

**Implementación y Estandarización de un Método UV – VIS para la
Determinación de la Especiación de Complejos Organometálicos en Fase
Acuosa**

Diego Alejandro Lozano Ortiz

Universidad ICESI

Facultad de Ciencias Naturales, Ciencias Químicas

Química Farmacéutica

2016

**Implementación y Estandarización de un Método UV – VIS para la
Determinación de la Especiación de Complejos Organometálicos en Fase
Acuosa**

Diego Alejandro Lozano Ortiz

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
PREGRADO EN QUÍMICA FARMACÉUTICA**

Tutor:

James Fairbanks Weston, PhD

**Universidad ICESI
Facultad de Ciencias Naturales, Ciencias químicas
Química Farmacéutica
2016**

APROBADO POR:

**NORA ELENA VALDERRUTÉN
EVALUADORA DEL PROYECTO**

**JAMES WESTON, PhD.
DIRECTOR DEL PROYECTO**

**FECHA DE ENTREGA: 19 DE DICIEMBRE DEL 2016
SANTIAGO DE CALI, COLOMBIA**

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi familia, pilar fundamental en mi vida, que con su apoyo incondicional todos estos años han hecho posible que hoy este entregando este trabajo de grado. Su compañía en cada etapa me ha dado el impulso para salir adelante.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por su soporte incondicional y apoyo en todo momento durante mi formación personal y profesional. A mi tutor de proyecto de grado por su soporte profesional durante la realización de este trabajo. A mis compañeros y compañeras que durante la carrera y la realización de este trabajo de grado siempre estuvieron presentes brindándome todo su apoyo y a mi pareja por su paciencia y comprensión en esta etapa de mi vida.

Tabla de contenido

RESUMEN	11
1. INTRODUCCIÓN	13
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	15
2.1 Planteamiento del problema	15
2.2 Marco teórico y estado del arte	17
2.3 Objetivos	37
2.4 Metodología.....	38
2.5 Resultados y discusión.....	45
2.6 Conclusiones	57
2.7 Recomendaciones.....	58
2.8 Bibliografía.....	59
2.9 ANEXOS.....	72

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Serie espectroquímica para Co (II) con ligandos orgánicos.....	21
Tabla 2. Serie espectroquímica para algunos complejos de Co (III).....	27
Tabla 3. Absorbancia para los estándares de concentración de cloruro de cobalto(II) hexahidratado.....	45
Tabla 4. Concentración para la muestra de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ con cada adición sucesiva de peróxido de hidrógeno al 4.00%.....	47
Tabla 5. Resultados para los diferentes estados de oxidación del cobalto.....	49
Tabla 6. Concentración para la muestra de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ con cada adición sucesiva de hidróxido de amonio al 4.00%.....	52
Tabla 7. Resultados obtenidos para la concentración de la especiación de complejos de cobalto (II) en medio acuoso.....	53
Tabla 8. Constantes de estabilidad calculadas para los complejos de cobalto (II) formados.....	53
Tabla 9. Materiales utilizados en la técnica espectroscópica UV – VIS.....	72
Tabla 10. Reactivos usados para la determinación UV espectroscópica de complejos organometálicos.....	72
Tabla 11. Equipos usados en la determinación UV espectroscópica de complejos organometálicos.....	72
Tabla 12. Cantidades a transferir de la solución patrón de cloruro de cobalto (II) hexahidratado 0.200 M a matraces aforados de 10.0 ± 0.08 mL de exactitud.....	74
Tabla 13. Cantidad a adicionar para la preparación de soluciones de peróxido de hidrógeno e hidróxido de amonio al 4%.....	75

INDICE DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Curva de calibración para los estándares de cloruro de cobalto (II) hexahidratado de concentración conocida.....45
- Gráfica 2.** Cambios en la concentración de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ con respecto a las adiciones sucesivas de peróxido de hidrógeno al 4.00%.....48
- Gráfica 3.** Estados de Oxidación de Cobalto en Medio Acuoso Después de la Adición Sucesiva de Peróxido de Hidrógeno al 4.00%.....49
- Gráfica 4.** Cambios en la concentración de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ con respecto a las adiciones sucesivas de hidróxido de amonio al 4.00%.....52

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ion metálico hidratado.....	15
Figura 2: Absorbancia y longitud de onda para complejos organometálicos.....	26
Figura 3: Conjunto convencional de orbitales d	38
Figura 4: Diagrama de niveles de energía para la interacción entre orbitales d de un catión metálico y los orbitales de ligandos	29
Figura 5: Complejos y geometrías de coordinación predominantes para cobalto (II) con ligandos de cloruro en función a la temperatura y la composición	31
Figura 6: Geometría de coordinación complejos de cobalto (III).....	31
Figura 7: Porcentaje de formación de complejos de cobalto (II) con ligandos de amoníaco en función del pH de la solución acuosa.....	34
Figura 8: Cambios colorimétricos para la adición del ligando amonio en una solución acuosa de cobalto (II) hexahidratado.....	35
Figura 9: Cambios colorimétricos para la oxidación del complejo de hexamino cobalto (II).....	36
Figura 10: Barrido de absorción que relaciona absorbancia con longitud de onda para $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ entre los 400 – 600 nm.....	50
Figura 11. Barridos de absorción para $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ de 190 – 800 nm.....	54
Figura 12. Cloruro de cobalto (II) hexahidratado en solución acuosa.....	78
Figura 13. Complejos de cobalto (II) tras adiciones sucesivas del ligando amonio al medio acuoso.....	78
Figura 14. Formación de cloruro de hexaaminoCobalto (II).....	79

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Reacciones de formación sucesivas de especies organometálicas.....	15
Esquema 2. Reacción de dismutación por las Superóxido Dismutasas.....	17

RESUMEN DEL PROYECTO

La espectroscopía UV – VIS es una técnica ampliamente utilizada para la identificación y cuantificación de diferentes compuestos en fase acuosa. El objetivo de este proyecto es realizar la implementación y estandarización de este método en la universidad ICESI, con vista en su aplicación a complejos organometálicos y una de sus problemáticas principales: La especiación química en fase acuosa. Se desarrolló un protocolo para determinar a nivel cuantitativo los diferentes estados de oxidación para un catión metálico y las diversas especies que se forman entre iones metálicos y ligandos orgánicos a través de la espectroscopía UV – VIS. Esta técnica permitió determinar los diferentes estados de oxidación, obteniéndose que la concentración final para los estado de oxidación de cobalto (II) y cobalto (III) obtenidos cuando se alcanzó el límite de la celda fue de 65.75% y 34.23%, respectivamente, y la coexistencia de los dos estados de oxidación en la matriz acuosa se hizo evidente. A su vez, se alcanzó un estado final donde se formaron el 48.11% de las especies organometálicas de cobalto (II) en equilibrio con la adición de ligando de amoníaco a la solución que contenía cloruro de cobalto (II) hexahidratado.

De esta manera, el trabajo de investigación tiene como finalidad contribuir a los estudios de especiación química de complejos organometálicos con potencial actividad SOD (Superóxido Dismutasa), los cuales son complejos en estudio por el grupo de investigación del profesor James Weston.

Palabras clave: Espectroscopía UV – VIS, Complejos Organometálicos, Especiación Química, Estados de Oxidación, Superóxido Dismutasas.

ABSTRACT

UV - VIS spectroscopy is a widely used technique for the identification and quantification of different compounds in aqueous phase. The aim of this project is to carry out the implementation and standardization of this method at ICESI University, with a view to its application to organometallic complexes and one of its main problems: Chemical speciation in aqueous phase. Thus, a protocol was developed to determine at quantitative level the different oxidation states for a metal cation and the various species that form between the metallic ion with the organic ligands through UV-VIS spectroscopy. This technique allowed to determine the different oxidation states getting that the final concentration for the oxidation state of cobalt (II) and cobalt (III) obtained when the limit of the cell was reached was 65.75% and 34.23% respectively and the coexistence of the two oxidation states in the aqueous matrix became apparent. Additionally, it was obtained that a final state was reached where 48.11% of the cobalt (II) organometallic species were formed in equilibrium with the addition of ammonia ligand to the solution containing cobalt (II) chloride hexahydrate.

In this way the research work aims to contribute to the studies of the chemical speciation of organometallic complexes with potential activity SOD (Superoxide Dismutase), which are complexes in study by the research group of Professor James Weston.

Key words: UV - VIS Spectroscopy, Organometallic Complexes, Chemical Speciation, Oxidation States, Superoxide Dismutase

1. INTRODUCCIÓN

Algunas de las actividades vitales realizadas por organismos biológicos, como la producción de energía o el metabolismo aerobio, generan especies reactivas o subproductos que tienen un efecto en los seres vivos. Un ejemplo de esto son las especies de oxígeno reactivas conocidas con sus siglas en inglés como ROS (reactive oxygen species) (Winston & Giulio, 1991). El mantenimiento de niveles bajos de oxígeno reactivo en los organismos es requerido para vías de señalización y la regulación de procesos (Ray, Huang, & Tsuji, 2012). Sin embargo, niveles excesivos de estas especies pueden ocasionar daños en las membranas celulares y algunos efectos de deterioro en macromoléculas presentes en las células (Wang, y otros, 2016).

El ion superóxido O_2^- es una especie reactiva del oxígeno, que es producida en varios sitios de la fosforilación oxidativa que se lleva a cabo en la mitocondria. En exceso, esta especie puede causar un gran número de enfermedades degenerativas del sistema nervioso (Alzheimer y Parkinson) (Choi, 2005), inflamaciones crónicas (artritis) (Greenwald, 1991) y cáncer (entre los que resaltan el cáncer de pulmón y de seno) (Yang, Lu, Lee, Chen, & Lin, 2011).

Para protegerse de los efectos negativos producidos por estas especies radicalarias, los seres vivos generan estrategias detoxificantes como los sistemas enzimáticos antioxidantes, entre los cuales resalta la acción del enzima superóxido dismutasa SOD (Wang, y otros, 2016). Las superóxido dismutasas (SODs) son una familia de metaloproteínas las cuales realizan su función con la ayuda de un cofactor enzimático metálico (Mn^{2+} , Fe^{2+} , Cu/Zn , Ni^{2+}) y se encuentran presentes en especies procariontas y eucariotas. (Li, Shi, Ying, & Feng, 2015). Estos enzimas cumplen la función de disminuir el deterioro causado por las ROS a través de la detoxificación del radical aniónico superóxido bajo generación de especies menos reactivas [oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno (H_2O_2)] (Aguirre, Ríos-Momberg, Hewitt, & Hansberg, 2005).

Las superóxido dismutasas son de gran aplicabilidad y toman importancia en diferentes tipos de industria (farmacéutica, cosmética, entre otros) (Zvi & Yacoby, 2016). Un ejemplo de esto se ve en el uso de MnSOD en el área cosmética para la protección de la piel y el cabello, manteniendo la integridad de la estructura de la keratina natural. Estudios como estos se llevan a cabo en Francia, donde se comprobó que las SODs mejoran la respiración de las células cutáneas y mejoran algunas características de la piel como sensación suave, flexibilidad y elasticidad (Ken, Lee, Duan, & Lin, 2005). Como es sabido, las enzimas catalizan reacciones químicas con una alta eficiencia y selectividad. En comparación con las reacciones químicas no catalíticas, las mejoras típicas de la velocidad por las SOD son de 10^{10} veces (Schramm, 1998). En idénticas condiciones, las reacciones químicas catalizadas por las SODs pueden lograrse en microsegundos mientras que en ausencia de éstas pueden tardar miles de años (Schramm, 1998).

Teniendo en cuenta el rol biológico crucial de las enzimas en la catálisis de las reacciones químicas, muchos investigadores enfocan sus estudios en la construcción de biomiméticas para simular las funciones catalíticas demostradas por las metaloenzimas naturales y que se pueda además, superar las barreras limitantes de éstas últimas como la inestabilidad al calor e inaplicabilidad a reacciones abióticas (Yin, Dong, Luo, & Liu, 2012). La biomimética es un enfoque de investigación multidisciplinaria que usa de manera conjunta la tecnología y la biología, con lo cual se simulan las soluciones inteligentes que ocurren en la naturaleza para ser aplicados a problemas técnicos. (Bhushan, 2009). Debido a las múltiples aplicaciones enzimáticas, es de gran interés para diferentes tipos de industrias la síntesis de metalocomplejos con actividad enzimática potencial (Silva, Mourão, & Rocha, 2013).

Sin embargo, el uso de metalocomplejos que imiten las funciones enzimáticas presenta diversos problemas, entre los cuales se resalta la rápida depuración renal y la lenta extravasación debido al radio molecular y densidad de carga, los cuales afectan directamente y de manera negativa la farmacocinética y farmacodinamia (McCord & Edeas, 2005). Otro problema que se presenta son las diferentes especies organometálicas que se forman en una matriz acuosa, dependiendo de los estados de oxidación del ion metálico y los ligandos orgánicos e inorgánicos que se presenten en el sistema (Ma, Sengupta, Dongxing, & Purnendu, 2014). Es importante mencionar que no todos los complejos organometálicos que se presentan en una matriz pueden llegar a ser funcionales o tener una actividad terapéutica, por tanto es importante determinar a nivel cuantitativo y cualitativo las diferentes especies que se producen en un medio acuoso, de acuerdo con las diferentes condiciones que se presenten en un organismo vivo (temperatura, pH e interacción con componentes presentes en los organismos) (Pearson & Greenwa, 2005). Diferentes técnicas se han usado para la determinación de la especiación como espectroscopía de absorción atómica (Anawar, (2012), espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (Houk, 1987), cromatografía líquida de alta resolución entre otros (Marcinkowska, Komorowicz, & Barańkiewicz, 2015), pero una técnica de fácil manejo y que puede ser considerablemente económica es la técnica espectrofotométrica UV – VIS.

La técnica espectrofotométrica UV – VIS presenta un amplio rango de aplicaciones en el campo de estudio de complejos organometálicos: es utilizada para la evaluación de los diferentes estados de oxidación de complejos organometálicos (Sereshti, Farahani, & Baghdadi, 2016), Además, puede aplicarse a la determinación a nivel cuantitativo de diferentes especies de complejos organometálicos en una matriz acuosa con posibles aplicaciones farmacéuticas con el análisis de las especies que pueden llegar a ser tóxicas para los organismos vivos (Meirath, 1998). En algunos casos, ayuda a la disminución de la incertidumbre que se genera por otros métodos en la determinación de complejos organometálicos. También, permite el seguimiento de las reacciones de

acomplejamiento entre iones metálicos y ligandos orgánicos (Ghosh, Chaudhuri, Kumar, & Panja, 2016), entre otros.

Debido a esto, el enfoque de estudio del presente proyecto con el grupo de investigación Weston es implementar y estandarizar una metodología y un protocolo para los estudios de especiación química de complejos organometálicos en fase acuosa por medio de espectroscopía UV – VIS en la universidad ICESI con lo cual se busca desarrollar e investigar biomiméticas de metaloenzimas con un enfoque especial en la síntesis de complejos organometálicos aplicables al desarrollo de biomiméticas de la superóxido dismutasas, SODs.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

2.1 Planteamiento de la Pregunta o Problema de Investigación

Una de las problemáticas encontradas en la biomimética y el desarrollo de fármacos potenciales basados en complejos organometálicos sintéticos, son los equilibrios de especiación entre los iones metálicos y ligandos orgánicos en fase acuosa (Segoviano, Mendoza, & Moreno, 2014).

Cuando iones metálicos se encuentran disueltos en fase acuosa, estos siempre están rodeados por moléculas de agua con las cuales forman enlaces dinámicos que resulta en un ion hidratado (Soldatov, Zelenkovskii, & Kosandrovich, 2016), como se observa en la Figura 1.

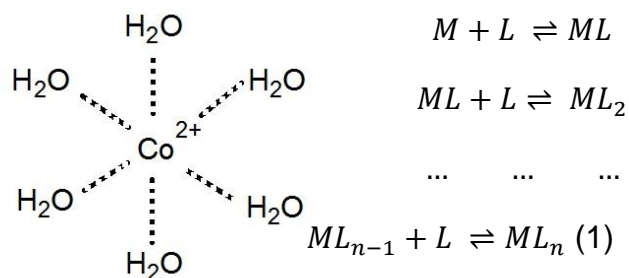


Figura 1: Ion metálico hidratado

Esquema 1: Reacciones de formación sucesivas de especies organometálicas

Tomado de (Barbosa, Barrón, Beltrán, & Nebot, 1995)

Al adicionar un ligando orgánico a una disolución acuosa de iones metálicos, se empieza una competencia dinámica entre los ligandos y las moléculas de agua para interactuar y formar enlaces de coordinación en la primera esfera del ion metálico (Lu, Wang, Liu, & Tang, 2016). Esta competencia entre los ligandos orgánicos y el agua da origen a una serie de equilibrios, resultando en la formación dinámica de varias especies posibles de complejos organometálicos (Crisóstomo-Lucas, Toscano, & Morales-Morales, 2013). Las reacciones de formación sucesivas de complejos organometálicos se visualizan en el esquema 1.

Este fenómeno se conoce bajo el nombre de equilibrios de especiación y toma importancia en estudios de las diferentes especies que se forman bajo ciertas condiciones (como pH, temperatura y concentración) (Turan & Rorabacher, 1972). Cada especie que se forma tiene relevancia en el campo farmacéutico, ya que cada una de estas puede tener una actividad biológica potencial diferente de las demás (Samsonowicz & Regulska, 2016).

Por esta razón, se hace necesario desarrollar un método que permite identificar y cuantificar las especies que se forman en medio acuoso. De lo anterior surge una pregunta principal y es: ¿cómo determinar a nivel cualitativo y cuantitativo la especiación química de complejos organometálicos en fase acuosa?

La espectroscopía UV – VIS es una técnica que permite la determinación (tanto a nivel cuantitativo como cualitativo) de especies en solución (Tu, Pi, Jin, Cai, & Deng, 2016).

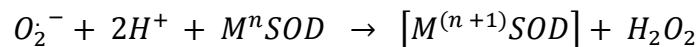
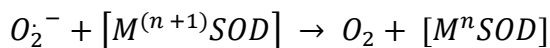
Con este proyecto se espera tomar una metodología conocida y adaptarla para poder estudiar la especiación química de complejos organometálicos en fase acuosa en la universidad ICESI. Todo esto se realiza con el fin de aportar al grupo de investigación del profesor James Weston, una técnica que permita determinar las especies formadas en equilibrios de complejos organometálicos que podrían tener actividad SOD potencial.

2.2 Marco Teórico y Estado del Arte

Biomiméticas Potenciales

Las principales proteínas de interés científico son las enzimas las cuales poseen centros activos que cumplen la función de catalizar reacciones químicas. Estas son capaces de acelerar un amplio rango de transformaciones químicas, pero solo bajo condiciones óptimas (limitado rango de temperatura, presión atmosférica y condiciones fisiológicas en medio acuoso, entre otros) en las cuales las enzimas son completamente funcionales. Si se quisieran usar las enzimas para la catálisis de transformaciones orgánicas en laboratorios o industria, se deben conservar las condiciones naturales o simularlas para que estas sean completamente funcionales. (Csendes y otros, 2014).

Un ejemplo es la desproporción de la especie aniónica radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$) que es muy tóxica para los seres vivos (Bielski & Allen, 1977). Con la catálisis de la reacción de dismutación efectuada por las SODs observada en el esquema 2, se obtienen productos como el peróxido de hidrógeno y el agua que causan un daño mucho menor en comparación con las especies de oxígeno radicalarias (Díaz, 2006).



Esquema 2: Reacción de dismutación por las Superóxido Dismutasas. Tomado de (Díaz, 2006)

El interés en las enzimas también reside en la rápida velocidad con la que ocurren las reacciones químicas y su alta eficiencia y selectividad (Schramm, 1998). Por esto, muchos estudios buscan obtener información numerosa de la estructura nativa de las enzimas a partir de su caracterización y la exploración de las propiedades de los mecanismos catalíticos (Zhang & Houk, 2005). Con esta información se pueden construir biomiméticas que imiten la función de los centros activos de las enzimas variando y simplificando los grupos funcionales presentes en los centros catalíticos (Motherwell, Bingham, & Six, 2001). Este tipo de estudios, en los cuales se busca utilizar a la naturaleza como inspiración para el desarrollo de nuevas tecnologías para resolver algunos problemas humanos a través de algunos modelos sistemáticos y procesos se conoce como Biomimética (Reisen, Teschemacher, Niehues, & Reinhart, 2016).

Las posibles aplicaciones de las biomiméticas funcionales, impulsan el desarrollo de nuevos productos miméticos que puedan ser utilizados como productos farmacéuticos (Pálinkó, 2008). Un ejemplo se ve en los tratamientos para dolores

agudos o neuropáticos como el uso de morfina o derivados del opio, que pueden desencadenar efectos adversos en los seres humanos. Investigaciones actuales sugieren el uso de tetradoxinas, presentes en tetradontiformes como el pez globo, que son 3000 veces más potentes que la morfina y evitan los efectos adversos de los opioides. Lo documentado hasta el momento sugiere que esta puede ser una terapia que presenta una alta bioseguridad y baja tasa de efectos adversos (Nieto, y otros, 2012).

Para los estudios biomiméticos se hace necesaria la síntesis de metalocomplejos que sean modelos del centro activo de las enzimas, los cuales tienen que ser funcionales y no generar riesgos en los seres vivos además de ser selectivos. Para esto se requiere la síntesis de varios modelos de enzimas con lo cual se verifiquen los aspectos previamente mencionados (Pálinkó, 2008). El reto principal consiste en crear moléculas con alta actividad catalítica, óptima biodistribución y alta estabilidad cinética tanto química como metabólica (Denkhaus & Salnikow, 2002).

Elaborar biomiméticas de metalocomplejos sintéticos con la inserción del ion metálico central no es una tarea sencilla, especialmente debido a la biotoxicidad de muchos de los iones metálicos. Por ejemplo, la presencia de iones metálicos como el $Ni^{2+}(ac)$ está relacionado con problemas cardiovasculares y respiratorios, además de tener efectos potenciales teratogénicos y carcinogénicos. El $Ni^{2+}(ac)$ se deposita en el cuerpo humano a través de la exposición ocupacional y la dieta (Coyle & Stiefel, 1988). Estudios en animales demuestran la aparición de tumores en los sitios de administración de metalocomplejos de níquel (Denkhaus & Salnikow, 2002).

Un problema asociado a las biomiméticas conocidas de SOD es que estos son formados a partir de complejos metalo – peptídicos. Estos no tienen potencial vía oral ya que se degradan y pierden su función en el estómago por acción del ácido clorhídrico. También su uso presenta obstáculos en la estabilidad y durabilidad de los complejos enzimáticos, su síntesis y la necesidad de algunos enzimas de cofactores para su activación que hacen de estos productos altamente costosos (Xuerev, Dzierzak, & Raja, 2012). Debido a esto, estudios enfocan sus investigaciones en síntesis de pequeñas biomiméticas a base de complejos organometálicos estables usualmente llamadas synzymes, “Synthetic Enzymes” (Riley, 2000).

La obtención de complejos organometálicos biomiméticos además de ser complejo, presenta un gran inconveniente debido a la caracterización de las diversas especies que se obtienen entre ligandos orgánicos e iones metálicos en un medio acuoso. Un aspecto importante a considerar en estos sistemas son las condiciones en las que se realiza la formación de los complejos organometálicos ya que este es un factor principal que determina las especies que se forman en

solución, aspecto que puede ser evaluado a través de estudios de especiación química.

Selección del Cation Metálico de Cobalto y como Ligando Amoniaco

Para los estudios biomiméticos y evaluación de la especiación a partir de la técnica UV - VIS, se hace necesario la selección de un sistema que sirva como modelo para la implementación y estandarización de la técnica. El primer problema que se presenta para este tipo de estudios es la selección del cation metálico. Para elegir el cation metálico se tuvieron en cuenta diferentes aspectos. El primero es que el estudio se realizó con el fin de determinar la especiación de complejos organometálicos que pudieran ser aplicables a los estudios de la determinación de especies SOD potenciales. Por tanto, se tuvo en cuenta que todas las enzimas SOD ciclan entre los estados de oxidación $M^{2+} \rightleftharpoons M^{3+}$, a excepción de la enzima Cu/ZnSOD que cicla entre los estados de oxidación $M^+ \rightleftharpoons M^{2+}$ (Mates, 2000). Por esto, se hace importante utilizar un cation metálico que también cicle entre dos estados de oxidación como las enzimas SOD.

El segundo aspecto importante es que a través del método UV – VIS se diferencie entre los dos estados de oxidación de las especies organometálicas en el estudio (Webster, y otros, 2016). Como el enfoque del proyecto es la estandarización de una metodología que permita determinar este tipo de cambios, se hace necesario que los diferentes estados de oxidación del cation metálico en estudio sean estables en fase acuosa, ya que este factor es importante para el entendimiento de la química de formación de complejos (Murillo, Bochman, Cotton, & Wilkinson, 1999).

En este estudio se escogió el cation metálico de cobalto para la formación de complejos organometálicos. A pesar de no ser un ion metálico con actividad biomimética SOD potencial como el cation de níquel, los estados de oxidación de cobalto son mucho más estables que los estados de oxidación del níquel en medio acuoso (Flores & Castro, 2016). A su vez, ambos metales tienen propiedades físicas y químicas similares y se encuentran como iones divalentes [Ni (II) y Co (II)] en medio acuoso, aunque ocasionalmente se pueden encontrar en formas complejas como iones trivalentes [Ni (III), Co (III)]. Los iones de Co (III) son mucho más estables que los iones de Ni (III) (Martínez, 2002). Además, Co (III) puede ser detectado en fase acuosa mientras Ni (III) no; esto se debe a que cuando se da la formación de complejos se modifica la estabilidad relativa de los estados de oxidación de una especie. La oxidación de Co (II) a Co (III) en agua es favorecida por la adición de amoniaco, ya que los complejos de éste con cobalto (III) son más estables que con cobalto (II), mientras que para el níquel la oxidación de Ni (II) a Ni (III) no se ve favorecida en medio acuoso ya que níquel (III) es inestable fuera del ambiente enzimático (Jesús, 2010).

Diferentes autores como Katzin y Ferraro, Smrec, Jovic, Stilinovic, Kukovec y Dakovic, entre otros estudios, reportan el uso de cationes de cobalto por su facilidad de estudio y estados de oxidación más estables por lo que se hace necesario su uso para la implementación y estandarización de la metodología (Katzin & Ferraro, 1950), (Smrec, Jovic, Stilinovic, Kukovec, & Đakovic, 2016), (Katzin & Gebert, 1950).

El siguiente problema asociado al estudio es la detección de la especiación. El catión de cobalto en medio acuoso se encuentra hidratado (Majumder, Gupta, Raghuvanshi, & Gupta, 2016). Al adicionar un ligando orgánico al medio acuoso empieza una competencia entre las moléculas de agua y el ligando orgánico por interaccionar con el catión metálico (Lu, Wang, Liu, & Tang, 2016). A medida que el ligando orgánico desplaza las moléculas de agua, se empiezan a formar diferentes especies en el medio acuoso que pueden ser detectables. Debido a esto, se hace necesario el uso de un modelo de ligando orgánico que permita determinar la formación de los complejos.

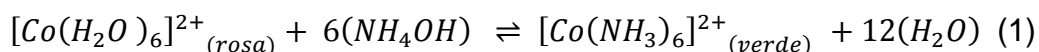
Para la selección del ligando orgánico se tuvo en cuenta diferentes aspectos, uno de ellos es que los ligandos debían ser sencillos y de fácil adquisición con el fin de facilitar la estandarización de la metodología. Segundo, se buscó que los ligandos utilizados tuvieran una alta afinidad por el catión de cobalto previamente seleccionado. El ligando orgánico modelo seleccionado es el amonio, que cumple con los parámetros que se describieron con anterioridad. Múltiples estudios, como el realizado por Garnovskii en el año 1999, mostraron la formación de complejos organometálicos entre cationes de cobalto con el amonio los cuales son muy estables en medio acuoso (Garnovskii, Direct Synthesis of Coordination and Organometallic Compounds, 1999).

Otra ventaja del uso de ligandos de amonio para la formación de complejos con el catión de cobalto, es que los metalocomplejos que se forman son percibidos de acuerdo a los cambios colorimétricos que se presentan en medio acuoso una vez formado el metalocomplejo. En la Tabla 1 se observa la clasificación de la serie espectroquímica para algunos ligandos ($I^- < Br^- < Cl^- < F^- < R-OH < H_2O < NCS^- < NH_3 < CN$) por la interacción con los cationes de cobalto. Para el caso de Co (II) por ejemplo, cuando este entra en contacto con el agua se presenta una coloración rosa. Al adicionar el ligando de amonio la formación del metalocomplejo puede percibirse con una coloración verdosa.

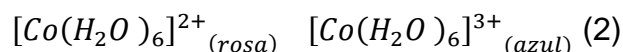
Tabla 1. Serie espectroquímica para Co (II) con ligandos orgánicos. Tomado de: (Solá, Hernández, & Fernández, 2000)

		I ⁻	Br ⁻	Cl ⁻	F ⁻	H ₂ O	R - OH	NCS ⁻	NH ₃	CN
Radiación absorbida	UV	Violeta	Índigo	Azul	Azul Verdoso	Verde	Amarillo	Naranja	Rojo	Púrpura
λ (nm)	<400	410	430	480	560	536	580	610	680	720
Energía (cm ⁻¹)	25000	24400	21200	20800	20000	18900	17300	16400	14700	13900
Color del compuesto	Incoloro	Amarillo	Naranja	Rojo	Violeta	Rosa	Índigo	Azul	Azul verdoso	Verde

La ecuación que muestra el desplazamiento de las moléculas de agua y formación del metalocomplejo de cobalto con el amonio se describe en la ecuación (1)



Los cambios colorimétricos también pueden ser percibidos de acuerdo al estado de oxidación del ion metálico, en este caso los estados de oxidación para el catión de cobalto. Para el estado de oxidación (III) del cobalto se puede percibir una coloración azul verdoso mientras que para el estado de oxidación (II) pueden percibirse colores rosa (Na, Ye Won Choi, & Kim, 2016) como se observa en la ecuación (2).



Especiación Química

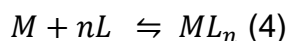
La formación de metalocomplejos que contienen ligandos orgánicos y cationes de metales se da a partir de enlaces de coordinación (relativamente débiles si se comparan con otros enlaces químicos) (Keiter & Keiter, 2005). En el esquema 1 se observan las reacciones de formación sucesivas entre un ligando L y un ion metálico M.

Los enlaces de coordinación dependen del número de coordinación del metal y ciertas condiciones del medio como el pH, la temperatura y la concentración. Por esto, la formación de nuevas especies o disociación de estas se controla a través de equilibrios de especiación (Bencini, y otros, 1990). Los equilibrios de especiación se determinan a través de las constantes de formación. Estas constantes de formación permiten estimar las diferentes especies presentes en medio acuoso (Masoud, El-Kaway, Hindawy, & Soayed, 2012).

Las constantes de equilibrio de formación de complejos, se definen como la concentración del complejo resultante sobre el producto de los reactivos (en ese determinado paso) (Montuenga, 1988), como se observa en la ecuación (3).

$$k_1 = \frac{[ML]}{([M])[L]} \quad k_2 = \frac{[ML_2]}{([ML])[L]} \quad k_3 = \frac{[ML_n]}{([ML_{n-1}])[L]} \quad (3)$$

A cada equilibrio químico le corresponde una constante de equilibrio de formación del complejo sucesivo. El proceso de formación de complejos de máxima coordinación puede ser observado en las ecuaciones (4) y (5) La constante de formación global o de estabilidad de los complejos puede definirse a su vez como la concentración de complejo resultante sobre el producto de los reactivos como es visto en las mismas ecuaciones.



$$k_f = \frac{[ML_n]}{[M][L]^n} \quad (5)$$

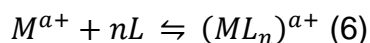
A partir de los equilibrios químicos descritos y las reacciones para la formación de complejos entre cationes metálicos y ligandos orgánicos, se puede determinar la especiación de los diferentes complejos organometálicos formados en una matriz acuosa (Wang, Springer, Anderko, & Young, 2004). La especiación química, en el marco del campo organometálico, se define como el proceso de identificación y cuantificación de todas las especies que se forman en equilibrio entre los ligandos orgánicos presentes y el catión metálico (Ihara, Fukuda, & Sone, 1987). Este tipo de identificación es de vital importancia en soluciones acuosas ya que en éstas las especies pueden cambiar su estructura y composición de acuerdo al medio en que se encuentren expuestos. Estos cambios ocurren en todos los complejos de iones metálicos transicionales en solución, por lo que es fundamental determinar algunos factores que afectan la formación de una especie o especies en particular y con las cuales se desee trabajar (Aguilar, 2012).

La determinación de la especiación de metalocomplejos ha jugado un papel crucial en los últimos años. Ejemplos de estos se evidencian en los trabajos documentados por Centineo y otros investigadores, donde se buscó la determinación de diferentes especies de metalocomplejos presentes en fuentes hídricas, estudio importante ya que como se menciona con anterioridad algunos metalocomplejos son tóxicos y causan complicaciones severas en los organismos vivos (Centineo, Blanco, & Sanz-Medel, 2004).

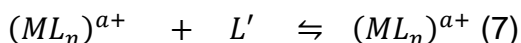
Una de las maneras de detectar complejos organometálicos usando las constantes de formación es a través de la espectrofotometría UV – VIS. Por medio de esta técnica se puede determinar a nivel cuantitativo y cualitativo las especies presentes en un medio acuoso. De esta manera, se obtienen un conjunto de espectros de diferentes especies que se forman al reaccionar un catión

metálico con ligandos orgánicos. Las diferentes especies que se forman pueden ser caracterizadas y cuantificadas para explorar diferentes aplicaciones. (Kwiatek, Meinrat, & Lis, 2015).

A partir de la reacción de equilibrio observada en la ecuación (6) y teniendo en cuenta la ley de Lambert Beer estudiada en este proyecto de investigación en capítulos posteriores, se realizan una serie de ajustes para obtener cuantitativamente las diferentes especies que se forman en una matriz acuosa. La representación en una gráfica de concentración frente a la absorbancia a las longitudes de onda máxima del catión metálico estudiado (obtenido con ayuda del equipo e información bibliográfica), permite hallar todas las variables necesarias para la obtención de las constantes de formación de los complejos organometálicos (King H. C., 1971).



Cuando se realizan adiciones sucesivas de ligando a la matriz acuosa que contiene el catión metálico hidratado, estas causan cambios en la absorbancia máxima y con ello cambios en las constantes de formación (k) que pueden ser cuantificados como se observa en las ecuaciones (7) y (8)



$$(A - x) \quad (B - 2x) \quad x$$

$$k = \frac{x}{(A-x)+(B-2x)} \quad (8)$$

A es la concentración total del complejo organometálico ML antes de la reacción. B es la concentración del ligando L' que se adiciona antes de la reacción y x es la concentración del complejo que se forma después de la adición de ligando al sistema. A es una concentración conocida; $(A - x)$ es encontrada midiendo la absorbancia a la longitud de onda máxima λ_{max} , x puede hallarse por interpolación en la curva de calibración. B es una concentración conocida. La concentración de ligando libre $(B - 2x)$ puede también ser hallada. Como K es relativamente pequeña para estos complejos, $(B - 2x)$ se puede simplificar a la concentración de B. (King H. C., 1971)

Espectroscopía UV – VIS

Una de las técnicas usadas en la caracterización de los complejos organometálicos con actividad biomimética potencial es la espectroscopía UV – VIS. El conocimiento de la estructura molecular de las especies que se forman por los equilibrios de especiación, son en esencia, importantes para el entendimiento de la relación entre estructura – actividad catalítica de la biomimética desarrollada (Bulánek, Manec, & Setni, 2013).

La espectroscopía por absorción molecular en la región ultravioleta – visible es usada ampliamente en la determinación cuantitativa de especies orgánicas, inorgánicas y biológicas. Esta se basa en la medición de la transmitancia (T) o de la absorbancia (A) en soluciones que están en celdas transparentes que tienen una longitud de trayectoria de (b) en cm. Por lo general, la concentración de un analito de estudio se relaciona de forma lineal con la absorbancia, explicado por la ley de Lambert - Beer descrita en la ecuación 9 (Skoog, Holler, & Crouch, Principios de Análisis Instrumental Sexta Edición, 2009):

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon b C \quad (9)$$

A = Absorbancia

T = Transmitancia

P_0 = Potencia Radiante Incidente

P = Potencia Radiante Transmitida

ϵ = Absortividad Molar

C = Concentración del Analito

b = Longitud de Trayectoria de la Muestra

La ley de Lambert – Beer es usada en la fotoquímica como una herramienta para investigar los mecanismos de las reacciones químicas (Parnis & Oldham, 2013). La más frecuente aplicación química de la ley es en el campo de la analítica, basándose en la absorción de luz de una matriz acuosa, con lo cual se proporcionan medidas de concentración de especies que se encuentren presentes en la solución analizada (Jingle & Crouch, 1988). La ley de Lambert Beer toma importancia en los estudios de especiación química a través de técnicas espectrofotométricas como la técnica UV – VIS.

Esta técnica espectroscópica usa radiaciones electromagnéticas que comprenden longitudes de onda entre los 190 – 800 nm, los cuales se dividen en las regiones ultravioleta (UV 190 – 400 nm) y la región visible (Vis 400 – 800 nm). Se basa en transiciones electrónicas de una molécula de estados menos excitados a estados excitados por la radiación electromagnética. (Kumar, 2006).

La técnica espectroscópica UV tiene diferentes aplicaciones. Es utilizada en la determinación del estado de oxidación de complejos organometálicos que se encuentran presentes en trazas (Gurkan, Ulusoy, & Akcay, 2012). Por medio de esta técnica se puede determinar las especies diferentes que se forman de acuerdo al número de oxidación de los iones metálicos (Cui, He, & Wang, 2006). Por ejemplo, Sereshti utilizó la técnica espectroscópica UV para la determinación de trazas de cromo (VI) presentes en fuentes hídricas (Sereshti, Farahani, &

Baghdadi, 2016). Esta técnica permitió a su vez la determinación a nivel cuantitativo de diferentes especies del ion metálico de acuerdo a sus estados de oxidación (Kaneko, Kurihara, Nakano, & Kawashima, 2002). Este estudio es importante ya que los complejos de cromo (VI) son tóxicos para los organismos vivos (Roundhill, 2004). Este método les permitió la determinación de la concentración de cromo (VI) en muestras reales y que tienen bajo contenido del complejo organometálico.

Los estudios de los diferentes estados de oxidación de un ion metálico acomplejado con ligandos orgánicos son importantes ya que algunos estados de oxidación de los iones metálicos pueden ser más tóxicos que otros (Collins, y otros, 1997). Esto tiene una fuerte influencia en el área farmacéutica en la síntesis de complejos organometálicos con potencial actividad biológica.

La técnica espectroscópica UV también se usa para la determinación simultánea de los diferentes estados de oxidación de complejos organometálicos. Otro ejemplo se observó con la investigación de Gonzáles donde se estudió dos estados de oxidación del antimonio en una matriz que contiene Sb (III) y Sb (V) (Gonzáles, Renedo, & Martínez, 2005). El objetivo principal del estudio fue la determinación simultánea de ambas especies en preparaciones farmacéuticas. Para la determinación cuantitativa de las especies de antimonio de acuerdo al estado de oxidación, se halló la concentración de una de las especies [Sb (V)] y la concentración total de la mezcla [Sb (III) + Sb (V)]. La otra especie presente [correspondiente a Sb (III)], se determinó a través de la diferencia entre el total de la mezcla [Sb (III) + Sb (V)] y la especie a la cual se le determinó la concentración [Sb (V)].

Además, a través de esta técnica, se puede determinar cuantitativamente la hidratación y pérdida de agua de un catión metálico en fase acuosa. Por ejemplo, Meirath determinó la pérdida de la hidratación de especies de uranio (VI), es decir midió la pérdida de agua del ion metálico en un medio acuoso (Meirath, 1998). La determinación de la hidratación en fase acuosa puede hallarse a través de sus constantes de formación, pero se puede incurrir en grandes incertidumbres por las diferentes especies que se pueden formar y el solapamiento de sus bandas de absorción. Esta incertidumbre se puede solucionar a través de esta técnica. El solapamiento de las bandas que se obtuvieron por medio de otras técnicas para el catión de U (VI) en fase acuosa fue solucionado a partir de la técnica UV – VIS.

Otra aplicación de la técnica UV - VIS se basa en la combinación con otras técnicas como cristalografía de rayos X, espectroscopía infrarroja (IR) y cálculos computacionales, los cuales permiten la determinación cuantitativa de las geometrías de coordinación de los complejos organometálicos y el acomplejamiento del ion metálico con ligandos orgánicos (Kukovec, Kodrin, Vojkovic, & Popovic, 2013). En el estudio realizado por Kukovec se prepararon complejos de níquel y de cobre y se estudiaron las diferentes geometrías de

coordinación con un ligando orgánico (ácido picolínico) al cual le hicieron seguimiento del acomplejamiento a nivel cuantitativo a través de la técnica UV – VIS. Este estudio permitió observar los cambios en las geometrías de coordinación para iones metálicos hidratados con ligandos orgánicos como el ácido picolínico.

Por medio de la técnica UV – VIS se espera obtener espectros de absorción para los complejos organometálicos formados como se observa en la Figura 2. Denominamos espectro de una sustancia a la representación gráfica de la absorbancia (A) en función de longitud de onda (λ). Este gráfico presenta diferentes tipos de onda para un mismo compuesto con máximos y mínimos. Para la determinación cuantitativa de los complejos en estudio se selecciona la longitud de onda correspondiente a un máximo, pues el error de medición es mínimo y la sensibilidad se hace máxima (Quilmes, 2011). Para verificar el cumplimiento de la ley de Beer se debe realizar una curva de calibración relacionando la absorbancia (A) en función de concentración (c), para lo cual se preparan soluciones de la sustancia de concentraciones conocidas y se mide la absorbancia a la longitud de onda elegida.

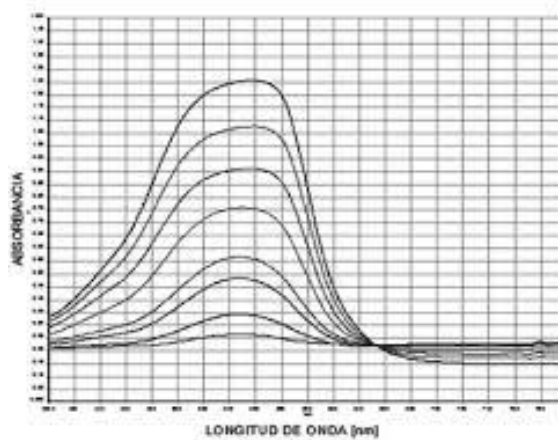


Figura 2: Gráfica absorbancia y longitud de onda para complejos organometálicos. Tomado de: (Valladares, 2003)

Uno de los aspectos más importantes en la determinación espectrofotométrica es la selección de la longitud de onda con la cual se va a trabajar. El estado energético de una molécula se puede afectar por la absorción de radiación electromagnética a determinada longitud de onda. Cuando incide un haz de luz sobre la muestra parte de la radiación es absorbida y parte de ésta es transmitida, lo que permite determinar cuantitativamente las especies presentes en el medio. Uno de los problemas asociados a esto es que en una solución acuosa pueden coexistir múltiples especies por lo que para obtener la máxima sensibilidad en la determinación de un complejo de interés debe conocerse su longitud de onda máxima (Patagonia, 2009). La longitud de onda máxima es la longitud de mayor absorbancia para un compuesto. Esta longitud puede ser utilizada para la

determinación cuantitativa de complejos en una matriz acuosa ya que esta es una medida única para cada complejo que se forma en medio acuoso (Córdoba, 2008). La disminución en la curva de los barridos de absorción que se observan en la Figura 2 se debe a la disminución de las longitudes de onda máxima para un complejo en una matriz acuosa. Como las longitudes de onda son únicas para cada complejo, esto puede ser un indicativo de la formación de complejos organometálicos diferentes al complejo en estudio en medio acuoso y en el que se puede visualizar el desplazamiento de las moléculas de agua por ligandos orgánicos, que es uno de los enfoques principales de este proyecto de investigación.

Equilibrios del Estado de Oxidación del Cobalto

Cuando los cationes de cobalto forman complejos con ligandos orgánicos, los orbitales d del metal interactúan con la nube de electrones de los ligandos orgánicos de tal manera que se vuelven no degenerados (no todos tienen la misma energía) (Purcell, 2000). Algunos ligandos pueden producir una pequeña separación de energía alrededor de los orbitales d mientras otros pueden producir una gran separación entre estos (Rodgers, 1994).

Cuando los orbitales d no se encuentran completamente llenos, se hace posible la transición de un orbital d de baja energía a un orbital d de alta energía por medio de la absorción de un fotón proveniente de radiación electromagnética, que por lo general proviene de la región visible. Estas transiciones se perciben a través de cambios colorimétricos (Kotz, 1987).

Los colores que son percibidos debido a la separación de los orbitales d por acción de algunos ligandos orgánicos se conocen como serie espectroquímica. En la Tabla 2 se puede visualizar como ejemplo la serie espectroquímica para algunos complejos organometálicos de Co (III).

Tabla 2. Serie espectroquímica para algunos complejos de Co (III) Tomado de: (Kotz, 1987).

Co ³⁺ complex	Wavelength of light absorbed (nm)	Color of light absorbed	Color seen
[CoF ₆] ³⁻	700	red	green
[Co(H ₂ O) ₆] ³⁺	600	orange	blue
[Co(NH ₃) ₅ Cl] ²⁺	535	yellow	violet
[Co(NH ₃) ₅ H ₂ O] ³⁺	500	blue-green	red
[Co(NH ₃) ₆] ³⁺	475	blue	yellow-orange
[Co(CN) ₆] ³⁻	310	ultraviolet	tail of absorption band in visible gives pale yellow

Las causas de las divisiones de los orbitales internos de los cationes metálicos ocasionados por la adición de los ligandos puede estudiarse a través de la teoría

de campo ligando. La teoría de campo ligando (TCL) es una teoría semiempírica aplicada a complejos metálicos (Jaume, 2003). Esta teoría describe el enlace, disposición de los orbitales y otras características de los complejos de coordinación (Schlafer & Gliemann, 1969).

Cotton en su trabajo describió el comportamiento de los orbitales d cuando se pone un ligando en su entorno y en el que se determinó la naturaleza cualitativa de las divisiones de los orbitales para algunas geometrías de coordinación importantes (octaédrica y hexaédrica). En la Figura 3 se describen los orbitales d convencionales. Cotton llegó a la conclusión de que en los ambientes tetraédricos y octaédricos las divisiones de los orbitales d_{xy} , d_{yz} y d_{xz} son equivalentes y que los orbitales d_{z^2} y $d_{x^2-y^2}$ son equivalentes y diferentes a los primeros tres (Cotton F. A., 1963).

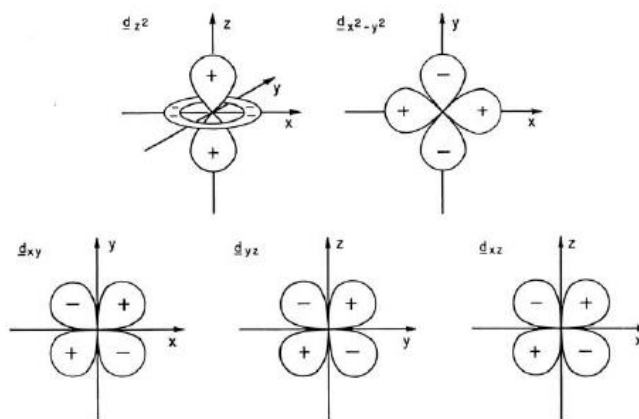


Figura 3. Conjunto convencional de orbitales d. Tomado de: (Cotton F. A., 1964)

La energía asociada a los conjuntos de orbitales puede diferir ya que a pesar de que son intrínsecamente similares, la disposición de los orbitales hacia su entorno en un principio son distintos y causan diferencias en la energía de un electrón dependiendo de cuál de ellos ocupe (Griffith, 1961). El resultado final de la interacción entre los orbitales de un ligando y los orbitales de menor energía (t_{2g}) y orbitales de mayor energía (e_g) de un metal de transición se describen en la Figura 4 (Dunitz & Orgel, 1960).

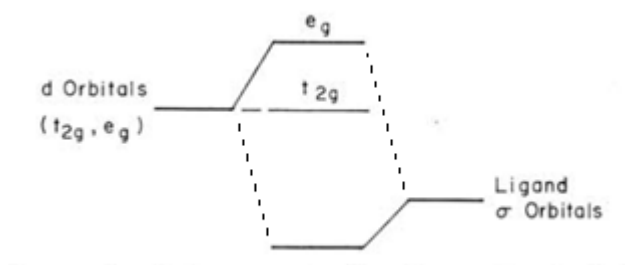


Figura 4. Diagrama de niveles de energía para la interacción entre orbitales d de un catión metálico y los orbitales de ligandos. Tomado de: (Cotton F. A., 1964)

Las consecuencias asociadas a este tipo de interacciones son las divisiones de los orbitales internos de los complejos. Cuando un conjunto de orbitales se divide, los electrones tienden a ocupar preferiblemente los orbitales más estables. El hecho de que los electrones no ocupen los cinco orbitales con igual probabilidad sino que tiendan a ocupar tres de ellos preferiblemente a los otros dos en un campo geométrico octaédrico o dos preferiblemente a los otros tres en una geometría tetraédrica, conlleva a consecuencias importantes tanto energéticas como estructurales (Cotton F. A., 1964). La preferencia en que los electrones se muevan hacia uno o más orbitales estables liberando energía adicional se conoce como energía de estabilización del campo ligando (Evelson, 2005).

La energía de estabilización del campo ligando se determina por la naturaleza de la interacción entre los orbitales σ de los ligantes con los orbitales d del catión metálico (Cotton F. A., 1964). Los orbitales moleculares enlazantes se llenan por lo general con los electrones de los ligantes y los electrones d del ion metálico ocupan los orbitales moleculares no enlazantes (Tolosa, 2012). Las diferencias en la energía de estabilización varía para cada complejo formado ya que cada ligando produce cambios diferentes en la energía de estabilización (Chang & College, 2002). El desdoblamiento de los orbitales d de estos cationes metálicos en función a la unión con ligandos, permite saltos electrónicos por absorción de energía luminosa en el espectro visible que provoca que los complejos tomen colores característicos y complementarios (Nutfield, 2015). Estos cambios en la energía y desdoblamiento de los orbitales por efecto de los ligandos se clasifican en series espectroquímicas (Miessler & Tarr, 2004).

Los cambios colorimétricos no solo se visualizan con los diferentes ligandos usados sino que también varían de acuerdo al estado de oxidación del catión metálico. Los cationes metálicos presentan diversos estados de oxidación. Para los iones de cobalto se presentan dos estados de oxidación comunes Co (II) y Co (III) y ambos estados de oxidación pueden formar complejos organometálicos diferentes con ligandos orgánicos. Los complejos de cobalto más conocidos son los complejos de cobalto (II) mientras que los complejos de cobalto (III) son mucho más difíciles de formar aunque después de formados, son metalocomplejos muy

estables (Fantinolo, 2012). En una matriz acuosa pueden darse de manera simultánea la formación de complejos de Co(II) y Co(III), en función de la naturaleza de los ligandos usados.

Para la formación de complejos organometálicos se hace necesaria la interacción entre los ligandos orgánicos con los cationes metálicos a través de enlaces de coordinación (Keiter & Keiter, 2005). Cuando los ligandos se unen directamente al centro metálico forman la esfera de coordinación primaria. El número de ligandos que se unen formando la esfera de coordinación primaria se conoce como número de coordinación. El número de coordinación es un determinante de la geometría que adoptan los metalocomplejos (Visbal, 2000).

La geometría de coordinación es un modelo geométrico que se forma por los ligandos y un catión metálico resultando en un complejo de coordinación (Helpes, 2015). El arreglo geométrico varía según el número y el tipo de ligandos que se unen al centro metálico. La preferencia de coordinación de un metal a menudo varía de acuerdo al estado de oxidación de la especie metálica (Helpes, 2015).

Las geometrías de coordinación más comunes para complejos de cobalto (II) son las geometrías octaédricas y tetraédricas (Orgel, Introduction to Transition - Metal Chemistry 2nd Edition, 1966). A temperatura ambiente, los iones de cobalto (II) en una matriz acuosa se encuentran coordinados con 6 moléculas de agua en la que predomina la configuración geométrica octaédrica. Cuando hay un aumento de temperatura, el equilibrio dinámico se ve desplazado hacia la forma tetraédrica (predomina más la forma tetraédrica que octaédrica) y solo bajo ciertas condiciones la forma octaédrica se presenta en una menor medida (Brugger, y otros, 2016).

Un ejemplo de esto se ve en la Figura 5 donde se visualiza el efecto de la temperatura en la configuración geométrica de metalocomplejos de cobalto (II) con iones cloruro como ligando (Tian, y otros, 2012).

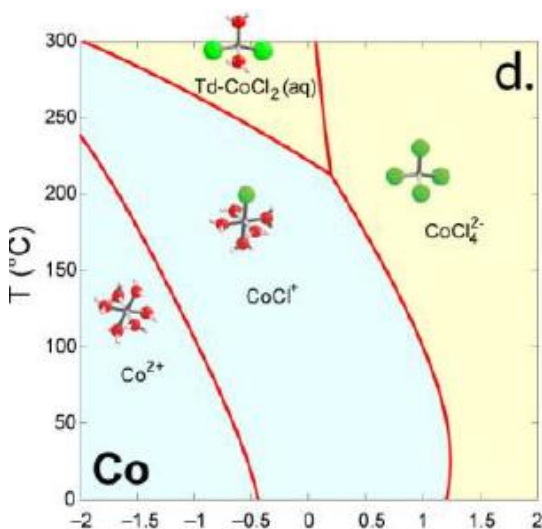


Figura 5: Complejos y geometrías de coordinación predominantes para cobalto (II) con ligandos de cloruro en función a la temperatura y la composición. Tomado de: (Tian, y otros, 2012)

Los complejos de cobalto (III) por su parte tienen en su mayoría una geometría octaédrica. Todos son de bajo espín, es decir que sus electrones se encuentran apareados con excepción de la unión con el ligando F^- (Brewer, Collins, Smith, & Santarsiero, 1988) como se observa en la Figura 6.

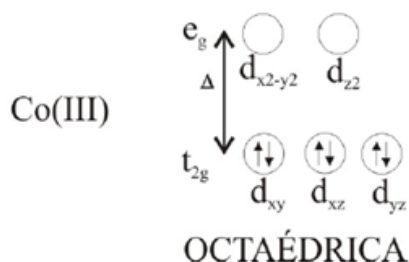


Figura 6: Geometría de coordinación complejos de cobalto (III). Tomado de: (Solá, Hernández, & Fernández, 2000)

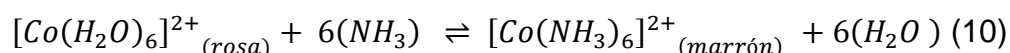
Cuando el ligando consiste en la unión de 4 aniones σ – donadores, la geometría planar cuadrada puede ser alcanzada. Un ejemplo de esto se da con el uso de ligandos polianiónicos quelantes que forman complejos de cobalto (III) con geometría planar cuadrada (Collins, Ozaki, & Richmond, 1987).

Los iones de cobalto (II) son muy estables frente a la oxidación, pero una vez que se forman complejos octaédricos con agentes que actúen como oxidantes fuertes, la oxidación a los complejos octaédricos de cobalto (III) de bajo espín se da con mayor facilidad. Esto se debe a que la energía de estabilización de los complejos de Co (III) con una configuración d^6 es más alta que la correspondiente al

complejo Co (II) con una configuración d^7 (Mathews, Abad, Fernández, Belandria, & Fernández, 2008).

Especiación Química para el Cation Metálico de Cobalto (II) Usando como Ligando Amoniac

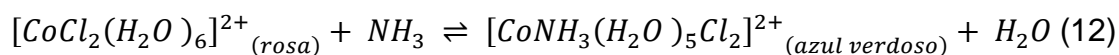
La interacción del cobalto con los ligandos de amonio es complicada ya que pueden darse de forma simultánea complejos de Co (II) y Co (III) en función de la naturaleza del ligando y de otros factores como la concentración, el pH y la temperatura que afectan las diferentes especies que se forman (Garnovskii, 1999). El cobalto puede interaccionar con los ligandos de amonio hasta formar un complejo de máxima coordinación que en este caso corresponde al acomplejamiento con 6 moléculas de amoniaco como se observa en la ecuación 10 (Palant & Shchavinskaya, 2001).



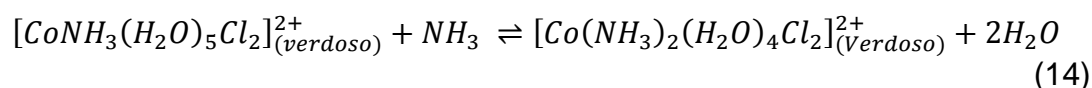
A esta reacción le corresponde una constante de estabilidad global correspondiente a la de la ecuación 11.

$$k = \frac{[Co(NH_3)_6]^{2+}}{[Co(H_2O)_6]^{2+}[NH_3]} \quad (11)$$

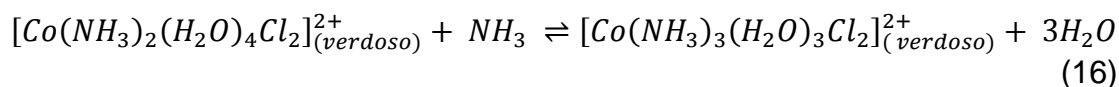
Esta condición se cumple solo cuando se adiciona un exceso de ligando al medio acuoso que logra desplazar todas las moléculas de agua para formar el complejo hexaamino (Davis, 2015). En un caso típico, cuando adiciono una cantidad de amoniaco a una solución acuosa que contiene el cation metálico de cobalto, se empieza el desplazamiento de las moléculas de agua del cobalto hexahidratado para dar origen a una serie de equilibrios en la cual coexisten diferentes especies en el medio acuoso (Clark, 2009). Las reacciones implicadas y los equilibrios de especiación pueden visualizarse en las ecuaciones 12 - 23.



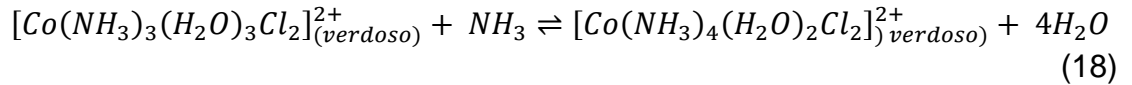
$$k_1 = \frac{[CoNH_3(H_2O)_5Cl_2]^{2+}}{[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}[NH_3]} \quad (13)$$



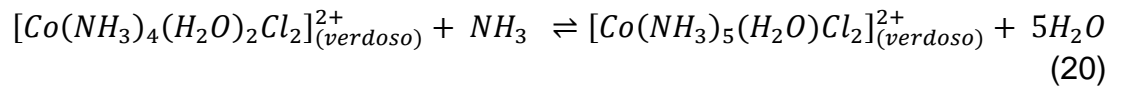
$$k_2 = \frac{[Co(NH_3)_2(H_2O)_4Cl_2]^{2+}_{(Azul\ verdoso)}}{[CoNH_3(H_2O)_5Cl_2]^{2+}_{(Azul\ verdoso)}[NH_3]} \quad (15)$$



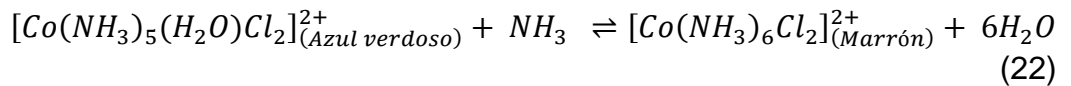
$$k_3 = \frac{[Co(NH_3)_3(H_2O)_3Cl_2]_{(Azul\ verdoso)}^{2+}}{[Co(NH_3)_2(H_2O)_4Cl_2]_{(Azul\ verdoso)}^{2+}[NH_3]} \quad (17)$$



$$k_4 = \frac{[Co(NH_3)_4(H_2O)_2Cl_2]_{(Azul\ verdoso)}^{2+}}{[Co(NH_3)_3(H_2O)_3Cl_2]_{(Azul\ verdoso)}^{2+}[NH_3]} \quad (19)$$



$$k_5 = \frac{[CoNH_3(H_2O)_5Cl_2]^{2+}}{[Co(NH_3)_4(H_2O)_2Cl_2]_{(Azul\ verdoso)}^{2+}[NH_3]} \quad (21)$$



$$k_6 = \frac{[Co(NH_3)_6Cl_2]_{(Marrón)}^{2+}}{[Co(NH_3)_5(H_2O)Cl_2]_{(Azul\ verdoso)}^{2+}[NH_3]} \quad (23)$$

Como se mencionó con anterioridad, la predominancia de una especie sobre otra o la formación de las diferentes especies son dependientes de factores como la concentración, la temperatura y el pH. Por Ejemplo, al adicionar bajas concentraciones del ligando (amoníaco) a la solución que contiene el catión metálico de cobalto, se formará primero el complejo organometálico de menor número de coordinación que cualquier otro complejo de la serie que en este caso corresponde a la especie $[CoNH_3(H_2O)_5Cl_2]^{2+}$ (Shoemaker, 2008). A medida que realizo adiciones sucesivas del ligando, la concentración de $[Co(NH_3)_2(H_2O)_4Cl_2]_{(verdoso)}^{2+}$ aumenta rápidamente mientras que la concentración de $[CoNH_3(H_2O)_5Cl_2]^{2+}$ disminuye. Después resulta en la formación de $[Co(NH_3)_3(H_2O)_3Cl_2]_{(verdoso)}^{2+}$ mientras la concentración de los dos anteriores disminuye y así se van formando los complejos hasta alcanzar el complejo de máxima coordinación que corresponde al cloruro de hexamino cobalto (II) $[Co(NH_3)_6Cl_2]_{(Marrón)}^{2+}$ (Shoemaker, 2008). Cuando se adicionan concentraciones altas de amoníaco a la solución acuosa que contiene Co (II), se forma casi de inmediato el complejo de mayor número de coordinación (Davis, 2015).

Por otro lado, la temperatura y el pH afectan el acomplejamiento y por tanto, los equilibrios de especiación del cobalto con ligandos de amonio. Por lo general, cada complejo tiene un rango de pH óptimo para la formación de especies en

solución acuosa y cuando se modifica la temperatura, el rango de pH óptimo para la acomplejación disminuye. Por ejemplo, el Co (II) es acomplejado con ligandos de amonio a un pH entre 7.5 – 12.5 a 298K. Cuando aumento la temperatura a 333K, el rango óptimo de pH para la formación de complejos disminuye de 6.8 – 11. La especie hexaamino cobalto (II) es más estable a un pH de 10 y 298K donde la predominancia de la especie es más alta. Al aumentar la temperatura a 333K, el pH óptimo de acomplejamiento para esta especie disminuye a pH 9 (Shoemaker, 2008).

En la Figura 7 se observa el porcentaje de formación de complejos de cobalto (II) con ligandos de amonio en función del pH. Se puede observar que a medida que aumente el pH y con la adición de ligandos de amonio, la especie de Co (II) en solución acuosa empieza a disminuir para dar paso a la formación de las diferentes especies que se pueden formar en la matriz acuosa.

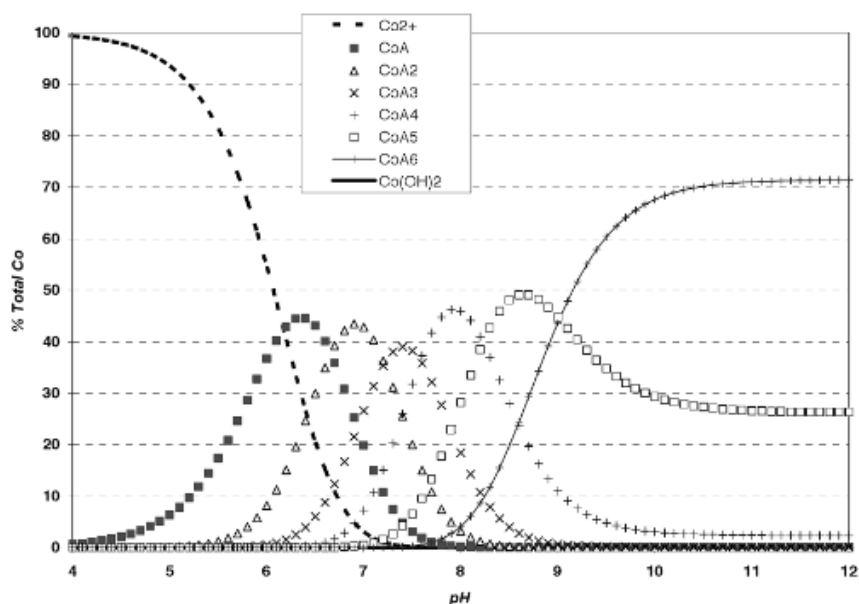


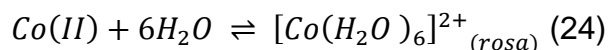
Figura 7. Porcentaje de formación de complejos de cobalto (II) con ligandos de amonio en función del pH de la solución acuosa. Tomado de: (Shoemaker, 2008)

Reacciones Químicas Implicadas en la determinación UV espectroscópica para el catión metálico de cobalto

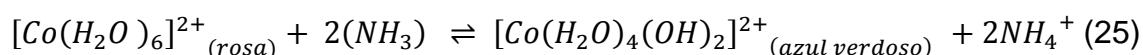
Las reacciones químicas implicadas tanto en la oxidación como en la especiación de los complejos de cobalto son importantes, ya que a partir de la reacción entre el catión metálico y los reactivos usados en este proyecto de grado, permite visualizar cambios colorimétricos que dan una aproximación cualitativa de lo que está ocurriendo en cada uno de los experimentos realizados. Las reacciones

químicas implicadas y los cambios colorimétricos fueron tomados de (Clark, Chemguide, 2009).

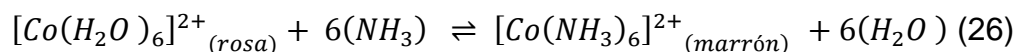
Los iones de Co (II) forman en solución acuosa iones de cobalto (II) hexahidratado como se muestra en la ecuación 24 de color rosa.



Cuando se adicionan una pequeña cantidad de amonio a la solución que contiene los cationes de cobalto, los hidrogeniones son sacados afuera del ion hexahidratado de cobalto (II) para formar una especie neutra como se muestra en la ecuación 25.



Cuando se adiciona un exceso de amonio, este desplaza por completo las moléculas de agua como ligando para formar complejos de cobalto (II) como se observa en la ecuación 26.



En la Figura 8 se describen los cambios colorimétricos que se observan tras las adiciones sucesivas del ligando amonio hasta desplazar por completo las moléculas de agua. Para los complejos de cobalto (II) hexahidratado se observan coloraciones rosadas, con las adiciones de pequeñas cantidades del ligando amonio la solución acuosa empieza a tornarse de color verde azulado hasta alcanzar una coloración marrón con la adición de este ligando en exceso.

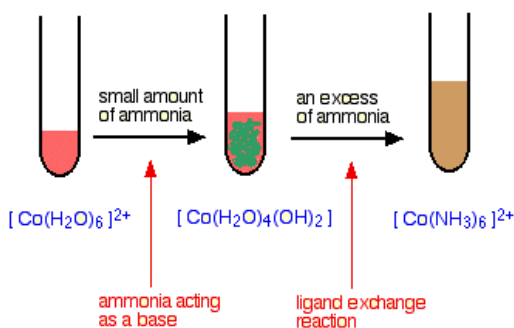


Figura 8. Cambios colorimétricos para la adición del ligando amonio en una solución acuosa de cobalto (II) hexahidratado. Tomado de (Clark, Chemguide, 2009)

El complejo de hexamino cobalto (II) puede ser fácilmente oxidable al complejo de cobalto (III) correspondiente. Esta oxidación ocurre rápidamente y puede observarse una coloración rojiza – marrón oscura como se observa en la Figura 9

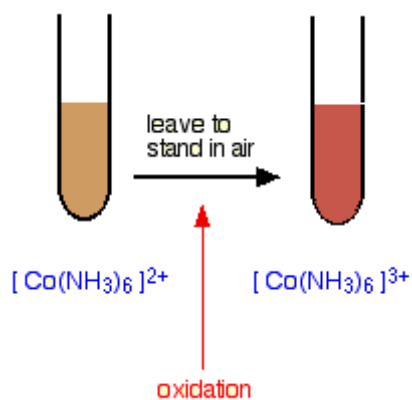
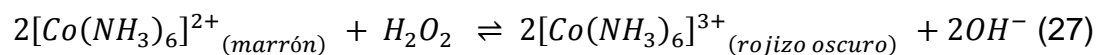


Figura 9. Cambios colorimétricos para la oxidación del complejo de hexamino cobalto (II). Tomado de (Clark, Chemguide, 2009)

Esta oxidación puede ocurrir con el aire o con la adición de agentes oxidantes como el peróxido de hidrógeno. La oxidación con peróxido de hidrógeno ocurre de manera rápida y muestra los mismos cambios colorimétricos vistos en la Figura 9. La reacción implicada en este proceso de oxidación se observa en la ecuación 27.



2.3 Objetivos

Objetivo General

Implementar y estandarizar una metodología y un protocolo para los estudios de especiación química de complejos organometálicos en fase acuosa por medio de espectroscopía UV – VIS en la universidad ICESI.

Objetivos Específicos

- Escoger un estudio de especiación química de un metalocomplejo conocido y publicado en la literatura química
- Reproducir este estudio de especiación química utilizando la técnica UV- VIS
- Analizar los resultados obtenidos para determinar la especiación química a nivel cuantitativo y cualitativo por medio de este estudio espectroscópico.
- Escribir protocolos para la aplicación del método en el grupo de investigación Weston

2.4 Metodología Utilizada

La metodología usada es la espectroscopía UV – VIS estándar utilizando el equipo Shimadzu UV – 1800 disponible en la facultad de ciencias naturales de la universidad ICESI.

El punto de partida para la implementación de una metodología que permitió la determinación cuantitativa de especies organometálicas en fase acuosa con la ayuda de la técnica UV – VIS fue la tesis de maestría realizada por Juanita Aguilar sobre el *“Estudio de la Esfera de Coordinación de la Superóxido Dismutasa de Níquel”* realizado en la universidad de los Andes en el año 2012. Debido a que este estudio utilizó un programa computacional para la determinación cuantitativa de las especies presentes en un medio acuoso sobre el cual ICESI no tiene licencia, se realizaron adaptaciones a la metodología con el fin de que este sea un estudio aplicable en la universidad ICESI. Los cambios realizados para la implementación del método se basaron en los resultados obtenidos y reportados en (King H. C., 1971), (Tabbí, Giuffrida, & Bonomo, 2013), (Gutiérrez, 2016) y (Skoog, Fundamentos de Química Analítica, 2005).

Preparación de los Estándares de Concentración Conocida

Para la determinación UV espectroscópica inicialmente se debe preparar una solución patrón. Las soluciones patrón son reactivos de concentración conocidas con exactitud e importantes en todos los métodos volumétricos (Díaz A. C., 2002). Éstas son importantes ya que estas son utilizadas como referencia o punto de partida al momento de hacer una valoración o estandarización (Harris & Laitinen, 1982) y (Luzardo, 2011). Para su preparación se utiliza un método directo donde se parte de un estándar de alta pureza de concentración conocida y se pesa una cantidad de este compuesto en balanza analítica, se disuelve la cantidad pesada

con agua destilada y se completa la cantidad adicionando agua con exactitud en un matraz aforado (Martin & Torres, 2000).

Antes de preparar todas las soluciones patrón y los estándares para realizar las lecturas de los espectros que se obtienen a través de la técnica UV – VIS, se deben mitigar todas las posibles causas que pueden causar interferencias. Las interferencias ocasionan desviaciones a los resultados esperados que imposibilitan la determinación cuantitativa de los complejos organometálicos en este estudio. Algunas causas de interferencia se le atribuyen a los materiales sucios ya que estos pueden contener residuos de partículas que absorben en la región UV – VIS. Para disminuir el riesgo de contaminación de los estándares y las muestras se deben realizar lavados a todos los materiales con agua destilada con el fin de purgar el material y se debe en todos los casos trabajar con material limpio.

De lo anterior surge otra causa de interferencias y es el uso del agua potable para el lavado de los materiales y la preparación de las muestras. El agua potable contiene minerales y diferentes iones como cloruros, nitratos, nitritos, calcio magnesio, fosfato, arsénico entre otros además de gérmenes y patógenos (Amini, y otros, 2008). La mayoría de los iones de los metales de transición absorben en la región ultravioleta visible y sus espectros están formados por picos de absorción característicos, bien definidos (García T. , 2003). Con el fin de eliminar esta fuente de interferencia los lavados y la preparación de los estándares y las muestras se deben realizarse con agua destilada obtenida por procesos de purificación con el fin de eliminar esta posible fuente de contaminación.

Después de mitigar todas las posibles causas de error se debe preparar la solución patrón y a partir de ésta solución se preparan los estándares que son disoluciones del analito de estudio de concentración conocida y los cuales deben cubrir un intervalo adecuado de concentraciones para medir la señal analítica proporcionada por los mismos (Martin & Torres, 2000). Estas soluciones se obtienen a través de la técnica de dilución que consiste en una reducción de la concentración de una sustancia química que se encuentra presente en una disolución buscando disminuir la cantidad de soluto presente en una unidad de volumen (Cedrón, Landa, & Robles, 2011). Para la preparación de las diluciones, se debe tomar una cantidad de volumen para preparar soluciones estándar de bajas concentraciones con el fin de que se cumpla la ley de Lambert – Beer y se hagan cuantificables los resultados obtenidos. Para mitigar errores en la toma de los volúmenes se deben utilizar materiales volumétricos ya que brindan mayor exactitud y precisión en las mediciones y resultados.

Se prepararon además, las diluciones de los reactivos de peróxido de hidrógeno e hidróxido de amonio que se usaron en este proyecto de investigación, ya que los que se encuentran disponibles en la facultad de ciencias naturales de la universidad ICESI, están a concentraciones elevadas lo que puede dificultar

observar cambios en los espectros de absorción sucesivos, ya que el catión metálico de cobalto que se encuentra en bajas concentraciones en la solución acuosa, reaccionaría de manera rápida con los reactivos adicionados.

Barrido para las soluciones de cloruro de cobalto a través de la técnica UV VIS

Los barridos de absorción son muy importantes ya que a través de estos se determinan las longitudes de onda y absorción máxima de los complejos que se encuentran en estudio. El espectrofotómetro UV – VIS permite la determinación cuantitativa de complejos organometálicos una vez obtenida la longitud de onda máxima de los complejos y la aplicación de la ley de Lambert Beer. (Skoog, Análisis Instrumental 5ta Edición, 2005). La obtención de los barridos de absorción y la posterior determinación cuantitativa de los complejos organometálicos puede presentar interferencias asociadas al uso del equipo e incluso a la ley de Lambert – Beer.

Las interferencias a la ley de Lambert Beer se asocian a las concentraciones en las que se trabajan la solución patrón y los estándares de concentración conocida. La ley de Lambert Beer solo se hace aplicable a soluciones. Cuando las soluciones tienen una concentración elevada, el grado de las interacciones soluto – solvente y soluto – soluto puede afectar al analito modificando su capacidad de absorción. Las interacciones soluto – soluto modifican la capacidad de las especies del analito para absorber la radiación de una longitud de onda determinada. Es por esto que todas las soluciones (solución stock y los estándares) fueron preparados a bajas concentraciones.

Las interferencias asociadas al equipo son diferentes, algunas de las más importantes se nombran a continuación:

- Radiación policromática: La radiación policromática puede afectar los resultados obtenidos de la muestra debido a la distribución continua de las longitudes de onda para esta radiación. Una de las maneras de mitigar este error es con el uso de radiación monocromática o a través del uso de un filtro que permita seleccionar la longitud de onda de interés para la determinación cuantitativa (Skoog, Fundamentos de Química Analítica, 2005).
- Radiación parásita: la radiación que emerge del monocromador puede estar contaminada con pequeñas cantidades de radiación dispersa proveniente de un instrumento que está fuera de la banda de longitud de onda seleccionada que puede incurrir en un error negativo de las lecturas de absorbancia. Dado que la radiación parásita puede causar desviaciones importantes cuando se trabaja a concentraciones altas y longitudes de trayectoria grandes, para mitigar esta interferencia se usan soluciones de concentraciones bajas y longitudes de trayectoria cortas (No superior a 1 cm) (Skoog, Holler, & Crouch, Principios de Análisis Instrumental Sexta Edición, 2009).

- Celdas desajustadas: Se debe asegurar ajustar correctamente las celdas con el fin de mitigar este error además de usar solo una celda y mantenerla en la misma posición tanto para el blanco como para el analito (Skoog, Holler, & Crouch, Principios de Análisis Instrumental Sexta Edición, 2009).

Además de lo anterior, otra manera de mitigar los errores en las lecturas del equipo es a partir de la solución blanco. Un blanco ejerce un control en las mediciones espectrofotométricas asegurándose que la cuantificación sea única y exclusivamente del complejo organometálico en estudio. Para la preparación del blanco se tienen en cuenta todos los reactivos usados tratados de la misma manera que el analito esto con el fin de disminuir al máximo interferencias en las lecturas del equipo y analizar solo el complejo organometálico en estudio (Caba, 2003). En este caso el blanco corresponde a agua destilada.

Preparación de la Solución Patrón o Solución Stock de Cloruro de Cobalto Hexahidratado 0.2000 M

Pesar con ± 0.0001 g de exactitud en la balanza analítica, 1.1897 g de cloruro de cobalto (II) hexahidratado de calidad analítica en un beaker de 50.0 ± 2.5 mL de exactitud y disolver esta cantidad en 5.0 mL de agua destilada aproximadamente con ayuda de la varilla de agitación. Transferir la solución anterior a un matraz aforado de 25.00 ± 0.08 mL de exactitud con ayuda de la varilla de agitación y realizar lavados sucesivos al beaker (más de tres lavados), asegurándose de transferir completamente la solución de cloruro de cobalto (II) hexahidratado al matraz teniendo precaución de no pasarse del enrase. Esto se hace con el fin de transferir completamente la cantidad pesada de cloruro de cobalto (II) hexahidratado al matraz aforado. Enrazar la solución preparada hasta el aforo del matraz con agua destilada. Rotular la solución formada con el fin de que pueda ser identificada (Nombre, Concentración, fecha y quien la preparó).

Preparación de los Estándares de Concentración Conocida a Partir de la Solución Patrón de Cloruro de Cobalto (II) Hexahidratado 0.2000 M

Transferir con ayuda de materiales volumétricos (micropipeta de $1000 - 10000 \pm 60$ μ L de exactitud y micropipeta de $100 - 1000 \pm 6$ μ L de exactitud) los volúmenes calculados y reportados en el anexo 2 a matraces aforados de 10.0 ± 0.025 mL de precisión y completar el volumen con agua destilada hasta la línea del aforo sin pasarse. Marcar los matraces aforados en orden ascendente del 1 al 6 de acuerdo a las concentraciones descritas en el anexo 2 con fecha de preparación y quien lo preparó.

Preparación de la Solución de Peróxido de Hidrógeno al 4% a partir de Solución de Peróxido de Hidrógeno al 30%

Transferir con ayuda de materiales volumétricos (micropipeta Brand de 1000 – 10000 ± 60 µL de exactitud) con la mayor exactitud posible, las cantidades calculadas y reportadas en el anexo 2 para la preparación de la dilución de peróxido de hidrógeno al 4% a partir de una solución de peróxido de hidrógeno al 30%. Transferir la cantidad calculada a un matraz aforado de 50.00 ± 0.05 mL de exactitud y completar el volumen con agua destilada hasta la línea del aforo sin pasarse. Marcar el matraz aforado para que pueda ser posteriormente identificado.

Preparación de la Solución de Hidróxido de Amonio al 4.00% a partir de Solución de Hidróxido de Amonio al 29.54%

Transferir con ayuda de materiales volumétricos (micropipeta Brand de 1000 – 10000 ± 60 µL de exactitud) con la mayor exactitud posible, las cantidades calculadas y reportadas en el anexo 2 para la preparación de la dilución de hidróxido de amonio al 4.00% a partir de una solución de hidróxido de amonio al 29.54%. Transferir la cantidad calculada a un matraz aforado de 50.00 ± 0.05 mL de exactitud y completar el volumen con agua destilada hasta la línea del aforo sin pasarse. Marcar el matraz aforado para que pueda ser posteriormente identificado.

Barrido de Absorción para la Determinación de Onda Máxima y Curva de Calibración

Encender el espectrofotómetro SHIMADZU UV - 1800. Abrir el programa UV – Probe para realizar todas las mediciones espectrofotométricas.

Realizar la corrección de la línea base con el blanco que se va a utilizar para cada medición en un rango de 250 – 800 nm. En ambos casos, el blanco para la medición de los estados de oxidación y para la especiación es agua purificada. Esto se realiza con el fin de eliminar posibles interferencias y disminuir el ruido del equipo.

Una vez realizada la corrección de línea base, realizar un barrido de absorción entre los 250 y 800 nm usando el blanco y el estándar de mayor concentración de cloruro de cobalto (II) hexahidratado utilizando celdas de cuarzo para esta medición. Una vez determinada la longitud de onda máxima del metalocomplejo en estudio, realizar la curva de calibración con los estándares de cloruro de cobalto (II) hexahidratado de concentración conocida preparados con anterioridad. Para ello: Seleccionar la longitud de onda máxima. Utilizar dos celdas de cuarzo

para el espectrofotómetro, una para el blanco y otra para las muestras. Purgar las celdas 3 veces con la solución blanco (que en este caso corresponde a agua purificada), llenar ambas celdas con esta solución y secar las paredes externas con papel absorbente. Colocar las celdas que contienen el blanco dentro del espectrofotómetro y cerrarlo, esperar 15 segundos a que se estabilice el equipo y presionar el auto zero. Dejar fija dentro del equipo una de las celdas que contiene el blanco y sacar la celda donde se va a colocar la muestra, púrgarla tres veces con la solución estándar con la cual se va a iniciar la medición (solución de menor concentración), llenar la celda y secar las paredes con papel absorbente, colocar la celda en el espectrofotómetro, cerrarlo y realizar el barrido y la lectura de la absorbancia indicada por el instrumento; Sacar la celda que contiene la solución estándar, desecharla y repetir el procedimiento anterior. No desechar la celda que contiene el blanco ya que esta sirve para las siguientes lecturas. Se debe recordar empezar las mediciones con los estándares de menor concentración y finalizar con los estándares de mayor concentración con el fin de disminuir errores en los resultados obtenidos.

Cuantificación de los Complejos Organometálicos Formados de acuerdo al Número de Oxidación con la Adición de Peróxido de Hidrógeno al 4.00%

Preparar una solución de cloruro de cobalto (II) hexahidratado de concentración 0.080 M en un matraz aforado de 10.00 ± 0.025 mL de exactitud. La preparación de esta solución se puede hacer por dos métodos: El primer método es pesar una cantidad del reactivo de cloruro de cobalto (II) hexahidratado de grado analítico y diluirlo en un volumen de agua purificada hasta alcanzar la concentración deseada y el otro método es obtener la concentración deseada a partir de la solución stock previamente preparada a través de la técnica de la dilución. En este caso, se tomaron 4.00 mL de la solución patrón de cloruro de cobalto (II) hexahidratado con una micropipeta de $1000 - 10000 \pm 60$ μ L de exactitud y se transfirió a un matraz aforado de 10.0 ± 0.025 mL. Después de transferir la solución, se completó el volumen con agua destilada teniendo cuidado de no pasarse de la línea de aforo. Se rotula la solución preparada con el fin de ser posteriormente identificada.

Para las mediciones en el espectrofotómetro: Sacar la celda donde se va a colocar la muestra de cloruro de cobalto (II) hexahidratado 0.080 M, purgar la celda tres veces con la solución previamente preparada y desechar completamente el contenido de la celda. Llenar la celda con 2.50 mL de esta solución con ayuda de una micropipeta $1000 - 10000 \pm 60$ μ L de exactitud y secar las paredes de la celda con papel absorbente. Colocar la celda en el espectrofotómetro, cerrarlo e iniciar la lectura del barrido de absorción y de la absorbancia a través del instrumento; sacar la celda que contiene la muestra de cloruro de cobalto (II) hexahidratado de concentración 0.080 M y adicionar sobre esta, 0.10 mL de peróxido de hidrógeno de concentración 4.00 % con la ayuda de una micropipeta de $100 - 1000 \pm 6$ μ L de exactitud y agitarla teniendo cuidado de no derramar la solución por fuera de la celda, colocar la celda nuevamente dentro

del espectrofotómetro, cerrarla y realizar nuevamente las mediciones del barrido de absorción y la lectura de las absorbancias indicadas por el instrumento. Repetir el procedimiento anterior adicionando los 0.1 mL de peróxido de hidrógeno al 4.00% y tomando las mediciones del barrido de absorción y las absorbancias por cada adición del reactivo hasta que se alcance el límite de la celda.

Cuantificación de la Formación de Complejos Organometálicos con la Adición de Hidróxido de Amonio al 4.00%.

Utilizar la solución de cloruro de cobalto (II) hexahidratado 0.080 M previamente preparada. Para las mediciones en el espectrofotómetro sacar la celda donde se va a colocar la muestra de cloruro de cobalto (II) hexahidratado 0.080 M, purgar tres veces la celda con la solución previamente preparada y desechar completamente el contenido de la celda. Llenar la celda con 2.50 mL de esta solución con ayuda de una micropipeta $1000 - 10000 \pm 60 \mu\text{L}$ de exactitud y secar las paredes de la celda con papel absorbente. Colocar la celda en el espectrofotómetro, cerrarlo e iniciar la lectura del barrido de absorción y de la absorbancia a través del instrumento; Sacar la celda que contiene la muestra de cloruro de cobalto (II) hexahidratado de concentración 0.080 M y adicionar sobre esta 0.02 mL de hidróxido de amonio de concentración 4.00% con la ayuda de una micropipeta de $2 - 20 \pm 0.16 \mu\text{L}$ de exactitud y agitar la celda teniendo cuidado de no derramar la solución por fuera de ésta. Como la reacción entre cloruro de cobalto (II) hexahidratado y el amoniaco produce un precipitado de color azul verdoso, se filtra la solución en la celda con ayuda de una jeringa de 5 mL y un filtro de $0,2 \mu\text{m}$ y se coloca la celda nuevamente dentro del espectrofotómetro, se cierra y se realizan nuevamente las mediciones del barrido de absorción y la lectura de las absorbancias indicadas por el instrumento. Se repite el procedimiento anterior adicionando los 0.02 mL de hidróxido de amonio al 4.00% y tomando las mediciones del barrido de absorción y las absorbancias por cada adición del reactivo recordando filtrar la solución por cada adición de hidróxido de amonio al 4.00%.

2.5 Resultados y Discusión

Con el barrido de absorción se determinó la longitud de onda máxima a la cual absorbe el cloruro de cobalto (II) hexahidratado y el resultado obtenido fue el siguiente:

$$\lambda_{\max} [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} = 510 - 512 \text{ nm}$$

Con la longitud de onda máxima hallada se determinaron las absorbancias para los estándares de concentración conocida de cloruro de cobalto (II) hexahidratado reportadas en la Tabla 3 y se realizó la gráfica 1, que es la curva de calibración del cloruro de cobalto (II) hexahidratado. Esta gráfica relaciona la absorbancia reportada por el equipo UV en función a la concentración de cada estándar preparado. Con la curva de calibración se obtuvo una ecuación de la línea recta, que permite cuantificar los resultados obtenidos a partir de la ley de Lambert – Beer hallando la concentración para cada una de las absorbancias obtenidas.

Tabla 3. Absorbancia para los estándares de concentración de cloruro de cobalto (II) hexahidratado

Estándar	Concentración (mol/L)	Absorbancia
1	0.0100	0.046
2	0.0250	0.117
3	0.0500	0.221

4	0.0750	0.356
5	0.100	0.492

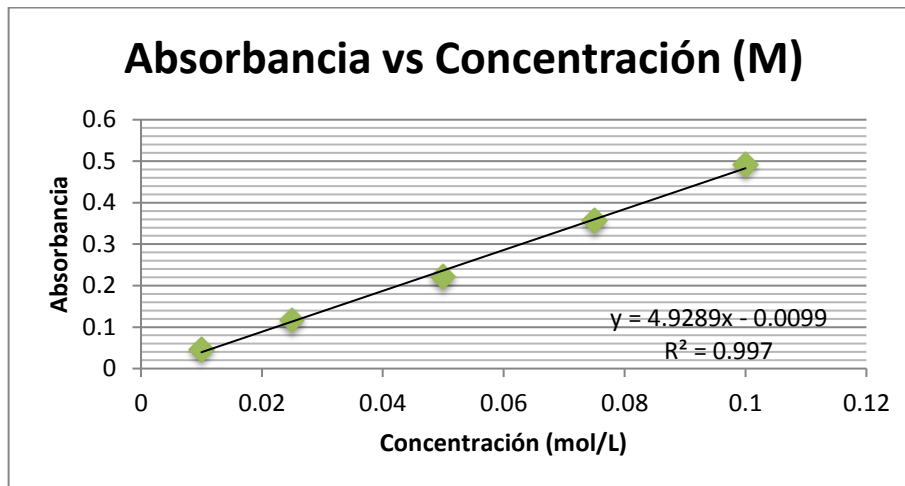


Gráfico 1. Curva de calibración para los estándares de cloruro de cobalto (II) hexahidratado de concentración conocida

Un espectro de absorción muestra la cantidad de energía máxima absorbida por una especie química, en este caso correspondiente al catión metálico de cobalto (II) (Suzuki, 1967). Estos espectros son representaciones gráficas que muestran la cantidad de energía absorbida en función de la longitud de onda para cada especie química (King G, 1965). Para el caso de cloruro de cobalto (II) hexahidratado la máxima absorción en el espectro UV – VIS corresponde a 510 nm. La determinación de esta longitud de onda permitió la construcción de una curva de calibración a partir de las lecturas de absorbancia realizadas a estándares de concentración conocida a los cuales se les variaba la concentración (Dorsal & Villanueva, 2008). Los resultados de absorbancia con respecto a la concentración se observan en la tabla 3 y su respectiva curva de calibración se representa en el gráfico 1.

A partir de la curva de calibración, se obtienen las concentraciones para las muestras problema que se desean analizar y, por tanto, es de gran importancia obtener una ecuación de la línea recta que pueda ser utilizada como modelo matemático (Dorsal & Villanueva, 2008). Las ecuaciones 27 y 28 describen la cuantificación de este trabajo de investigación a partir de la ley de Lambert - Beer. Para verificar si el modelo matemático obtenido es fiable, se tiene en cuenta el coeficiente de determinación, el cual, es un parámetro estadístico que indica la fiabilidad del modelo estimado. Los valores cercanos a uno indican fiabilidad en el modelo matemático obtenido (García, 2002). El coeficiente de determinación obtenido para la curva de calibración de cloruro de cobalto (II) hexahidratado fue

de 0.997, lo que significa que los resultados obtenidos en este proyecto de grado a partir de este modelo matemático son confiables.

La ley de Lambert – Beer y la ecuación de la línea recta se relacionan directamente como se observa en las ecuaciones 28 y 29.

$$A = \epsilon b C \quad (28)$$

$$Y = mX + b \quad (29)$$

La absorbancia (A) se relaciona directamente en la ecuación de la línea recta con la ordenada Y, el coeficiente de absortividad molar y la longitud de la celda (ϵb) se relacionan directamente con la pendiente (m) y la concentración (C) se relaciona directamente con la ordenada X. Despejando X de la ecuación de la línea recta y con la relación anterior se puede determinar la concentración de las especies en solución como se observa en las ecuaciones 30 - 32. Entonces:

$$Y = 4.9289X - 0.0099 \quad (30)$$

$$X = \frac{Y+0.0099}{4.9289} \quad (31)$$

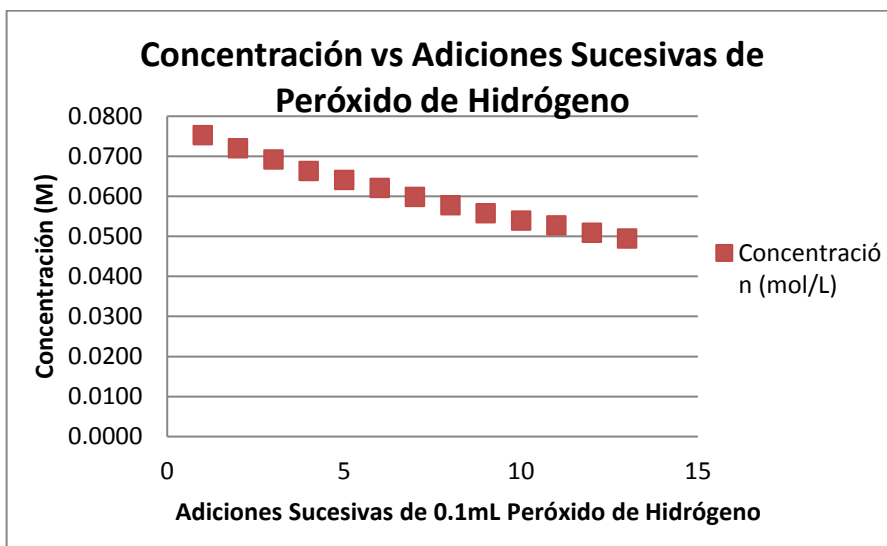
$$C = \frac{A+0.0099}{4.9289} \quad (32)$$

La muestra de cálculos para la determinación de la concentración de cloruro de cobalto (II) hexahidratado a partir de la curva de calibración obtenida se observa en el anexo 3. En la Tabla 4 se obtuvieron las concentraciones para cada adición sucesiva de peróxido de hidrógeno al 4.00% el cual actúa como agente oxidante. Estas concentraciones fueron calculadas a partir de la absorbancia obtenida experimentalmente y la muestra de cálculos puede ser observada en el anexo 3. El gráfico 2 muestra la relación de la concentración con cada adición sucesiva de peróxido de hidrógeno al 4.00% sobre la muestra acuosa de cloruro de cobalto II hexahidratado.

Tabla 4. Concentración para la muestra de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ con cada adición sucesiva de peróxido de hidrógeno al 4.00%

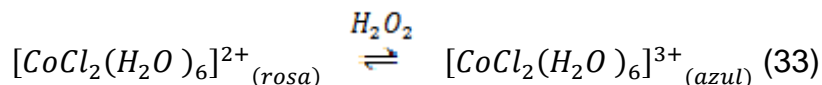
Muestra	Adición sucesiva de H_2O_2 4%	Absorbancia	Concentración (M)
1	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0 \text{ mL } H_2O_2$	0.361	0.0753
2	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.1 \text{ mL } H_2O_2$	0.345	0.0720
3	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.2 \text{ mL } H_2O_2$	0.331	0.0692
4	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.3 \text{ mL } H_2O_2$	0.317	0.0663
5	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.4 \text{ mL } H_2O_2$	0.306	0.0641
6	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.5 \text{ mL } H_2O_2$	0.296	0.0621

7	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.6 \text{ mL } H_2O_2$	0.285	0.0598
8	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.7 \text{ mL } H_2O_2$	0.275	0.0578
9	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.8 \text{ mL } H_2O_2$	0.265	0.0558
10	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.9 \text{ mL } H_2O_2$	0.256	0.0539
11	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + (H_2O_2)_{exc}$	0.250	0.0527
12	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + (H_2O_2)_{exc}$	0.241	0.0509
13	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + (H_2O_2)_{exc}$	0.234	0.0495



Gráfica 2. Cambios en la concentración de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ con respecto a las adiciones sucesivas de peróxido de hidrógeno al 4.00%

Al adicionar peróxido de hidrógeno al medio se cumple la siguiente reacción en el equilibrio visto en la ecuación 33:



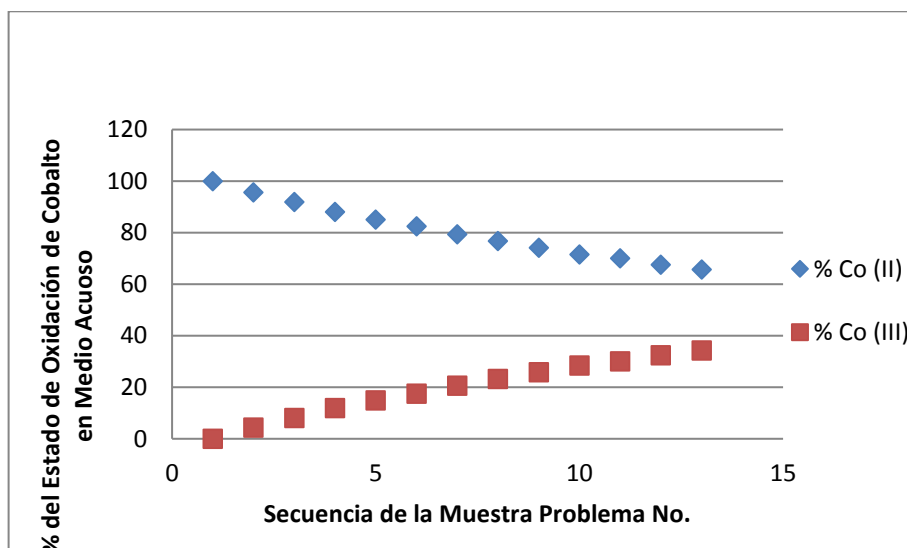
Teniendo en cuenta que cada adición sucesiva de peróxido de hidrógeno oxida al complejo de un estado de oxidación (II) a un estado de oxidación (III), se puede determinar la cantidad de cada estado de oxidación en medio acuoso por la pérdida de cloruro de cobalto (II) hexahidratado y la diferencia entre un estado inicial y un estado final. La cuantificación a nivel porcentual permite la determinación de ambos estados de oxidación en el equilibrio tras cada adición del

agente oxidante. La cuantificación para los diferentes estados de oxidación para el cobalto se observan en la muestra de cálculos en el anexo 3.

En la Tabla 5. Se observan los resultados obtenidos para los diferentes estados de oxidación también visualizados en la Gráfica 3.

Tabla 5. Resultados para los diferentes estados de oxidación del cobalto.

Muestra	Concentración $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ (M)	Concentración $[CoCl_2(H_2O)_6]^{3+}$ (M)	% $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$	% $[CoCl_2(H_2O)_6]^{3+}$
1	0.0753	0	100	0
2	0.0720	3.30×10^{-3}	95.62	4.38
3	0.0692	6.10×10^{-3}	91.90	8.10
4	0.0663	9.00×10^{-3}	88.05	11.95
5	0.0641	0.0112	85.13	14.87
6	0.0621	0.0132	82.47	17.53
7	0.0598	0.0155	79.42	20.58
8	0.0578	0.0175	76.76	23.24
9	0.0558	0.0195	74.10	25.90
10	0.0539	0.0214	71.58	28.42
11	0.0527	0.0226	69.99	30.01
12	0.0509	0.0244	67.60	32.40
13	0.0495	0.0258	65.74	34.26



Gráfica 3. Estados de oxidación de cobalto en medio acuoso después de la adición sucesiva de peróxido de hidrógeno al 4.00%

Los barridos de absorción realizados para cada adición sucesiva de peróxido de hidrógeno a la matriz acuosa que contiene cloruro de cobalto (II) hexahidratado se observa en la Figura 10.

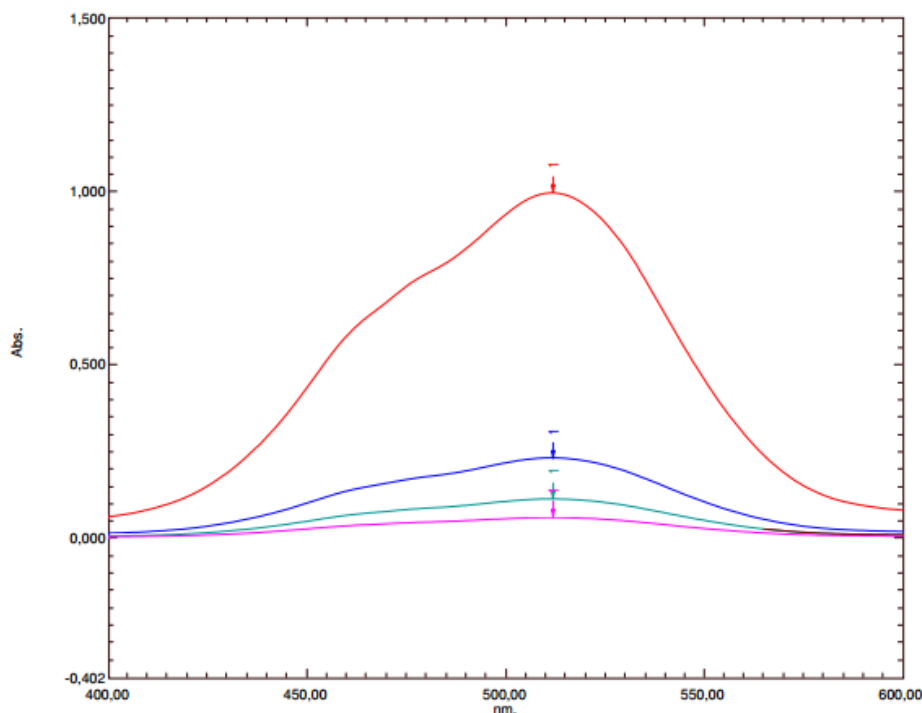


Figura 10. Barrido de absorción que relaciona absorbancia con longitud de onda para $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ entre los 400 – 600 nm

Con la curva de calibración se logró la determinación de los diferentes estados de oxidación para el catión metálico de cobalto. Como se ha descrito con anterioridad, los estados de oxidación más comunes para el cobalto son Co (II) y Co (III) (Thorpe & Thorpe, 2009). El ion de cobalto (II) no se encuentra en soluciones acuosas como un ion libre sino que se encuentra formando un complejo con 6 moléculas de agua (Clark, 2009). El cloruro de cobalto (II) hexahidratado es una especie estable a temperatura ambiente y por lo general, la oxidación de este complejo con oxígeno molecular o con agentes oxidantes como el peróxido de hidrógeno da lugar a complejos de cobalto (III) (Zaldivar & Cornejo, 2011). En medio acuoso, al adicionar el agente oxidante, coexisten ambos estados de oxidación en la matriz acuosa donde las especies de Co (II) son fácilmente oxidables para dar lugar a la formación de especies con un estado de oxidación (III) (Nicholls, 1973). En este estudio se pudo observar la formación de ambos estados de oxidación en la matriz que contenía la muestra de cloruro de cobalto (II) hexahidratado. En la Tabla 4 se observa la disminución de la absorbancia de la especie cloruro de cobalto (II) hexahidratado después de cada

adición sucesiva de peróxido de hidrógeno. Esta disminución en la absorbancia puede relacionarse de manera directa con la concentración, comportamiento observado en la gráfica 2, donde se da la disminución de la concentración de la especie de cloruro de cobalto (II) por cada medición de absorbancia con el espectrofotómetro UV. A medida que se adicionaba cada gota de peróxido a la celda que contenía la solución de cloruro de cobalto (II) hexahidratado, se iniciaba la formación de la especie de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{3+}$ y cuanto mayor era la concentración del agente oxidante en la misma celda, se disminuía en una mayor proporción la cantidad de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$, que es un indicativo de la coexistencia de ambos iones en la matriz acuosa como se observa en la tabla 5. La gráfica 3 muestra ambos estados de oxidación en equilibrio donde el Co (II) representado en rojo disminuye a medida que aumenta la concentración de Co (III) representado en azul. El peróxido de hidrógeno en el medio acuoso, cede 2 electrones a la especie de Co (II) causando un aumento en el estado de oxidación de esta especie, comportamiento observado con anterioridad.

El barrido de absorción observado en la Figura 10 muestra la disminución de la especie de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ con la adición de peróxido de hidrógeno, determinado una misma longitud de onda (510 nm). Cada color en el barrido de absorción, representa la disminución en la absorbancia de cloruro de cobalto (II) hexahidratado en algunas mediciones tomadas después de las adiciones de peróxido de hidrógeno al medio acuoso que contenía el complejo de Co (II). Dado que se cumple la linealidad ley de Lambert – Beer para este ensayo, la disminución de la absorbancia en el barrido, muestra la proporcionalidad con la concentración, soportando los resultados obtenidos en este proyecto de investigación. Se realizó un barrido de absorción para la determinación de la longitud de onda máxima para la especie de Co (III). Este barrido se hizo indetectable en la región de los 190 – 800 nm dado que los complejos de Co (III) absorbían en la región UV en la cual absorben todo tipo de moléculas incluyendo el agua. Dado esto, la determinación de Co (III) podía verse como la disminución de Co (II) en el barrido de absorción en la misma Figura 10.

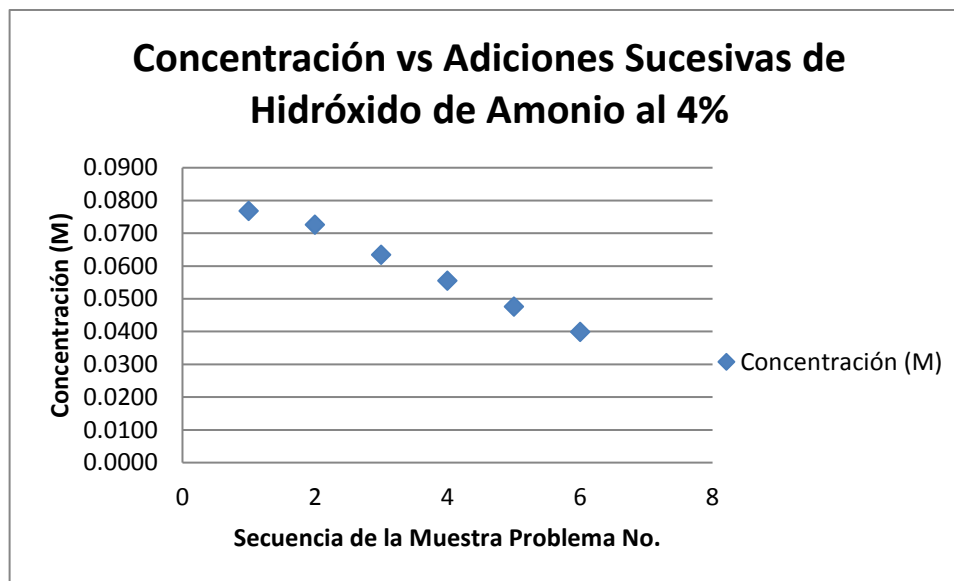
En la determinación del acomplejamiento del cloruro de cobalto (II) hexahidratado usando como ligando amoniacal se usó la misma longitud de onda de absorción máxima ya que se trataba de la misma molécula en estudio y se usó la misma curva de calibración obtenida con anterioridad ya que el estudio podía seguir los mismos parámetros iniciales anteriores. En el anexo 4 se observa la muestra de cálculos obtenida para la determinación de la concentración de cloruro de cobalto (II) hexahidratado para cada medición tomada tras la adición de hidróxido de amonio al 4.00%.

La concentración en todos los casos, al igual que en el estudio de los estados de oxidación de cobalto, es molar. En la Tabla 6 se obtuvieron las concentraciones para cada adición sucesiva de hidróxido de amonio al 4.00%, el cual se acompleja con el catión metálico de cobalto (II). Estas concentraciones se obtuvieron a partir

de la absorbancia como se observa en la muestra de cálculos del anexo 4. El gráfico 4 muestra la relación de la concentración con cada adición sucesiva de hidróxido de amonio sobre la muestra acuosa de cloruro de cobalto II hexahidratado.

Tabla 6. Concentración para la muestra de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ con cada adición sucesiva de hidróxido de amonio al 4.00%

Muestra	Adición sucesiva de NH_4OH 4%	Absorbancia	Concentración (M)
1	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0 \text{ mL } NH_4OH$	0.369	0.0769
2	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.02 \text{ mL } NH_4OH$	0.348	0.0726
3	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.04 \text{ mL } NH_4OH$	0.303	0.0635
4	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.06 \text{ mL } NH_4OH$	0.264	0.0556
5	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.08 \text{ mL } NH_4OH$	0.225	0.0477
6	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + 0.10 \text{ mL } NH_4OH$	0.187	0.0399
7	$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} + (NH_4OH)_{EXC}$	0.552	-----



Gráfica 4. Cambios en la concentración de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ con respecto a las adiciones sucesivas de hidróxido de amonio al 4.00%

Al adicionar hidróxido de amonio a bajas concentraciones a la solución acuosa que contiene el cloruro de cobalto hexahidratado se cumplen las reacciones de equilibrio en las Ecuaciones 10 – 23. Teniendo en cuenta que cada adición sucesiva de hidróxido de amonio puede generar especies diferentes a la inicial, se puede determinar la concentración y el porcentaje de las especies diferentes que se formaron en medio acuoso a partir de la pérdida de cloruro de cobalto (II)

hexahidratado y la diferencia entre su estado inicial y un estado final. Una vez determinadas las concentraciones para las especies que se formaron en el medio acuoso y conociendo la concentración del ligando adicionado, se pueden calcular las constantes de formación de complejos para las especies que se formaron en solución acuosa. En la Tabla 7 se observan los resultados obtenidos para la concentración de las especies formadas en solución acuosa.

Tabla 7. Resultados obtenidos para la concentración de la especiación de complejos de cobalto (II) en medio acuoso

Muestra	Concentración $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ (M)	Concentración Complejo (M)	% $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$	% Complejo formado
1	0.0769	0	100	0
2	0.0726	$4.30 * 10^{-3}$	94.41	5.59
3	0.0635	0.0134	82.57	17.43
4	0.0556	0.0213	72.30	27.70
5	0.0477	0.0322	58.13	41.87
6	0.0399	0.0370	51.89	48.11

A partir de la Tabla 7 y por medio de la ecuación 8 se pueden determinar las constantes de formación de complejos. Estas constantes calculadas para la formación de complejos de cobalto (II) fueron reportadas en la Tabla 8.

Tabla 8. Constantes de estabilidad calculadas para los complejos de cobalto (II) formados

Muestra	Concentración $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ (M)	Concentración Complejo Formado (M)	Concentración Ligando (M)	Constantes de estabilidad (K) obtenidas	Log (K)
1	0.0769	0	2.067	-----	-----
2	0.0726	$4.30 * 10^{-3}$	2.067	0.0267	1.063
3	0.0635	0.0134	2.067	0.1033	1.269
4	0.0556	0.0213	2.067	0.1156	1.305
5	0.0477	0.0322	2.067	0.3592	2.287
6	0.0399	0.0370	2.067	0.4147	2.598

En la Figura 11 se observan los barridos de absorción de 190 – a 800 nm realizados para cada adición sucesiva de hidróxido de amonio a la matriz acuosa que contiene cloruro de cobalto (II) hexahidratado.

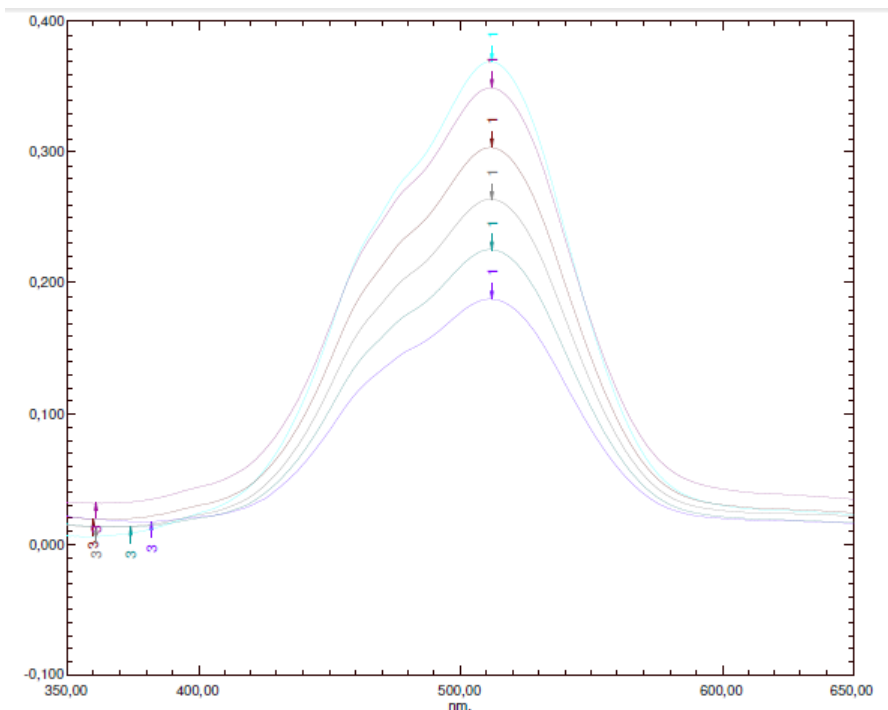


Figura 11. Barridos de absorción para $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ de 190 – 800 nm

Cuando se adiciona un ligando a una solución que contiene cationes metálicos en fase acuosa, se empieza una serie de equilibrios en los cuales los ligandos desplazan a las moléculas de agua para interactuar con la primer esfera de coordinación de los cationes metálicos (Clark, Chemguide, 2009). En este caso, el Co (II) puede interactuar con 6 moléculas de amoníaco con el desplazamiento de las 6 moléculas de agua correspondientes (Davis, 2015). Al adicionar bajas concentraciones del ligando (amoníaco) a la solución que contiene $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$, se forma primero el complejo organometálico de menor número de coordinación y después, con la adición sucesiva de amoníaco, se empieza la formación de los otros complejos en solución acuosa (Gálvez, 1998).

Este comportamiento puede ser observado en la Tabla 6 donde se observa una disminución en la absorbancia con respecto a las adiciones sucesivas de ligando al sistema que contiene el cloruro de cobalto (II) hexahidratado. Dada la proporcionalidad entre la absorbancia y la concentración, En la gráfica 4 se observa la disminución de la concentración de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ cuando se adicionan gotas de hidróxido de amonio a la solución que es un indicativo de que se inició el desplazamiento de las moléculas de agua y formación de complejos entre el amoníaco y el Co (II). En la Tabla 7 se observan los porcentajes de las

diferentes especies que se encuentran en el equilibrio cuando se adicionó al sistema ligando en bajas concentraciones. La adición de amoniaco a bajas concentraciones puede formar las diferentes especies descritas en las ecuaciones 12 – 23. Que una predomine sobre otra depende de múltiples factores como el pH, la temperatura y la concentración. Al controlar la concentración en el sistema, se pueden dar formaciones sucesivas de complejos, formándose los complejos de menor número de coordinación hasta cuando el sistema se sature y se dé la formación de complejos de mayor número de coordinación.

Los resultados obtenidos en la tabla 7 arrojan la coexistencia de varias especies en la solución acuosa. En este caso, para las reacciones involucradas entre el catión de Co (II) y el ligando de amoniaco en la cual existen 6 equilibrios para la formación de complejos, a cada complejo se le asocia una constante de estabilidad de complejos. Se determinaron valores experimentales para las constantes de estabilidad de los complejos formados observados en la Tabla 8 Cada constante de equilibrio es importante ya que este es un valor único para cada complejo formado en la matriz acuosa. La aproximación de estos valores puede ser útil en la determinación del complejo predominante que se encuentra en el medio y que puede ser de gran utilidad en diversos campos tanto farmacéutico como cosmético. Algunas constantes de formación de complejos se encuentran presentes en la lista de las constantes de estabilidad reportadas en la IUPAC. No se encontró en ninguna base de datos constantes de formación de complejos para las constantes determinadas experimentalmente.

Los barridos de absorción tomados y observados en la Figura 11 para cada adición de hidróxido de amonio a la solución que contenía el catión metálico confirmó la disminución de la concentración de la especie $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ que daba paso a la formación de complejos de Co (II) con ligandos de amoniaco. Cada color representa la adición de hidróxido de amonio al complejo y la disminución de la concentración del complejo de Co (II) con el agua.

Como se mencionó con anterioridad, el cobalto (II) cuando se coordina con moléculas de agua adquiere una coloración rosa como se observa en la Figura 12 del anexo 5. Cada adición de hidróxido de amonio a la celda que contenía la especie de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$ formaba un precipitado azul verdoso, correspondiente al acomplejamiento del amoniaco con el cobalto (II) observado en la Figura 13 del Anexo 5. A su vez, se observa un empardecimiento de la solución que contiene el complejo estudiado, lo que puede atribuirse a formación de complejos de mayor número de coordinación conforme se adicionaba una mayor cantidad de amoniaco a este sistema. La adición de una concentración exceso de amoniaco a esta matriz acuosa formó una solución color marrón como se observa en la Figura 14 del anexo 5, que corresponde a la formación del cloruro de hexaaminocobalto (II). Al tomar los barridos de absorción para la especie de cloruro de hexaaminocobalto (II) este se hizo indetectable en la región UV – VIS, este comportamiento puede deberse a que la muestra se encontraba muy

concentrada con la adición de exceso de ligando y se daba la absorción en la región UV en la cual absorben varios componentes incluyendo el agua. Al diluir la muestra la solución tornó a una coloración azul verdosa ya que se empezó el desplazamiento del ligando de amoníaco por el agua. Al igual que en el caso del cloruro de hexaaminocobalto (II), se hizo indetectable el barrido de absorción para las especies formadas a bajas concentraciones del ligando. Esto se debe a que la formación del precipitado impedía lecturas adecuadas en los barridos de absorción ya que las partículas disipaban la luz alterando los resultados obtenidos. Las muestras no pudieron calentarse para obtener una solución homogénea ya que la temperatura afecta los equilibrios de especiación, lo que puede causar errores en los resultados obtenidos en este proyecto de investigación.

2.5 Conclusiones

1. Los estados de oxidación de cobalto [Co (II) y Co (III)] fueron determinados a partir de la disminución de la concentración de la especie de cloruro de cobalto (II) hexahidratado y la diferencia entre un estado inicial y final. La concentración final para los estado de oxidación de Co (II) y Co (III) obtenidos, cuando se alcanzó el límite de la celda fue de 65.75% y 34.23%, respectivamente, y la coexistencia de los dos estados de oxidación en la matriz acuosa se hizo evidente.
2. El acomplejamiento del cloruro de cobalto (II) hexahidratado con ligandos de amonio se determinó con la disminución en la concentración del cloruro de cobalto (II) hexahidratado a partir de las adiciones sucesivas de ligando a la matriz acuosa. Se alcanzó un estado final donde se formaron el 48.11% de las especies organometálicas en equilibrio con la adición sucesiva de hidróxido de amonio en bajas concentraciones. La adición de hidróxido de amonio en exceso permitió alcanzar la especie con máximo número de coordinación que corresponde a la especie $[Co(NH_3)_6Cl_2]_{(Marrón)}^{2+}$.
3. La metodología investigada y modificada para su implementación en la universidad ICESI, permite la determinación cuantitativa de dos estados de oxidación que presenten las especies organometálicas que lo hace un método aplicable a los estudios realizados por el grupo de investigación Weston, ya que los enzimas foco de este grupo de investigación, ciclan entre dos estados de oxidación. El acomplejamiento entre cationes metálicos y ligandos también puede ser determinado a través de esta técnica.

2.6 Recomendaciones

1. La determinación experimental de todos los valores de las constantes de estabilidad para los complejos organometálicos formados entre el catión metálico de cobalto y amoniaco como ligando es una tarea muy difícil ya que todas las especies coexisten en cierta proporción en la matriz acuosa. Se recomienda la aplicación simultánea de otras técnicas de medición como espectrometría de masas, HPLC y métodos computacionales (programas como hyperquad e HypSpec que permiten determinar las constantes de estabilidad y la especiación química) que respalden la determinación de la especiación de cada uno de los equilibrios involucrados en la formación de estas especies.
2. La reacción entre el cloruro de cobalto (II) hexahidratado y el amoniaco forma un precipitado de color verde azulado característico de la formación de complejos entre ellos. Este precipitado puede afectar los resultados obtenidos por la dispersión de luz que causa el material particulado en el espectrofotómetro UV. Se recomienda desarrollar una técnica para la determinación de estas especies que se formaron sin necesidad de agregar calentamiento al sistema, ya que la temperatura, puede afectar la especiación de los complejos de cobalto (II) obtenidos afectando los resultados.
3. Se presentaron muchos picos en los barridos de absorción que indicaban que hay más de una especie en solución, lo que complicaba la determinación de las diferentes constantes de estabilidad para cada complejo formado. Además, algunas especies absorbían en la región UV que afectaba los resultados obtenidos. Se recomienda en futuros estudios aplicar un método que permita la determinación de los barridos de absorción de las especies formadas en la matriz acuosa variando la matriz acuosa por otros reactivos que permitan esta determinación.
4. Se recomienda en futuros estudios determinar la influencia de diferentes factores como el pH, la temperatura y la fuerza iónica en la especiación y determinación de los estados de oxidación de especies organometálicas en solución acuosa, aplicando la técnica UV espectroscópica junto con otras técnicas previamente descritas y programas computacionales.

2.8 Bibliografía

- Adam, D., & Raynor, J. (1965). *Advanced Practical Inorganica Chemistry*. Londres: John Wiley and Sons Ltd.
- Aguilar, J. G. (2012). Estudio de la Esfera Interna de Coordinación de la Superóxido Dismutasa de Níquel. *Universidad de los Andes - Tesis de Maestría*, 1 -124.
- Aguirre, J., Ríos-Momberg, M., Hewitt, D., & Hansberg, W. (2005). Reactive Oxygen Species and Development in Microbial Eukaryotes. *Trends in Microbiology*, 111 - 118.
- Amini, M., Mueller, K., Abbaspour, K., Rosenberg, T., Afyuni, M., Moller, M., . . . Johnson, C. (2008). Statistical Modeling of Global Geogenic Fluoride Contamination in Groundwaters. *Environmental Science and Technology*, 3662 - 3668.
- Anawar, H. M. ((2012). Arsenic speciation in environmental samples by hydride generation and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 30 - 42.
- Bala, R., Behal, J., Kaur, V., Kumar, S., Rani, R., & Kumari, R. (2016). Sonochemical Synthesis, Characterization, Antimicrobial Activity and Textile Dyeing Behavior of Nano- Sized Cobalt (III) Complexes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 1 - 10.
- Barbosa, J., Barrón, D., Beltrán, J., & Nebot, V. S. (1995). Un Programa de Cómputo para la Refinación de Constantes de Equilibrio a Partir de Curvas de Titulación. *Analitical Chemica Acta*, 75.
- Bencini, A., Antonio Bianchi, E. G.-E., Jeannin, Y., Julve, M., Marcelino, V., & Levisalles, M. (1990). Oxalato and Squarato Ligands in Nickel (II) Complexes of Tetraazacycloalkanes. Solution and Solid- State Studies. *Inorganic Chemistry*, 963 - 970.
- Benjumea, C. (2013). El Efecto de la Esfera de Coordinación en el Potencial Redox de Biomiméticas de la Superóxido Dismutasa de Níquel. *Proyecto de Grado: Universidad de los Andes*, 1 - 93.
- Bhushan, B. (2009). Biomimetics: Lessons from nature-an overview. . *Philosophical Transactions of Royal Society*, 1445 - 1486.

- Bielski, B., & Allen, A. (1977). Mechanism of the Disproportionation of Superoxide Radicals. *Journal Of Physical Chemistry*, 1048 - 1050.
- Brewer, J., Collins, T., Smith, M., & Santarsiero, B. (1988). Neutral Square Planar Cobalt (III) Complexes. *Journal Of American Chemical Society*, 423 - 428.
- Brugger, J., Liu, W., Etschmann, B., Mei, Y., Sherman, D., & Testemale, D. (2016). A Review of the Coordination Chemistry of Hydrothermal Systems, or Do Coordination Changes Make Pre Deposits ? *Chemical Geology*, 1 - 147.
- Bulánek, R., Manec, P., & Setni, M. (2013). Possibility of VOx/SiO2 Complexes Speciation: Comparative Multi - Wavelength Raman and DR UV- VIS Study. *10th International Conference on Solid State Chemistry, Pardubice, Czech Republic*, 195 - 205.
- Caba, A. (2003). *Ministerio de Justicia y Derechos Humanos de la Nación Argentina*. Obtenido de Información Legislativa y Documental: <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/85000-89999/86181/dto202-2003-96.htm>
- Cedrón, J. C., Landa, V., & Robles, J. (2011). *Pontificia Universidad Católica del Perú*. Obtenido de Química General. Materia de Enseñanza: <http://corinto.pucp.edu.pe/quimicageneral/contenido/64-dilucion.html>
- Centineo, G., Blanco, E., & Sanz-Medel, A. (2004). Multielemental Speciation Analysis of Organometallic Compounds of Mercury, Lead and Tin in Natural Water Samples by Headspace - Solid Phase Microextraction Followed by Gas Chromatography – Mass Spectrometry. *Journal Of Chromatography A*, 191 - 197.
- Chang, R., & College, W. (2002). *Química: Séptima Edición*. México: McGraw Hill.
- Choi, J. (2005). Oxidative Modifications and Aggregation of Cu,Zn - Superoxide Dismutase Associated With Alzheimer and Parkinson Diseases. *Journal of Biological Chemistry*.
- Clark, J. (2009). *Chemguide*. Obtenido de Reactions of Hexaaqua Metal Ions With Ammonia Solutions: <http://www.chemguide.co.uk/inorganic/complexions/aquanh3.html#top>
- Clark, J. (2009). *Chemguide*. Obtenido de Complex Metal Ions - Stability Constants: <http://www.chemguide.co.uk/inorganic/complexions/stabconst.html>

- Collins, C., Pezzin, S., Lugo, J., Bonato, P., Windmoller, C., Archundia, C., & Collins, K. (1997). Liquid Chromatographic Separation of Aqueous Species of Cr (VI) and Cr (III). *Journal of Chromatography A*, 469 - 478.
- Collins, T., Ozaki, S., & Richmond, T. (1987). Catalytic Oxidation of Styrene in the Presence of Square Planar Cobalt (III) Complexes. *Journal of American Chemical Society*, 803 - 807.
- Córdoba, U. d. (2008). *Universidad de Córdoba*. Obtenido de Bioquímica - Biología Molecular: http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf
- Cotton, F. A. (1963). *Group Theoretical Basis of LFT: Chemical Applications of Group Theory*. New York: Interscience.
- Cotton, F. A. (1964). Ligand Field Theory. *Journal of Chemical Education*, 466 - 476.
- Coyle, C., & Stiefel, E. (1988). The Coordination Chemistry of Nickel: an Introductory Survey. *Weinheim: VCH Publishers*, 1 - 28.
- Crisóstomo-Lucas, C., Toscano, R. A., & Morales-Morales, D. (2013). Synthesis and Characterization of New Potentially Hydrosoluble Pincer Ligands and their Application in Suzuki – Miyaura Cross - Coupling Reactions in Water. *Tetrahedron Letters*, 3116–3119.
- Csendes, Z., Varga, G., Schmehl, H., Timár, Z., Carlson, S., Canton, S. E., . . . Pálinkó, I. (2014). Superoxide Dismutase Inspired Immobilised Ni(II) – Protected Amino. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 93 - 99.
- Cui, H., He, R., & Wang, J. (2006). A Simple and Sensitive Chromium Speciation Procedure by Hyphenating Flow Injection on-line Preconcentration with Catalytic Spectrophotometry. *Talanta*, 139 - 145.
- Davis, C. (26 de Agosto de 2015). *Chemistry: LibreTexts*. Obtenido de Chemistry of Cobalt : http://chem.libretexts.org/Core/Inorganic_Chemistry/Descriptive_Chemistry/Elements_Organized_by_Block/3_d-Block_Elements/Group_09%3A_Transition_Metals/Chemistry_of_Cobalt
- Denkhaus, E., & Salnikow, K. (2002). Nickel Essentiality, Toxicity and Carcinogenicity. *Critical Reviews in Oncology/ Hematology*, 35 - 56.
- Denkhaus, E., & Salnikow, K. (2002). Nickel Essentiality, Toxicity, and Carcinogenicity. *Critical Reviews in Oncology Hematology*, 35 - 56.

- Garnovskii. (1999). Direct Synthesis of Coordination and Organometallic Compounds. *Journal Of American Chemical Society*, 1 - 235.
- Garnovskii. (1999). *Direct Synthesis of Coordination and Organometallic Compounds*.
- Ghosh, A., Chaudhuri, P., Kumar, B., & Panja, S. (2016). Review on Aggregation of Asphaltene Vis- a - Vis Spectroscopic Studies. *Fuel*, 541 - 554.
- González, J. G., Renedo, O. D., & Martínez, J. A. (2005). Simultaneous Determination of Antimony(III) and Antimony(V) by UV–VIS Spectroscopy and Partial Least Squares Method (PLS). *Talanta*, 67 - 71.
- Greenwald, R. (1991). Oxygen Radicals, Inflammation and Arthritis: Pathophysiological Considerations and Implications for Treatment. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 219 - 240.
- Griffith, J. (1961). *The Theory Of Transitional Metal Ions*. England: Cambridge University.
- Gurkan, R., Ulusoy, H. I., & Akcay, M. (2012). Simultaneous Determination of Dissolved Inorganic Chromium Species in Waste Water/ Natural Waters by Surfactant Sensitized Catalytic Kinetic Spectrophotometry. *Arabian Journal of Chemistry*, 1 - 11.
- Gutiérrez, J. (2016). Cuantificación de Acetaminofén (Paracetamol) por Espectrofotometría UV Y Análisis Estadístico de la Técnica. *Laboratorio de Análisis Instrumental 1: Universidad ICESI*, 1 - 4.
- Harris, W., & Laitinen, H. (1982). *Análisis Químico*. Barcelona: Reverté.
- Helpes. (2015). *Geometría de Coordinación*. Obtenido de <http://www15.helpes.eu/01249064/GeometriaDeCoordinacion>
- Houk, N. S. (1987). Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry For Elemental Analysis and Isotope Ratio Determinations in Individual Organic Compounds Separated by Gas Chromatography. *Applied Spectroscopy*, 66 - 74.
- I.Creaser, Geue, R., Harrowfield, J. M., Herlt, A., Sargeson, A., Snow, M., & Springborg, J. (1981). Synthesis and Reactivity of Aza - Capped Encapsulated Co (III) Ions. *Journal of American Chemical Society*, 6016 - 6025 .

- Ihara, Y., Fukuda, Y., & Sone, K. (1987). Solid- Phase Thermal Square-Planar- to-Octahedral Isomeric Transformation of Nickel(II) Complexes Containing 1,2-Cyclohexanediamines. *Inorganic Chemistry*, 3745 - 3750.
- Jaume, R. U. (2003). *Repositori Universitat Jaume I*. Obtenido de El Enlace en los Compuestos de Coordinación: [http://repositori.uji.es/xmlui/bitstream/handle/10234/6953/4Tema4+-Enlace+\(I\).pdf;jsessionid=F3303F3DC2E38537FFA6BAB367FFFB15?sequence=103](http://repositori.uji.es/xmlui/bitstream/handle/10234/6953/4Tema4+-Enlace+(I).pdf;jsessionid=F3303F3DC2E38537FFA6BAB367FFFB15?sequence=103)
- Jenkins, D., Bilio, A. D., Allen, M., Betley, T., & Peters, J. (2002). Elucidation of a Low Spin Cobalt(II) System in a Distorted Tetrahedral Geometry. *Journal of the American Chemical Society*, 15336 - 15350.
- Jesús, E. D. (2010). *Universidad de Alcalá*. Obtenido de Fundamentos de Reactividad Inorgánica: http://www3.uah.es/edejesus/resumenes/QI/Tema_3B.pdf
- Jingle, J., & Crouch, R. (1988). *Spectrochemical Analysis*. Englewood Cliffs: Prentice Hall.
- Kaneko, M., Kurihara, M., Nakano, S., & Kawashima, T. (2002). Flow- Injection Determination of Chromium (III) by its Catalysis on the Oxidative Coupling of 3 - Methyl - 2 - Benzothiazolinone Hydrazone with N- Ethyl - N - (2 - Hydroxy - 3 - Sulfopropyl)- 3 - Methoxyaniline. *Analytica Chimica Acta*, 167 - 176.
- Katzin, L., & Ferraro, J. (1950). The Systems Cobaltous Nitrate-Water-Acetone and Cobaltous Nitrate-Water-t- Butyl Alcohol at 25'. *Journal of American Chemical Society*, 5451 - 5455.
- Katzin, L., & Gebert, E. (1950). Spectrophotometric Investigation of Cobaltous Nitrate in Organic Solvents. *Journal of American Chemical Society*, 5455 - 5463.
- Keiter, E., & Keiter, R. (2005). *Química Inorgánica: Principios de Estructura y Reactividad 4ta Edición*. México D.F: Oxford.
- Ken, C.-F., Lee, C.-C., Duan, K.-J., & Lin, C.-T. (2005). Unusual Stability of Manganese Superoxide Dismutase from a New Species, *Tatumella ptyseos* ct: Its Gene Structure, Expression, and Enzyme Properties. *Protein Expression & Purification*, 42 - 50.
- King, G. (1965). *Spectroscopy and Molecular Structure* . New York: Holt, Rinchart and Wiston.

- King, H. C. (1971). Preparation and Properties of a Series of Cobalt(II) Complexes. *Journal Of Chemical Education*, 482 - 484.
- Kotz, J. (1987). *Chemical And Chemical Reactivity*. New York: Saunders.
- Kukovec, B.-M., Kodrin, I., Vojkovic, V., & Popovic, Z. (2013). Synthesis, X-ray Structural, IR Spectroscopic, Thermal and DFT Studies of Nickel(II) and Copper(II) Complexes with 3 - Methylpicolinic Acid. UV–Vis Spectrophotometric Study of Complexation in the Solution. *Polyhedron*, 1349 - 1361.
- Kumar, S. (2006). Spectroscopy of Organic Compounds. *Organic Chemistry*, 1 - 36.
- Kwiatek, D., Meinrat, G., & Lis, S. (2015). Hydrolysis contributions in U(VI) spectroscopic speciation in acetate media. *Inorganica Chimica Acta*, 113 - 118.
- Li, F., Shi, H.-Q., Ying, S.-H., & Feng, M.-G. (2015). Distinct Contributions of One Fe- and Two Cu/Zn - Cofactored Superoxide Dismutases to Antioxidation, UV Tolerance and Virulence of *Beauveria bassiana*. *Fungal Genetics and Biology*, 160 - 171.
- Lippard, S., & Berg, J. (1994). *Principles of Bioinorganic Chemistry*. Mill Valley, CA.
- Lu, J., Wang, Z. -R., Liu, Y. -L., & Tang, Q. (2016). Removal of Cr Ions From Aqueous Solution Using Batch Electrocoagulation: Cr Removal Mechanism and Utilization Rate of In Situ Generated Metal. *Process Safety and Enviromental Protection*, 436 - 443.
- Luzardo, M. (11 de 2011). *Volumetría*. Obtenido de Volumetria: <https://analiticaunexpo.files.wordpress.com/2011/11/volumetria.pdf>
- Ma, J., Sengupta, M. K., D. Y., & P. K. (2014). Speciation and Detection of Arsenic in Aqueous Samples: A Review of Recent Progress in Non - Atomic Spectrometric Methods. *Analytica Chimica Acta*, 1 - 23 .
- Majumder, S., Gupta, V., Raghuvanshi, S., & Gupta, S. (2016). Simultaneous Sequestration of Ternary Metal Ions Cr(6+), Cu (2+) and Zn (2+) from Aqueous Solution by an Indigenous Bacterial Consortium. *Process Safety and Environmental Protection*, 786 - 798.
- Marcinkowska, M., Komorowicz, I., & Barańkiewicz, D. (2015). Study on Multielemental Speciation Analysis of Cr(VI), As(III) and As(V) in Water by Advanced Hyphenated Technique HPLC / ICP- DRC - MS. Fast and Reliable Procedures. *Talanta*, 233 - 240.

- Martin, Y., & Torres, S. (2000). *Universitat de Valencia* . Obtenido de Guías Multimedia del Gamm: http://www.uv.es/gammmm/Subsitio%20Operaciones/disoluciones_patron.htm
- Martínez, G. (2002). Aplicación de las Membranas Líquidas Soportadas a la Separación de Cobalto y Níquel. *Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. Universidad Politécnica de Cartagena*, 1 - 151.
- Masoud, M., El-Kaway, M., Hindawy, A., & Soayed, A. (2012). Chemical Speciation and Equilibria of Some Nucleic Acid Compounds and their Iron (III) Complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 256 - 282.
- Mates, J. (2000). Toxicology, Effects of Antioxidant Enzymes in the Molecular Control of Reactive Oxygen Species. *Toxicology*, 83 - 104.
- Mathews, P., Abad, J., Fernández, L., Belandria, O., & Fernández, V. (2008). Influencia del Estado de Oxidación del Ión Cobalto en la Estabilidad de Modificados con Monocapas SAM-TOA-ANTA-Con+-HRP-NHis. *Avances en Química*, 69 - 77.
- McCord, J., & Edeas, M. (2005). SOD, Oxidative Stress and Human Pathologies: A Brief History and Future Vision. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 139 - 142.
- Meirath, G. (1998). Chemometric Analysis: Uranium(VI) Hydrolysis by UV- VIS Spectroscopy. *Journal Of Alloys and Compounds*, 777 - 781.
- Miessler, G., & Tarr, D. (2004). *Inorganic Chemistry Third Edition*. London: Pearson Education.
- Miller, A. -F. (2012). Superoxide Dismutases: Ancient Enzymes and New Insights. *FEBS Letters*, 585 - 595.
- Montuenga, C. (1988). *Formación de Complejos en Química Analítica*. Madrid: Alhambra.
- Motherwell, W., Bingham, M., & Six, M. (2001). Recent Progress in the Design and Synthesis of Artificial Enzymes. *Tetrahedron*, 4663 - 4686.
- Murillo, C., Bochman, M., Cotton, F., & Wilkinson, G. (1999). *Advanced Inorganic Chemistry*. New York: John Wiley and Sons Inc. .

- Na, Y. J., Ye Won Choi, G. R., & Kim, C. (2016). A Novel Selective Colorimetric Chemosensor for Cobalt Ions in a Near Perfect Aqueous Solution. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 234 - 240.
- Nicholls, D. (1973). *The Chemistry of Iron, Cobalt and Nickel*. Inglaterra: Pergamon Press.
- Nieto, F., Cobos, E., Tejada, M., Sánchez, C., González, R., & Cendán, C. (2012). Tetrodotoxin (TTX) as a Therapeutic Agent for Pain. *Marine Drugs*, 10: 281 - 305.
- Nijland, R., Hall, M., & Burgess, J. (2010). Dispersal of Biofilms by Secreted Matrix Degrading Bacterial DNase. *PLOS*.
- Nutfield, F. (2015). The Equilibrium Between Two Coloured Cobalt Species. *Royal Society of Chemistry*, 1 - 2 .
- Orgel, L. (1960). *An Introduction to Transition Metal Chemistry, Ligand Field Theory*. New York: John Wiley.
- Orgel, L. (1966). *Introduction to Transition - Metal Chemistry 2nd Edition*. London: Methuen & Co. Ltd.
- Palant, A., & Shchavinskaya, V. (2001). The Interaction of Cobalt(II) Sulfate with Ammonium Hydroxide in Aqueous Solution. *Russian Journal of Inorganic Chemistry*, 1921 - 1923.
- Pálinkó, I. (2008). Functional and Structural Mimics of Superoxide Dismutase Enzymes. *Inorganic Biochemistry: Research Progress*, 281 - 303.
- Parnis, M., & Oldham, K. (2013). Beyond the Beer–Lambert law: The Dependence of Absorbance on Time in Photochemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 6 - 10.
- Passos, A., Martins, L., & Pulcinelli, S. (2014). Effect of the Balance Between Co (II) and Co (0) Oxidation states on the Catalytic Activity Of Cobalt Catalysts for Ethanol Steam Reforming . *Catalysis Today* , 88 - 94.
- Patagonia, U. N. (11 de 2009). *Universidad Nacional de la Patagonia*. Obtenido de Química Biológica: <https://qcabiologica.files.wordpress.com/2009/11/tp-1-espectrofotometrc3ada.pdf>
- Pearson, G., & Greenwa, G. (2005). Recent Developments in Manganese Speciation. *Trends of Analytical Chemistry*, 803 - 809.

- Purcell, K. (2000). *Physcics*. Obtenido de <https://www.wou.edu/las/physci/ch462/tmcolors.htm>
- Quilmes, U. N. (2011). *Universidad Nacional de Quilmes*. Obtenido de Química I: <http://materias.unq.edu.ar/qui01/silvina/TP/5-TP%20Soluciones%20II%20Beer.pdf>
- Ray, P., Huang, B.-W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive Oxygen Species (ROS) Homeostasis and Redox Regulation in Cellular Signaling. *Cellular Signaling*, 981 - 990.
- Reisen, K., Teschemacher, U., Niehues, M., & Reinhart, G. (2016). Biomimetics in Production Organization — A Literature Study and Framework. *Journal of Bionic Engineering*, 200 - 212.
- Riley, D. (2000). Functional Mimics of Superoxide Dismutase Enzymes as Therapeutic Agents. *Chemical Reviews*, 1165.
- Rodgers, G. (1994). *Introduction to Coordination, Solid State and Descriptive Inorganic Chemistry*. New York: McGraw - Hill.
- Roundhill, M. (2004). Novel Strategies for the Removal of Toxic Metals from Soils and Waters. *Journal of Chemical Education*, 275 - 282.
- Samsonowicz, M., & Regulska, E. (2016). Spectroscopic Study of Molecular Structure, Antioxidant Activity and Biological Effects of Metal Hydroxy Flavonol Complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 757 - 771.
- Schlafer, H., & Gliemann, G. (1969). *Basic Principles of Ligand Field Theory*. New York: Wiley Interscience.
- Schramm, V. (1998). Enzymatic Transition States and Transition States Analogs Design. *Annual Review of Biochemistry*, 693 - 720.
- Segoviano, J., Mendoza, G., & Moreno, R. (2014). A Comparative Study of the Speciation in Methanol Solution and Activity in the Oxidative Coupling of 2,6-Di-tert-Butylphenol Presented by the Complexes: Copper(II)-N,N-Di-Tert-Butylethylenediamine - Halogen and Some Copper(II)- Diamine-Halogen complex. *Inorganica Chimica Acta*, 148 - 157.
- Sereshti, H., Farahani, M. V., & Baghdadi, M. (2016). Trace Determination of Chromium(VI) in Environmental Water Samples Using Innovative Thermally Reduced Graphene (TRG) Modified SiO₂ Adsorbent for Solid Phase Extraction and UV - VIS Spectrophotometry. *Talanta*, 662 - 669.

- Shoemaker, R. (2008). *Hydrometallurgy: Proceeding of the Sixt International Symposium*. USA: Society for Mining, Metallurgy and Exploration, INC.
- Silva, A. R., Mourão, T., & Rocha, J. (2013). Oxidation of Cyclohexane by Transition - Metal Complexes with Biomimetic Ligands. *Catalysis Today*, 81 - 86.
- Silva, G. B. (2013). *La Timonera*. Bogotá: Liga Marítima de Colombia.
- Skoog, D. (2005). *Análisis Instrumental 5ta Edición*. México: McGraw - Hill.
- Skoog, D. (2005). *Fundamentos de Química Analítica*. México: Thomson.
- Skoog, D., Holler, J., & Crouch, S. (2009). *Principios de Análisis Instrumental Sexta Edición*. España: CENGAGE Learning.
- Smrec, N., Jovic, O., Stilinovic, V., Kukovec, B.-M., & Đakovic, M. (2016). Cobalt(II) and Nickel(II) Complexes with N - Benzyl and N - (p - Nitro Benzyl) Iminodiacetic Acids. Structural and Vibrational Spectroscopic Characterization and DFT Study . *Inorganica Chimica Acta* , 95 - 103.
- Solá, J., Hernández, J., & Fernández, R. (2000). *Enseñanza de la Física y la Química* . Obtenido de Grupo Heurema: <http://www.heurema.com/QG/QG19/ComplejosCo1.pdf>
- Soldatov, V., Zelenkovskii, V., & Kosandrovich, E. (2016). Hydration of Ion Exchangers: Thermodynamics and Quantum Chemistry Calculations. II An Improved Variant of the Predominant Hydrates Model. *Reactive & Functional Polymers*, 147 - 155.
- Suzuki, H. (1967). *Electronic Absorption Spectra and Geometry Of Organic Molecules: An Application of Molecular Orbital Theory*. New York: Academic Press.
- Tabbí, G., Giuffrida, A., & Bonomo, R. (2013). Determination of Formal Redox Potentials in Aqueous Solution of Copper(II) Complexes with Ligands having Nitrogen and Oxygen Donor Atoms and Comparison with their EPR and UV–Vis Spectral Features. *Journal of inorganic Biochemistry*, 137 - 145.
- Thorpe, E., & Thorpe, S. (2009). *General Studies Manual* . India: Pearson Education .
- Tian, Y., Etschmann, B., Liu, W., Borg, S., Mei, Y., Testemale, D., . . . Brugger, J. (2012). Speciation of Cobalt (II) Chloride Complexes in Hydrothermal Fluids: In Situ XAS Study. *Chemical Geology*, 345 - 363.

- Tolozá, R. (10 de Abril de 2012). *Universidad Nacional de Córdoba: Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. Obtenido de Fundamentos de Química Inorgánica: Complejos de los Metales d - Estructura Electrónica: http://www.efn.unc.edu.ar/departamentos/quimicaindustrial/QI/complejos_2012.pdf
- Tu, Y., Pi, J., Jin, H., Cai, J. -Y., & Deng, S.-P. (2016). Synthesis, Characterization and Anticancer Activity of Kaempferol- Zinc (II) Complex. *Bioinorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2730 - 2734.
- Turan, T., & Rorabacher, D. (1972). Steric Effects in Chelation Kinetics. Reactions of Aquonickel (II) Ion with N-Alkyl- Substituted Ethylenediamines. *Inorganic Chemistry Acta*, 288 - 295.
- Valladares, S. (2003). *Food and Agriculture Organization of United Nations*. Obtenido de Espectrofotometría de Absorción Molecular UV - VIS: <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S03.htm>
- Visbal, L. A. (2000). *Textos Científicos*. Obtenido de Número de Coordinación y Geometrías: <http://www.textoscientificos.com/quimica/inorganica/metales-transicion/numero-coordinacion-geometrias>
- Wang, P., Springer, R., Anderko, A., & Young, R. (2004). Modeling Phase Equilibria and Speciation in Mixed- Solvent Electrolyte Systems. *Fluid Phase Equilibria*, 11 - 17.
- Wang, X., Wang, L., Ren, Q., Yin, S., Liang, F., & Jia, Y. (2016). Two Superoxide Dismutases (SODs) Respond to Bacterial Challenge. *Aquaculture*, 316 - 325.
- Wang, Y., Li, X., Li, J., Bao, Q., Zhang, F., Tulaxi, G., & Wang, Z. (2016). Salt - Induced Hydrogen Peroxide is Involved in Modulation of Antioxidant Enzymes in Cotton. *The Crop Journal*, 490 - 498.
- Webster, A. J., Mueller, C. M., Foegen, N. P., Sit, P. H.-L., Speetzen, E. D., Cunningham, D. W., & D'Acchioli, J. S. (2016). Oxidation states "Naturally": A Natural Bond Orbital Method for Determining Transition Metal Oxidation States. *Polyhedron*, 128 - 132.
- Winston, G., & Giulio, R. D. (1991). Prooxidant and Antioxidant Mechanisms in Aquatic Organisms. *Aquatic Toxicology*, 137 - 161.
- Xuerev, D., Dzierzak, J., & Raja, R. (2012). From Zeozimas to Bio - Inspired Heterogeneous Solid: Evolution of Design Strategies For Sustainable Catalysis. *Catalysis Today*, 19 - 34.

- Yang, J.-C., Lu, M.-C., Lee, C.-L., Chen, G.-Y., & Lin, Y.-Y. (2011). Selective Targeting of Breast Cancer Cells Through ROS - Mediated Mechanisms Potentiates the Lethality of Paclitaxel by a Novel Diterpene, Gelomulide K. *Free Radical Biology & Medicine*, 641 - 657.
- Yin, Y., Dong, Z., Luo, Q., & Liu, J. (2012). Biomimetic Catalysts Designed on Macromolecular Scaffolds. *Progress in Polymer Science*, 1476 - 1509.
- Zaldivar, I., & Cornejo, R. (Septiembre de 2011). *Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de México*. Obtenido de Química de Los compuestos de Coordinación: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Complejosysunomenclatura_13378.pdf
- Zhang, X., & Houk, K. (2005). Why Enzymes are Proficient Catalysts: Beyond the Pauling Paradigm. *Account of Chemical Research*, 379 - 385.
- Zvi, O. B., & Yacoby, I. (2016). The In - Vitro Enhancement of Fe Fe Hydrogenase Activity by Superoxide Dismutase. *International Journal of Hydrogen Energy*, 17274 - 17282.

ANEXOS

ANEXO 1: Materiales, Reactivos y Equipos

Tabla 9. Materiales utilizados en la técnica espectroscópica UV - VIS

ITEM	Cantidad
Vidrio reloj	1
Espátula metálica pequeña	1
Micropipeta 100 - 1000 μ L	1
Micropipeta 1 - 10 mL	1
Micropipeta de 2 – 20 μ L	1
Puntas azules para micropipeta	N/A
Puntas amarillas para micropipeta	N/A
Matraz aforado de 50 mL	2
Matraz aforado de 25 mL	2
Matraz aforado de 10 mL	8
Frasco lavador	1
Beaker 50 mL	2
Celdas de Cuarzo	N/A
Gotero	1
Filtros de XX μ m	N/A
Jeringa de 2 mL	2
Papel absorbente	N/A

Tabla 10. Reactivos usados para la determinación UV espectroscópica de complejos organometálicos

Reactivo	Cantidad (g)
Cloruro de Cobalto	2 g
Agua purificada	c.s.p
NH ₄ OH 28%	10 mL
H ₂ O ₂ 30%	10 mL

Tabla 11. Equipos usados en la determinación UV espectroscópica de complejos organometálicos

Equipos	Cantidad
Espectrofotómetro UV	1
Balanza analítica	1

ANEXO 2. Muestra de Cálculos Solución Patrón, Soluciones de Peróxido de Hidrógeno e Hidróxido de Amonio y Soluciones estándar.

Cálculos para la Concentración de la Solución Patrón

$$\text{Peso Molecular } [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} = 237.93 \frac{g}{mol}$$

Volumen del matraz aforado = 25.0 ± 0.08 mL de exactitud

$$\text{Peso teórico } [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} =$$

$$0.2 \frac{mol}{l} * \frac{237.93 g}{1 mol} * 0.025 L = 1.1897 g$$

$$\text{Concentración } [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} \text{ experimental} =$$

$$\text{Cantidad pesada } [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} (g) = 1.1895 g$$

$$1.1895 g [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} * \frac{1 mol [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}}{237.93 g [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}} \\ = 4.999 * 10^{-3} mol [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$$

$$25.0 mL * \frac{1L}{1000 mL} = 0.025 L$$

$$[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} = \frac{4.999 * 10^{-3} mol}{0.025 L} = 0.200 M$$

Cálculos para las Soluciones Estándar

Solución 1. Muestra de Cálculos

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$C_1 = 0.200 M$$

$$V_1 = X$$

$$C_2 = 0.1000 M$$

$$V_2 = 10.0 mL$$

$$\frac{C_2V_2}{C_1} = \frac{0.1000 M * 10.0 mL}{0.200 M} = 5.00 mL$$

Solución 2.

$$\frac{C_2V_2}{C_1} = \frac{0.0750 M * 10.0 mL}{0.200 M} = 3.75 mL$$

Solución 3.

$$\frac{C_2V_2}{C_1} = \frac{0.0500 \text{ M} * 10.0 \text{ mL}}{0.200 \text{ M}} = 2.50 \text{ mL}$$

Solución 4.

$$\frac{C_2V_2}{C_1} = \frac{0.0250 \text{ M} * 10.0 \text{ mL}}{0.200 \text{ M}} = 1.25 \text{ mL}$$

Solución 5.

$$\frac{C_2V_2}{C_1} = \frac{0.0100 \text{ M} * 10.0 \text{ mL}}{0.200 \text{ M}} = 0.500 \text{ mL}$$

Tabla 12. Cantidades a transferir de la solución patrón de cloruro de cobalto (II) hexahidratado 0.200 M a matraces aforados de 10.0 ± 0.08 mL de exactitud

Solución	Concentración (M)	Cantidad a adicionar (mL)
1	0.100	5.00
2	0.0750	3.75
3	0.0500	2.50
4	0.0250	1.25
5	0.0100	0.500

Muestra de Cálculo para la Dilución de Peróxido de Hidrógeno al 4% a Partir de Peróxido de Hidrógeno al 30%.

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$C_1 = 30 \%$$

$$V_1 = X$$

$$C_2 = 4 \%$$

$$V_2 = 50 \text{ mL}$$

$$\frac{C_2V_2}{C_1} = \frac{4\% * 50.0 \text{ mL}}{30 \%} = 6.67 \text{ mL}$$

Muestra de Cálculo para la Dilución de Hidróxido de Amonio al 4% a Partir de Hidróxido de Amonio al 29.57%

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$C_1 = 29.54 \%$$

$$V_1 = X$$

$$C_2 = 4 \%$$

$$V_2 = 25 \text{ mL}$$

$$\frac{C_2 V_2}{C_1} = \frac{4\% * 50 \text{ mL}}{29.54 \%} = 6.77 \text{ mL}$$

Tabla 13. Cantidad a adicionar para la preparación de soluciones de peróxido de hidrógeno e hidróxido de amonio al 4.00%

Reactivo	Cantidad (mL)
Peróxido de Hidrógeno	6,67
Hidróxido de Amonio	6,77

1. Cálculos para la preparación de la muestra de cloruro de cobalto (II) hexahidratado 0.0800 M

Muestra de Cálculo para la Concentración Inicial Teórica de la Muestra Problema de $[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}$

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$C_1 = 0.200 \text{ M}$$

$$V_1 = X$$

$$C_2 = 0.080 \text{ M}$$

$$V_2 = 10.0 \text{ mL}$$

$$\frac{C_2 V_2}{C_1} = \frac{0.080 \text{ M} * 10.0 \text{ mL}}{0.200 \text{ M}} = 4.00 \text{ mL}$$

ANEXO 3 Determinación de los Diferentes Estados de Oxidación del Cobalto

Muestra de cálculos para la determinación de la concentración de cloruro de cobalto II hexahidratado a partir de la curva de calibración obtenida.

Para la muestra 1, A = 0.361

Entonces:

$$C = \frac{0.361 + 0.0099}{4.9289} = 0.0753 \text{ M}$$

Muestra de cálculos para la cuantificación de los estados de oxidación de cloruro de cobalto en medio acuoso con la adición de peróxido de hidrógeno al 4%.

Para la muestra 2

$$\text{Concentración inicial } [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} = 0.0753 \text{ M}$$

$$\text{Concentración final } [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} = 0.0720 \text{ M}$$

$$\text{Concentración inicial } [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} - \text{Concentración final } [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} \\ = \text{Oxidación del complejo de } [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} \text{ a } [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$$

$$[\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} = 0.0753 \text{ M} - 0.0720 \text{ M}$$

$$\text{Formación } [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} = 3.3 * 10^{-3} \text{ M}$$

$$\% [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} = \frac{[\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}}{[\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} \text{ inicial}} * 100$$

$$\% [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} = \frac{3.3 * 10^{-3} \text{ M}}{0.0753 \text{ M}} * 100 = 4.38 \%$$

$$\% [\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+} = 100\% - 4.38\% = 95.62\%$$

ANEXO 4 Determinación del Acomplejamiento de Cloruro de Cobalto (II) Hexahidratado Usando como Ligando Amoniac

Muestra de cálculos para la determinación de la concentración de cloruro de cobalto II hexahidratado a partir de la curva de calibración obtenida.

Para la muestra 2, A = 0.348

Entonces:

$$C = \frac{0.348 + 0.0099}{4.9289} = 0.0726 \text{ M}$$

Muestra de cálculos para la cuantificación especiación de complejos de cobalto con ligando de amoniaco en medio acuoso con la adición de hidróxido de amonio al 4%

Para la muestra 2

$$\text{Concentración inicial } [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} = 0.0769 M$$

$$\text{Concentración final } [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} = 0.0726 M$$

$$\text{Concentración inicial } [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} - \text{Concentración final } [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} \\ = \text{Concentración Complejo de Cobalto desconocido } X$$

$$[X] = 0.0769 M - 0.0726 M = 4.3 * 10^{-3} M$$

$$\% [X] = \frac{\text{Concentración complejo de cobalto } X}{[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} \text{ inicial}} * 100$$

$$\% [X] = \frac{4.3 * 10^{-3} M}{0.0769 M} * 100 = 5.59 \%$$

$$\% [CoCl_2(H_2O)_6]^{2+} = 100\% - 5.59\% = 94.41\%$$

Muestra de cálculos para la determinación de las constantes de estabilidad de los complejos formados:

$$[NH_3] = \frac{29.54 g}{100 g} * \frac{1 mol}{17.031 g} * \frac{0.880 g}{mL} * \frac{1000 mL}{1 L} = 15.263 \frac{mol}{L}$$

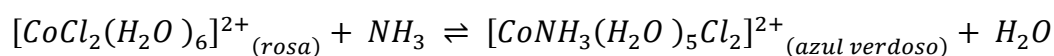
Como se llevó a cabo una dilución de la solución original de concentración 29.54% a una concentración de 4.00%, La concentración del ligante en la solución preparada es la siguiente:

$$29.54\% \rightarrow 15.263 M$$

$$4\% \rightarrow X$$

$$X = \frac{4\% * 15.263}{29.54\%} = 2.067 M$$

La concentración molar del NH_3 al 4.00% es 2.067 M. Esta transformación de unidades se realiza con el fin de manejar todas las concentraciones en las mismas unidades y aplicar la fórmula previamente descrita. Una vez obtenida la concentración del ligando, y las concentraciones del complejo formado y el complejo inicial se obtienen los siguientes resultados:



$$k_1 = \frac{[CoNH_3(H_2O)_5Cl_2]^{2+}}{[CoCl_2(H_2O)_6]^{2+}[NH_3]}$$

$$k = \frac{x}{(A - x) + (B - 2x)}$$

$$k = \frac{[4.30 * 10^{-3}]}{[0.0769 - 4.30 * 10^{-3}] [2.07 - 2(4.30 * 10^{-3})]} = 0.0267$$

ANEXO 5 Cambios colorimétricos para las reacciones entre cloruro de cobalto (II) hexahidratado con peróxido de hidrógeno e hidróxido de amonio desarrolladas en las laboratorios de la universidad ICESI

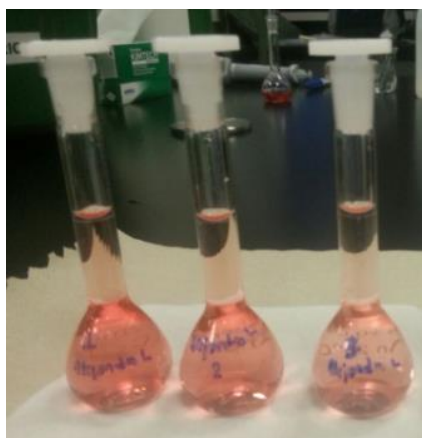


Figura 12. Cloruro de cobalto (II) hexahidratado en solución acuosa



Figura 13. Complejos de cobalto (II) tras adiciones sucesivas del ligando amonio al medio acuoso



Figura 14. Formación de cloruro de hexaaminoCobalto (II)