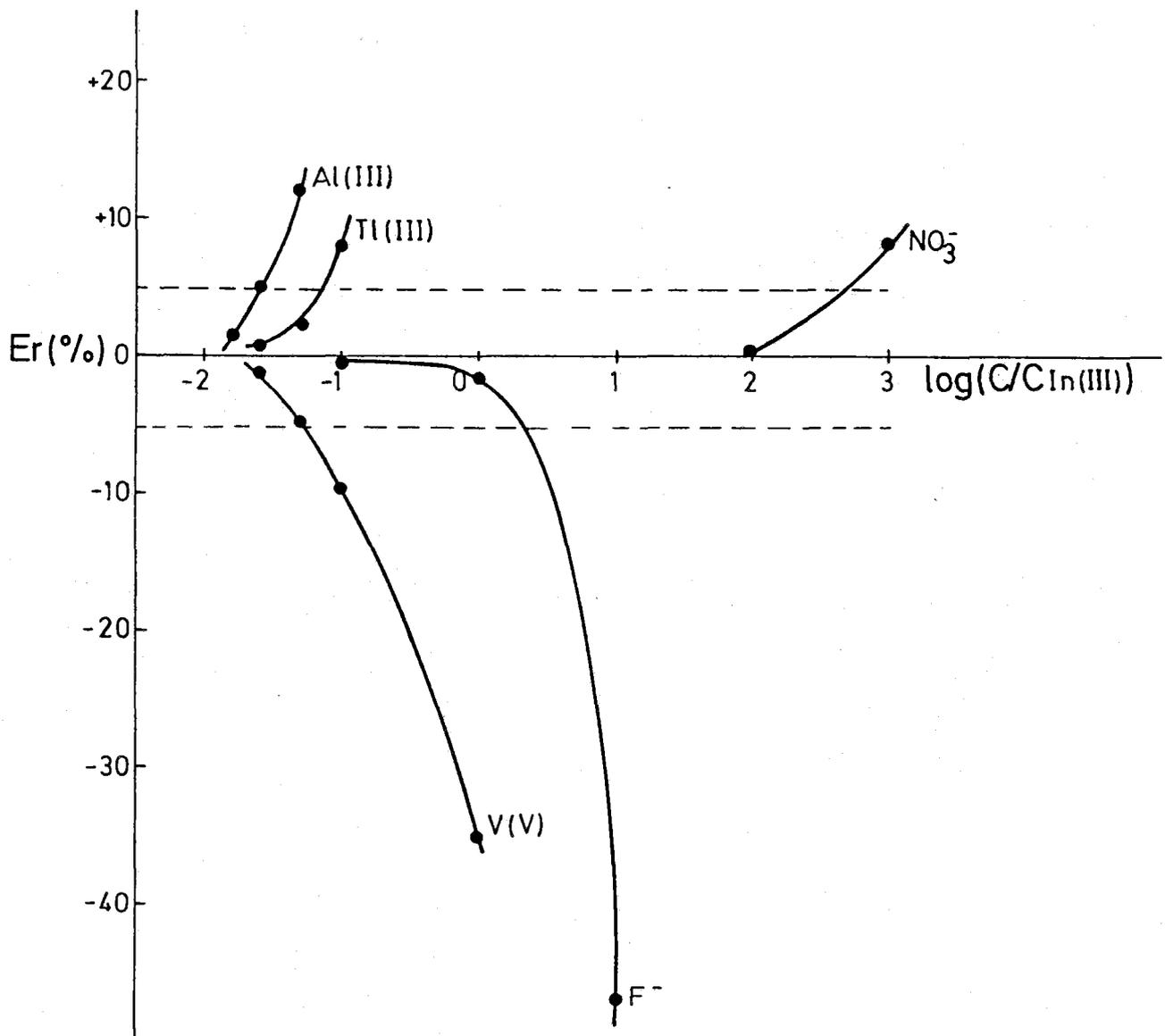


Figura nº 5.12. 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol-In(III)  
Interferencias.

En la Tabla 5.14 se resumen los datos de tolerancia, para los distintos iones extraños, obtenidos a partir de las Figuras nº 5.9-5.12 con el criterio adoptado

Tabla 5.14

Ión extraño	Tolerancia (ppb)	Ión extraño	Tolerancia (ppb)
Be(II)	20	Tl(III)	3.5
Mg(II)	11200	Ga(III)	3
Ca(II)	> 50000	Sb(III)	890
Sr(II)	28120	Bi(III)	71
Ba(II)	> 50000	Zr(IV)	212
Zn(II)	998	Ce(IV)	4
Co(II)	20	V(V)	3
Ni(II)	> 50000	Cr(VI)	11200
Cu(II)	1775	W(VI)	1580
Cd(II)	25060	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	400
Pb(II)	400	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	39720
Mn(II)	> 50000	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7925
Fe(III)	140	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	7925
Cr(III)	> 50000	F <sup>-</sup>	100
Al(III)	1.3	Cl <sup>-</sup>	> 50000
La(III)	6300	AEDT	56
Y(III)	400		

De la Observación de la anterior Tabla 5.14 y Figuras nº 5.9-5.12, puede deducirse:

1.- No interfieren en relación molar ión extraño/In(III) igual o inferior a 100 los iones: Mg(II), Ca(II), Sr(II), Ba(II), Ni(II), Cd(II), Mn(II), Cr(III), La(III), Cr(VI),  $SO_4^{2-}$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$  y  $Cl^-$ . Es decir 14 de los 33 iones ensayados.

2.- Presentan interferencia moderada los iones: Zn(II), Cu(II), Pb(II), Y(III), Sb(III), Zr(IV), W(VI),  $PO_4^{3-}$  y  $F^-$ .

3.- Causa una gran interferencia la presencia de los iones: Be(II), Co(II), Fe(III), Al(III), Tl(III), Ga(III), Bi(III), Ce(IV), V(V) y AEDT.

4.- Los cationes con caracter paramagnético que interfieren (Fe(III), Co(II) y Cu(II)), lo hacen negativamente, exceptuando el caso del Co(II).

5.- Todos los aniones que interfieren lo hacen positivamente a excepción de  $F^-$  y AEDT que lo hacen negativamente.

Por otra parte estos aniones son los que interfieren en mayor extensión probablemente debido a su acción complejante sobre el In(III).

**Determinación de la Estequiometría.-**

El cálculo de la estequiometría del complejo en estudio, 5-ClSOAF-In(III), se realizó mediante el método de Bent y French (85).

Para la aplicación de este método se prepararon dos series de matraces, manteniéndose constante en la primera la concentración de reactivo (5-ClSOAF) y en la segunda serie la concentración de In(III).

En los matraces aforados de 50 mL de la primera serie se introdujeron 2 mL de disolución etanólica de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, cantidades crecientes de disolución de In(III)  $10^{-3}$  M, 2 mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M en etanol del 50 % (v/v) de pH\* 4.70 y cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar el porcentaje etanólico en todas las muestras fuera del 50 % (v/v).

En la segunda serie, los matraces aforados de 50 mL contenían cantidades crecientes de disolución etanólica de 5-ClSOAF  $10^{-3}$  M, 0.5 mL de disolución de In(III)  $10^{-3}$  M, 2 mL de disolución reguladora HCOOH/HCOONa 0.1 M en etanol del 50 % (v/v) de pH\* 4.70 y cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar el porcentaje etanólico de todas las muestras fuera del 50 % (v/v).

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 420$  nm,  $\lambda_{em} = 519$  nm, rendija de excitación de 5 nm, rendija de emisión de 5 nm, factor de sensibilidad 0.3 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 5.15 (A) y (B) se resumen los datos obtenidos para la primera y segunda serie, respectivamente, que han sido representados en la Figura nº 5.13.

Tabla 5.15

(A)

Vol. In(III) (mL)	$-\log\{In(III)\}$	IFR(%)	$\log(IFR)$
0.2	5.40	20.0	1.30
0.3	5.22	24.9	1.40
0.4	5.10	29.5	1.46
0.6	4.92	38.1	1.58
0.8	4.80	44.3	1.65

(B)

Vol. 5-ClSOAF (mL)	$-\log\{5-ClSOAF\}$	IFR(%)	$\log(IFR)$
0.7	4.85	12.6	1.10
0.8	4.80	14.5	1.16
1.0	4.70	18.7	1.27
1.3	4.59	25.7	1.41
1.6	4.49	32.0	1.51

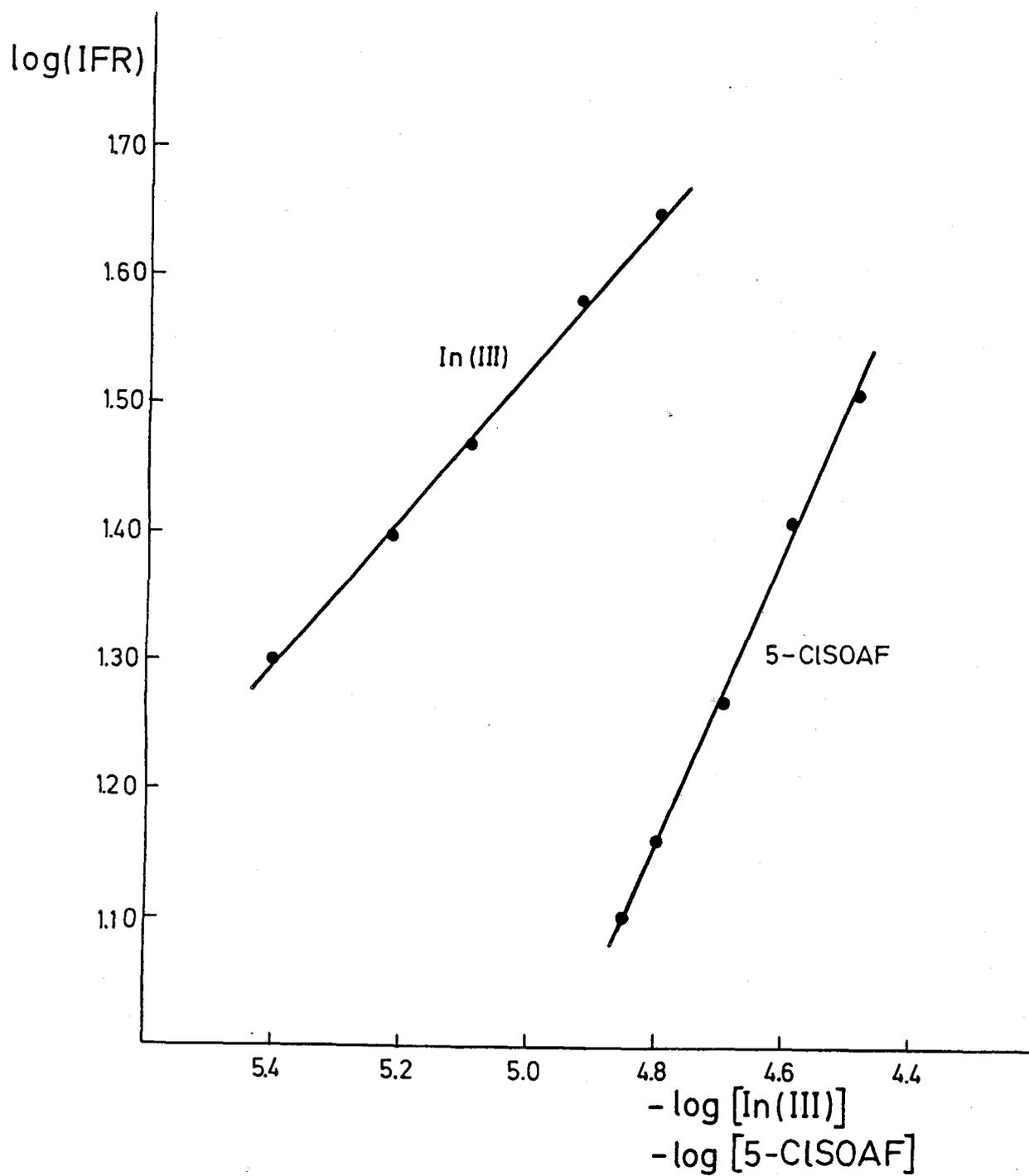


Figura nº 5.13. 5-Clorosaliciliden- $\sigma$ -aminofenol- $\text{In(III)}$ .  
Método de Bent y French.

Como podemos observar en en la Figura nº 5.13 la representación del logaritmo de la intensidad de fluorescencia frente al cologaritmo de la concentración de In(III) (primera serie) es una línea recta que, ajustada por mínimos cuadrados ( $r^2 = 0.998$ ), tiene una pendiente de 0.587.

Igualmente, en la misma Figura nº 5.13, se puede apreciar que la representación del logaritmo de la intensidad de fluorescencia frente al cologaritmo de la concentración de 5-ClSOAF (segunda serie) es una línea recta que, ajustada por mínimos cuadrados ( $r^2 = 0.999$ ), tiene una pendiente de 1.150.

Estos valores obtenidos para las pendientes, nos ponen de manifiesto la existencia de un complejo fluorescente de estequiometría 2:1' (5-ClSOAF : In(III)).

## CAPITULO VI

ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA  
SALICILIDEN-ANILINA-Be (II)



## ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA SALICILIDEN-ANILINA-Be(II).

### INTRODUCCION.

En el estudio de la reaccionabilidad cualitativa fluorescente de la Saliciliden-anilina realizado y cuyos datos se resumen en la Tabla 3.7, se observa que en el intervalo de pH 6-8 reacciona con los cationes Be(II) y Sc(III), presentando los productos de reacción en ambos casos fluorescencia amarillo-verdosa. La elevada sensibilidad de la reacción con Be(II) ( $pD = 6.8$ ) nos ha sugerido la posibilidad de aplicar tal reacción a la determinación cuantitativa espectrofluorimétrica del catión Be(II) para lo que hubimos de estudiar diversos factores influyentes en la intensidad de fluorescencia del sistema, que en forma resumida se describe a continuación.

### EXPERIMENTAL.

#### *Disoluciones empleadas.-*

- Disolución de Be(II)  $10^{-3}$  M, preparada por pesada directa de la cantidad necesaria de  $BeSO_4 \cdot 4H_2O$  MERCK, reactivo para análisis. Todas las demás disoluciones de Be(II) fueron preparadas a partir de ésta por dilución.
- Disolución de SA  $2 \times 10^{-3}$  M en etanol del 99.5 %. Todas las demás disoluciones de SA fueron preparadas a partir de ésta por dilución.
- Disoluciones reguladoras NaAc/HAc 0.5 M de diferentes valores de pH.

#### *Aparatos utilizados.-*

- Los ya indicados en las páginas 243 y 301 al describir los estudios realizados de los sistemas 5-BrSOAF-Ga(III) y 5-ClSOAF-In(III).

*Espectros de Excitación y Emisión.-*

Se establecieron los espectros de excitación y emisión del sistema SA-Be(II), en concentración  $1.6 \times 10^{-4}$  M en SA y  $8 \times 10^{-5}$  M en Be(II) (relación molar 2:1), en disolución hidroalcohólica al 50 % a pH\* 7.10, una vez comprobado que a este valor de pH\* el sistema muestra fluorescencia. Se realizaron las experiencias siguientes:

En un matraz aforado de 25 mL se introdujeron 2 mL de disolución etanólica de Saliciliden-anilina  $2 \times 10^{-3}$  M, 2 mL de disolución de Be(II)  $10^{-3}$  M, 5mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.10, 5mL de etanol del 99.5 % y etanol al 50 % (v/v) hasta enrase.

Para seleccionar las longitudes de onda de los máximos de excitación y emisión se ha seguido el mismo método operatorio indicado en la página 244, realizando en primer lugar un "pre-scan" secuencial de excitación y emisión, lo que nos permite conocer en una primera aproximación las longitudes de onda de dichos máximos de excitación y emisión, realizando a continuación "pre-scan" de excitación y emisión alternativos hasta conseguir un par de valores repetido un número de veces suficientemente representativo.

A continuación se registraron los correspondientes espectros de fluorescencia del sistema en estudio. Para la obtención del espectro de excitación se utilizó una  $\lambda_{exc} = 474$  nm y para el espectro de emisión una  $\lambda_{em} = 386$  nm.

En ambos casos se utilizaron rendijas de excitación y emisión de 2.5 y un factor de sensibilidad de 2.

La Figura nº 6.1 muestra los espectros obtenidos, así como los correspondientes al reactivo en idénticas condiciones experimentales.

El espectro de excitación presenta un máximo a una longitud de onda de 386 nm, mientras que el de emisión aparece a una longitud de onda de 474 nm, lo cual representa un desplazamiento de Stokes de  $4809.69 \text{ cm}^{-1}$ .

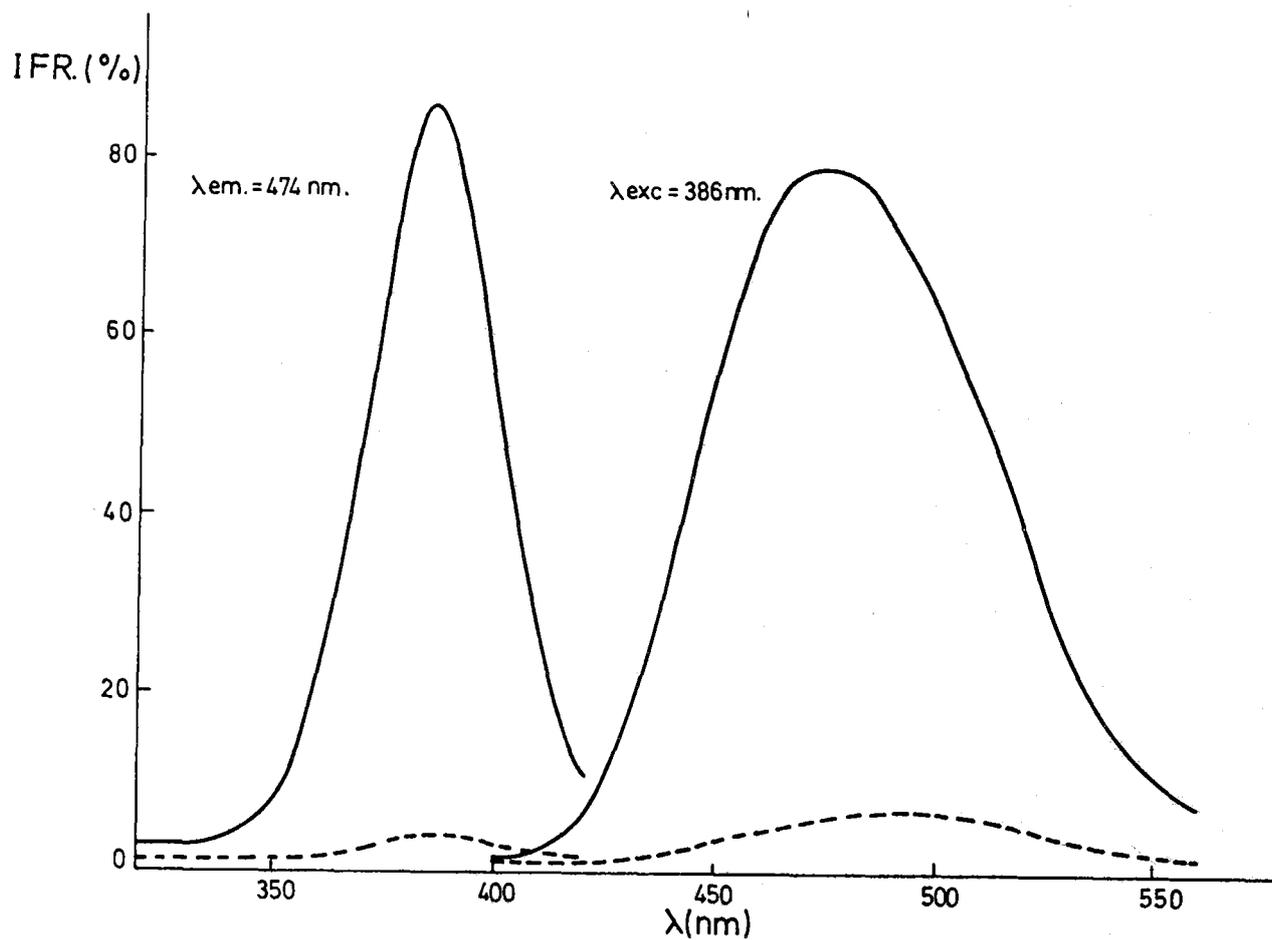


Figura nº 5.1. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Espectros de excitación y emisión.

*Influencia del pH.-*

El establecimiento de la influencia del pH sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio, se efectuó mediante la preparación de una serie de matraces aforados de 25 mL en los que se colocaron 5 mL de disolución etanólica de Saliciliden-anilina  $2 \times 10^{-3}$  M. 5 mL de disolución de Be(II)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disoluciones reguladoras NaAc/HAc 0.5 M de distintos pH, 5 mL de etanol del 99.5 % y etanol al 50 % (v/v) hasta enrase.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 386$  nm,  $\lambda_{em} = 474$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 1 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 6.1 se recogen los datos obtenidos y su representación constituye la Figura nº 6.2.

Tabla 6.1

pH*	IFR(%)
6.70	33.0
6.80	48.0
6.90	58.5
7.00	70.0
7.20	78.5
7.35	68.4
7.45	60.0
7.80	43.5
8.00	40.0

Como puede observarse en la Figura nº 6.2 el rango de pH\* para el que el sistema presenta máxima intensidad de fluorescencia es muy estrecho: 7.00 - 7.30, decreciendo rápidamente para valores tanto superiores como inferiores. Hemos fijado el pH\* óptimo de trabajo en 7.20.

Este valor de pH\* se obtiene mediante la adición de 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.25

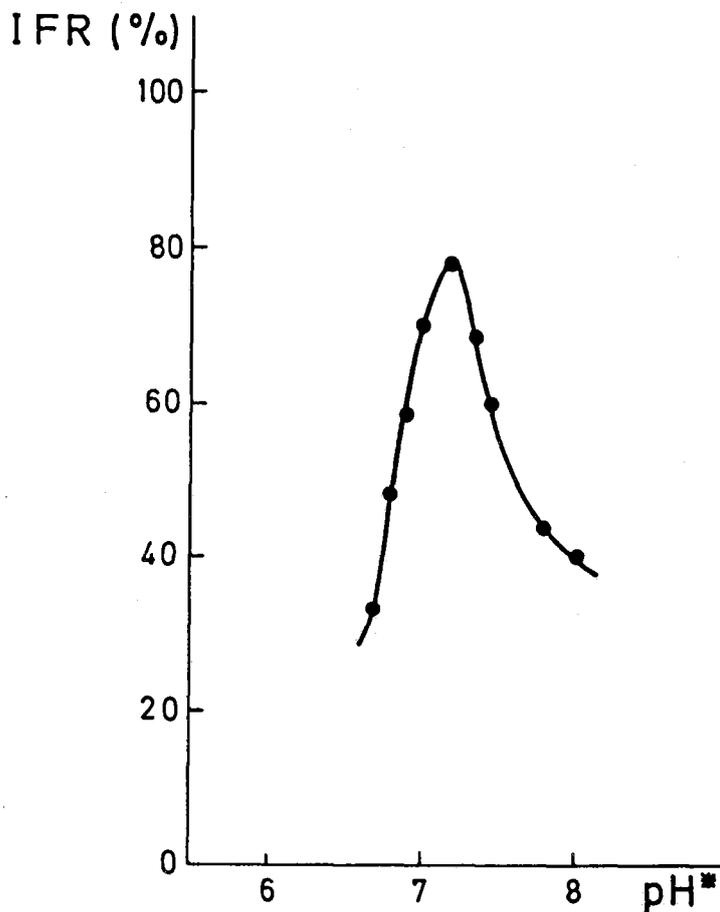


Figura nº 6.2. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Influencia del pH.

**Estabilidad del sistema SA-Be(II).-**

Con objeto de establecer la influencia que el tiempo ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio se preparó una serie de 8 matraces que contenían todos ellos 2 mL de disolución de Be(II)  $10^{-3}$  M, cantidades crecientes (2-12 mL) de disolución de SA  $2 \times 10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.25 y las cantidades necesarias de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico del medio fuera en todos los casos del 50 % (v/v).

Las medidas de la intensidad de fluorescencia se realizaron a una  $\lambda_{em} = 474$  nm, excitando a una  $\lambda_{exc} = 386$  nm. Las rendijas de excitación y emisión fueron de 2.5 nm y el factor de sensibilidad 1.

Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 6.2, 6.3 y Figura nº 6.3.

**Tabla 6.2**

Tiempo (min)	IFR(%)			
	[SA] $1.6 \times 10^{-4}$ M	$3.2 \times 10^{-4}$ M	$4.8 \times 10^{-4}$ M	$5.6 \times 10^{-4}$ M
3	52.1	92.6	101.3	104.2
10	48.1	87.8	105.1	105.7
20	43.1	79.5	102.1	105.1
30	40.2	74.6	99.0	104.8
40	38,5	71.5	98.1	104.5
50	38.1	70.0	97.2	104.2
60	38.0	69.6	95.5	104.1
70	37.5	69.2	95.6	104.2
80	37.6	69.3	95.7	104.0
90	37.5	69.4	95.4	104.3
100	37.6	69.5	95.5	104.1
150	37.1	68.5	95.0	103.6

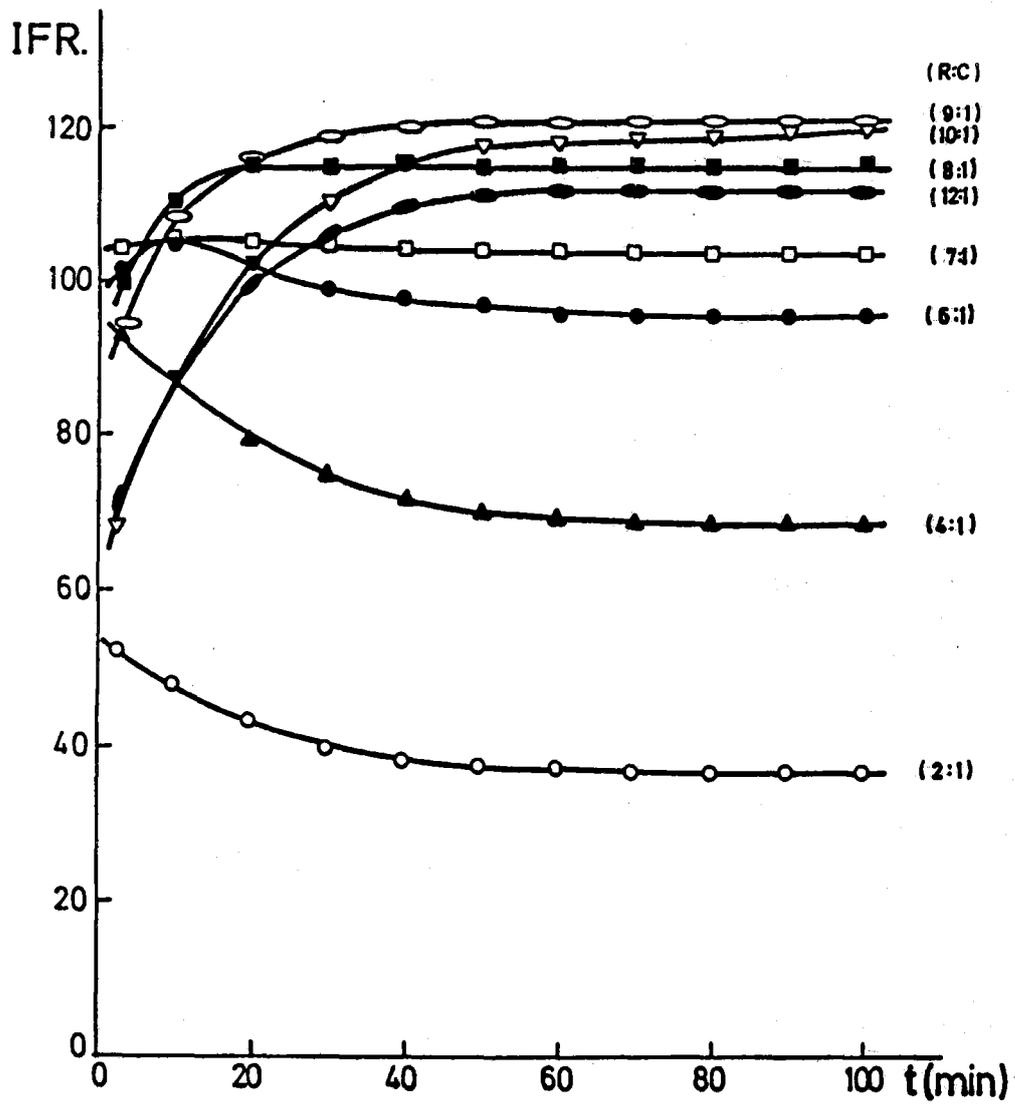


Figura nº 6.3. Saliciliden-anilina-Be(II)

Influencia del tiempo sobre la intensidad de fluorescencia.

Tabla 6.3

Tiempo (min)	[SA]			
	$6.4 \times 10^{-4}$ M	$7.2 \times 10^{-4}$ M	$8 \times 10^{-4}$ M	$9.6 \times 10^{-4}$ M
3	100.1	94.2	68.3	71.2
10	110.1	108.2	87.6	87.5
20	115.1	116.2	102.5	100.1
30	115.2	119.1	110.2	106.0
40	115.3	120.1	115.1	110.1
50	115.2	121.0	117.5	111.1
60	115.1	120.5	118.0	112.0
70	115.3	120.4	118.5	112.1
80	115.2	120.3	119.1	112.2
90	115.0	120.4	119.5	112.1
100	115.2	120.5	120.1	112.0
150	114.8	120.9	120.5	112.6

Los datos que constituyen la anterior Figura nº 6.3, y que muestran la influencia que el tiempo ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema SA-Be(II), indican:

1.- Que para relaciones molares reactivo:cación inferiores a 7:1 la intensidad de fluorescencia del sistema disminuye con el transcurso del tiempo, aumentando para relaciones superiores.

2.- Que independientemente de tales relaciones molares el sistema se estabiliza transcurridos 45 minutos desde su preparación, permaneciendo la medida de fluorescencia constante al menos durante dos horas y media.

Conviene, en consecuencia, esperar 45 minutos antes de realizar la medida de fluorescencia.

*Influencia del Orden de adición de los reactivos.-*

Es sabido que el orden en que se mezclan los reactivos influye notablemente, en muchas ocasiones, en los diferentes parámetros que caracterizan una reacción. Los sistemas que hemos estudiado y resumido en las páginas anteriores no han constituido excepción a ello y por tanto parece lógico tratar de conocer tal efecto en el presente sistema.

Para establecerlo y conocer el orden de adición para el que la intensidad de fluorescencia del sistema SA-Be(II) es máxima, se llevó a cabo la siguiente experiencia:

En una serie de 6 matraces aforados de 25 mL se introdujeron 4 mL de disolución etanólica de Saliciliden-anilina  $2 \times 10^{-3}$  M 1 mL de disolución de Be(II)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.25 y cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que el porcentaje etanólico de todas las muestras fuese del 50 % (v/v), variando en cada uno de los matraces el orden de adición de los reactivos en la forma que se indica en la Tabla 6.4.

En todos los casos las condiciones operatorias fueron:  $\lambda_{exc} = 386$  nm,  $\lambda_{em} = 474$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 1 y temperatura 20°C.

Tabla 6.4

Muestra	Orden de adición	IFR(%)
1	SA + Be(II) + Tampón	49.1
2	SA + Tampón + Be(II)	49.3
3	Be(II) + SA + Tampón	48.9
4	Be(II) + Tampón + SA	48.8
5	Tampón + SA + Be(II)	49.5
6	Tampón + Be(II) + SA	49.2

Los datos que figuran en la Tabla 6.4, indican claramente que el orden de adición de los reactivos no influye sobre la intensidad de fluorescencia del complejo en estudio.

*Influencia de la relación Etanol/Agua del medio.-*

Para determinar el porcentaje etanólico óptimo de las disoluciones muestra del sistema en estudio, se llevo a cabo una experiencia en la que se midió la intensidad de fluorescencia a una disolución  $3.2 \times 10^{-4}$  M en SA y  $4 \times 10^{-6}$  M en Be(II), manteniendo en todos los casos el valor óptimo de pH\* en 7.20 mediante la adición de las cantidades necesarias de HAc y NaOH diluidos (0.5 M) y variando las proporciones de agua y etanol.

Las condiciones experimentales utilizadas para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 386$  nm,  $\lambda_{em} = 474$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 1.5 y temperatura 20 °C.

Los resultados de esta experiencia se recogen en la Tabla 6.5 y se encuentran representados gráficamente en la Figura nº 6.4.

Tabla 6.5

% Etanol	IFR(%)
20	45.3
30	58.8
40	75.2
50	82.5
60	87.2
70	87.0
80	87.3

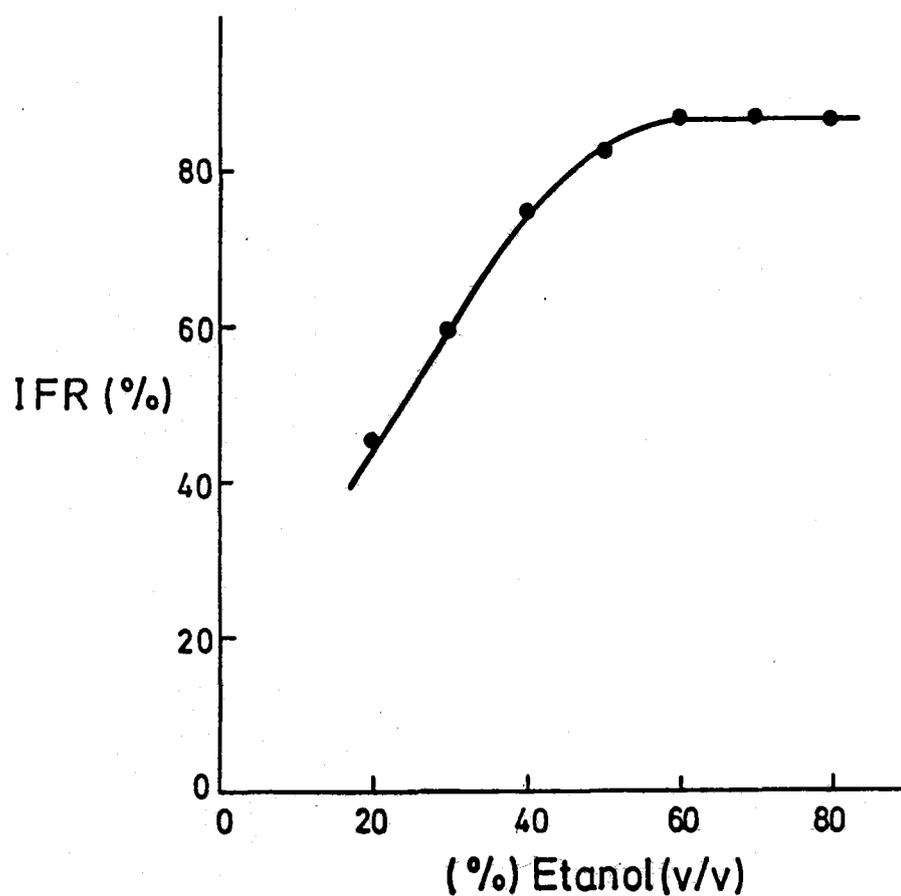


Figura nº 6.4. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Influencia del porcentaje etanólico del medio.

En la Figura nº 6.4 se puede observar una clara dependencia de la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio con el porcentaje de etanol en el medio, pudiendose destacar los siguientes hechos:

- 1.- Al ir aumentando la cantidad de etanol en el medio tiene lugar un aumento progresivo de la intensidad de fluorescencia hasta llegar a un porcentaje del 60 % (v/v).
- 2.- Para porcentajes de etanol superiores al 60 % (v/v) la intensidad de fluorescencia se mantiene constante.

Este comportamiento nos pone de manifiesto la necesidad de controlar el porcentaje etanólico del medio. Para las siguientes experiencias se fijó éste en el 60 % (v/v).

Al igual que en los sistemas fluorescentes anteriormente estudiados en la presente Memoria, no existen desplazamientos significativos en la posición de los máximos de excitación y emisión al variar la constante dieléctrica del medio por lo que pensamos que no tienen lugar cambios sustanciales en la polaridad de las moléculas del sistema con la excitación (78) y que la energía de solvatación de dichas moléculas no varía apreciablemente al variar el porcentaje etanólico del medio (79).

**Influencia de la Temperatura.-**

Para establecerla se realizó una experiencia en la que se midió la intensidad de fluorescencia a una disolución  $3.2 \times 10^{-4}$  M en SA y  $4 \times 10^{-5}$  M en Be(II), a pH\* 7.20 y al 60 % (v/v) de etanol, a diversas temperaturas, utilizando un termostato.

Las condiciones experimentales fueron:  $\lambda_{exc} = 386$  nm,  $\lambda_{em} = 474$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm y factor de sensibilidad 1.5.

Los resultados obtenidos se recogen la Tabla 6.6 y se encuentran representados gráficamente en la Figura nº 6.5.

**Tabla 6.6**

Temperatura (°C)	IFR(%)
10	86.3
15	85.9
20	86.6
25	87.0
30	86.1
35	83.2
40	72.1
45	58.5
50	48.1
55	43.4
60	40.6

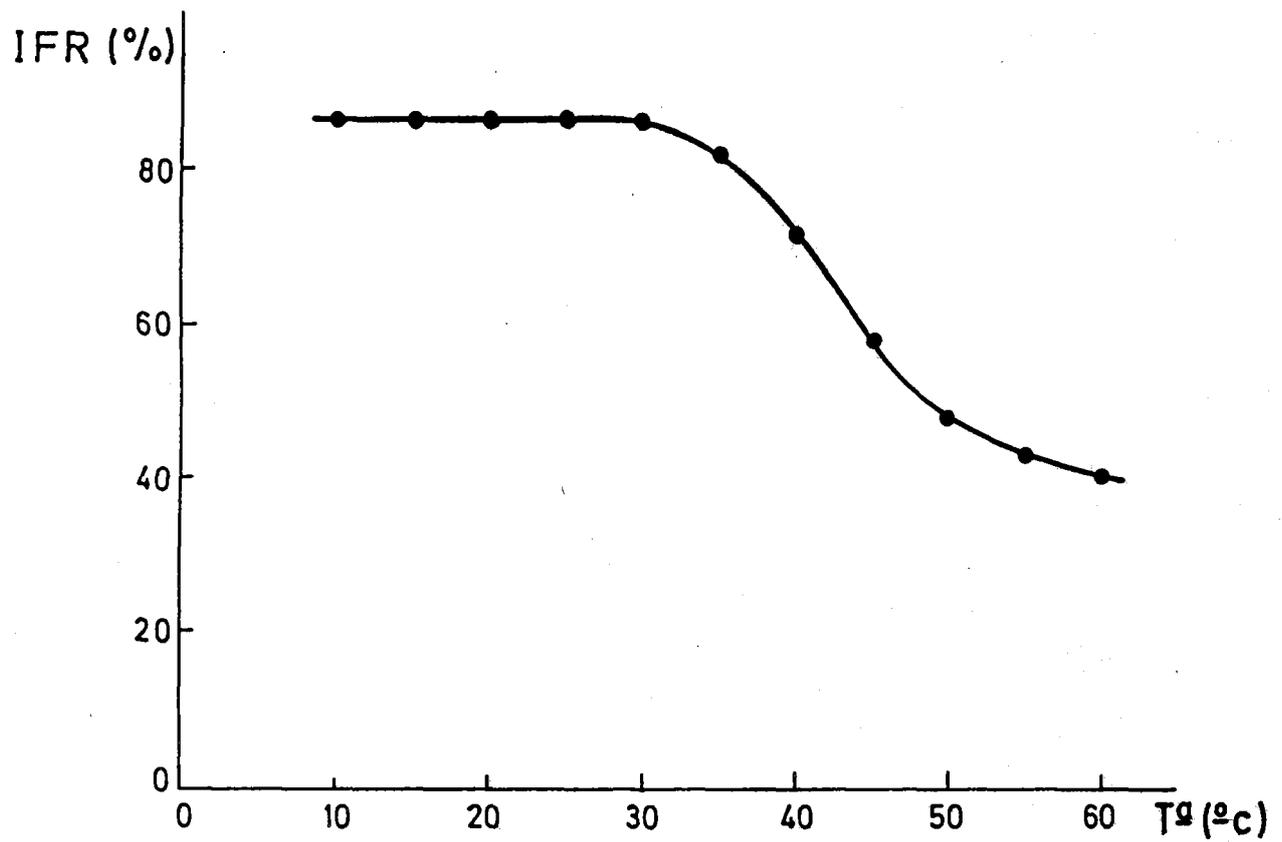


Figura nº 6.5. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Influencia de la Temperatura.

Como puede observarse en la Figura nº 6.5, para valores de temperatura inferiores a 30 °C ésta no influye de manera apreciable sobre la intensidad de fluorescencia, pero sin embargo a partir de los 35 °C se produce una notable disminución de la fluorescencia al aumentar la temperatura.

Este tipo de comportamiento es similar al observado en estudios precedentes de otros sistemas fluorescentes recogidos en la presente Memoria, donde se ha tratado de interpretar dicho comportamiento en base a cuál de los principales procesos de desactivación no radiativa tenga preponderancia sobre los demás.

Así, para el caso donde la intensidad de fluorescencia es prácticamente independiente de la temperatura, hemos considerado que el proceso de desactivación no radiativa principal es el cruce entre sistemas ( $S_1 \rightsquigarrow T_1$ ), dado que éste es independiente de la temperatura, y que el paso posterior al estado fundamental se deba a una desactivación colisional.

En el caso de temperaturas superiores a 35 °C, donde la temperatura influye notablemente sobre la intensidad de fluorescencia, pensamos que el proceso de desactivación no radiativa predominante es la conversión interna, proceso marcadamente dependiente de la temperatura (80).

A partir de los datos obtenidos, hemos optado, para posteriores experiencias, por termostatar las cubetas de medida a  $20 \pm 0.5$  °C, por ser esta temperatura fácil de controlar, dado que es del orden de la ambiental y, porque pequeñas oscilaciones de la misma no afectan de manera apreciable a la medida de la intensidad de fluorescencia.

*Influencia de la concentración de Saliciliden-anilina.-*

La influencia de la concentración del reactivo sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio, se ha establecido siguiendo dos métodos operatorios:

1.- A concentración de Be(II) constante.

Para ello, se preparó una serie de matraces aforados de 25 mL que contenían 2 mL de disolución de Be(II)  $10^{-3}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/Hac 0.5 M de pH 6.10 y las cantidades necesarias de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico del medio en todos los casos fuera del 60 % (v/v).

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 386$  nm,  $\lambda_{em} = 474$  nm, rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.9 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.7 y se han representado gráficamente en la Figura nº 6.6.

Tabla 6.7

[SA]	IFR(%)
$8 \times 10^{-5}$	18.5
$1.6 \times 10^{-4}$	36.1
$3.2 \times 10^{-4}$	69.2
$4.8 \times 10^{-4}$	96.1
$5.6 \times 10^{-4}$	105.2
$6.4 \times 10^{-4}$	116.5
$7.2 \times 10^{-4}$	120.2
$8 \times 10^{-4}$	118.1
$9.6 \times 10^{-4}$	111.2

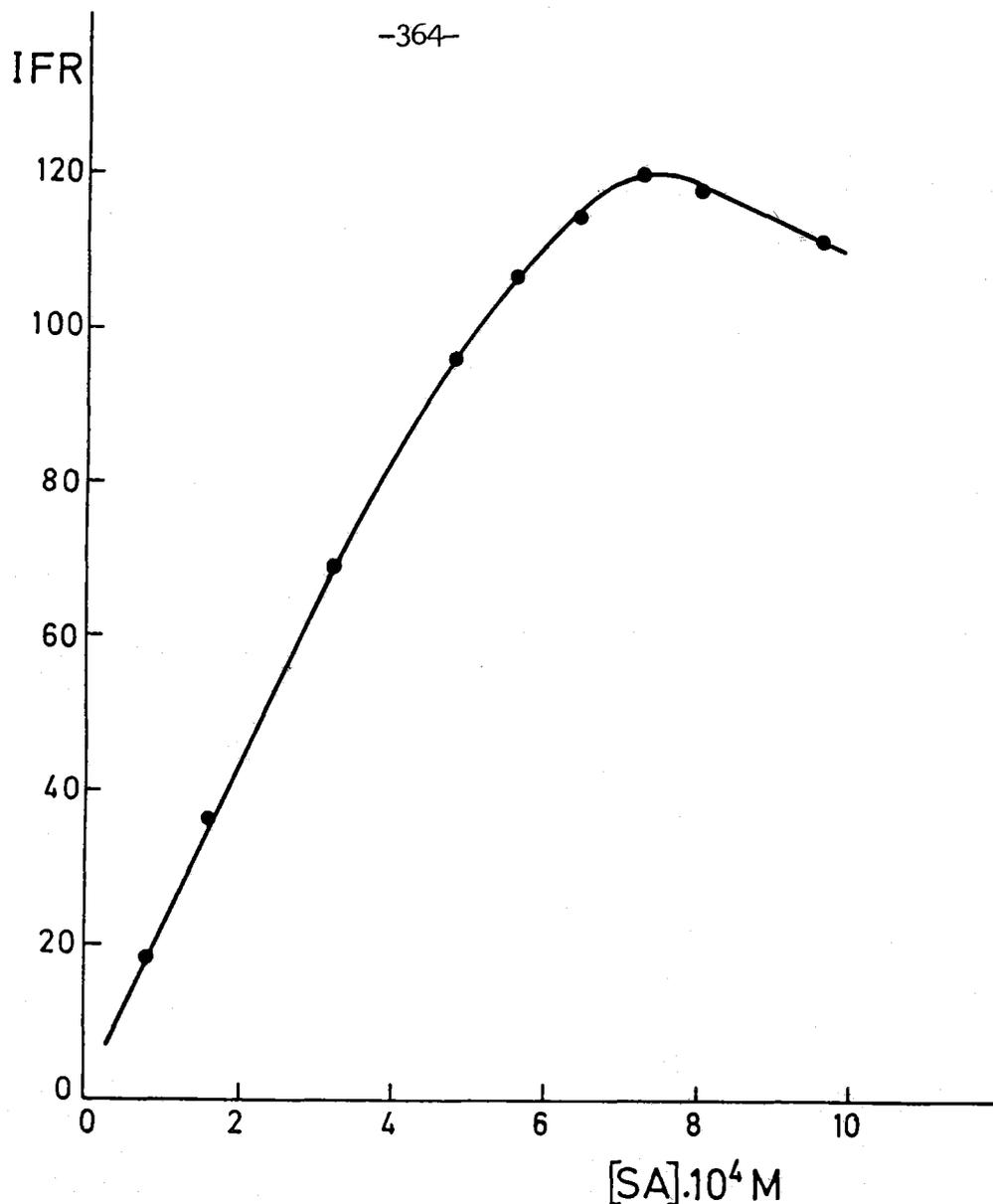


Figura nº 6.6. Saliciliden-anilina-Be(II)

Influencia de la concentración de Saliciliden-anilina.

En la Figura nº 6.6 puede observarse la existencia de una marcada dependencia entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de reactivo. Así, para relaciones molares inferiores a 9:1 (reactivo:cación) la intensidad de fluorescencia del sistema aumenta con la concentración de reactivo, decreciendo con ésta para relaciones molares superiores.

Esta "inversión de fluorescencia" motivada por el aumento de la concentración de reactivo, puede ser atribuida a la re-absorción de la radiación emitida por parte del sistema.

2.- A concentración de Be(II) creciente.

Para su establecimiento se prepararon cinco series de 5 matraces aforados de 25 mL conteniendo cada una de ellas la misma cantidad de disolución etanólica de SA  $10^{-3}$  M ( 2, 3, 4, 5 y 6 mL, respectivamente) y cantidades crecientes de disolución de Be(II)  $2 \times 10^{-5}$  M (0.8-5.0 mL), 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.10 y las cantidades necesarias de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico del medio en todos los casos fuera del 60 % (v/v).

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 386$  nm,  $\lambda_{em} = 474$  nm, rendija de excitación 2.5 nm, rendija de emisión 10 nm, factor de sensibilidad 0.9 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.8 y se han representado gráficamente en la Figura nº 6.7.

Tabla 6.8

[SA] = $8 \times 10^{-5}$ M					
ppb Be(II)	5.76	14.40	21.60	28.80	36.00
IFR (%)	38.1	45.7	53.0	61.9	69.0
IFR = 1.04 [Be(II)] + 31.4			$r^2 = 0.997$		
[SA] = $1.2 \times 10^{-4}$ M					
ppb Be(II)	5.76	14.40	21.60	28.80	
IFR (%)	70.0	93.3	114.1	137.7	
IFR = 2.93 [Be(II)] + 52.1			$r^2 = 0.998$		

[SA] =  $1.6 \times 10^{-4}$  M

---

ppb Be(II)	5.76	10.80	14.40	18.00
------------	------	-------	-------	-------

---

IFR (%)	81.8	108.6	129.0	145.5
---------	------	-------	-------	-------

---

$$\text{IFR} = 5.25 [\text{Be(II)}] + 51.9 \quad r^2 = 0.999$$

[SA] =  $2 \times 10^{-4}$  M

---

ppb Be(II)	5.76	10.80	14.40	18.00	21.60
------------	------	-------	-------	-------	-------

---

IFR (%)	106.58	126.6	144.1	154.0	157.4
---------	--------	-------	-------	-------	-------

---

[SA] =  $2.4 \times 10^{-4}$  M

---

ppb Be(II)	5.76	10.80	14.40	18.00
------------	------	-------	-------	-------

---

IFR (%)	102.2	115.1	131.2	150.6
---------	-------	-------	-------	-------

---

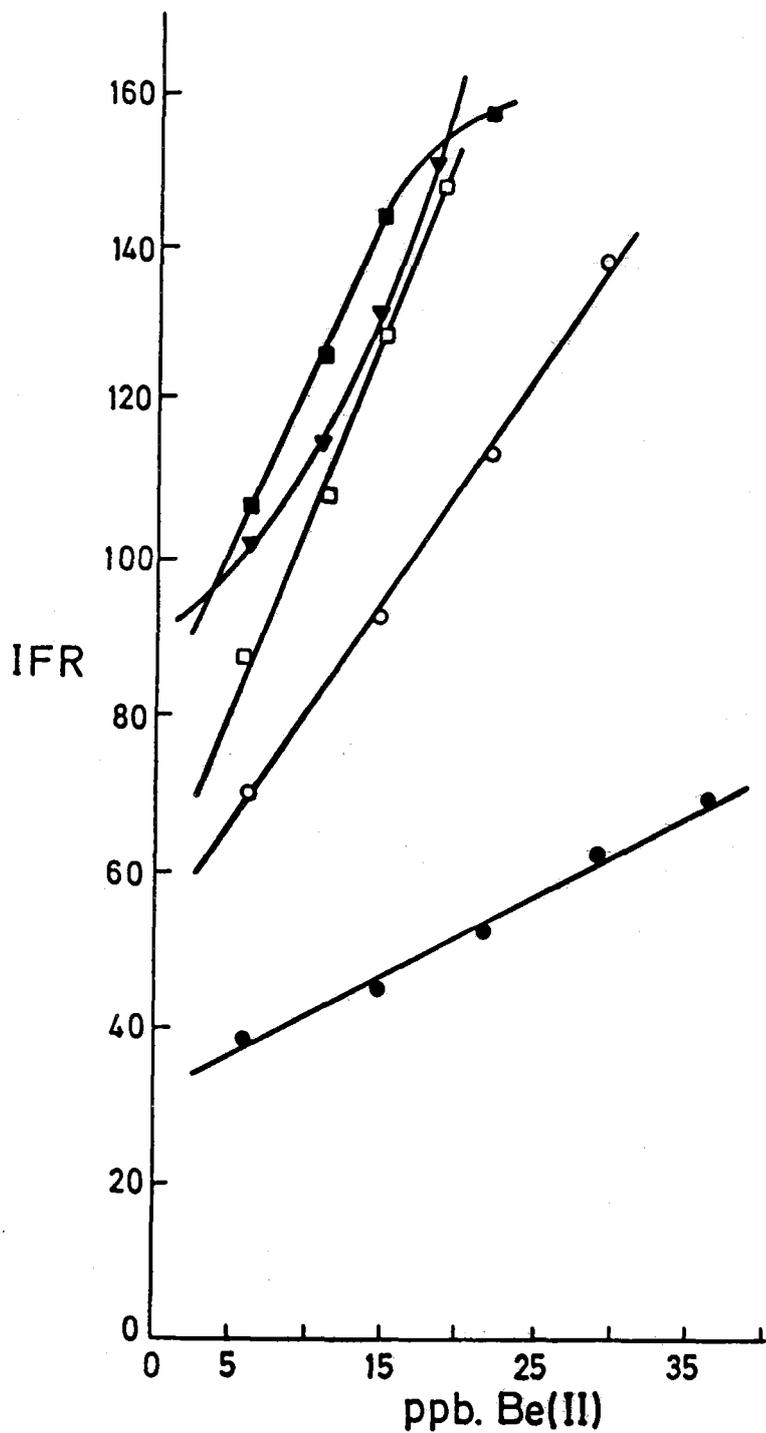


Figura nº 6.7. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Influencia de la concentración de Saliciliden-anilina.

De la observación de la anterior Tabla 6.8 y Figura nº 6.7 puede deducirse:

1.- Para concentración de reactivo igual o inferior a  $1.6 \times 10^{-4}$  M existe una relación lineal entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de Be(II). Para concentraciones de reactivo superiores a ésta la relación existente deja de ser lineal.

2.- La pendiente de las rectas, para aquellas concentraciones donde existe relación lineal, aumenta al aumentar la concentración de reactivo, alcanzando su valor máximo para una concentración de éste de  $1.6 \times 10^{-4}$  M.

Estos resultados nos permiten seleccionar como óptima la concentración de reactivo de  $1.6 \times 10^{-4}$  M para el establecimiento de las rectas de calibrado en la experiencia siguiente

**Rectas de Calibrado.-**

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las experiencias previas de optimización, se ha establecido la recta de calibrado en el rango de concentraciones de Be(II) comprendido entre 1.44 y 18.00 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), para el cual la intensidad de fluorescencia del complejo en estudio es una función lineal de la concentración de catión metálico.

Se preparó a tal fin una serie de 6 matraces aforados de 25 mL, en los que se introdujeron: 4 mL de disolución etanólica de SA  $10^{-3}$  M, de 0.2 a 2.5 mL de disolución acuosa de Be(II)  $2 \times 10^{-5}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.10 y las cantidades de etanol del 99.5 % y de agua bidestilada adecuadas para que al enrasar los matraces, el porcentaje etanólico de todas las muestras fuera del 60 % (v/v).

Las condiciones operatorias de medida fueron  $\lambda_{\text{exc}} = 386$  nm,  $\lambda_{\text{em}} = 474$  nm, rendija de excitación 25 nm, rendija de emisión 10 nm, factor de sensibilidad 1, y temperatura 20 °C.

La experiencia se repitió siete veces al objeto de obtener las correspondientes rectas de calibrado que nos aportasen los datos suficientes para poder determinar con posterioridad el límite de detección, reproducibilidad y sensibilidad del método.

Los datos obtenidos se recogen en la Tabla 6.9.

**Tabla 6.9**

Recta nº 1.

ppb Be(II)	1.44	3.60	7.20	10.80	14.40	18.00
IFR (%)	61.8	77.1	97.5	117.5	139.2	162.3

$$\text{IFR} = 6.0 [\text{Be(II)}] + 54.2 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 2.

---

ppb Be(II)	1.44	3.60	7.20	10.80	14.40	18.00
IFR (%)	68.1	78.2	100.1	120.8	141.5	165.8

---

$$\text{IFR} = 6.0 [\text{Be(II)}] + 56.4 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 3.

---

ppb Be(II)	1.44	3.60	7.20	10.80	14.40	18.00
IFR (%)	65.5	71.6	100.4	121.4	141.4	165.7

---

$$\text{IFR} = 6.2 [\text{Be(II)}] + 53.9 \quad r^2 = 0.996$$

Recta nº 4.

---

ppb Be(II)	1.44	3.60	7.20	10.80	14.40	18.00
IFR (%)	65.3	78.2	104.3	122.1	144.5	165.3

---

$$\text{IFR} = 6.0 [\text{Be(II)}] + 57.6 \quad r^2 = 0.998$$

Recta nº 5.

---

ppb Be(II)	1.44	3.60	7.20	10.80	14.40	18.00
IFR (%)	65.1	79.1	101.5	124.5	149.2	170.1

---

$$\text{IFR} = 6.4 [\text{Be(II)}] + 55.9 \quad r^2 = 0.999$$

Recta nº 6.

---

ppb Be(II)	1.44	3.60	7.20	10.80	14.40	18.00
IFR (%)	62.6	74.1	101.7	122.0	139.5	160.2

---

$$\text{IFR} = 5.9 [\text{Be(II)}] + 55.3 \quad r^2 = 0.995$$

Recta nº 7.

---

ppb Be(II)	1.44	3.60	7.20	10.80	14.40	18.00
IFR (%)	61.8	78.5	98.5	120.3	141.2	161.6

---

$$\text{IFR} = 6.0 [\text{Be(II)}] + 55.1 \quad r^2 = 0.999$$

En la Figura nº 6.8 se han representado los datos correspondientes a la recta de calibrado nº 1.

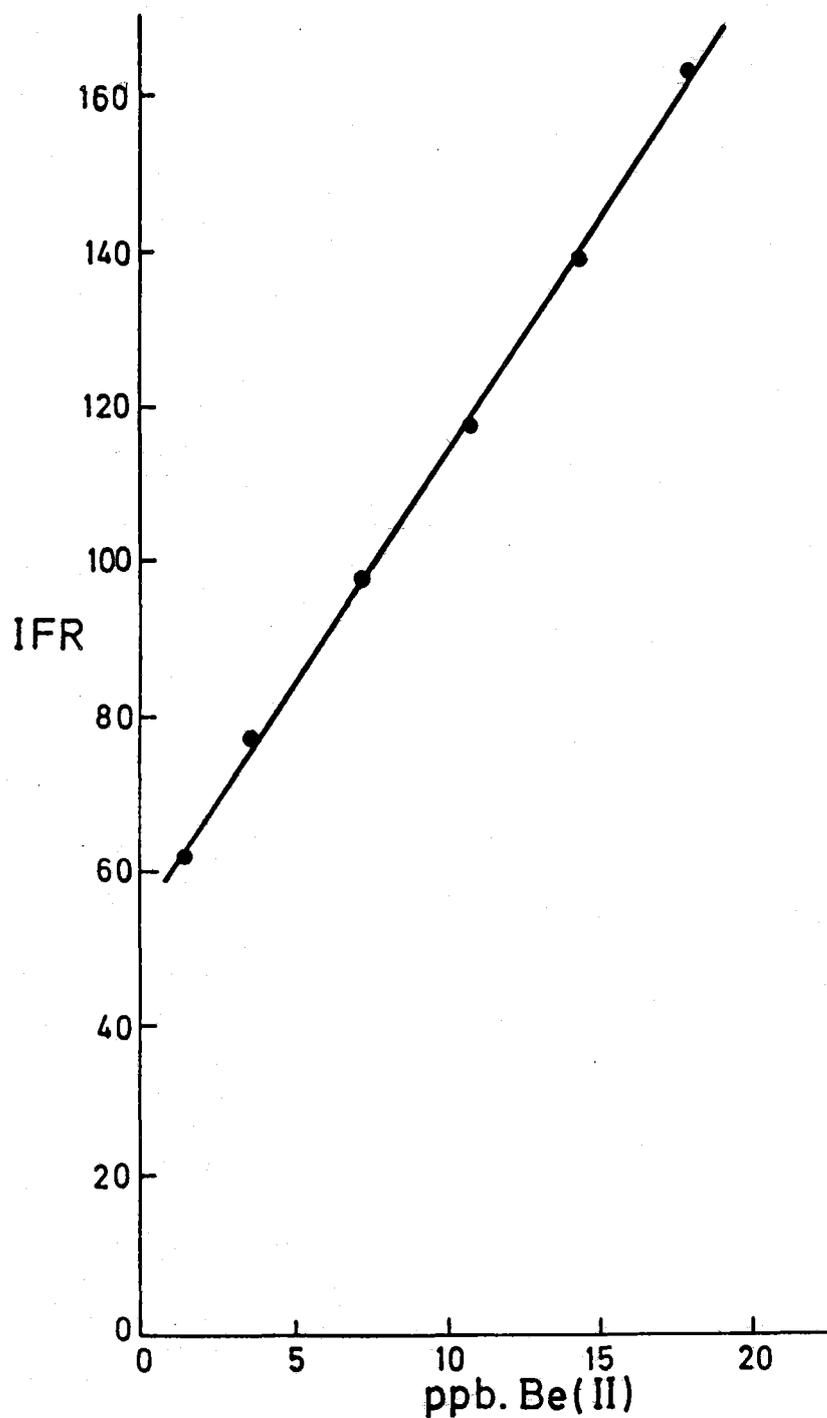


Figura nº 6.8. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Recta de calibrado.

**Determinación de Be(II).-**

La optimización de las variables que influyen sobre la intensidad de fluorescencia del sistema SA-Be(II), realizada anteriormente, nos ha permitido proponer el siguiente procedimiento operatorio para la determinación de este catión.

**Procedimiento operatorio.-**

**Recta de calibrado.-** La recta de calibrado se obtiene preparando 6 disoluciones con una concentración en Be(II) de 1.44; 3.60; 7.20; 10.80; 14.40 y 18.00 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), para lo cual en matraces aforados de 25 mL se pipetea 4 mL de disolución etanólica de SA  $10^{-3}$  M, se añaden 0.2; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0 y 2.5 mL de disolución de Be(II)  $2 \times 10^{-6}$  M, 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.10, 9 mL de etanol del 99.5 % y se enrasa con agua bidestilada. Transcurridos 45 minutos se mide la intensidad de fluorescencia a una  $\lambda_{em} = 474$  nm, siendo la  $\lambda_{exc} = 386$  nm.

**Disolución problema.-** La disolución problema se prepara introduciendo en un matraz aforado de 25 mL, 4 mL de disolución etanólica de SA  $10^{-3}$  M, el volumen necesario de disolución problema original como para que la concentración final de Be(II) esté comprendida entre 1.44 y 18.00 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), 5 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.10 y las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar el porcentaje etanólico de la disolución sea del 60 %.

Se dejan transcurrir 45 minutos y se mide su intensidad de fluorescencia en las mismas condiciones operatorias empleadas en la recta de calibrado.

**Reproducibilidad del método.-**

A partir de los datos obtenidos en el establecimiento de las rectas de calibrado, estudio anteriormente realizado, hemos seleccionado los correspondientes a un contenido de Be(II) de 1.44; 7.20 y 18.00 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ).

Los resultados correspondientes a cada una de las tres series se encuentran recogidos en la Tabla 6.10.

Tabla 6.10

IFR (%) (1.44 ppb)	IFR (%) (7.20 ppb)	IFR (%) (18.00 ppb)
61.8	97.5	162.3
65.1	100.1	165.8
65.5	100.4	165.7
65.3	104.3	165.3
65.1	101.5	170.1
62.6	101.7	160.2
61.8	98.5	161.6

El cálculo estadístico efectuado con la primera serie de medidas, correspondiente a un contenido en Be(II) de 1.44 ppb, nos da un valor para  $\sigma_{n-1} = 1.7$ .

Este valor para  $\sigma_{n-1}$  indica, con una probabilidad del 68 %, que una medida aislada de intensidad de fluorescencia se encuentra comprendida en el intervalo  $\overline{\text{IFR}} \pm \sigma_{n-1}$ , es decir entre 66 y 62.

Por consiguiente el error relativo sobre el valor medio será:

$$\text{Er} = (\sigma_{n-1} / \overline{\text{IFR}}) \times 100 = 3.13 \%$$

Si el análisis es efectuado sobre un número "n" de muestras el Er correspondiente decrece en  $\sqrt{n}$ .

En la Tabla 6.11 se resumen los resultados obtenidos en el cálculo estadístico realizado sobre las tres series.

Tabla 6.11

ppb Be(II) puestas.	$\overline{\text{IFR}}$ (%)	$\sigma_{n-1}$	Er (%)
1.44	63.9	1.7	3.13
7.20	100.6	2.2	1.98
18.00	164.4	3.3	1.83

*Sensibilidad del método.-*

La sensibilidad del método se ha establecido de acuerdo con la definición de sensibilidad de un procedimiento analítico, expresado en anteriores apartados de la presente Memoria.

Utilizando los datos suministrados por la anterior experiencia, encaminada a establecer la relación entre la intensidad de fluorescencia del complejo en estudio y la concentración de Be(II) (rectas de calibrado), hemos realizado el cálculo estadístico de la sensibilidad del nuevo método propuesto para la determinación de Be(II).

Las condiciones operatorias son las descritas en el apartado correspondiente al estudio de las rectas de calibrado.

Los resultados obtenidos, así como el tratamiento estadístico efectuado, se recogen en la Tabla 6.12

Tabla 6.12

R. calibrado	s
1	6.0
2	6.0
3	6.2
4	6.0
5	6.4
6	5.9
7	6.0

$\bar{s} = 6.1$   
 $\sigma_{n-1} = 0.2$

El valor de  $\sigma_{n-1}$  nos indica, con una certeza del 68 %, que una determinación aislada de la sensibilidad se encuentra comprendida en el intervalo  $\bar{s} \pm \sigma_{n-1}$ , es decir entre 6.3 y 5.9 unidades relativas de intensidad de fluorescencia por ppb de Be(II).

Por tanto, el error relativo sobre el valor medio será:

$$Er = (\sigma_{n-1} / \bar{s}) \times 100 = 3.28 \%$$

**Límite de detección.-**

Cuando hemos realizado el estudio encaminado a la obtención las rectas de calibrado, se ha comprobado que el valor de la intensidad de fluorescencia correspondiente a los blancos (disoluciones de referencia) es ligeramente inferior al valor de la intensidad de fluorescencia correspondiente a las ordenadas en el origen de las mencionadas rectas de calibrado.

Siguiendo con el criterio adoptado en capítulos anteriores de la presente Memoria Doctoral, el cálculo del límite de detección del nuevo método propuesto para la determinación de trazas de Be(II) se ha efectuado en base al tratamiento estadístico realizado a los valores de intensidad de fluorescencia correspondientes a las distintas ordenadas en el origen que muestran las rectas de calibrado.

En la Tabla 6.13 se muestran los datos obtenidos, así como el tratamiento estadístico efectuado.

**Tabla 6.13**

R. calibrado	(IFR) <sub>o</sub>
1	54.2
2	56.4
3	53.9
4	57.6
5	55.9
6	55.3
7	55.3
-----	
	$\overline{(IFR)}_o = 55.5$
	$\sigma_{n-1} = 1.3$

Luego el límite de detección será:

$$C_L = (K \sigma_{n-1}) / \bar{s} = (3 \times 1) / 6.1 = 0.5 \text{ ppb.}$$

Si la intensidad de fluorescencia de una disolución problema es  $IFR > 56 + (3 \times 1) = 59$ , podemos afirmar con una certeza del 99.86 % que el Be(II) está presente en la disolución.

**Interferencias.-**

Se ha estudiado la influencia que la presencia de iones extraños ejerce en la determinación de Be(II) por el procedimiento operatorio propuesto.

Para ello, se preparó una serie de matraces aforados de 25 mL para cada ión extraño ensayado, que contenían siempre 10.80 ppb de Be(II) y concentraciones crecientes de aquel. Estas disoluciones fueron tratadas de la misma forma operatoria que se indica en el procedimiento propuesto, página 373.

De la medida de la intensidad de fluorescencia de cada disolución y con la ayuda de la recta de calibrado se determinó en cada caso el error relativo de aquella.

Hemos aceptado como límite de tolerancia para el ión extraño, la concentración de éste que origina un error relativo del 5 %. No interfiriendo por tanto aquellas concentraciones de ión extraño que producían un error relativo igual o inferior a ese valor.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.14 y Figuras nº 6.9-6.14

Tabla 6.13

Ión	C (ppb)	C <sub>Be(II)</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Be(II)</sub> )	Er (%)
Mg(II)	121	10.80	1.05	+ 0.5
	1210	10.80	2.05	+ 3.1
	12100	10.80	3.05	+ 3.3
Ca(II)	12100	10.80	3.05	+ 0.5
Sr(II)	1210	10.80	2.05	- 0.3
	12100	10.80	3.05	- 0.8

Ión	C (ppb)	$C_{B=Ca(II)}$ (ppb)	$\log (C/C_{B=Ca(II)})$	Er (%)
Ba(II)	121	10.80	1.05	+ 0.5
	1210	10.80	2.05	+ 2.1
	12100	10.80	3.05	+ 26.5
Zn(II)	1.21	10.80	- 0.95	+ 0.4
	12.1	10.80	0.05	+ 1.2
	121	10.80	1.05	+ 4.8
	1210	10.80	2.05	+ 11.5
Co(II)	121	10.80	1.05	+ 1.1
	1210	10.80	2.05	+ 7.6
	12100	10.80	3.05	+ 27.5
Ni(II)	1.21	10.80	- 0.95	- 0.7
	12.1	10.80	0.05	- 1.6
	121	10.80	1.05	- 3.4
	1210	10.80	2.05	- 7.0
	12100	10.80	3.05	- 14.1
Cu(II)	12.1	10.80	0.05	- 0.1
	121	10.80	1.05	- 10.0
	1210	10.80	2.05	- 61.2
Cd(II)	121	10.80	1.05	- 0.8
	1210	10.80	2.05	- 2.8
	12100	10.80	3.05	- 5.6
Pb(II)	121	10.80	1.05	0.0
	1210	10.80	2.05	- 1.6
	12100	10.80	3.05	- 3.1

Ión	C (ppb)	C <sub>Be(II)</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Be(II)</sub> )	Er(%)
Mn(II)	121	10.80	1.05	- 0.1
	1210	10.80	2.05	- 0.4
	12100	10.80	3.05	- 2.9
Hg(II)	1.21	10.80	- 0.95	- 0.8
	12.1	10.80	0.05	- 2.1
	121	10.80	1.05	- 4.8
	1210	10.80	2.05	- 12.6
Fe(III)	12.1	10.80	0.05	0.0
	121	10.80	1.05	- 5.8
	1210	10.80	2.05	- 68.1
Cr(III)	1.21	10.80	- 0.95	- 0.8
	12.1	10.80	0.05	- 2.1
	121	10.80	1.05	- 5.5
	1210	10.80	2.05	- 15.5
Al(III)	12.1	10.80	0.05	- 0.1
	121	10.80	1.05	- 0.5
	1210	10.80	2.05	- 1.2
	12100	10.80	3.05	- 16.9
Y(III)	1.21	10.80	- 0.95	+ 0.7
	12.1	10.80	0.05	+ 1.7
	121	10.80	1.05	+ 5.9
	1210	10.80	2.05	+ 14.5
	12100	10.80	3.05	+ 24.8
Tl(III)	12.1	10.80	0.05	- 0.2
	121	10.80	1.05	- 0.7
	1210	10.80	2.05	- 1.6
	12100	10.80	3.05	- 23.0

Ión	C (ppb)	C <sub>Basé (III)</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Basé (III)</sub> )	Er (%)
In(III)	1.21	10.80	- 0.95	- 0.2
	12.1	10.80	0.05	- 0.8
	121	10.80	1.05	- 3.6
	1210	10.80	2.05	- 60.2
Ga(III)	1.21	10.80	- 0.95	- 0.5
	12.1	10.80	0.05	- 1.1
	121	10.80	1.05	- 3.7
	1210	10.80	2.05	- 20.8
Bi(III)	1.21	10.80	- 0.95	- 0.9
	12.1	10.80	0.05	- 3.2
	121	10.80	1.05	- 5.6
	1210	10.80	2.05	- 52.5
Zr(IV)	1.21	10.80	- 0.95	- 1.1
	12.1	10.80	0.05	- 3.2
	121	10.80	1.05	- 9.9
	1210	10.80	2.05	- 33.6
V(V)	121	10.80	1.05	- 0.1
	1210	10.80	2.05	- 7.9
	12100	10.80	3.05	- 52.7
As(V)	12100	10.80	3.05	- 0.1
Cr(VI)	12.1	10.80	0.05	- 0.2
	121	10.80	1.05	- 3.7
	1210	10.80	2.05	- 10.6
	12100	10.80	3.05	- 28.3

Ión	C (ppb)	C <sub>ES&lt;II&gt;</sub> (ppb)	log (C/C <sub>ES&lt;II&gt;</sub> )	Er (%)
W(VI)	1.21	10.80	- 0.95	- 0.2
	12.1	10.80	0.05	- 0.8
	121	10.80	1.05	- 1.5
	1210	10.80	2.05	- 3.2
	12100	10.80	3.05	- 5.7
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	1.21	10.80	- 0.95	- 1.8
	12.1	10.80	0.05	- 2.1
	121	10.80	1.05	- 3.2
	1210	10.80	2.05	- 23.5
	12100	10.80	3.05	- 40.4
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	12.1	10.80	0.05	- 0.7
	121	10.80	1.05	- 1.3
	1210	10.80	2.05	- 2.5
	12100	10.80	3.05	- 4.7
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	121	10.80	1.05	- 0.8
	1210	10.80	2.05	- 1.3
	12100	10.80	3.05	- 2.2
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	12.1	10.80	0.05	+ 2.1
	121	10.80	1.05	+ 3.2
	1210	10.80	2.05	+ 4.6
	12100	10.80	3.05	+ 5.5
Cl <sup>-</sup>	121	10.80	1.05	- 0.9
	1210	10.80	2.05	- 1.9
	12100	10.80	3.05	- 2.7

Ión	C (ppb)	C <sub>Es&lt;II&gt;</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Es&lt;II&gt;</sub> )	Er(%)
AEDT	1.21	10.80	- 0.95	- 0.1
	12.1	10.80	0.05	- 0.3
	121	10.80	1.05	- 0.6
	1210	10.80	2.05	- 0.9
	12100	10.80	3.05	- 57.5

En la Tabla 6.14 se resumen los datos de tolerancia, para los distintos iones extraños, obtenidos a partir de las Figuras nº 6.9-6.14 con el criterio adoptado

Tabla 6.14

Ión extraño	Tolerancia (ppb)	Ión extraño	Tolerancia (ppb)
Mg(II)	> 12100	Tl(III)	2900
Ca(II)	> 12100	In(III)	170
Sr(II)	> 12100	Ga(III)	190
Ba(II)	2400	Bi(III)	110
Zn(II)	136	Zr(IV)	27
Co(II)	610	V(V)	200
Ni(II)	270	As(V)	> 12100
Cu(II)	75	Cr(VI)	270
Cd(II)	8600	W(VI)	6800
Pb(II)	> 12100	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	390
Mn(II)	> 12100	SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	> 12100
Hg(II)	136	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	> 12100
Fe(III)	100	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	3420
Cr(III)	96	Cl <sup>-</sup>	> 12100
Al(III)	3040	AEDT	2720
Y(III)	86		

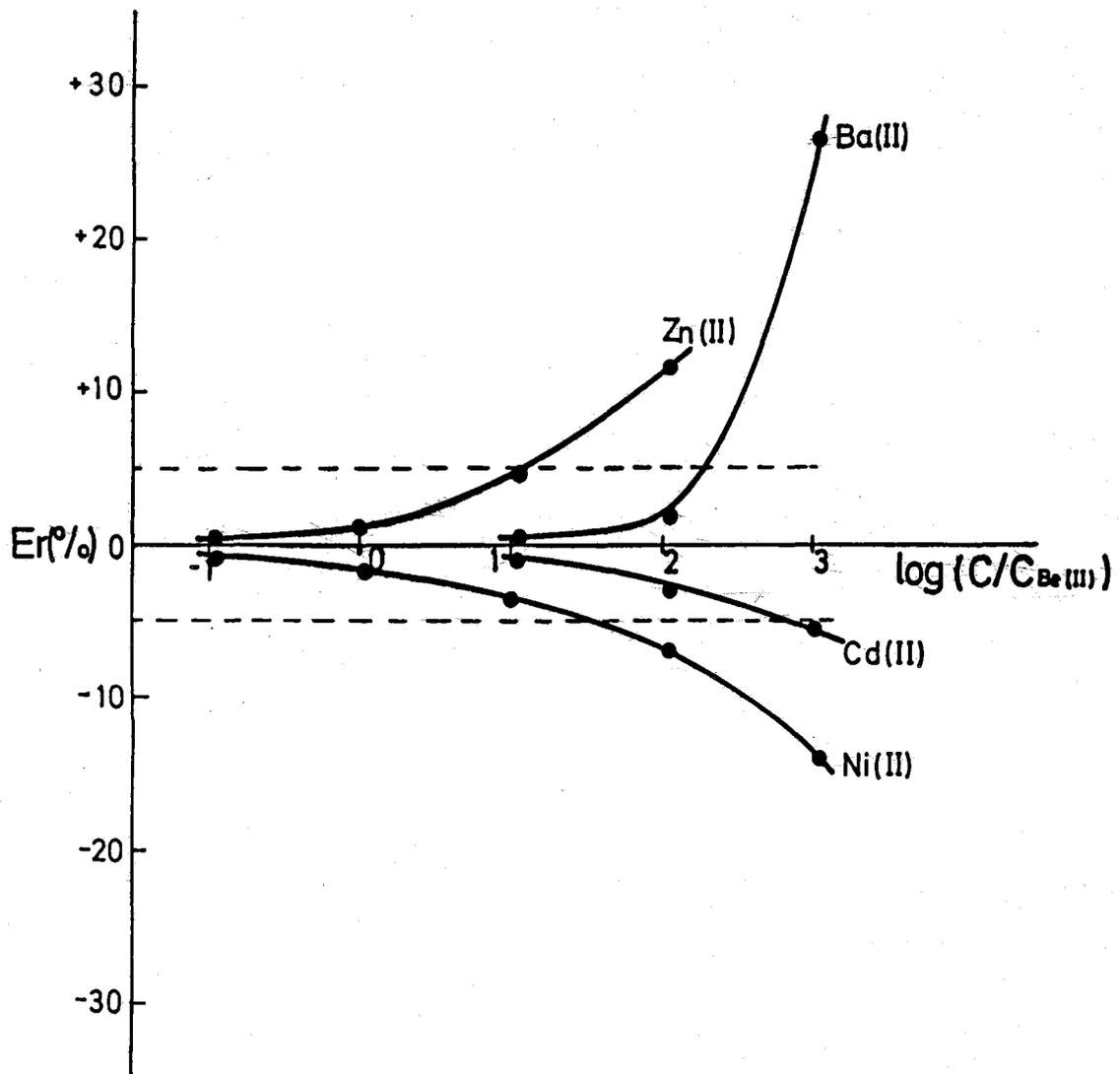


Figura nº 6.9. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Interferencias.

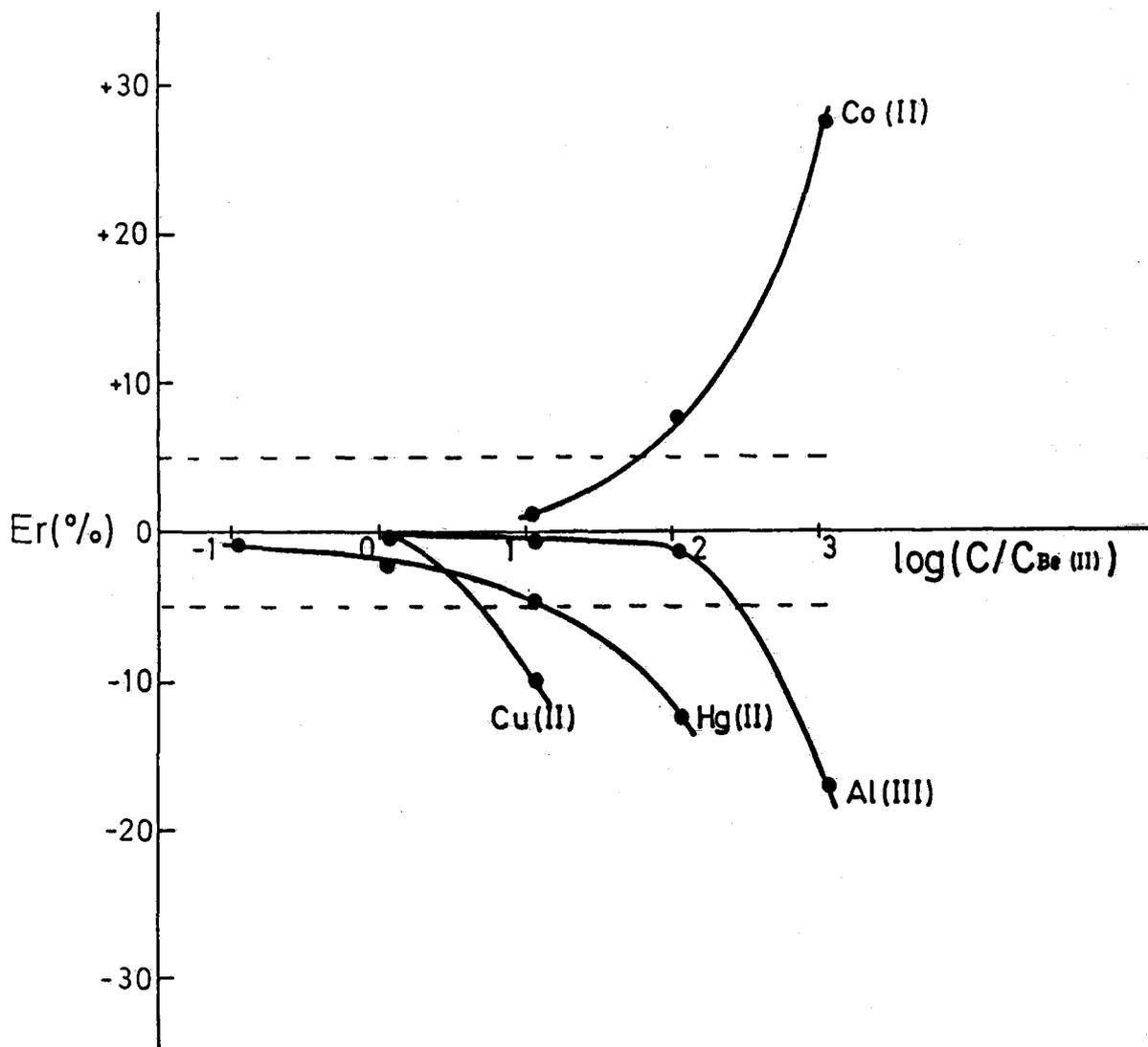


Figura nº 6.10. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Interferencias.

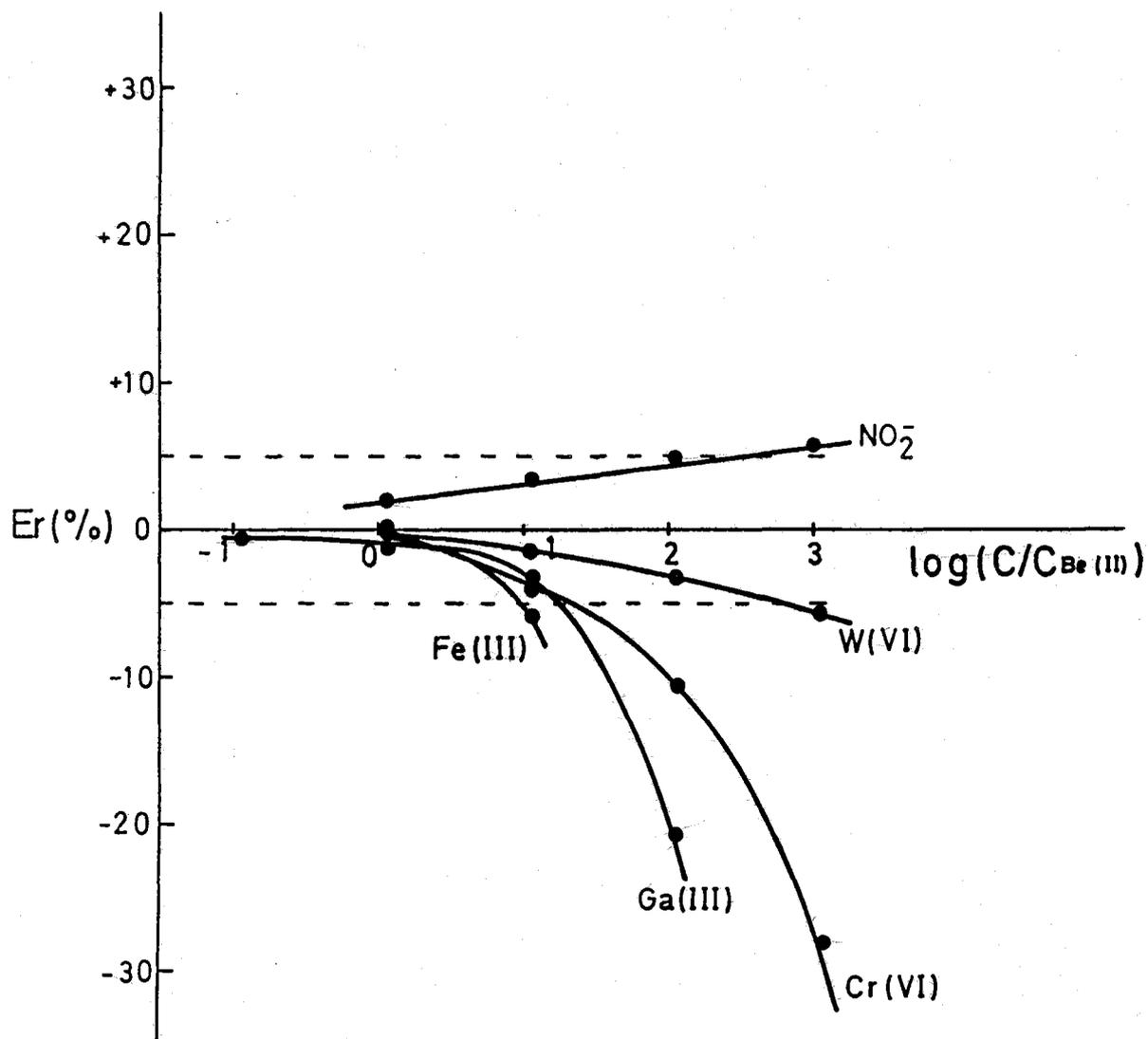


Figura nº 6.11. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Interferencias.

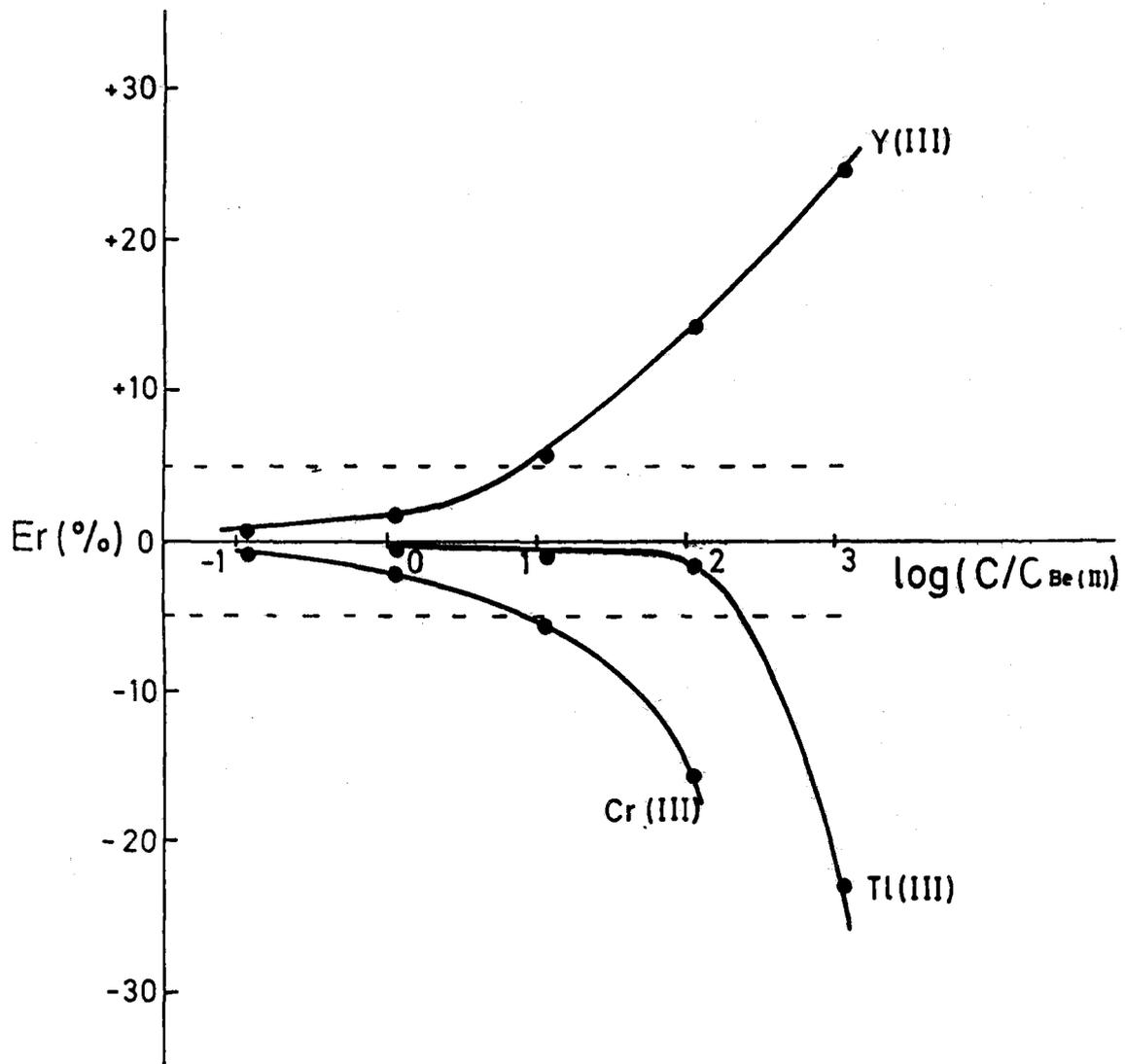


Figura nº 6.12. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Interferencias.

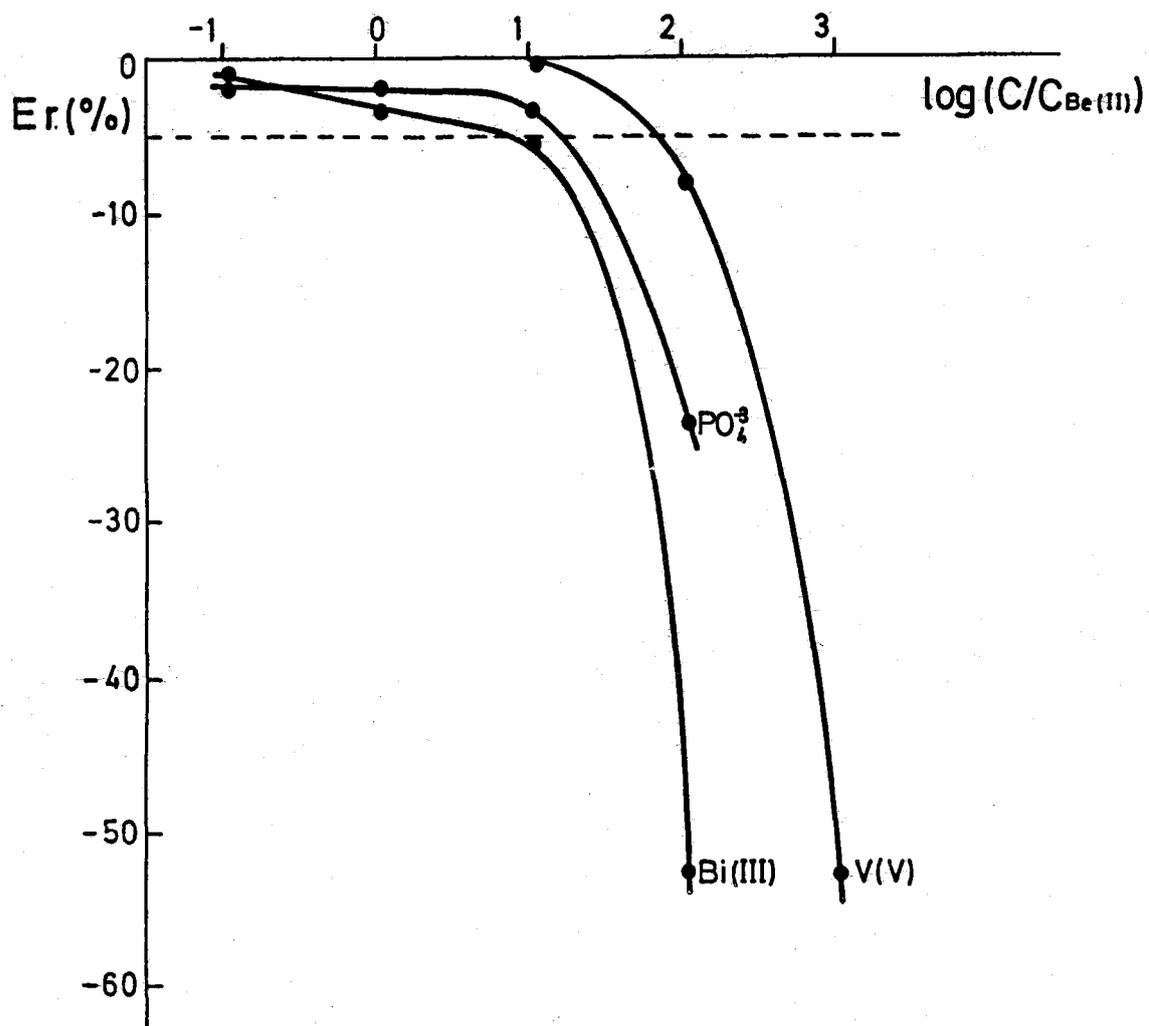


Figura nº 6.13. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Interferencias.

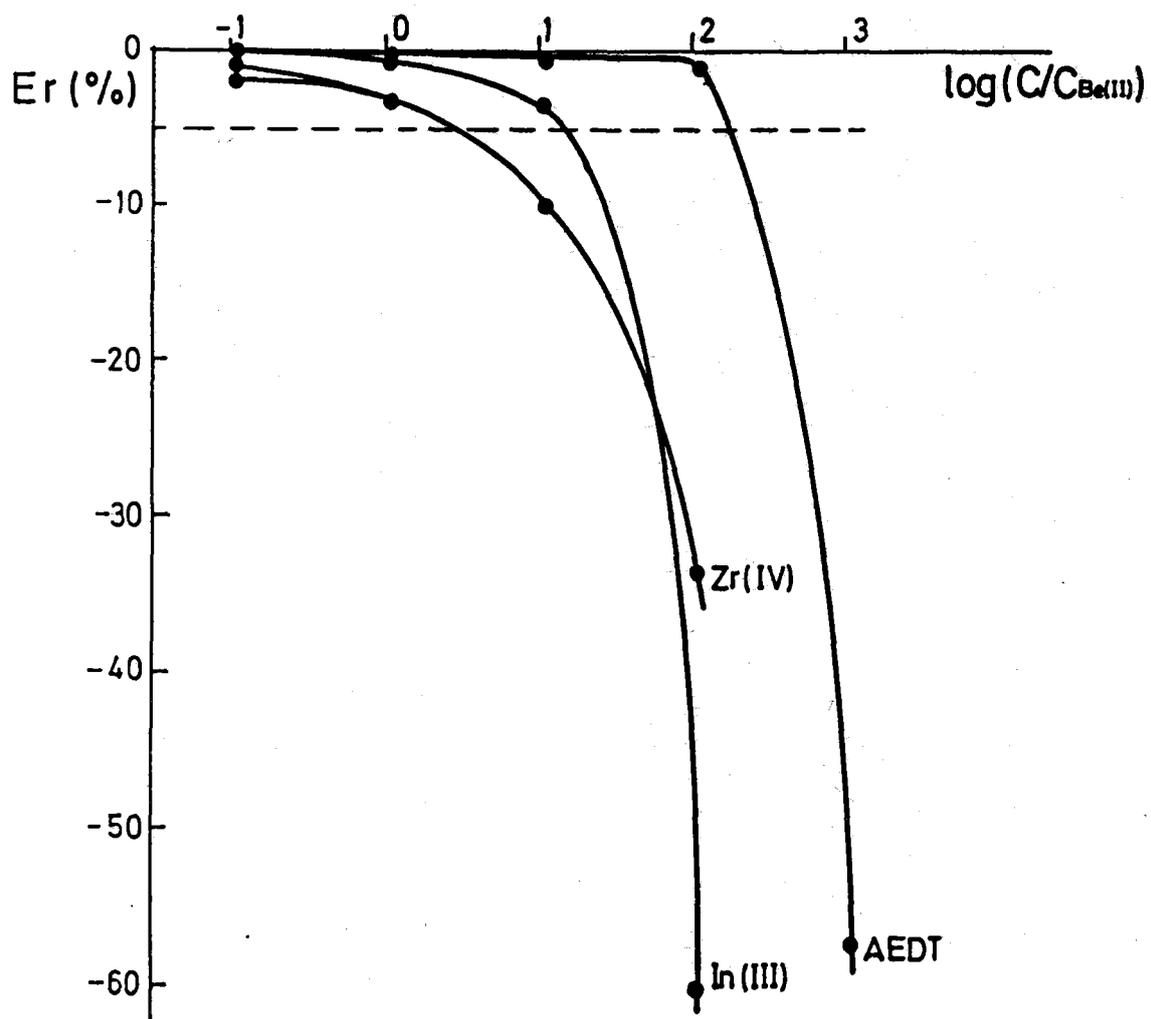


Figura nº 6.14. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Interferencias.

De la observación de la anterior Tabla 6.14 y Figuras nº 6.9-6.14, puede deducirse:

1.- No interfieren en relación molar ión extraño/Be(II) igual o inferior a 100 los iones: Mg(II), Ca(II), Sr(II), Ba(II), Cd(II), Pb(II), Mn(II), Al(III), Tl(III), As(V), W(VI),  $SO_4^{-2}$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $Cl^-$  y AEDT. Es decir 16 de los 31 iones ensayados.

2.- Presentan interferencia moderada los iones: Zn(II), Co(II), Hg(II), Ni(II), In(III), Ga(III), Bi(III), V(V), Cr(VI) y  $PO_4^{-3}$ .

3.- Causa una gran interferencia la presencia de los iones: Cu(II), Fe(III), Cr(III), Y(III) y Zr(IV).

4.- Los cationes con carácter paramagnético interfieren negativamente, exceptuando el caso del Co(II) que lo hace positivamente.

5.- Todos los aniones que interfieren lo hacen negativamente, exceptuando el  $NO_2^-$  que lo hace positivamente.

**Determinación de la Estequiometría.-**

El cálculo de la estequiometría del complejo SA-Be(II) se ha realizado mediante los métodos de las variaciones continuas (86) y de Bent y French (85).

**Método de las variaciones continuas.-**

La determinación estequiométrica mediante el método de Job, se efectuó preparando una serie de matraces de los que la suma de las concentraciones de Be(II) y SA sea constante e igual en todos ellos a  $2 \times 10^{-4}$  M, de acuerdo con la siguiente técnica experimental:

A partir de disoluciones  $10^{-3}$  M de Be(II) y de SA, se colocaron en matraces aforados de 25 mL cantidades decrecientes de SA y crecientes de Be(II), de tal modo que el cociente  $m = [\text{Be(II)}] / ([\text{Be(II)}] + [\text{SA}])$  fuese aumentando.

El pH\* fue ajustado en todos los casos a 7.20, mediante la adición de 5 mL de disolución reguladora de NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.10.

Igualmente se depositaron las cantidades de etanol del 95 % y agua bidestilada necesarias para que en todos los casos el porcentaje etánolico final fuese del 50 % (v/v).

Las condiciones experimentales fueron:  $\lambda_{\text{exc}} = 386$  nm,  $\lambda_{\text{em}} = 474$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 1, y temperatura 20 °C.

En la Tabla 6.15 se resumen los datos obtenidos y que han sido representados graficamente en la Figura nº 6.15.

Tabla 6.15

m	[Be(II)]x10 <sup>4</sup>	[SA]x10 <sup>4</sup>	IFR(%)
0.0	0.0	2.0	4.0
0.1	0.2	1.8	18.1
0.2	0.4	1.6	26.5
0.3	0.6	1.4	29.1
0.4	0.8	1.2	28.0
0.5	1.0	1.0	25.9
0.6	1.2	0.8	23.5
0.7	1.4	0.6	18.5
0.8	1.6	0.4	12.1
0.9	1.8	0.2	6.0
1.0	2.0	0.0	0.0

Como puede observarse en la Figura nº 6.15, se pone de manifiesto mediante el método de Job la existencia de un complejo de estequiometria 2:1 (SA : Be(II)).

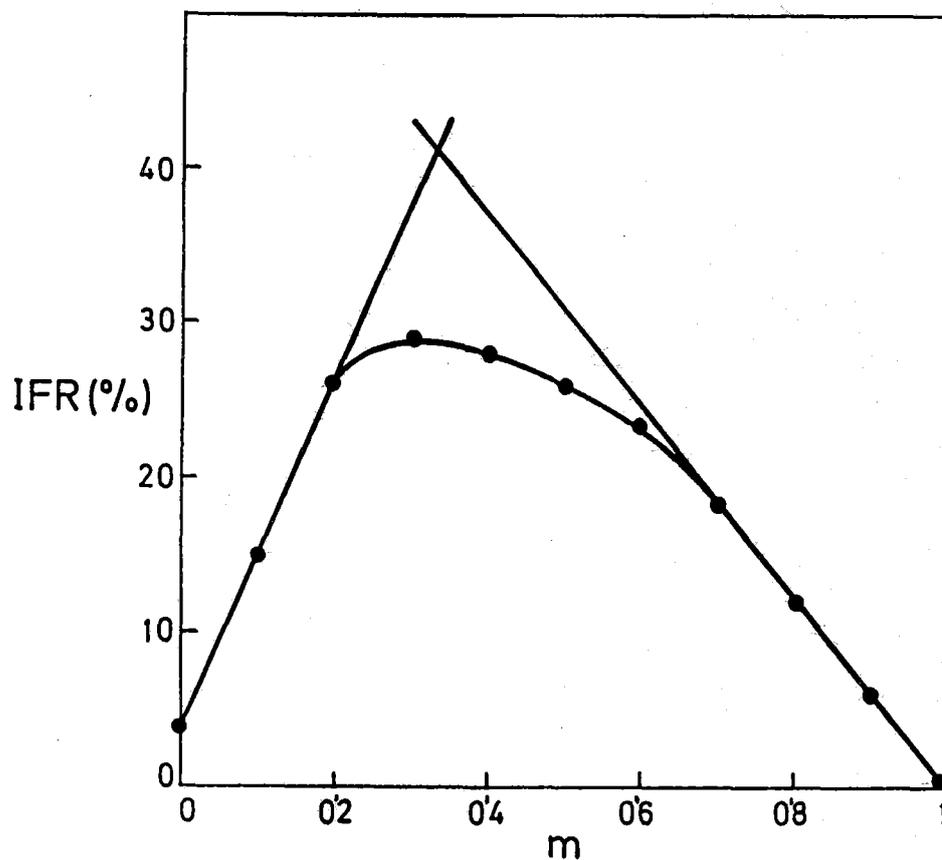


Figura nº 6.15. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Método de Job.

**Método de Bent y French.-**

Para la aplicación de este método se prepararon dos series de matraces manteniéndose constante en la primera serie la concentración de SA y en la segunda serie la concentración de Be(II).

En los matraces aforados de 25 mL de la primera serie se introdujeron 2 mL de disolución etanólica de SA  $1 \times 10^{-3}$  M, cantidades variables de disolución de Be(II)  $1 \times 10^{-3}$  M, 3 mL de disolución reguladora NaAc/HAc 0.5 M de pH 6.10 y cantidades adecuadas de etanol del 99.5 % y agua bidestilada para que al enrasar el porcentaje etanólico en todas las muestras fuese del 50 % (v/v).

En la segunda serie, los matraces aforados de 25 mL contenían cantidades crecientes de disolución etanólica de SA  $10^{-3}$  M, 3 mL de disolución reguladora de NaAc/HAc 0.5 M de pH 6,10 y cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para que al enrasar el porcentaje etanólico de todas las disoluciones fuese del 50 % (v/v).

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron  $\lambda_{ex} = 386$  nm,  $\lambda_{em} = 474$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm. rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 1 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 6.16 (A) y (B) , se resumen los datos obtenidos para la primera y segunda serie, respectivamente, que han sido representados en la Figura nº 6.16.

Tabla 6.16

(A)

Vol. Be(II) (mL)	$-\log[\text{Be(II)}]$	IFR(%)	$\log(\text{IFR})$
0.6	4.62	21.9	1.34
0.8	4.49	25.1	1.40
1.0	4.40	28.2	1.45
1.2	4.32	31.0	1.49
1.4	4.25	33.9	1.53
1.6	4.19	36.3	1.56
1.8	4.14	38.8	1.59

(B)

Vol. SA (mL)	$-\log[\text{SA}]$	IFR(%)	$\log(\text{IFR})$
0.7	4.55	7.40	0.87
1.0	4.40	10.50	1.02
1.3	4.28	13.50	1.13
1.7	4.16	18.20	1.26
2.0	4.09	21.40	1.33

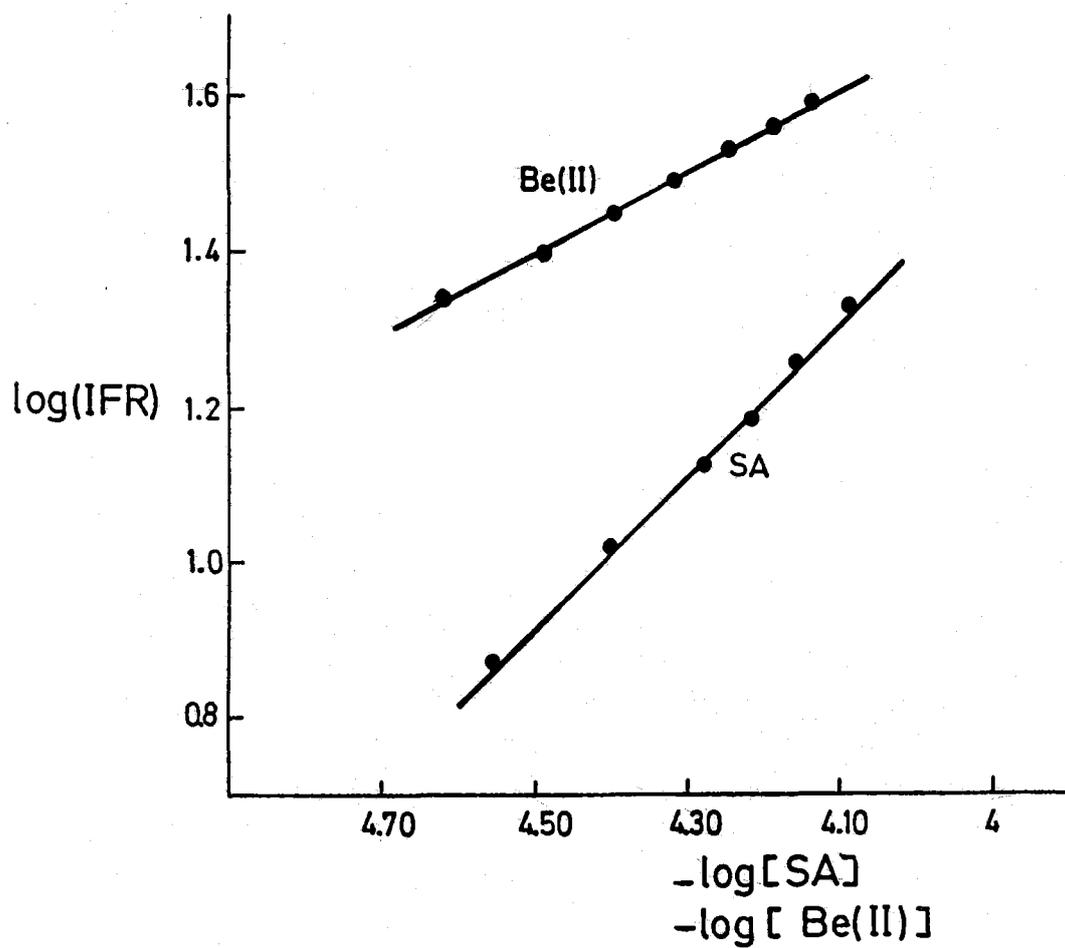


Figura nº 6.16. Saliciliden-anilina-Be(II)  
Método de Bent y French.

Como podemos observar en la Figura nº 6.16 la representación del logaritmo de la intensidad de fluorescencia frente al cologaritmo de la concentración de Be(II) (primera serie) es una línea recta que, ajustada por mínimos cuadrados ( $r^2 = 0.999$ ) tiene una pendiente de 0.517.

Igualmente, se puede apreciar que la representación del logaritmo de la intensidad de fluorescencia frente al cologaritmo de la concentración de SA (segunda serie) es también una línea recta que, ajustada por mínimos cuadrados ( $r^2 = 0.999$ ), tiene una pendiente de 0.995.

Estos valores obtenidos para las pendientes, nos ponen de manifiesto que el complejo en estudio es de estequiometría 2:1 (SA : Be(II)).



## CAPITULO VII

ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA  
RESINA SP C-25-SALICILIDEN- $\sigma$ -AMINOFENOL-Ga(III)  
POR ESPECTROFLUORIMETRIA DE CAMBIO IONICO



ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO DEL SISTEMA  
RESINA SP C-25-SALICILIDEN-O-AMINOFENOL-Ga(III) POR  
ESPECTROFLUORIMETRIA DE CAMBIO IONICO.

INTRODUCCION.

El Saliciliden-o-aminofenol origina con el Ga(III) en disolución un complejo fluorescente de estequiometría 1:1 a pH 4.00 (27,51).

Las características analíticas de este complejo han permitido que este reactivo haya sido empleado por varios autores (27,51) para la determinación espectrofluorimétrica de Ga(III) en disolución.

Estos métodos presentan características analíticas muy similares y solo difieren en las condiciones experimentales en las que se lleva a cabo la determinación (Tabla 7.1).

Tabla 7.1

Variables	Autores	
	Dagnall y col.	Morishige
$\lambda_{exc}-\lambda_{em}$ (nm)	420-520	410-515
pH óptimo	4	3.5-4.5
Tampón	HClAc-HAc-NH <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub> Ac-HCl
Medio	Acetona (5 %)	DMF (4-8 %)
Intervalo (ppb)	7-700	8-400
L. Detección (ppb)	6.3	
Interferencias	Al(III), F <sup>-</sup>	Co(II), Cu(II)
	Tartratos	Cr(VI), Mo(VI)
	Oxalatos	Ni(II), Fe(III)
	Citratos	Al(III)
	AEDT, ACDT	
	ANT	

La elevada sensibilidad y aceptable selectividad que este reactivo muestra en su reacción fluorescente con el Ga(III), nos hizo pensar en su posible idoneidad para ser empleado en **espectrofluorimetría de cambio iónico** (58), por lo cual decidimos abordar su estudio.

#### **EXPERIMENTAL.**

##### *Disoluciones empleadas.-*

- Disolución de Ga(III) de 100 ppm, preparada por pesada directa de la cantidad adecuada de  $\text{GaNO}_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  MERCK, reactivo para análisis. Esta disolución fue contrastada complexométricamente ( $f = 1.003$ ). Todas las demás disoluciones de Ga(III) se prepararon a partir de ésta por dilución.
- Disolución de SOAF al 0.1 % en etanol del 99.5 %.
- Disoluciones reguladoras Dagnall (27) de diversos valores de pH, preparadas por mezcla de 50 g de ClAcH, 50 mL de HAC glacial, 400 mL de agua bidestilada y la cantidad de  $\text{NH}_3$  (ac) concentrado necesaria para la obtención del pH deseado.

##### *Aparatos utilizados.-*

- Espectrofluorímetro PERKIN-ELMER LS 5, provisto de registrador X-Y HOUSTON mod. OMNIGRAPHIC.
- pH-metro digital CRISON mod. 501, provisto de electrodo combinado INGOLD.
- Termostato BRAUN MELSUNGEN mod. Thermomix 1441.
- Agitador rotatorio de botellas AGITASER mod. 2000.
- Placa agitadora-calefactora HEIDOLPH mod. 2002.
- Cubetas para UV THERMAL SYNDICATE de 1 mm de espesor.

*Resinas empleadas.-*

Se han utilizado resinas de cambio iónico tipo SEPHADEX, las cuales están constituidas por una matriz formada por cadenas de dextrano entrelazadas que constituyen una red polisacárida tridimensional. Mediante enlaces éter (-O-) se unen a ella los distintos grupos funcionales que determinan su carácter como cambiador aniónico o catiónico.

En la Tabla 7.2 se resumen las principales propiedades e las resinas SEPHADEX cambiadoras de iones existentes en el mercado. Para su nomenclatura, según puede observarse, se emplean las iniciales del correspondiente grupo funcional responsable del carácter cambiador (DEAE, QAE, CM y SP) seguido de la letra A o C, según se trate de una resina aniónica o catiónica, y de un número que indica su porosidad (25 ó 50).

Todas estas resinas se encuentran disponibles en dos grados de porosidad diferente que responden a la denominación -25 y -50 respectivamente. En las experiencias realizadas sólo se han empleado las de menor porosidad (-25), pues las de mayor porosidad sufren mayor hinchamiento, presentando en consecuencia dificultades de empaquetamiento en la cubeta de medida utilizada.

Tabla 7.2 Cambiadores iónicos SEPHADEX.

Tipo	Descripción	G. funcionales	Contraión	Capacidad (meq/g)
DEAE-A-25	Cambiador aniónico débil	$-O-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}(C_2H_5)_2-H$ Dietilaminoetil	$Cl^-$ Cloruro	$3,5 \pm 0,5$
QAE-A-25	Cambiador aniónico fuerte	$-O-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}(C_2H_5)_2-CH_2-CH(OH)CH_3$ Dietil-(2-hidroxi-propil)aminoetil	$Cl^-$ Cloruro	$3,0 \pm 0,4$
CM-C-25	Cambiador catiónico débil	$O-CH_2COO^-$ Carboximetil	$Na^+$ Sodio	$4,5 \pm 0,5$
SP-C-25	Cambiador catiónico fuerte	$-O-CH_2-CH_2-CH_2-SO_3^-$ Propilsulfónico	$Na^+$ Sodio	$2,3 \pm 0,3$

*Elección de la Resina.-*

En espectrofluorimetría de cambio iónico (FCI), el primer problema que se plantea es la elección de un soporte adecuado donde fijar el sistema fluorescente en estudio (58).

De todos los soportes disponibles seleccionamos las resinas cambiadores iónicos tipo Sephadex por ser las que en experiencias preliminares nos produjeron menores intensidades de luminiscencia residual.

Se ha estudiado el comportamiento de los cuatro cambiadores iónicos tipo Sephadex, disponibles en el mercado y cuyas características se resumen en la página 404, frente al complejo SOAF-Ga(III) en disolución.

Para ello, en tubos de ensayo de cuarzo de 10 mL se introdujeron 5 mL de disolución hidroalcohólica al 2 % (v/v) de etanol  $5 \cdot 10^{-5}$  M. del complejo SOAF-Ga(III) y pH 4.00, se añadieron 50 mg de la resina en estudio y se sometió el sistema a una agitación manual preliminar que por conveniencia se fijó en 2 minutos. Se dejaba el sistema decantar durante unos 5 minutos observándose seguidamente bajo iluminación ultravioleta.

De las cuatro resinas ensayadas, el complejo SOAF-Ga(III) sólo se fija en las resinas catiónicas SP C-25 y CM C-25, como cabría esperar de un complejo de naturaleza presumiblemente catiónica, debido a su estequiometría 1:1 (51). De estas dos resinas hemos seleccionado la SP C-25 por ser la que muestra mayor intensidad de fluorescencia debido a su alta capacidad de cambio que se manifiesta en el agotamiento del complejo en fase disolución.

*Elección del Tampón.-*

Ante la necesidad de tamponar el sistema en estudio, se ha realizado una experiencia encaminada a conocer la influencia del pH, fijado éste mediante la adición de las cantidades adecuadas de una disolución reguladora.

Para ello se han seleccionado las utilizadas por diversos autores (27,51) en los distintos métodos de determinación espectrofluorimétrica de Ga(III) con Saliciliden-o-aminofenol, encontrados en bibliografía.

Así, **Morishige** (51) propone el tampón  $\text{NH}_4\text{Ac-HCl}$  al 20 % el cual no puede ser empleado por producir alteraciones en la resina.

**Dagnall y col.** (27) recomiendan la disolución reguladora integrada por  $\text{HClAc}$ ,  $\text{HAc}$  y  $\text{NH}_3$ , en las concentraciones que se especifican en la página 402.

De estas dos disoluciones reguladoras, la propuesta por **Dagnall y col.** es la que nos ha conducido a mejores resultados.

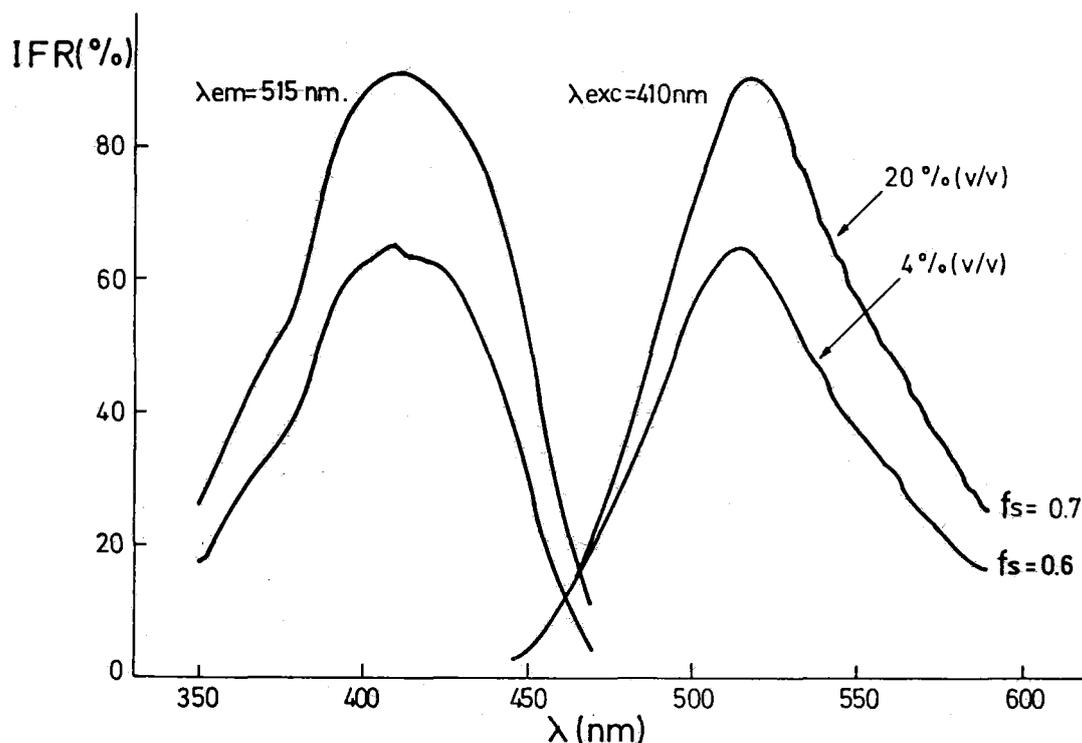
*Espectros de excitación y emisión del complejo SOAF-Ga(III) en disolución y en fase resina (SP C-25).-*

Se han establecido los espectros de excitación y emisión del sistema SOAF-Ga(III) en disolución a distintos porcentajes etanólicos. Para ello, en un matraz aforado de 50 mL se introdujeron 2 mL de disolución etanólica de SOAF al 0.1 %, 1 mL de disolución de Ga(III) de 100 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.00 y las cantidades de etanol del 99.5 % y agua bidestilada adecuadas para conseguir el porcentaje etanólico adecuado.

Las longitudes de onda de los máximos de excitación y emisión se han obtenido realizando un "pre-scan" secuencial de excitación y emisión, lo que nos permite conocer, en una primera aproximación, las longitudes de onda de dichos máximos. A continuación se realizaron "pre-scan" de excitación y emisión alternativos hasta conseguir una pareja de valores que se repitiera un número de veces representativo.

La Figura nº 7.1 muestra los espectros obtenidos, de su observación puede deducirse que el espectro de excitación presenta un máximo a la longitud de onda de 410 nm, mientras que el de emisión tiene un máximo a una longitud de onda de 515 nm, lo que representa un desplazamiento de Stokes de  $4972.76 \text{ cm}^{-1}$ . Por otra parte, el porcentaje etanólico del medio no afecta a la posición de estos máximos

Las condiciones operatorias para el registro de los espectros fueron:  $\lambda_{exc} = 410 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$ , rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm y factor de sensibilidad 0.7 (porcentaje etanólico del 20.5 (v/v)) y 0.6 (porcentaje etanólico del 4 % (v/v)).



**Figura 7.1. Saliciliden-*o*-aminofenol-Ga(III)**

**Espectros de emisión y excitación a distintos porcentajes etanólicos.**

Para el registro de los espectros de excitación y emisión del sistema SOAF-Ga(III) en fase resina se preparó un matraz aforado de 500 mL en el que se introdujo 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora de pH 3.90 y se enrasó con agua bidestilada.

La disolución se transfirió a un frasco de polietileno y se le añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25. Después de una agitación de 15 minutos, se filtró la disolución, se llenó la cubeta y se procedió a registrar los espectros operando como en disolución.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 405$  nm,  $\lambda_{em} = 515$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se muestran en la Figura nº 7.2.

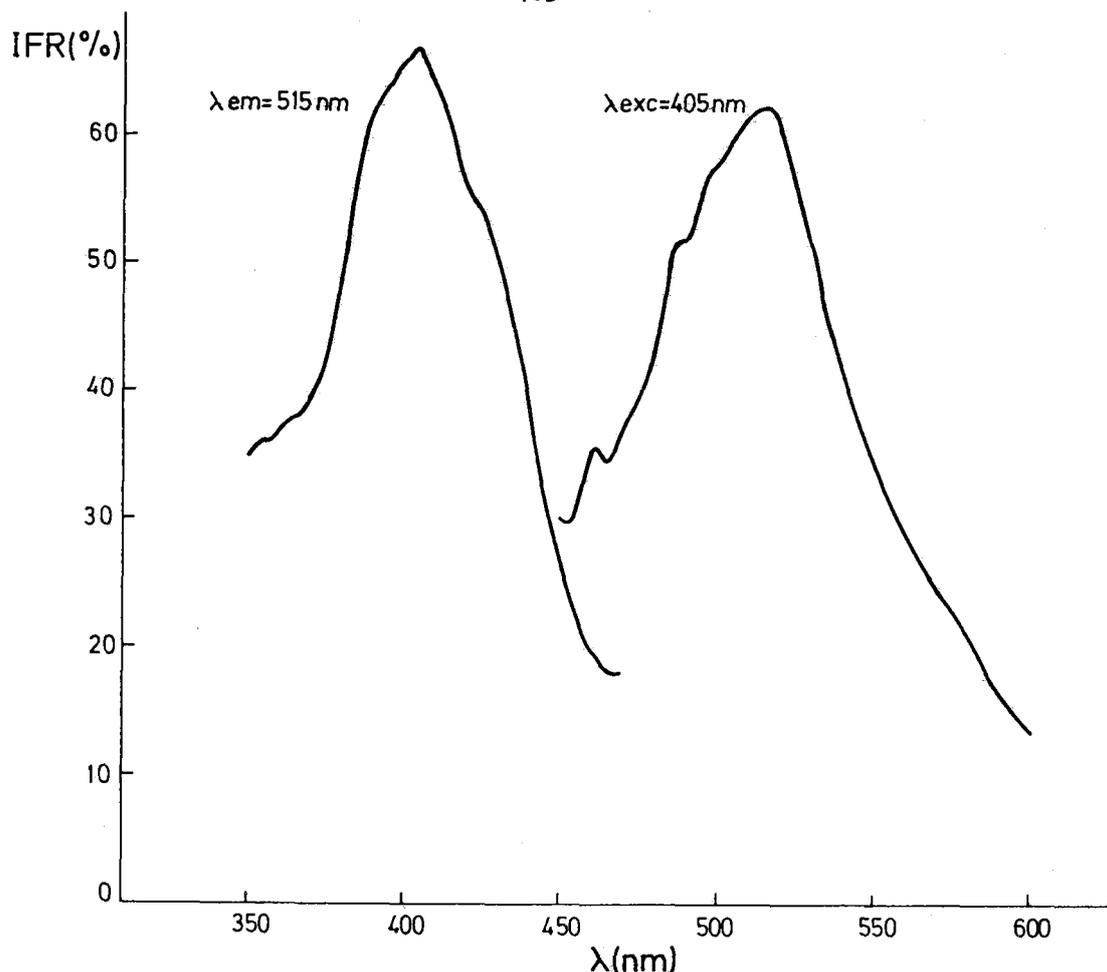


Figura nº 7.2. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)  
Espectros de excitación y emisión.

La comparación de las anteriores Figuras nº 7.1 y 7.2, donde se muestran los espectros de excitación y emisión del sistema SOAF-Ga(III) en disolución y en fase resina nos permite obtener las siguientes conclusiones:

- 1.- Las longitudes de onda de los máximos de emisión coinciden en ambas fases ( $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$ ).
- 2.- La longitud de onda del máximo del espectro de excitación en fase resina ( $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$ ) sufre un ligero desplazamiento hacia longitudes de onda menores respecto a la observada en disolución ( $\lambda_{exc} = 410 \text{ nm}$ )
- 3.- Se observa asimismo un estrechamiento de ambos espectros del sistema al pasar de disolución a fase resina.

Este comportamiento es similar al observado por F. Capitán y col. en el estudio de otros sistemas (58).

**Influencia del pH.-**

Una vez elegida la disolución tampón, se realizó el estudio de la influencia del pH sobre la intensidad de fluorescencia del sistema.

A tal fin, se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL en los que introdujeron 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora del pH adecuado y se enrasó con agua bidestilada.

Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Después de una agitación de 15 minutos, se filtraron las disoluciones se llenaron las cubetas y se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc}$  = 405 nm,  $\lambda_{em}$  = 515 nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 7.3 y han sido representados gráficamente en la Figura nº 7.3.

**Tabla 7.3**

pH*	IFR(%)	pH*	IFR(%)
3.80	44.2	4.60	66.1
3.90	45.7	4.75	67.5
4.05	48.5	4.85	66.5
4.20	53.0	4.95	62.0
4.30	55.6	5.05	53.1
4.50	62.1	5.25	45.2

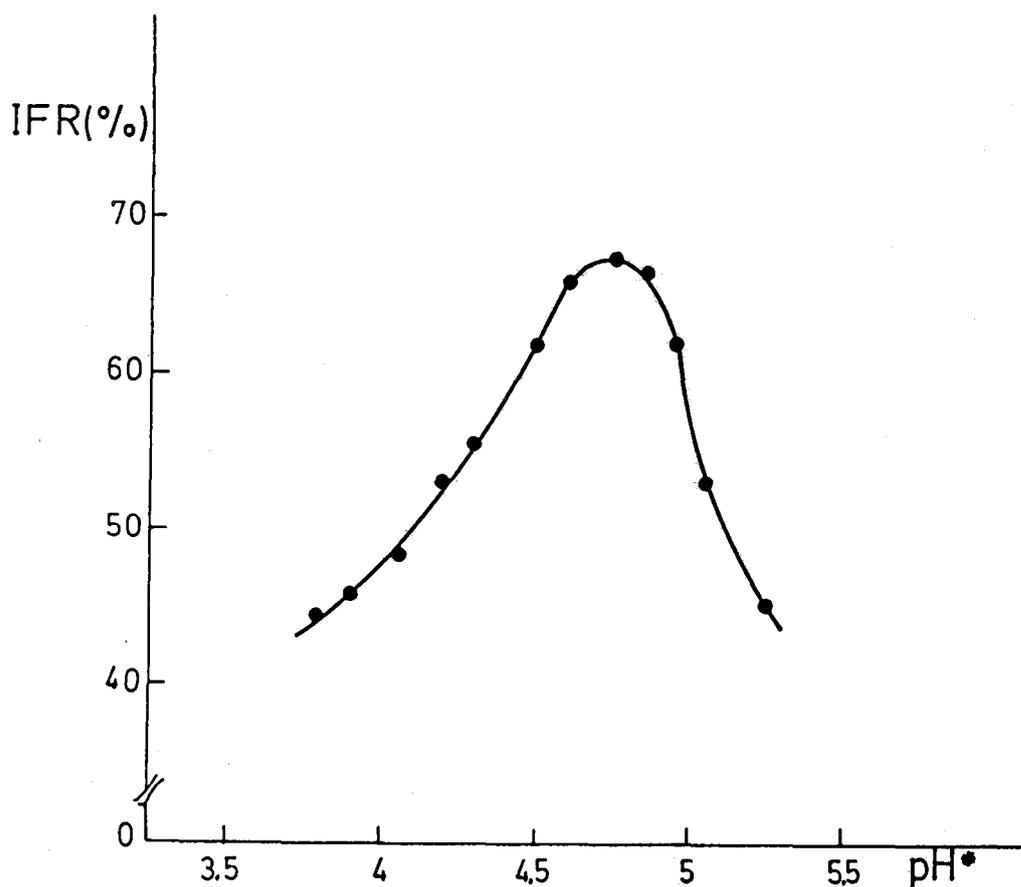


Figura nº 7.3. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)  
Influencia del pH.

La observación de la anterior Figura nº 7.3 nos muestra un estrecho intervalo de pH\* (4.60-4.80) donde la intensidad de fluorescencia es máxima decreciendo para valores superiores e inferiores.

Es de resaltar que el intervalo de pH\* óptimo en fase resina sufre un desplazamiento hacia valores superiores respecto al intervalo propuesto por los diferentes autores (27,51) para el mismo sistema en disolución, página 401.

Para futuras experiencias se ha elegido el valor 4.70, como pH\* óptimo de trabajo. Este se consigue mediante la adición de 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70.

*Influencia de la Concentración de la Disolución Reguladora.-*

Una vez establecido el pH\* óptimo y la disolución tampón más adecuado para el sistema en estudio, se ha estudiado la influencia que la concentración de éste ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del complejo SOAF-Ga(III) en fase resina.

Para ello se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL que contenían 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm volúmenes crecientes de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y se enrasaron con agua bidestilada.

Las disoluciones se trasvasaron a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

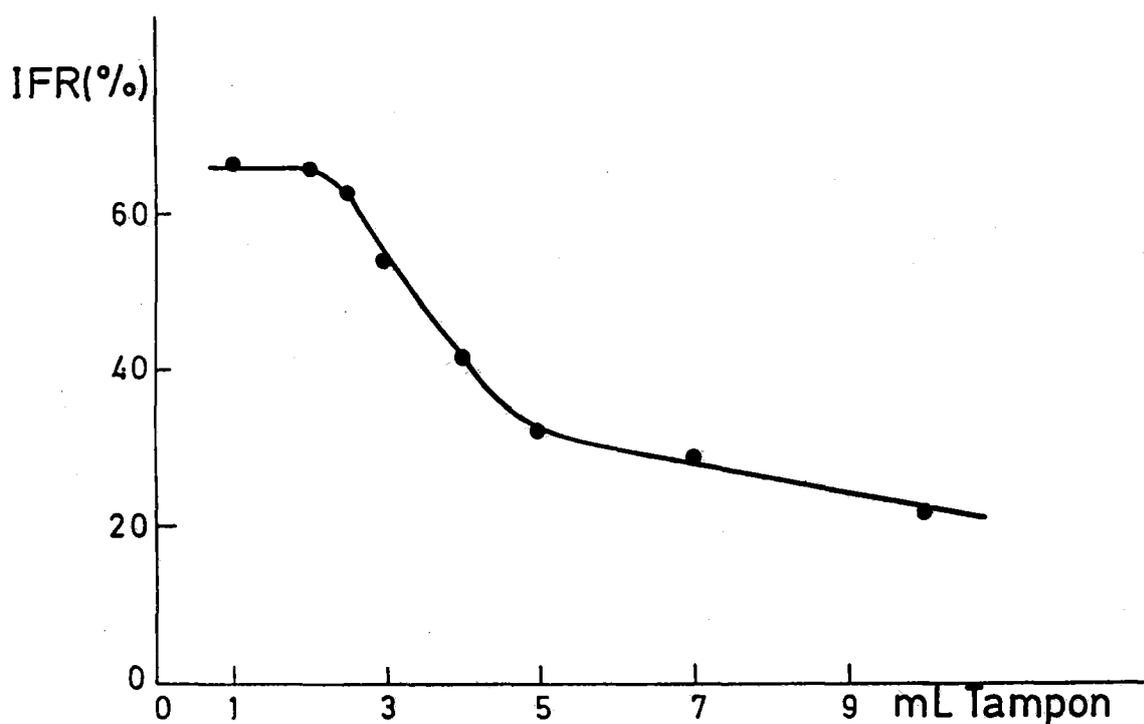
Tras agitar durante 15 minutos, filtrar y llenar las cubetas se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc}$  = 405 nm,  $\lambda_{em}$  = 515 nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 7.4 y se han representado gráficamente en la Figura nº.7.4.

**Tabla 7.4**

Vol. Tampón (mL)	IFR(%)
1.0	66.8
2.0	66.4
2.5	63.2
3.0	54.0
4.0	41.5
5.0	32.8
7.0	28.8
10.0	21.9



**Figura nº 7.4. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)**  
**Influencia de la Concentración de Tampón.**

La observación de la anterior Figura nº 7.4, nos pone de manifiesto que la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio se mantiene constante para volúmenes de disolución reguladora iguales o inferiores a 2 mL, decreciendo para volúmenes superiores. Por esta razón se ha seleccionado el volumen de 2 mL de disolución reguladora para experiencias posteriores.

### *Influencia de la Temperatura.-*

De todos los pasos del protocolo experimental seguido en el procedimiento operatorio, hay dos sobre los que la temperatura puede experimentar una mayor influencia:

- *Proceso de cambio iónico.*
- *Intensidad de fluorescencia en fase resina.*

A continuación hemos abordado el estudio que la temperatura ejerce sobre ellos por separado.

### *Influencia de la Temperatura sobre el proceso de cambio iónico del sistema SOAF-Ga(III).-*

Con objeto de estudiar esta influencia, se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL que contenían 2 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y agua bidestilada hasta el enrase.

Como era necesario mantener la disolución a una determinada temperatura durante todo el proceso y debido a la imposibilidad de termostatar el agitador por su gran tamaño, fué necesaria la modificación del sistema en el sentido de que la agitación se realizó en un vaso de precipitados con un agitador magnético convencional provisto de termostato.

En consecuencia, las disoluciones se transfirieron a un vaso de precipitados de 1 litro de capacidad y se añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF al 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Se sometió a una agitación de 15 minutos, manteniendo el sistema a una temperatura constante, distinta en cada caso.

Una vez transcurrido este tiempo, se filtró la disolución, transfiriendose la resina a una cubeta de 1 mm de espesor y se realizó la medida de su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$ , rendija de

excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm y factor de sensibilidad 0.3.

En la Tabla 7.5 se recogen los resultados obtenidos que han sido representados gráficamente en la Figura nº 7.5.

Tabla 7.5

Temperatura (°C)	IFR(%)
10	71.4
15	68.5
20	68.4
25	68.6
30	68.5
35	69.6
40	69.4
45	69.2
50	68.5
55	67.9
60	67.3

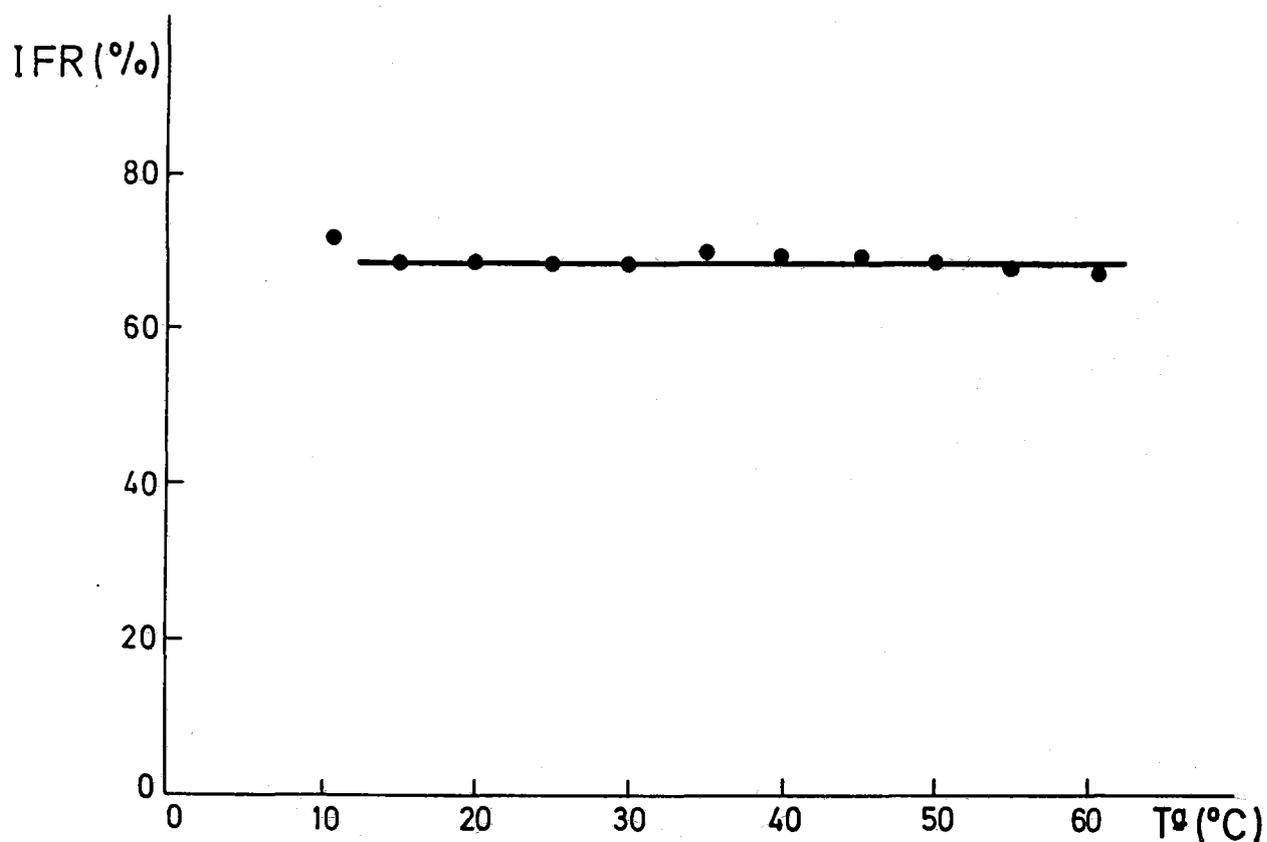


Figura nº 7.5. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)

Influencia de la Temperatura sobre el proceso de cambio iónico.

Como se puede observar en la Figura nº 7.5 no hay un modificación apreciable de la intensidad de fluorescencia al ir aumentando la temperatura a la cual se realiza el proceso de cambio iónico, por lo que podemos afirmar que en el rango de temperaturas ensayado el proceso de cambio iónico es prácticamente independiente de la temperatura a la que se realice.

### Influencia de la Temperatura sobre la Intensidad de Fluorescencia.-

Con objeto de estudiar la influencia de la temperatura sobre la intensidad de fluorescencia se preparó un matraz aforado de 500 mL, en el que se introdujeron 2 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y se enrasó con agua bidestilada.

Esta disolución se transfirió a un frasco de polietileno de 1 litro de capacidad y se añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Se sometió a agitación durante 15 minutos, transcurridos los cuales, se filtró la disolución, transfiriéndose la resina a la cubeta y se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$ , rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.3 y temperatura variable.

En la Tabla 7.6 se recogen los resultados obtenidos que han sido representados gráficamente en la Figura nº 7.6.

Tabla 7.6

Temperatura (°C)	IFR(%)
10	86.7
12	86.1
15	86.3
17	85.6
20	85.1
22	84.3
25	84.6
30	83.0
35	81.5
40	79.1
45	75.5
50	72.4
55	69.6
60	65.2
65	60.4

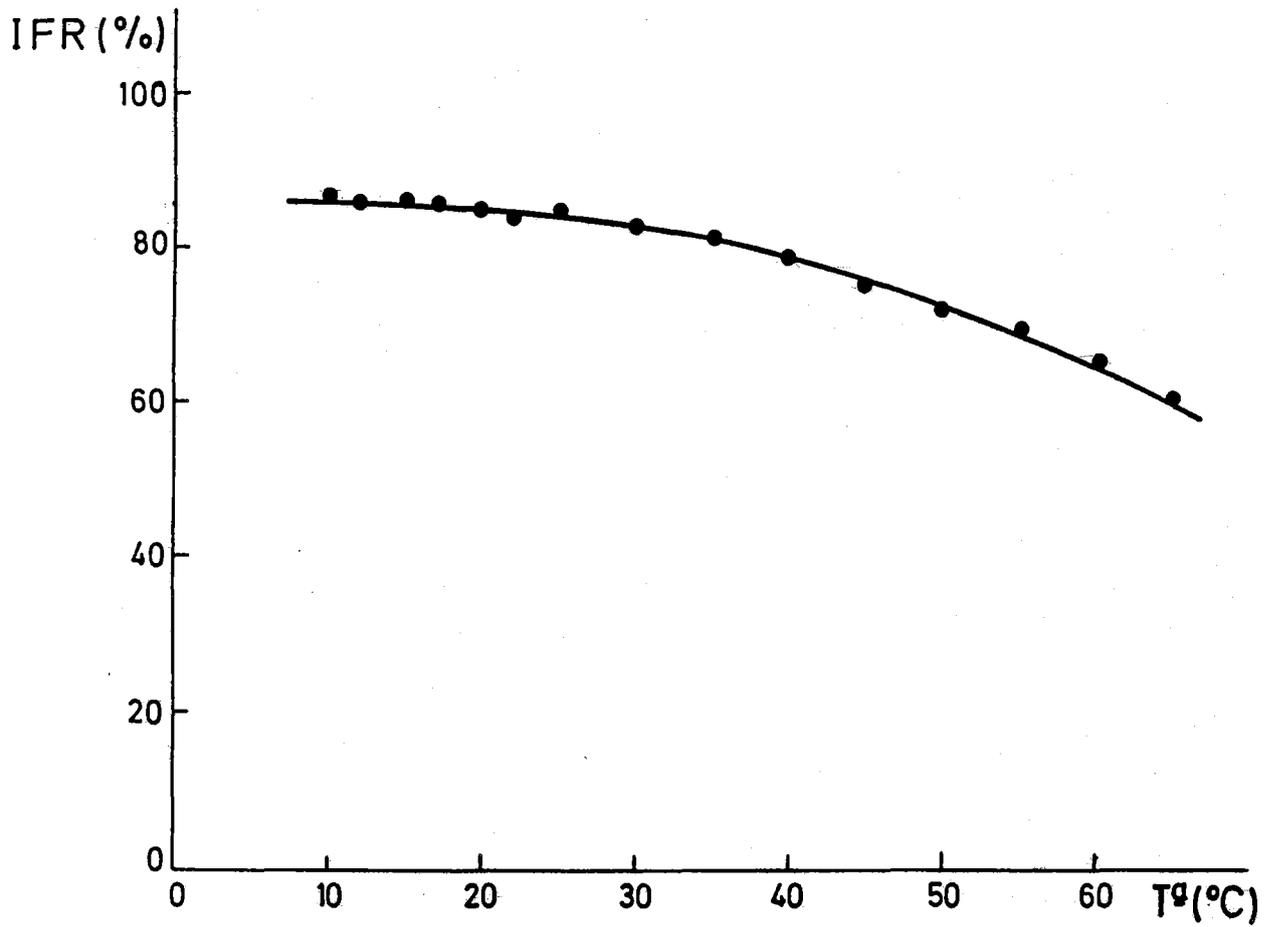


Figura nº 7.6. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)  
Influencia de la temperatura sobre la intensidad de fluorescencia.

Como puede apreciarse en la Figura nº 7.6, existe un intervalo de temperatura comprendido entre 10 y 25 °C en el cual la intensidad de fluorescencia prácticamente se mantiene constante, disminuyendo para valores superiores. Es necesario por tanto que el sistema se encuentre a una temperatura inferior a los 25 °C antes de realizar la medida de fluorescencia. Hemos fijado la temperatura de trabajo en 20 °C, próxima a la ambiental y fácilmente alcanzable mediante el empleo de un termostato.

Asimismo, se ha comprobado que se obtienen los mismos valores de intensidad de fluorescencia al enfriar el sistema previamente calentado.

Este hecho, unido al resultado obtenido en la experiencia anterior, en la que se observa que el proceso de cambio iónico es independiente de la temperatura, nos hace pensar que la disminución de la intensidad de fluorescencia con la temperatura se deba a que el principal proceso de desactivación no radiativo sea el de conversión interna. proceso que es marcadamente dependiente de la temperatura(80).

**Estabilidad del Complejo fijado en la Resina.-**

Se ha establecido la influencia que el tiempo ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema resina SP C-25-SOAF-Ga(III) siguiendo el procedimiento operatorio que se describe a continuación.

En un matraz aforado de 500 mL se depositaron 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y se enrasó con agua bidestilada. Esta disoluciónse transfirió a un frasco de polietileno de 1 litro y se le añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Tras agitar la mezcla durante 15 minutos, filtrar y llenar la cubeta se registró la variación de la intensidad de fluorescencia con el tiempo (este registro lo realiza automáticamente el modelo de espectrofluorímetro empleado).

Las condiciones operatorias fueron:  $\lambda_{exc} = 405$  nm,  $\lambda_{em} = 515$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 7.7 se recogen los valores obtenidos, tomados del registro gráfico realizado por el aparato, y se han representado gráficamente en la Figura nº 7.7.

**Tabla 7.7**

t (minutos)	IFR(%)	t (minutos)	IFR(%)
6	72.0	46	69.0
11	71.0	51	69.2
16	70.5	56	69.1
21	70.2	61	69.0
26	70.0	66	69.1
31	70.1	71	69.2
36	69.6	90	69.1
41	69.4	120	69.0

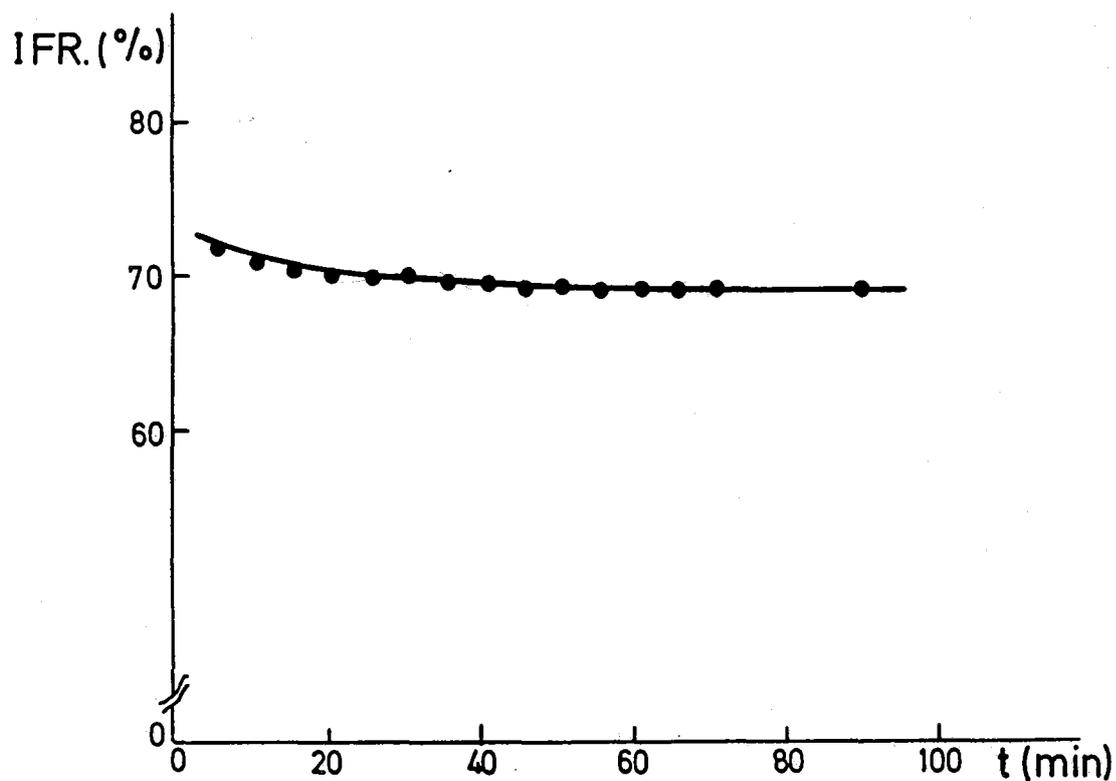


Figura nº 7.7. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)

Influencia del tiempo sobre la intensidad de fluorescencia.

La observación de la anterior Figura nº 7.7 nos indica que la intensidad de fluorescencia disminuye ligeramente con el tiempo hasta que transcurren 20 minutos, permaneciendo prácticamente constante al menos durante dos horas.

***Influencia de la Concentración de Reactivo (SOAF).-***

Una vez determinados el pH\* óptimo de trabajo, así como la concentración de la disolución reguladora más adecuada, se realizó el estudio de la influencia que ejerce la concentración del reactivo sobre la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio.

Para ello, en una serie de 11 matraces aforados de 500 mL se depositaron 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y se enrasaron con agua bidestilada.

Estas disoluciones se trasvasaron a frascos de polietileno de 1 litro y se les añadieron las cantidades de etanol del 99.5 % y disolución etanólica de SOAF del 0.1 %, de la forma que se especifica a continuación, Tabla 7.8, al objeto de mantener el porcentaje etanólico del medio y con ello el pH\*.

**Tabla 7.8**

Matraz	Vol. Etanol (mL)	Vol. SOAF (mL)
1	9.5	0.5
2	9.0	1.0
3	8.0	2.0
4	7.0	3.0
5	6.0	4.0
6	5.0	5.0
7	4.0	6.0
8	3.0	7.0
9	2.0	8.0
10	1.0	9.0
11	-	10.0

A continuación, se añadieron a cada una de los frascos 100 mg de resina SP C-25 y se agitaron durante 15 minutos.

Después de filtrar y llenar las cubetas se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias fueron:  $\lambda_{exc}$  = 405 nm,  $\lambda_{em}$  = 515 nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 7.9 se muestran los resultados obtenidos que han sido representados gráficamente en la Figura nº 7.8.

Tabla 7.9

Matraz	Vol. SOAF (mL)	IFR(%)
1	0.5	35.5
2	1.0	45.9
3	2.0	54.1
4	3.0	58.7
5	4.0	62.1
6	5.0	64.2
7	6.0	66.0
8	7.0	67.2
9	8.0	68.1
10	9.0	68.8
11	10.0	68.5

De la observación de la Figura nº 7.8 puede deducirse que existe un intervalo (5.0-10.0 mL) en el cual la intensidad de fluorescencia no depende prácticamente de la concentración de reactivo.

Para posteriores experiencias se ha elegido la concentración de reactivo correspondiente a la adición de 10 mL de disolución etanólica de éste del 0.1 %, a 500 mL de muestra.

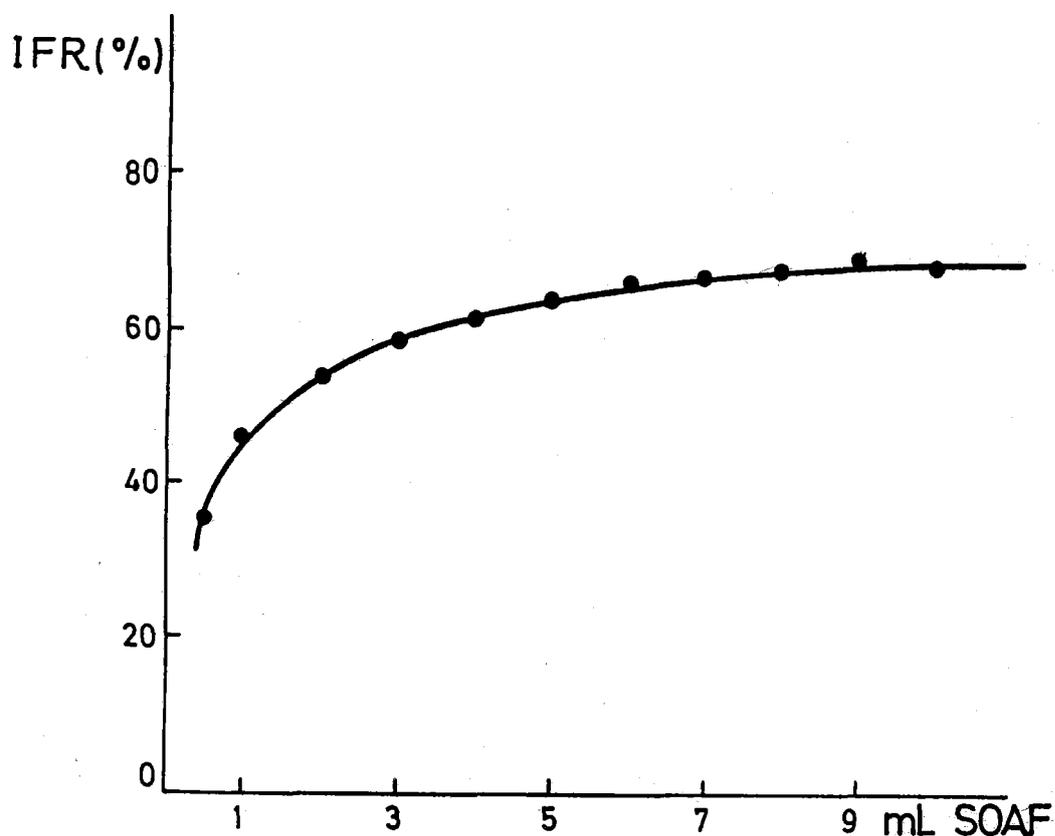


Figura nº 7.8. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)

Influencia de la concentración de reactivo (SOAF).

***Influencia del Tiempo de agitación de la Resina.-***

El estudio consiste en variar el tiempo de agitación del sistema en estudio en la botella de polietileno.

A tal fin, se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL en los que se introdujeron 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y se enrasaron con agua bidestilada.

A continuación se transvasaron a frascos de polietileno de 1 litro y se les añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Tras agitar con periodos de tiempo crecientes, se filtró, se llenaron las cubetas y se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 405$  nm,  $\lambda_{em} = 515$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 7.10 y han sido representados gráficamente en la Figura nº 7.9.

**Tabla 7.10**

t (minutos)	IFR(%)
5	64.2
10	66.4
15	67.7
20	69.9
25	69.5
30	67.1
35	65.6

Como podemos observar en la Figura nº 7.9 no existe una marcada dependencia de la intensidad de fluorescencia con el tiempo de agitación, obteniéndose valores máximos para la intensidad de fluorescencia cuando el tiempo de agitación está comprendido entre los 20 y 25 minutos.

Para sucesivas experiencias se eligió como tiempo de agitación el de 20 minutos.

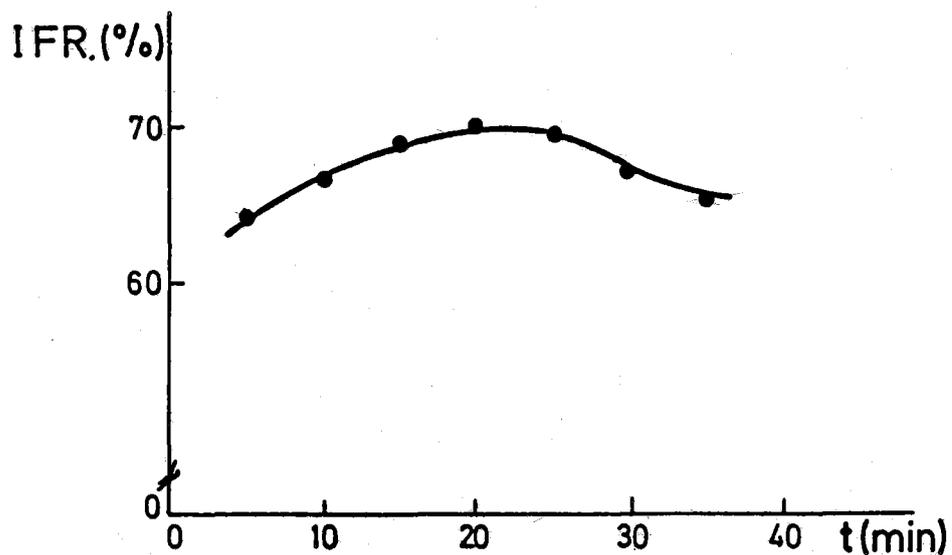


Figura nº 7.9. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)  
Influencia del tiempo de agitación.

*Influencia del Volumen final de Disolución.-*

Al objeto de conocer cómo influye el volumen de disolución a tomar sobre la intensidad de fluorescencia, se preparó una serie de disoluciones que en volúmenes crecientes (100 - 1500 mL) contenían cantidades crecientes de disolución de Ga(III) de 10 ppm y de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 de tal forma que al completar hasta el volumen final con agua bidestilada, la concentración de Ga(III) fuese siempre la misma e igual a 20 ppb, y la fuerza iónica se mantuviese constante.

Las disoluciones se transfirieron a frascos de polietileno de 2 litros y se añadió a cada disolución la cantidad necesaria de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % para que la concentración de éste fuese constante y el porcentaje etanólico en todas las muestras fuese el mismo.

Asimismo, se añadieron a cada disolución 100 mg de resina SP C-25, y tras una agitación de 20 minutos, se filtraron, se llenaron las cubetas de medida y se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron;  $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$ , rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 7.11 y se han representado gráficamente en la Figura nº 7.10.

Tabla 7.11

Vol. Final (mL)	Vol. Ga(III) (mL)	Vol. SOAF (mL)	Vol. Tampón (mL)	IFR(%)
100	0.2	2	0.4	49.0
250	0.5	5	1.0	57.4
500	1.0	10	2.0	70.6
750	1.5	15	3.0	73.8
1000	2.0	20	4.0	77.5
1250	2.5	25	5.0	79.3
1500	3.0	30	6.0	81.5

Como se puede observar en la Figura nº 7.10 se produce un aumento de la intensidad de fluorescencia al aumentar el volumen final de disolución, hasta llegar a un volumen de 1000 mL, a partir del cual la intensidad de fluorescencia aumenta muy poco tendiendo a hacerse independiente del volumen.

Este hecho nos hace pensar en la necesidad de realizar el estudio de optimización de las diferentes variables que influyen en el proceso para cada volumen concreto de disolución.

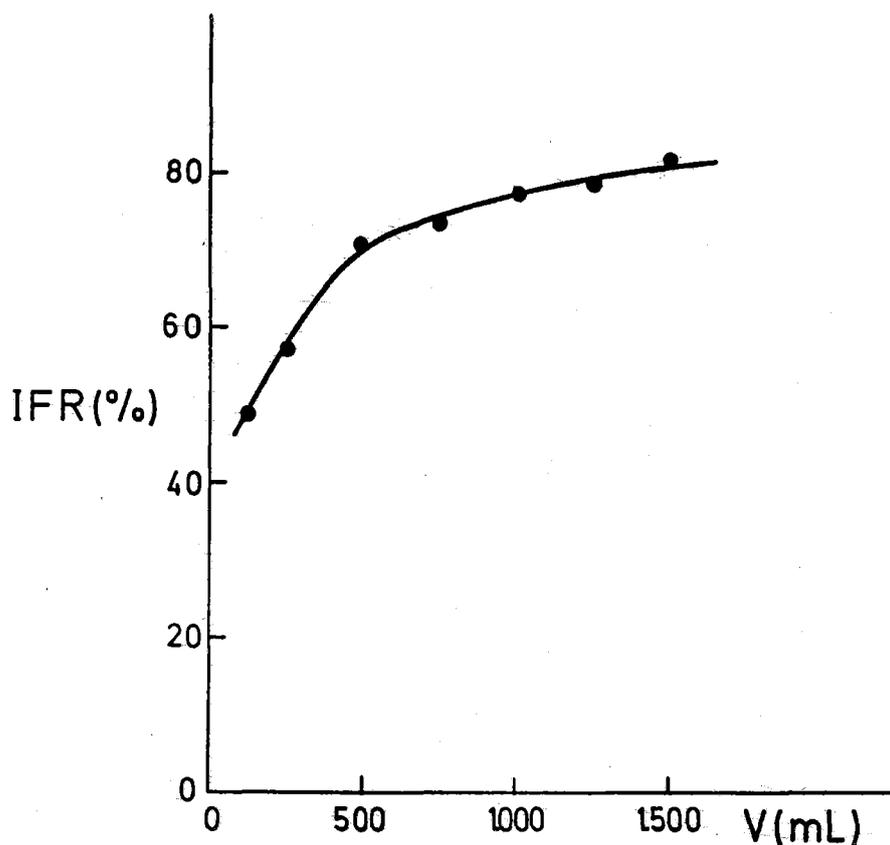


Figura nº 7.10. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III).  
Influencia del volumen final de disolución.

**Influencia de la Cantidad de Resina.-**

La experiencia se llevó a cabo preparando una serie de disoluciones a las que se añadieron cantidades variables de resina.

Estas disoluciones contenían en un volumen final de 500 mL, 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y agua bidestilada hasta el volumen final.

Estas disoluciones se transfirieron a sus respectivos frascos de polietileno, añadiéndose, a cada una de ellas, 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 %. A continuación se añadieron cantidades crecientes de resina y tras agitar durante 20 minutos, se filtraron, se llenaron las cubetas de medida y se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$ , rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm. factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se han recogido en la Tabla 7.12 y representado en la Figura nº 7.11.

**Tabla 7.12**

m (mg)	IFR(%)
100	75.0
150	66.2
200	62.3
300	55.1
400	52.0
500	48.4
600	45.2

Como puede apreciarse al observar la Figura nº 7.11, al aumentar la cantidad de resina añadida, disminuye la intensidad de fluorescencia para la concentración a la que se opera. Como consecuencia, la cantidad de resina óptima a utilizar debe ser la mínima posible. Este valor viene limitado por la cantidad mínima necesaria para el llenado de la cubeta de medida, valor que nosotros hemos fijado en 100 mg.

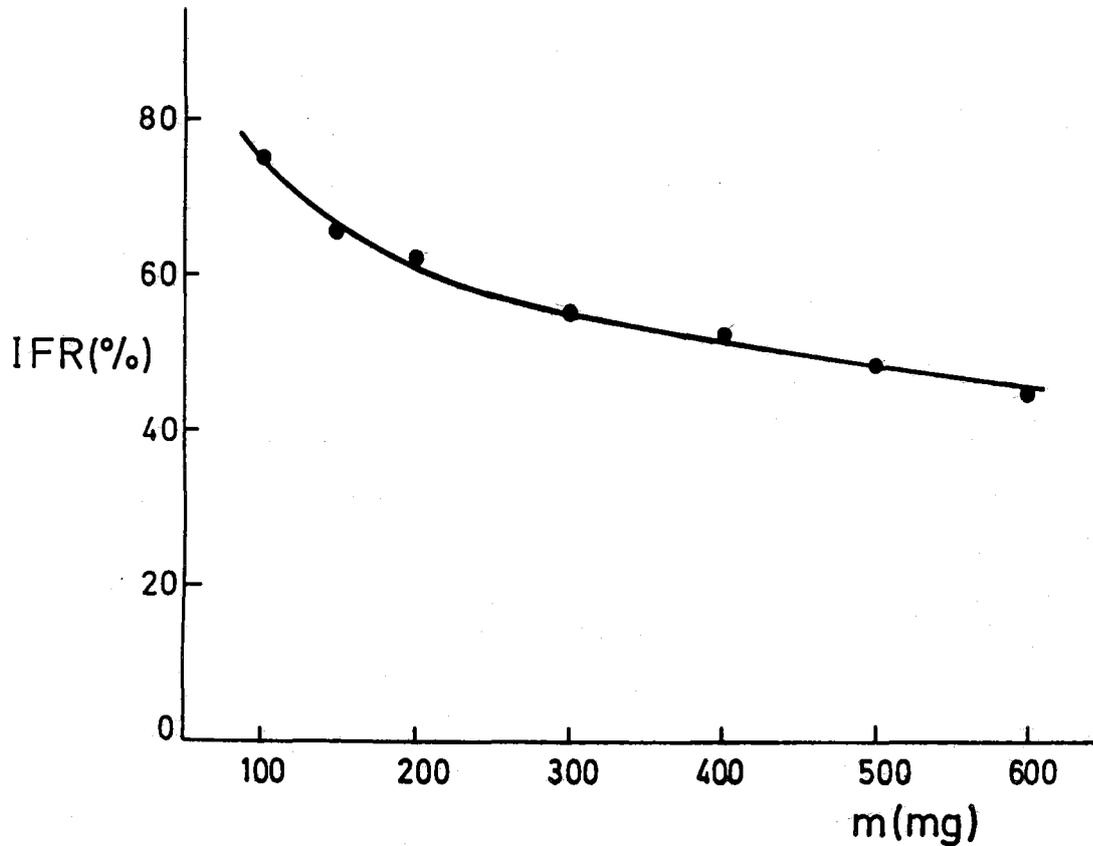


Figura nº 7.11. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)  
Influencia de la cantidad de resina.

***Determinación del Tiempo de vida media del Estado Excitado.-***

Es un hecho bien conocido que la fluorescencia se distingue experimentalmente de la fosforescencia, por la duración del tiempo de vida media del proceso de relajación. Así, para la fluorescencia los valores están comprendidos entre  $10^{-9}$  y  $10^{-7}$  segundos, mientras que para la fosforescencia el intervalo varía entre  $10^{-6}$  y  $10^{-2}$  segundos, generalmente dependiendo de la estructura de la molécula.

Si consideramos la excitación de una sustancia fluorescente con un destello de luz de duración infinitesimal, la variación del número de moléculas excitadas en el tiempo, viene dado por (87):

$$dN(t)/dt = - (\gamma + k) N(t)$$

donde:  $\gamma$  es la velocidad del proceso de relajación radiativo.

$k$  es la velocidad del proceso de relajación no radiativo.

Integrando la anterior ecuación, teniendo en cuenta que para  $t = 0$ ,  $N = N_0$  queda:

$$N(t) = N_0 e^{-t/\tau} \quad \text{ó} \quad I(t) = I_0 e^{-t/\tau}$$

donde  $\tau = (\gamma + k)^{-1}$  es el tiempo de vida media del estado excitado.

Representando  $\ln N$  ó  $\ln I$  (puesto que son proporcionales) frente a  $t$  se obtiene una línea recta, de pendiente negativa, cuya pendiente coincide con la inversa de  $\tau$ :

$$\ln I = \ln I_0 - t/\tau$$

Para la determinación experimental del tiempo de vida media se ha empleado el mismo espectrofluorímetro que hemos utilizado en experiencias anteriores (PERKIN-ELMER LS 5), aparato provisto de una lámpara de Xénon de baja potencia pulsante.

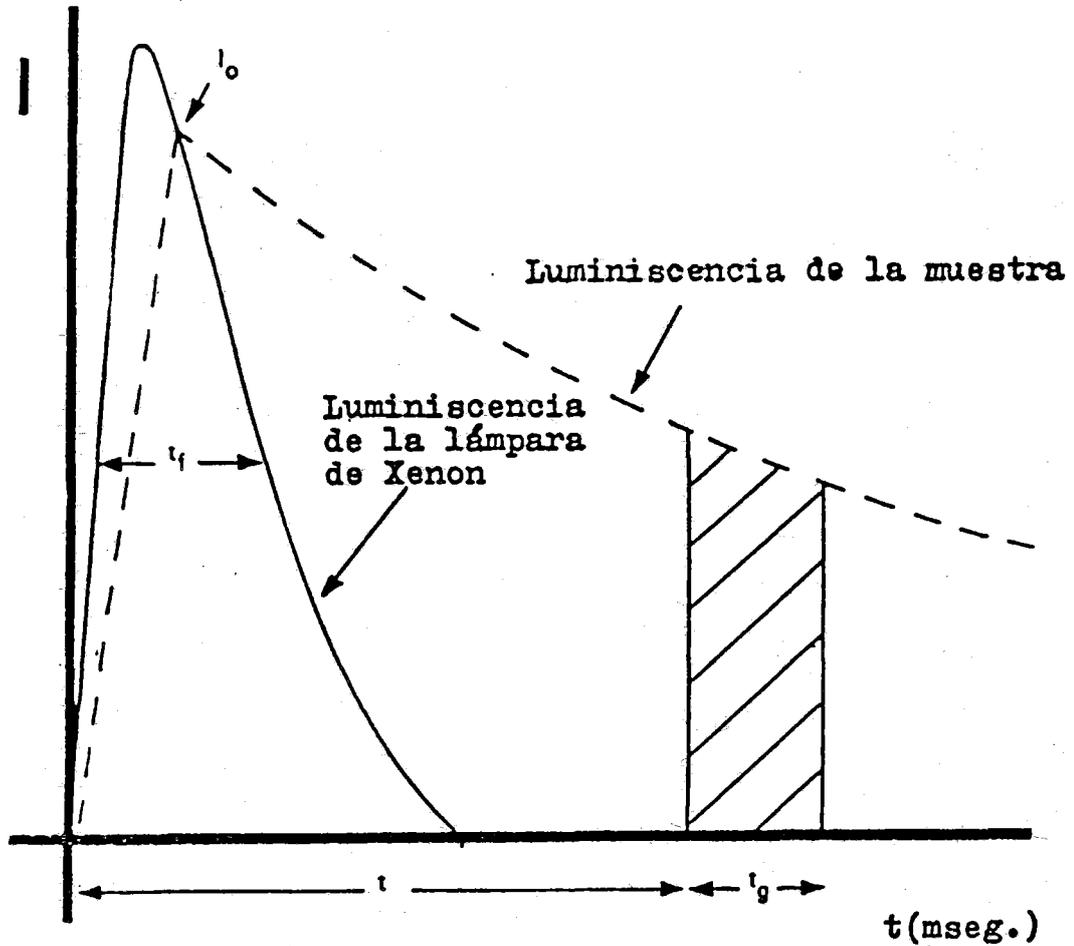


Figura nº 7.12. Diagrama de los fenómenos que tienen lugar durante la excitación de una muestra con una lámpara de Xénon pulsante.

$t$  : Tiempo de comienzo de la medida.

$t_d$  : Tiempo de medida del detector.

$t_r$  : Anchura del pico de la lámpara de Xénon a intensidad mitad de la máxima.

En la Figura nº 7.12 se representa la luminiscencia del destello de la lámpara y la lumiscencia de la muestra. Hemos fijado el tiempo de vida media del fotomultiplicador en 0.1 milisegundo.

Para medir la luminiscencia de la muestra a distintos tiempos basta con variar  $t$  en el intervalo de 0.01 milisegundo a varios milisegundos.

La determinación del tiempo de vida media del estado excitado la hemos realizado a dos temperatura: 7 y 30 °C.

La muestra se ha preparado operando sobre una disolución que en un volumen final de 500 mL contenía 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y agua bidestilada hasta el enrase.

Esta disolución se transfirió a un frasco de polietileno y se le añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF al 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Tras agitar durante 20 minutos, se filtró la disolución, transfiriendose la resina a la cubeta de medida, realizandose las medidas de intensidad de luminiscencia a una  $\lambda_{em} = 515$  nm, excitando a una  $\lambda_{exc} = 405$  nm, siendo las rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm y el factor de sensibilidad 3.

Los resultados obtenidos se recogen en las Tablas 7.13 y 7.14 y han sido representados gráficamente en las Figuras nº 7.13 y 7.14.

Tabla 7.13

tx10 <sup>3</sup> (s)	IFR	Ln(IFR)
0.01	233.9	5.45
0.02	33.8	3.52
0.03	3.9	1.36

Tabla 7.14

tx10 <sup>3</sup> (s)	IFR	Ln(IFR)
0.01	226.5	5.42
0.02	31.8	3.46
0.03	3.5	1.25

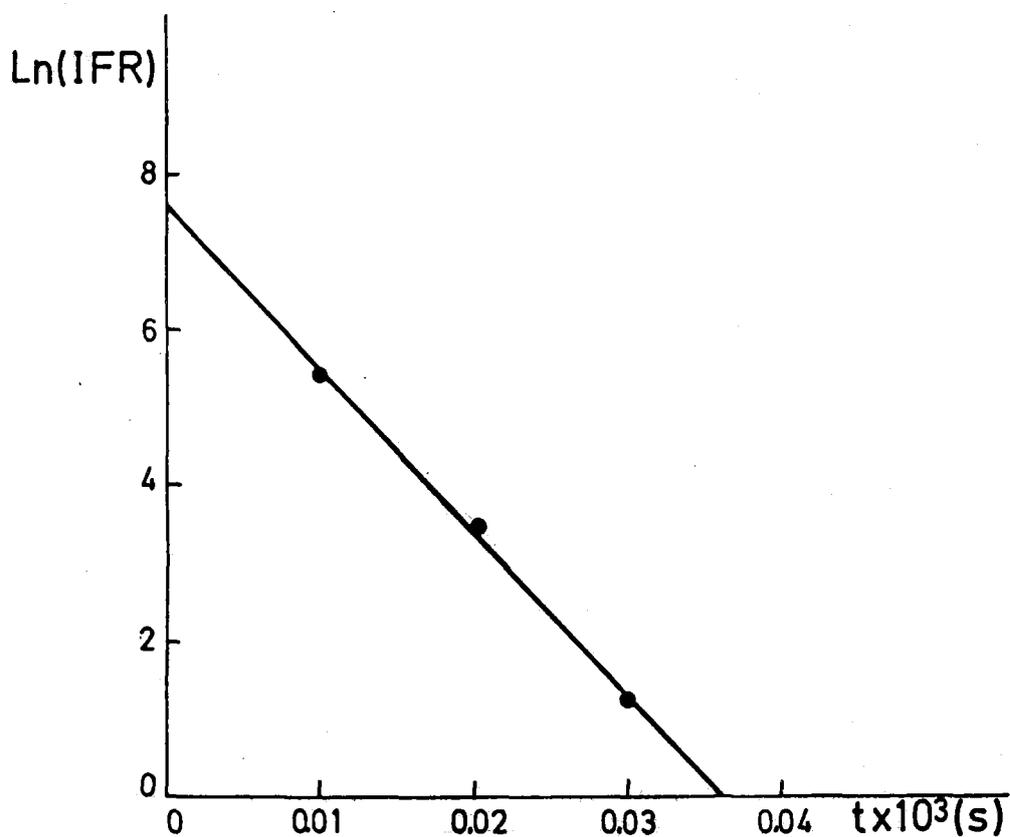


Figura nº 7.13. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)  
Determinación del tiempo de vida media del estado excitado a 7 °C.

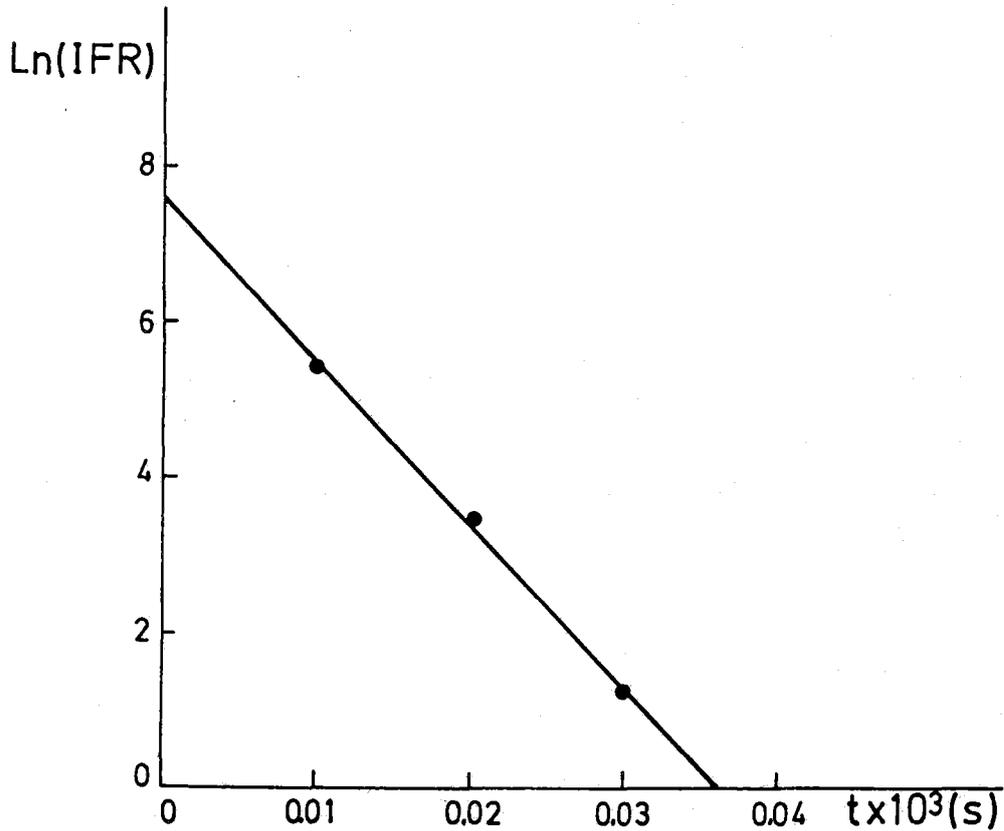


Figura nº 7.14. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)  
Determinación del tiempo de vida media del estado excitado a 30 °C.

De las anteriores Figuras nº 7.13 y 7.14 se deducen unos valores de  $\tau = 4.9 \times 10^{-6}$  s, en el caso de operar a 7 °C, y de  $\tau = 4.8 \times 10^{-6}$  s, para el caso de operar a 30 °C.

Dado, que, según los datos determinados con anterioridad (58), la vida media de la caída del pulso de la lámpara de Xénon es de este orden de magnitud, lo único que podemos afirmar en esta experiencia es que el tiempo de vida media del proceso luminiscente es inferior a  $5 \times 10^{-6}$  s, lo que nos hace pensar que, a las dos temperaturas de trabajo, se trate de un proceso de fluorescencia y no de fosforescencia.

**Influencia de la Dilución.-**

Se ha establecido operando en dos condiciones experimentales diferentes:

- *Manteniendo constantes los volúmenes de disolución de reactivo (SOAF) y de Ga(III) añadidos.*

- *Manteniendo constante el volumen de disolución de Ga(III) añadido.*

**Influencia de la dilución para volúmenes de reactivo y Ga(III) constantes.-**

Para su estudio se preparó una serie de matraces aforados de distinta capacidad (250-1500 mL) que contenían 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, cantidades adecuadas de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70, al objeto de mantener constante la fuerza iónica, y agua bidestilada hasta el enrase.

Se transfirieron a sus respectivos frascos de polietileno, añadiéndose 10 mL de disolución etanólica de SOAF al 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Tras agitar durante 20 minutos, filtrar y llenar las cubetas se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 405$  nm,  $\lambda_{em} = 515$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 7.15 y han sido representados gráficamente en la Figura nº 7.15.

Tabla 7.15

Vol. Final (mL)	Vol. Tampón (mL)	IFR(%)
250	1	104.7
500	2	65.6
750	3	40.4
1000	4	28.2
1250	5	23.7
1500	6	21.2

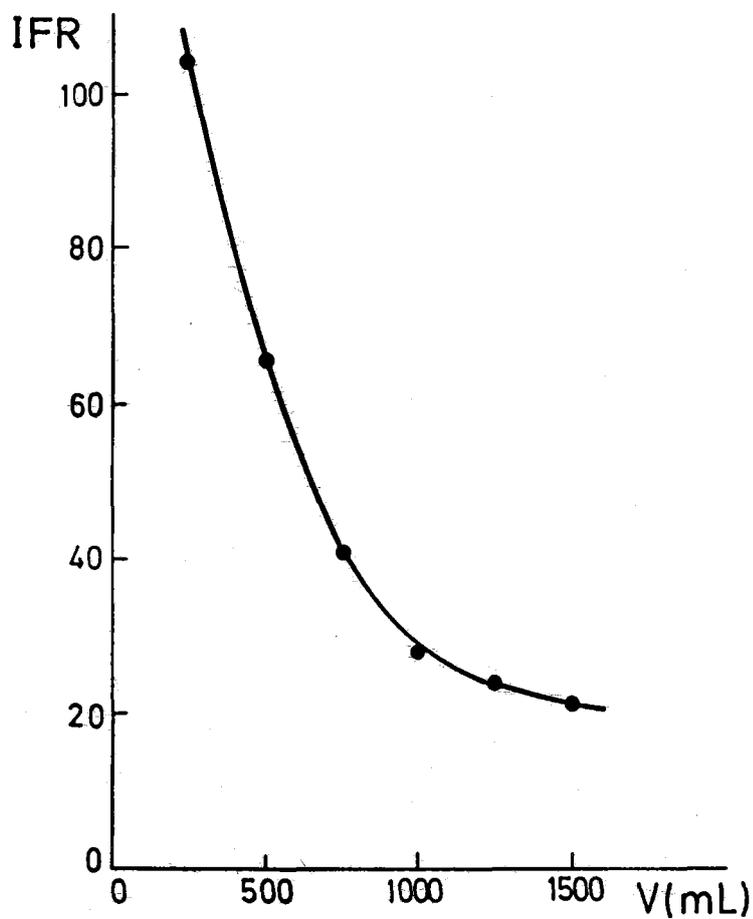


Figura nº 7.15. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)  
Influencia de la dilución para volúmenes de SOAF y Ga(III)  
constantes.

**Influencia de la dilución para volumen de Ga(III) constante.-**

Para su estudio se preparó una serie de matraces aforados de distinta capacidad (250-1500 mL) que contenían 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, cantidades adecuadas de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 al objeto de mantener constante la fuerza iónica y agua bidestilada hasta el enrase.

Estas disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno, añadiéndose la cantidad necesaria de disolución etanólica de SOAF al 0.1 % para que la concentración final fuese constante e igual a  $9.2 \times 10^{-5}$  M y 100 mg de resina.

Tras agitar durante 20 minutos, filtrar y llenar las cubetas se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 405$  nm,  $\lambda_{em} = 515$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.4 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 7.16 se recogen los resultados obtenidos que han sido representados gráficamente en la Figura nº 7.16.

**Tabla 7.16**

Vol. Final (mL)	Vol. Tampón (mL)	Vol. SOAF (mL)	IFR(%)
250	1	5	85.2
500	2	10	65.8
750	3	15	52.5
1000	4	20	43.6
1250	5	25	37.8
1500	6	30	34.6

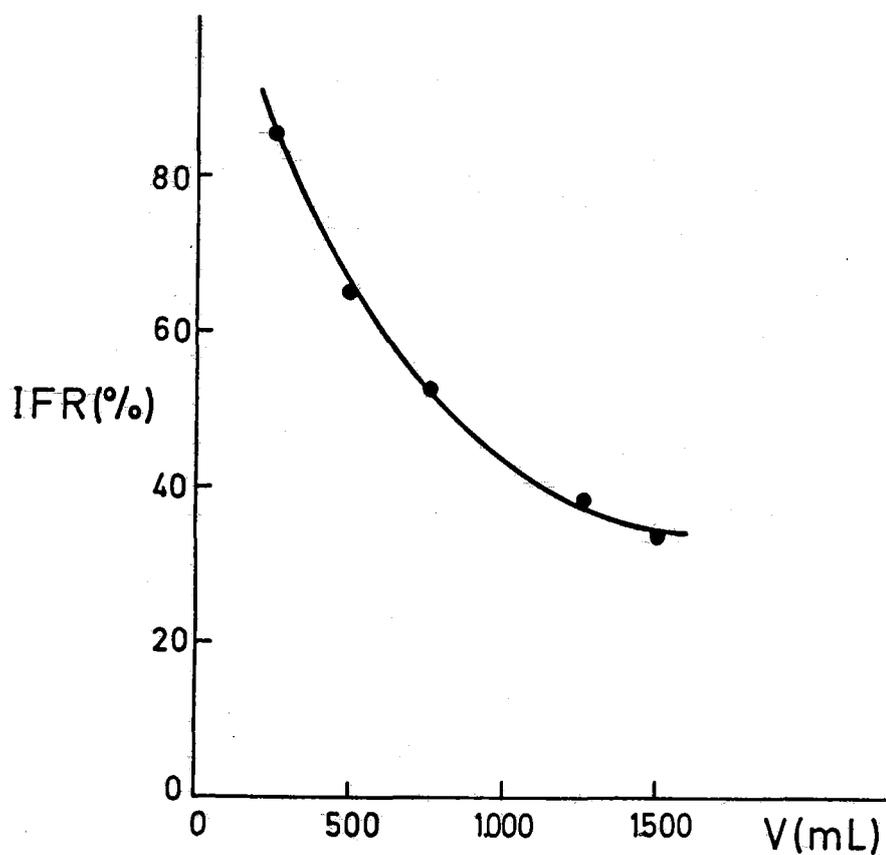


Figura nº 7.16. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)

Influencia de la dilución para volumen de Ga(III) constante.

De la observación de las anteriores Figuras nº 7.15 y 7.16 puede deducirse la existencia de una disminución brusca de la intensidad de fluorescencia al diluir. Estos resultados, junto con los obtenidos en la experiencia anterior, nos confirma la necesidad de optimizar todas las variables para cada volumen concreto.

**Recta de Calibrado.-**

Teniendo en cuenta los resultados aportados por las experiencias previas de optimización se ha establecido la recta de calibrado para el rango de concentraciones de Ga(III) comprendido entre 2 y 10 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), para el cual la intensidad de fluorescencia del sistema en estudio es una función lineal de la concentración de catión metálico.

Se preparó a tal fin una serie de matraces aforados de 500 mL en los que se introdujeron volúmenes crecientes de disolución de Ga(III) de 2 ppm, comprendidos entre 0.5 y 2.5 mL, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y se enrasó con agua bidestilada.

Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno de 1 litro de capacidad y se les añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Se agitaron durante 20 minutos, se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc}$  = 405 nm,  $\lambda_{em}$  = 515 nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.5 y temperatura 20 °C.

Los datos obtenidos se recogen en la Tabla 7.17 y han sido representados gráficamente en la Figura nº 7.17.

**Tabla 7.17**

ppb Ga(III)	0	2	4	6	8	10
IFR (%)	25.0	29.6	36.2	41.7	46.2	51.5

Como puede observarse en la Figura nº 7.17 existe una buena linealidad entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de Ga(III), en el intervalo de concentración ensayado.

La ecuación correspondiente a esta recta de calibrado, ajustada por mínimos cuadrados es:

$$\text{IFR} = 2.68 [\text{Ga(III)}] + 25.0$$

donde la [Ga(III)] viene expresada en ppb.

El coeficiente de correlación encontrado es 0.999

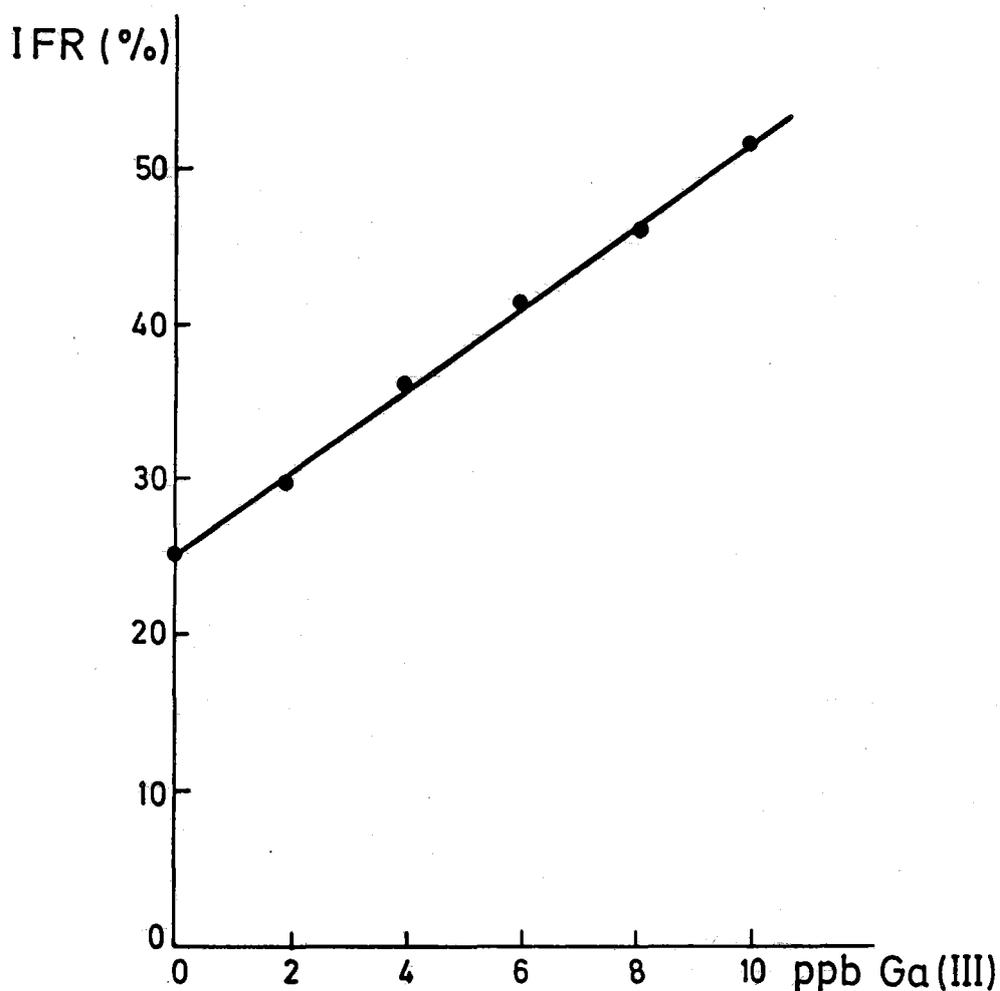


Figura nº 7.17. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)

Recta de calibrado.

Con objeto de poder comparar la sensibilidad del método en fase resina y en disolución, se ha obtenido la recta de calibrado en disolución para el rango de concentraciones de Ga(III) comprendido entre 8 y 25 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), siguiendo el procedimiento operatorio propuesto por Dagnall y col. (27).

La medida de la intensidad de fluorescencia se realizó en las mismas condiciones experimentales empleadas en la obtención de la recta de calibrado en fase resina.

La ecuación de la recta, ajustada por mínimos cuadrados, resultó ser:

$$\text{IFR} = 0.04 [\text{Ga(III)}] + 2.3$$

donde la  $[\text{Ga(III)}]$  viene expresada en ppb.

El coeficiente de correlación encontrado es 0.999

La comparación de los resultados de sensibilidad obtenidos nos permiten resaltar el gran aumento de ésta que se obtiene al operar en fase resina, respecto al que se obtiene en disolución, pues como puede observarse la relación de las pendientes de las rectas de calibrado es 67.

$$\frac{\text{Pendiente fase resina}}{\text{Pendiente disolución}} = 67$$

**Determinación de Ga(III).-**

La optimización de las variables que influyen sobre la intensidad de fluorescencia del sistema SP C-25-SOAF-Ga(III) realizada anteriormente nos ha permitido proponer el siguiente procedimiento operatorio para la determinación de este catión.

**Procedimiento operatorio.**

**Recta de calibrado.-** La recta de calibrado se obtiene preparando 5 disoluciones con una concentración de Ga(III) de 2, 4, 6, 8 y 10 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), para lo cual en matraces aforados de 500 mL se pipetea 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5 mL de disolución de Ga(III) de 2 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y se enrasa con agua bidestilada. Las disoluciones se transfieren a sus respectivos frascos de polietileno de 1 litro de capacidad y se les añaden 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Las disoluciones se agitan durante 20 minutos, se filtran y se llenan las cubetas de medida.

Transcurridos 20 minutos se mide la intensidad de fluorescencia a una  $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$ , siendo la  $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$ .

**Disolución problema.-** La disolución problema se prepara introduciendo en un matraz aforado de 500 mL el volumen necesario de disolución problema original como para que la concentración final de Ga(III) esté comprendida entre 2 y 10 ppb ( $\mu\text{g/L}$ ), 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y agua bidestilada hasta el enrase. La disolución se transfiere a un frasco de polietileno de 1 litro de capacidad y se le añaden 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

La disolución se agita durante 20 minutos, se filtra y se llena la cubeta de medida.

Transcurridos 20 minutos se mide la intensidad de fluorescencia en las mismas condiciones operatorias empleadas en la recta de calibrado.

### ***Estudio de la Reproducibilidad.-***

El protocolo de la aplicación de la espectrofluorimetría de cambio iónico la podemos esquematizar en las cinco etapas operatorias siguientes:

- A.- *Preparación de la disolución.*
- B.- *Agitación.*
- C.- *Filtración.*
- D.- *Empaquetamiento de la resina.*
- E.- *Medida de la intensidad de fluorescencia.*

Es evidente que la incertidumbre de la aplicación del método vendrá determinada por la incertidumbre de cada una sus etapas. Un análisis detenido de éstas, nos hace pensar que para un operador adiestrado, sea la etapa D la que mayor incertidumbre pudiera introducir. Por ello, hemos creído conveniente establecer antes de la reproducibilidad del método, la reproducibilidad de esta etapa en concreto.

### ***Reproducibilidad del Empaquetamiento.-***

Para esta experiencia se introdujeron en un matraz aforado de 500 mL 1 mL de disolución de Ga(III) de 10 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y agua bidestilada hasta el enrase.

Esta disolución se transfirió a un frasco de polietileno de 1 litro de capacidad y se añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF al 0.1 % y 200 mg de resina SP C-25.

Tras agitar durante 20 minutos, se filtró la disolución, se transfirió la resina a la cubeta de medida y se realizó la medida de su intensidad de fluorescencia.

El proceso se repite 10 veces, vaciando la cubeta y volviendola a llenar, con lo cual se determina la reproducibilidad del empaquetamiento.

Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 7.18.

Tabla 7.18

ppb Ga(III)	IFR(%)
20	63.3
20	62.9
20	64,2
20	64.7
20	63.6
20	62.3
20	63.9
20	61.5
20	63.9
20	62.9

-----

$\overline{\text{IFR}} = 63.3$   
 $\sigma_{n-1} = 0.95$

El valor de  $\sigma_{n-1}$  nos indica, con una certeza del 68 %, que una medida aislada de la intensidad de fluorescencia se encuentra comprendida en el intervalo  $\overline{\text{IFR}} \pm \sigma_{n-1}$ , es decir entre 64 y 62 unidades relativas fluorescencia.

Por tanto el error relativo sobre el valor medio será:

$$\text{Er} = (\sigma_{n-1} / \overline{\text{IFR}}) \times 100 = 1.50 \%$$

**Reproducibilidad del método.-**

Para esta experiencia se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL en los que se introdujeron 2 mL de disolución de Ga(III) de 2 ppm, 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y agua bidestilada hasta el enrase. Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno de 1 litro de capacidad y se les añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Tras agitar durante 20 minutos se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 405 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$ , rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.5 y temperatura 20 °C.

Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 7.19.

**Tabla 7.19**

ppb Ga(III)	IFR(%)
8	46.4
8	46.1
8	46.3
8	46.8
8	45.9
8	47.0
8	45.3
8	46.9
8	45.6
8	46.5
<hr/>	
	$\overline{\text{IFR}} = 46.3$
	$\sigma_{n-1} = 0.51$

El valor de  $\sigma_{n-1}$  nos indica, con una probabilidad del 68 %, que una medida aislada de intensidad de fluorescencia se encuentra comprendida en el intervalo  $\overline{IFR} \pm \sigma_{n-1}$ , es decir entre 46.8 y 45.8.

Por consiguiente el error relativo sobre el valor medio será:

$$Er = (\sigma_{n-1} / \overline{IFR}) \times 100 = 1.30 \%$$

Si el análisis es efectuado sobre un número "n" de muestras el Er correspondiente decrece en  $\sqrt{n}$ .

**Límite de Detección.-**

Para su establecimiento se ha seguido el criterio de la I.U.P.A.C. (81), que ha sido expuesto con anterioridad en esta Memoria Doctoral.

Al objeto de su determinación, se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL que contenían 2 mL de disolución reguladora Dagnall de pH 4.70 y agua bidestilada hasta el enrase. Estas disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno de 1 litro de capacidad y se les añadieron 10 mL de disolución etanólica de SOAF del 0.1 % y 100 mg de resina SP C-25.

Tras agitar durante 20 minutos, se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia fueron:  $\lambda_{exc} = 405$  nm,  $\lambda_{em} = 515$  nm, rendija de excitación de 2.5 nm, rendija de emisión de 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.5 y temperatura 20 °C.

En la Tabla 7.19 se recogen los resultados obtenidos.

**Tabla 7.19**

Muestra	IFR <sub>B</sub> (%)
1	25.2
2	24.9
3	24.4
4	24.6
5	25.2
6	24.7
7	24.8
8	24.4
9	25.1
10	24.6

El tratamiento estadístico realizado nos da como valor medio de la intensidad de fluorescencia del blanco  $\overline{IFR}_B = 24.8$ , siendo la desviación standard  $\sigma_{n-1} = 0.3$ .

Por tanto, aplicando el criterio de la I.U.P.A.C., el límite de detección será:

$$C_L = (K \sigma_{n-1}) / \bar{x} = (3 \times 0.3) / 2.68 = 0.3 \text{ ppb.}$$

Si la intensidad de fluorescencia de una muestra problema es  $IFR > 24.8 + (3 \times 0.3) = 25.7$ , podemos afirmar con una certeza del 99.86 % que el Ga(III) esta presente en dicha muestra.

El valor obtenido para el límite de detección es del orden de 20 veces menor que el límite de detección dado por Dagnall y col. (27) en el estudio del complejo SOAF-Ga(III) en disolución.

**Interferencias.-**

Se ha estudiado la influencia que la presencia de los cationes extraños, que en disolución causan máxima interferencia (Co(II), Cu(II), Cr(VI), Mo(VI), Ni(II), Fe(III) y Al(III), página 401, en la determinación de Ga(III), por el procedimiento operatorio propuesto en fase resina.

Para ello se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL para cada catión extraño ensayado, que contenían siempre 8 ppb de Ga(III) y concentraciones crecientes de aquel. Estas disoluciones fueron tratadas en la misma forma que se indica en el proceso operatorio, página 444.

De la medida de la intensidad de fluorescencia del sistema y con la ayuda de la recta de calibrado se determinó en cada caso el error relativo de aquella.

Hemos aceptado como límite de tolerancia para el catión extraño, la concentración de éste que origina un error relativo del 5 %. No interfiriendo por tanto aquellas concentraciones de catión extraño que producían un error igual o inferior a ese valor.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 7.20 y Figura nº 7.18.

**Tabla 7.20**

Ión	C (ppb)	C <sub>Ga(III)</sub> (ppb)	log (C/C <sub>Ga(III)</sub> )	Er (%)
Co(II)	8	8	0	- 1.3
	80	8	1	- 1.7
	400	8	2.7	- 2.0
	800	8	2	- 2.4
	1600	8	2.3	- 3.0

Ión	C (ppb)	$C_{Ga(III)}$ (ppb)	$\log (C/C_{Ga(III)})$	Er (%)
Cu(II)	8	8	0	- 4.2
	80	8	1	- 4.5
	200	8	1.4	- 4.7
	400	8	1.7	- 4.8
	800	8	2	- 4.8
	1600	8	2.3	- 11.7
Ni(II)	8	8	0	- 2.0
	80	8	1	- 2.4
	400	8	1.7	- 2.6
	800	8	2	- 3.3
	1600	8	2.3	- 3.8
Al(III)	2	8	- 0.6	+ 2.5
	4	8	- 0.3	+ 4.8
	8	8	0	+ 16.5
	16	8	0.3	+ 61.7
Cr(III)	8	8	0	- 2.3
	80	8	1	- 2.8
	400	8	1.7	- 3.2
	800	8	2	- 5.9
	1600	8	2.3	- 16.5
Fe(III)	8	8	0	- 0.1
	80	8	1	- 0.8
	400	8	1.7	- 11.3
	800	8	2	- 30.4
	1600	8	2.3	- 37.9

Ión	C (ppb)	$C_{G_{max}(III)}$ (ppb)	$\log (C/C_{G_{max}(III)})$	Er (%)
Cr(VI)	8	8	0	- 0.1
	20	8	0.4	- 0.5
	40	8	0.7	- 1.6
	80	8	1	- 4.2
	400	8	1.7	- 28.8
Mo(VI)	8	8	0	- 0.2
	80	8	1	- 1.5
	400	8	1.7	- 2.0
	800	8	2	- 2.5
	1600	8	2.3	- 2.9

En la Tabla 7.21 se resumen los datos de tolerancia, para los distintos iones extraños, obtenidos a partir de la Figura nº 7.18 con el criterio adoptado

Tabla 7.21

Ión extraño	Tolerancia (ppb)
Co(II)	> 1600
Cu(II)	850
Ni(II)	> 1600
Al(III)	4.3
Cr(III)	670
Fe(III)	240
Cr(VI)	90
Mo(VI)	> 1600

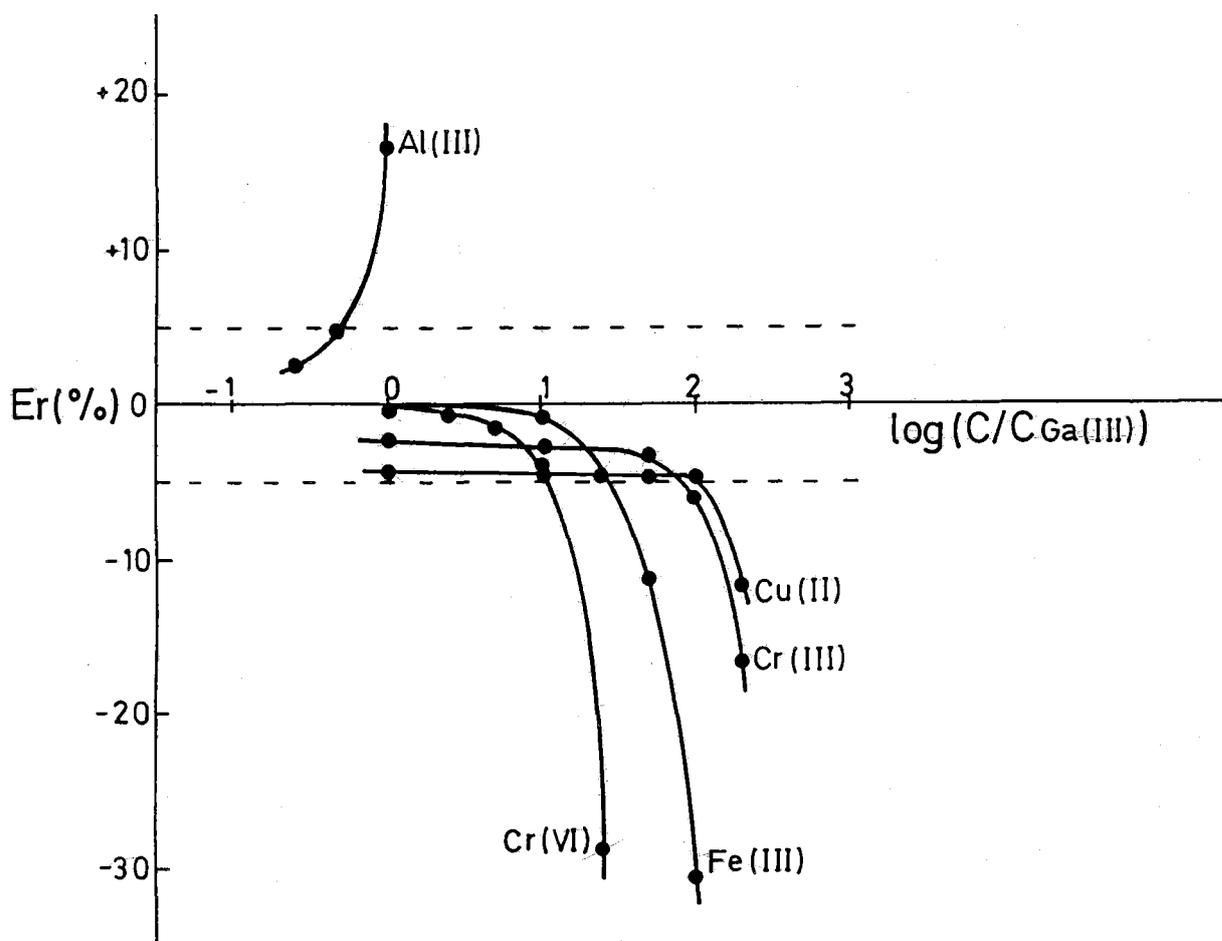


Figura nº 7.18. Resina SP C-25-SOAF-Ga(III)  
Interferencias.

De la observación de la anterior Tabla 7.21 y Figura nº 7.18, puede deducirse:

1.- No interfieren en relación molar ión extraño/Ga(III) igual o inferior a 100 los iones: Co(II), Cu(II), Ni(II) y Mo(VI). Es decir 4 de los 7 iones ensayados.

2.- Presentan interferencia moderada los iones: Fe(III) y Cr(VI).

3.- Causa una gran interferencia la presencia del ión Al(III), aunque si la muestra se calienta a 70 °C durante unos 15 minutos y se vuelve a enfriar a la temperatura de medida (20 °C) la tolerancia de este catión aumenta a 20 ppb.

4.- Los cationes con caracter paramagnético interfieren todos negativamente.



## **CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

1.- Se han obtenido las bases de Schiff: Saliciliden-*o*-aminofenol, 5-Clorosaliciliden-*o*-aminofenol, 5-Bromosaliciliden-*o*-aminofenol, 5-Hidroxisaliciliden-*o*-aminofenol, 5-Metoxisaliciliden-*o*-aminofenol, Saliciliden-anilina y Benciliden-*o*-aminofenol, tomando como base el método general propuesto por **Freeman y White**, mediante condensación directa de los aldehidos y aminas correspondientes en medio etanólico.

2.- Los productos obtenidos han sido identificados, en todos los casos, mediante Punto de Fusión, Análisis Elemental, Espectroscopía Infrarroja y Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear.

3.- Se han establecido los espectros de absorción UV-VIS de las siete bases de Schiff en estudio en función del pH aparente del medio, comprobándose que excepto el Benciliden-*o*-aminofenol, que no presenta actividad óptica alguna, todos los demás reactivos muestran máximos de absorción en los intervalos de longitudes de onda: 322-359 nm y 378-410 nm, según que el pH del medio sea débil o fuertemente básico.

4.- Mediante la aplicación de los métodos potenciométricos Algebraico Directo, de **Bjerrum**, de **Irving y Rossotti** y de **Schwarzenbach**, el método espectrofotométrico de **Wilson y Lester** y el método espectrofluorimétrico de **Schulman y col.**, se han determinado las diferentes constantes de disociación ácida de estos compuestos, las cuales se muestran en la siguiente tabla:

Azometina	Método	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	pK <sub>3</sub>	pK <sub>4</sub>
SOAF	Alg. Directo	---	9,09±0,02	11,02±0,02	---
	Bjerrum	---	9,08±0,02	11,45±0,02	---
	Irving y Rossotti	4,42±0,02	9,17±0,02	---	---
	Wilson y Lester	---	9,34±0,09	---	---
	Schulman y col.	---	9,33±0,09	---	---
5-ClSOAF	Alg. Directo	---	8,21±0,04	11,02±0,02	---
	Bjerrum	---	8,22±0,03	11,40±0,03	---
	Irving y Rossotti	4,02±0,01	8,43±0,03	---	---
	Wilson y Lester	---	8,63±0,03	---	---
	Schulman y col.	---	8,45±0,05	---	---
5-BrSOAF	Alg. Directo	---	8,14±0,03	11,03±0,03	---
	Bjerrum	---	9,22±0,03	11,45±0,02	---
	Irving y Rossotti	4,40±0,02	8,31±0,01	---	---
	Wilson y Lester	---	8,33±0,01	---	---
	Schulman y col.	---	8,20±0,01	---	---
5-OHSOAF	Alg. Directo	---	9,61±0,03	---	---
	Bjerrum	---	9,68±0,02	---	---
	Irving y Rossotti	4,32±0,02	9,64±0,03	---	---
	Schwarzenbach	---	---	11,45±0,02	11,82±0,03
	Wilson y Lester	---	9,76±0,07	---	11,55±0,03
5-MeOSOAF	Alg. Directo	---	9,16±0,03	11,05±0,03	---
	Bjerrum	---	9,15±0,06	11,50±0,02	---
	Irving y Rossotti	4,18±0,03	9,20±0,01	---	---
	Wilson y Lester	---	9,49±0,05	---	---
SA	Alg. Directo	---	9,32±0,03	---	---
	Irving y Rossotti	4,18±0,04	9,47±0,05	---	---
	Wilson y Lester	---	9,62±0,09	---	---
	Schulman y col.	---	9,59±0,04	---	---
BOAF	Alg. Directo	---	10,99±0,02	---	---
	Irving y Rossotti	4,48±0,03	10,85±0,01	---	---

5.- El estudio del tipo de transiciones electrónicas que tienen lugar en los espectros de absorción UV-VIS nos pone de manifiesto que en todos los casos las transiciones electrónicas son del tipo  $n \rightarrow \pi^*$ .

6.- Se estudió la reaccionabilidad cualitativa fluorescente de los productos sintetizados frente a 52 cationes inorgánicos en medio hidroalcohólico al 50 % de etanol (v/v) y diferentes valores de pH. A excepción del Benciliden-o-aminofenol que no reacciona con ninguno de los iones ensayados, los demás reactivos muestran una escasa reaccionabilidad pues como máximo el 5-Metoxisaliciliden-o-aminofenol muestra reacción positiva frente a siete cationes en medio neutro.

La sensibilidad de las reacciones es, en general, notable y en muchas ocasiones el pD es superior a 6. La máxima sensibilidad la originan las reacciones: SOAF-Al(III) (pD=7.3), 5-ClSOAF con Al(III) (pD=7.3) y con Sc(III) (pD=6.1), 5-MeOSOAF con In(III) (pD=6.5) y con Th(IV) (pD=6.5), y la del SA con Be(II) (pD=6.8).

7.- La comparación de la reaccionabilidad cualitativa de los siete reactivos estudiados ha puesto de manifiesto que es necesaria la presencia de un grupo OH en posición *orto* en el anillo salicílico para que estos reactivos actúen como agentes quelantes.

8.- Se ha realizado el estudio espectrofluorimétrico del sistema 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol-Ga(III). en medio hidroalcohólico, estableciéndose los espectros de excitación y emisión del mismo. Se ha comprobado, asimismo, qué influencia ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema el pH, tiempo, temperatura, orden de adición, así como la concentración de los diferentes reactivos.

9.- Utilizando los métodos de Yoe y Jones y de Bent y French se ha determinado por vía espectrofluorimétrica la estequiometría de los complejos que forma el 5-Bromosaliciliden-o-aminofenol con el Ga(III) a  $\text{pH}^* = 5.35$ , resultando ser 2:1 y 1:1 (reactivo:cación).

10.- Se ha demostrado que existe una relación lineal entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de Ga(III), en el intervalo de concentraciones comprendido entre 5 y 25 ppb, y establecido un nuevo método de determinación espectrofluorimétrica de trazas de Ga(III) con un error relativo inferior al 1.5 %.

11.- Se ha realizado el estudio espectrofluorimétrico del sistema 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol-In(III), en medio hidroalcohólico, estableciéndose los espectros de excitación y emisión del mismo. Se ha comprobado, asimismo, qué influencia ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema el pH, tiempo, temperatura, orden de adición, así como la concentración de los diferentes reactivos.

12.- Utilizando el método de Bent y French se ha determinado por vía espectrofluorimétrica la estequiometría del complejo que forma el 5-Clorosaliciliden-o-aminofenol con el In(III) a  $\text{pH}^* = 4.70$ , resultando ser 2:1 (reactivo:cación).

13.- Se ha demostrado que existe relación lineal entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de In(III), en el intervalo de concentraciones comprendido entre 12.5 y 75.0 ppb, y establecido un nuevo método de determinación espectrofluorimétrica de trazas de In(III) con un error relativo inferior al 5 %.

14.- Se ha realizado el estudio espectrofluorimétrico del sistema Saliciliden-anilina-Be(II), en medio hidroalcohólico, estableciéndose los espectros de excitación y emisión y la influencia que sobre la intensidad de fluorescencia del sistema ejerce el pH, tiempo, temperatura, orden de adición y concentración de los reactivos.

15.- Utilizando los método de Job y Bent y French se ha determinado por vía espectrofluorimétrica la estequiometría del complejo que forma la Saliciliden-anilina con el Be(II) a  $\text{pH}^* = 7.20$ , que resulta ser 2:1 (reactivo:cación).

16.- Se ha demostrado que existe una relación lineal entre la intensidad de fluorescencia y la concentración de Be(II), en el intervalo de concentraciones comprendido entre 1.44 y 18.00 ppb, y establecido un nuevo método para la determinación espectrofluorimétrica de trazas de Be(II) con un error relativo inferior al 3.5 %.

17.- Se ha realizado el estudio espectrofluorimétrico del sistema Saliciliden-*o*-aminofenol-Ga(III) por **espectrofluorimetría de cambio iónico**, técnica iniciada y desarrollada en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Granada por F. Capitan y col., empleando como soporte la resina Sephadex SP C-25. Se han optimizado las distintas variables que influyen tanto sobre la fijación como sobre la intensidad de fluorescencia del sistema.

18.- Se propone un nuevo método para la determinación de Ga(III) por espectrofluorimetría de cambio iónico en el intervalo de concentraciones comprendido entre 2 y 10 ppb con un error relativo inferior al 1.5 %.

19.- Se ha establecido el efecto que la fijación en fase resina del complejo SOAF-Ga(III) ejerce sobre la intensidad de fluorescencia de este sistema. Los datos que muestran este efecto son:

Límite de detección en fase resina: 0.3 µg/L

Límite de detección en disolución : 6.3 µg/L

$$\frac{\text{Sensibilidad en fase resina}}{\text{Sensibilidad en disolución}} = 67$$

Estos datos nos indican claramente que además de ser una determinación 67 veces más sensible, la espectrofluorimetría de cambio iónico rebaja un orden de magnitud el Límite de detección, respecto a la fluorimetría convencional en disolución.

20.- Se ha comprobado que el tiempo de vida media del estado excitado del sistema en fase resina es inferior a  $5 \times 10^{-6}$  s, lo que nos hace pensar que se trate de un proceso de fluorescencia y no de fosforescencia.

## **BIBLIOGRAFIA**



BIBLIOGRAFIA

- 1.- C. ETLING, *Ann.*; 35 241 (1840).
- 2.- H. SCHIFF, *Ann.*; 150 193 (1869).
- 3.- M. CALVIN y R.H. BAILES, *J. Am. Chem. Soc.*; 68 949 (1946).
- 4.- Z. HOLZBECHER, *Sbronik Celostatni Pracovni Konk. Anal. Chemiku*; 1 166 (1952).
- 5.- Z. HOLZBECHER, *Chem. Lysty*; 47 680 (1953).
- 6.- Z. HOLZBECHER, *Chem. Lysty*; 47 1023 (1953).
- 7.- Z. HOLZBECHER, *Chem. Lysty*; 49 1030 (1955).
- 8.- D.C. FREEMAN y C.E. WHITE, *J. Am. Chem. Soc.*; 78 2678 (1956).
- 9.- Z. HOLZBECHER, *Chem. Lysty*; 52 425 (1958).
- 10.- E.A. BOZHEVOL'NOV, *Tr. Vses. Nausch. Issled. Int. Khim. Reaktivov*; 22 70 (1958).
- 11.- Z. HOLZBECHER, *Chem. Lysty*; 52 1822 (1958).
- 12.- C.E. WHITE y F. CUTTITA, *Anal. Chem.*; 31 2083 (1959).
- 13.- E.A. BOZHEVOL'NOV, *Tr. Vses. Nausch. Issled. Int. Khim. Reaktivov*; 23 147 (1959).
- 14.- Z. HOLZBECHER, *Coll. Czech. Chem. Comumm.*; 24 3915 (1959)
- 15.- E.A. BOZHEVOL'NOV, *Izvest. Akad. Nauk. SSSR. Ser. Fiz.*; 24 762 (1960).
- 16.- Z. HOLZBECHER, *Coll. Czech. Chem. Comumm.*; 25 977 (1960).
- 17.- E.A. BOZHEVOL'NOV y V.M. YANISHEVSKAYA, *Zhur. Vses. Khim. Im. D.I. Mendeleeva*; 5 356 (1960).
- 18.- I.M. KORENMAN y V.S. EFIMYCHEV, *Tr. Khim. i Khim. Technol.*; 4 323 (1961).
- 19.- V.S. EFIMYCHEV, *Tr. Khim. i Khim. Technol.*; 1 126 (1962).
- 20.- E.A. BOZHEVOL'NOV, G.B. SEREBRYAKOVA y V.M. YANISHEVSKAYA, *Acta. Chim. Acad. Sci. Hung.*; 32 199 (1962).
- 21.- V.V. KLIMOV, O.S. DIDKOVSKAYA y V.N. KAZACHENKO, *Zavod. Lab.*; 28 652 (1962).
- 22.- Ya.A. TERSKOI, B.M. BOLOTIN, V.G. BRUDZ y D.A. DRAPKINA, *Izvest. Akad. Nauk. SSSR. Ser. Fiz.*; 27 754 (1963).

- 23.- B.M. KRASOVITSKII, V.B. SMELYAKOV y R.N. NURMUKHMETOR, *Optika i Spektroskopiya*; 17 558 (1964).
- 24.- R.J. ARGAUER y C.E. WHITE, *Anal. Chem.*; 36 2141 (1964).
- 25.- N.B. LEBED y R.P. PANTALER, *Zavod. Lab.*; 31 163 (1965).
- 26.- Z. HOLZBECHER, *Microchem. J.*; 9 288 (1965).
- 27.- R.M. DAGNALL, R. SMITH y T.S. WEST, *Chem. Ind.*; 34 1499 (1965).
- 28.- I.I. KURBATOVA, *Zavod. Lab.*; 32 1064 (1966).
- 29.- R.M. DAGNALL, R. SMITH y T.S. WEST, *J. Chem. Soc. (A)*; 1595 (1966),
- 30.- R.M. DAGNALL, R. SMITH y T.S. WEST, *Talanta*; 13 609 (1966).
- 31.- O.A. OSIJOV, Yu.A. ZHDANOV, M.I. KNYAZKANSKII, V.I. MINKIN, A.D. GARNOVSKII y I. D. SADEKOV, *Zh. Fiz. Khim.*; 41 641 (1967).
- 32.- B.M. KRASOVITSKII y N.I. MAL'TSEVA, *Optika i Spektroskopiya*; 22 397 (1967).
- 33.- R.M. DAGNALL, R. SMITH y T.S. WEST, *Analyst*; 92 20 (1967).
- 34.- C.E. WHITE, H.C.E. McFARLANE, J. FOGT y R. FUCHS, *Anal. Chem.*; 39 367 (1967).
- 35.- E. JUNGREIS y S. THABET, *Chelate Anal. Chem.*; 2 149 (1969).
- 36.- A. K. BABKO y S.L. LISICHENOK, *Ukr. Khim. Zh.*; 35 98 (1969).
- 37.- M. KLEINBERMAN, *Patente USA n° 3,484,380*; United States Patent Office (1969).
- 38.- E.B. AGRACHEVA y T.A. VILENSKAYA, *Zh. Obshch. Khim.*; 42 2526 (1972).
- 39.- O.T. ASMAEV, M.I. KNYAZHANSKII, B.M. KRASOVITSKII y O.A. OSIPOV, *Zh. Fiz. Khim.*; 46 638 (1972).
- 40.- Z. HOLZBECHER y P. HOLLER, *Coll. Czech. Chem. Commun.*; 37 2557 (1972).
- 41.- V.G. MALSHET y Al. L. TAPPEL, *Lipids*; 8 194 (1973).
- 42.- K. DEY, *J. Scient. Ind. Res.*; 33 76 (1974).
- 43.- K. MORISHIGE, *Anal. Chim. Acta*; 72 295 (1974).
- 44.- K. MORISHIGE, *Anal. Chim. Acta*; 73 245 (1974).
- 45.- N.N. GRIGOR'EV, P.Kh. IONNU y K.P. STOLYAROV, *Vest. Leningrad. Univ. Fiz. Khim.*; 1 141 (1974).
- 46.- L.E. ZEL'TSER, A.T. TASHKODZHAEV, T. SABIROVA y L.A. MOROZOVA, *Sb. Nausch. Tr. Tashkent. Un-T.*; 38 513 (1976).

- 47.- L. KABRT y Z. HOLZBECHER, *Coll. Czech. Chem. Commun.*; 41 540 (1976).
- 48.- K. YOSHIMURA, W WAKI y S. OSHASI, *Talanta*; 23 449 (1976).
- 49.- K. MORISHIGE, *J. Inorg. Nucl. Chem.*; 40 840 (1978).
- 50.- M. PINTA, "Modern Methods for Trace Element Analysis"; Ed. Ann. Arbor. Science Michigan (1978).
- 51.- K. MORISHIGE, *Anal. Chim. Acta.*; 121 301 (1980).
- 52.- M. DEGUCHI, K. NANBA, K. MORISHIGE y I. OKOMURA, *Bunseki Kagaku*; 29 90 (1980).
- 53.- A.T. TASHKHODZHAEV, L.E. ZEL'TSER y Sh.T. TALIPOV, *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Technol.*; 23 731 (1980).
- 54.- R. AVIDAD CASTAÑEDA, *Tesis Doctoral*; Universidad de Granada (1982).
- 55.- O. LITEAUM y I. ROCA, "Statistical Theory and Methodology of Trace Analysis"; Ed. Willey-Interscience New York (1982).
- 56.- K. MORISHIGE, *Kinki Daigaku Rikogakubu Kenkyu Hokoku*; 18 31 (1983).
- 57.- S.G. SCHULMAN, "Molecular Luminescence Spectroscopy. Methods and Applications: Part I"; Ed. Willey-Interscience New York (1985).
- 58.- M.J. BLANCH NAVAS, *Memoria de Licenciatura*; Universidad de Granada (1986).

-o-o-o-o-o-o-o-o-

- 59.- T.C. OWEN, "Caracterización de compuestos orgánicos por métodos químicos"; Ed. Reverté Barcelona (1971).
- 60.- "Handbook of Chemistry and Physics"; The Chemical Rubber Co. Ohio (1969)
- 61.- P. TEYSSIE y J.J. CHARETTE, *Spectrochim. Acta*; 19 1404 (1963).
- 62.- W. KRAUSS y C.G.J. WAGNER, *Z. Naturforsch*; 22 746 (1967).
- 63.- K.A. PARRY, P.J. ROBINSON, P.J. SAINSBURY y M.J. WALER, *J. Chem. Soc. (B)*; 700 (1970).
- 64.- N.S. BIRADAR y V.H. KULKARNI, *Rev. Roum. Chim.*; 16 1203 (1971).

- 65.- N.S. BIRADAR y V.H. KULKARNI, *Inorg. Chim. Acta*; 7 267 (1973).
- 66.- B. KHERA, A.K. SHARMA y N.K. KAUSSEK, *Polyhedron*; 2 1177 (1983).
- 67.- S. CHABERECK y A.E. MARTELL, *J. Am. Chem. Soc.*; 74 5052 (1952).
- 68.- J. BJERRUM, "Metal Ammine Formation in Aqueous Solution"; P. Haase and Soc. Copenhagen (1941).
- 69.- H. IRVING y H.S. ROSSOTTI, *J. Chem. Soc.*; 2904 (1954).
- 70.- G. SCHWARZENBACH, A. WILLI y R. BACH, *Helv. Chim. Acta*; 30 1303 (1947).
- 71.- R.F. WILSON y G.W. LESTER, *Talanta*; 10 319 (1963).
- 72.- L.S. ROSENBERG, C. LAM, C. GROH y S.G. SCHULMAN, *Anal. Chim. Acta.*; 106 81 91979).
- 73.- A. WELER, *Prog. React. Kin.*; 1 189 (1961).
- 74.- A. WELER, *Z. Electrochem.*; 61 956 (1957).
- 75.- E.M. KOSOWER, *J. Am. Chem. Soc.*; 80 3253 (1958).
- 76.- E.M. KOSOWER, *J. Am. Chem. Soc.*; 80 3261 (1958).
- 77.- A.H. FAINBERG y S. VINSTEIN, *J. Am. Chem. Soc.*; 78 2770 (1957).
- 78.- S.G. SCHULMAN, "Fluorescence and Phosphorescence Spectroscopy. Physicochemical Principles and Practice"; Pergamon Press Oxford (1977).
- 79.- M. GOLDMAN y E.L. WEHRY, *Anal. Chem.*; 42 1178 (1970).
- 80.- D.M. HERCULES, "Fluorescence and Phosphorescence Analysis Principles and Applications"; Interscience Publishers New York (1966).
- 81.- "Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis II", *Spectrochim. Acta (B)*; 33 B 242 (1978)
- 82.- "Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry", *Anal. Chem.*; 52 2242 (1980).
- 83.- H. KAISER, "Two Papers on the Limit of Detection of a Complete Analytical Procedure"; Hafner. New York (1969).
- 84.- J.H. YOE y A.L. JONES, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*; 16 111 (1944).

- 85.- H.E. BENT y C.L. FRENCH, *J. Am. Chem. Soc.*; 63 568 (1941).
- 86.- P. JOB, *Ann. Chim.*; 9 114 (1927).
- 87.- J.R. LAKOWICZ, "*Principles of fluorescence spectroscopy*";  
Plenum Press. New York (1983).



Biblioteca Universitaria de Granada



01066489