

DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA, TOXICOLOGIA  
Y ANALISIS QUIMICO APLICADO  
FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA  
Director: Prof. Dr. D. RAFAEL GARCÍA-VILLANOVA

COMPLEJOS METALICOS FLUORESCENTES  
CON DIACETILDIISONICOTIN HIDRAZONA (dDIH).

III.—ESTUDIO DEL COMPLEJO Sn(II)-dDIH

por

R. J. GARCÍA-VILLANOVA y R. GARCÍA-VILLANOVA

RESUMEN

El Sn(II) da lugar a un complejo con diacetildiisonicotin hidrazona (dDIH) sintetizada por nosotros. El complejo soluble, de color amarillo en medio ácido y alcalino. A pH ácido presenta fluorescencia, cumple la Ley de Lambert-Beer y se han determinado la absortividad molar, la estequiometría y el error fotométrico mínimo, de acuerdo con la gráfica de Ringbom. El complejo dDIH-Sn(II) cumple la Ley de Lambert-Bouguer-Beer para la fluorescencia. La sensibilidad alcanza a 2 ppb de Sn(II).

SUMMARY

A spectrophotometric and spectrofluorometric study of diacetildiisonicotin hydrazone (dDIH)-Sn(II) complex has been realized. The reagent dDIH was formerly reported by us. It is soluble in water, and yellow, in acid and basic media. At acid pH is fluorescent, obeies Beer's law and molar absortivity, stoichiometry and minimum photometric error according to Ringbom are described. dDIH-Sn(II) complex also obeies Beer's law for the fluorescence, in which a 2 ppb in Sn(II) sensitivity is attained.

## INTRODUCCION

El catión Sn(II) se comporta frente a dDIH de forma muy parecida al Sn(IV) estudiado por nosotros (1). Así, la formación de diferentes complejos en medio ácido y alcalino —el primero fluorescente— y otros fenómenos más que se estudian en este trabajo, ponen de manifiesto esta similitud. De igual modo (2) y (3) se hace un estudio previo espectrofotométrico que sirve de base para un mejor conocimiento de su comportamiento espectrofluorimétrico, con la finalidad de conocer las posibilidades analíticas del complejo citado.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Material*

Espectrofotómetro UV-Vis Hitachi-Perkin Elmer, mod. 124 con registro gráfico mod. 165.

Espectrofluorímetro Hitachi-Perkin Elmer, mod. 204 con registro gráfico mod. 165.

Potenciómetro Radiometer, mod. pH-Metter 26, con electrodo de vidrio tipo G 202 C y calomelanos tipo K 401.

### *Reactivos*

$\text{Cl}_2\text{Sn}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  "Merck" (R. A.).

Isoniacida "Sigma".

Diacetilo "Merck" para síntesis 98 %.

Los demás reactivos utilizados eran de pureza analítica.

## ESTUDIO ESPECTROFOTOMETRICO

### *Preparación y valoración de las disoluciones de Sn(II)*

La disolución madre de Sn(II) fue preparada de la forma siguiente: se vertió exactamente 1 litro de agua en un frasco y, tras pasar una corriente de nitrógeno, fue protegida en atmósfera de  $\text{CO}_2$ , disolviendo con la ayuda de 4-5 gotas de CHI concentrado,

0,2436 g de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  de 92 % de riqueza, cifra conocida por gravimetría.

Conviene decir que en todas las experiencias que siguen, primero se depositaba la disolución clorhídrica de dDIH y se diluía. Se borboteaba una corriente de  $\text{N}_2$  y añadía con una espátula aproximadamente 1 mg de  $\text{NaHSO}_3$  para asegurar una saturación con  $\text{SO}_2$  que evitara la oxidación del Sn(II) o redujera al Sn(IV) que se hubiese formado.

Posteriormente se añadía la disolución de Sn(II) introduciendo la punta de la pipeta o bureta en la disolución y se ajustaba el pH al valor deseado.

### *Espectros de absorción visible*

A diferentes valores de pH y en exceso de dDIH, fueron registrados los espectros de absorción en la región visible del complejo o complejos formados. La figura 1 corresponde al obtenido a pH 3 por ser éste, entre los obtenidos en medio ácido, el que en el momento de su registro, presentaba mayor absorbancia. En la misma figura se ha representado el espectro correspondiente al complejo a pH 10,5 que fue el que presentó la máxima absorbancia entre los de pH alcalino.

### *Efecto del pH y del tiempo en la formación del complejo*

Se prepararon disoluciones de dDIH y Sn(II)  $10^{-3}$  M y  $4 \cdot 10^{-6}$  M respectivamente y a los intervalos de pH que se indican en la figura 2. A pH 4,5 aparece turbidez debido a la hidrólisis del catión.

La medida de las absorbancias de las disoluciones se efectuaron a 425 nm frente a blancos de agua y a los tiempos que se indican (recién preparada (RP), a los 30 minutos y 24 horas). Esta longitud de onda ha sido empleada a lo largo del trabajo para todas las medidas espectrofotométricas.

En la figura 2 se representan gráficamente los resultados de esta experiencia.

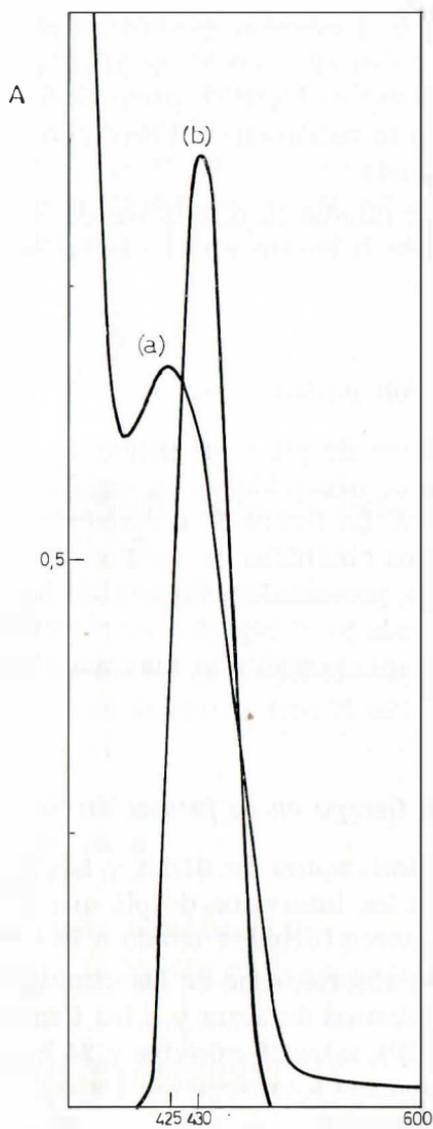


Figura 1.—Espectros de absorción visible a pH 10,5 (a) y 3 (b) del complejo dDIH-Sn(II).

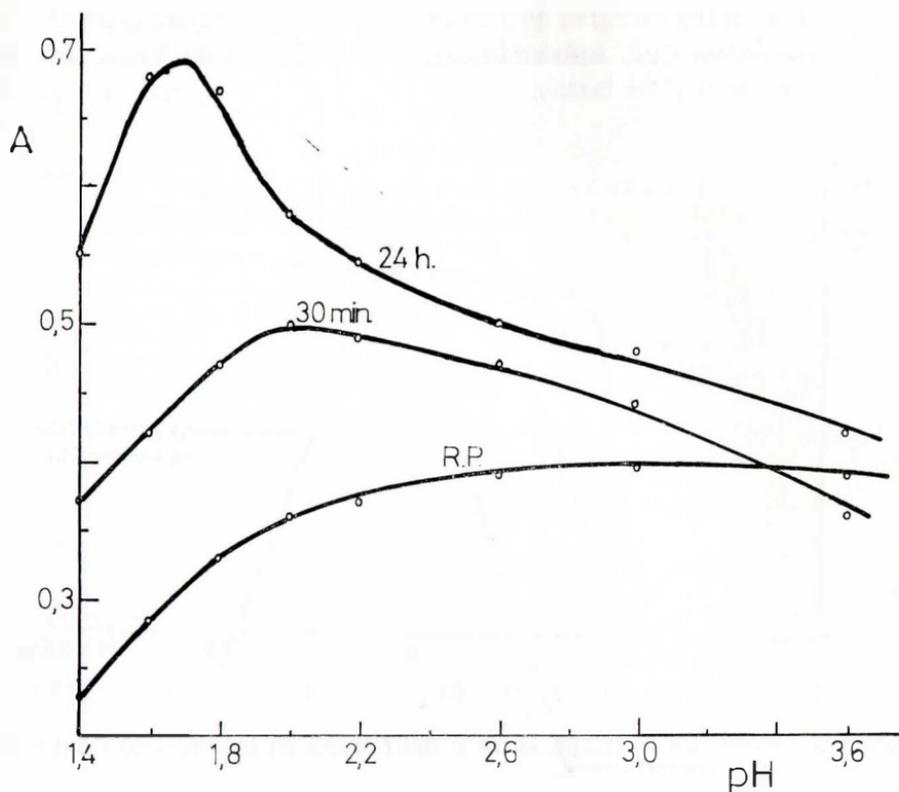


Figura 2.—Influencia del pH y del tiempo en la formación del complejo dDIH-Sn(II).

### *Efecto de la temperatura y del tiempo en la formación del complejo*

Se eligieron las temperaturas de 50 y 70° C por ser las que presentaban, entre las aplicadas, los valores mejor reproducibles.

La experiencia se practicó con disoluciones de dDIH y Sn(II)  $4 \cdot 10^{-3}$  M y  $4 \cdot 10^{-5}$  M respectivamente. Ajustado el pH a 1,7 se sacaron alícuotas de esta disolución y fueron sometidas al calor en baño de agua y con refrigerantes de reflujo durante los tiempos que se indican en la figura 3, los cuales están representados en abscisas por sus logaritmos.

La figura 3 muestra gráficamente los resultados de esta experiencia. Las líneas de trazo continuo corresponden a las fracciones

calentadas en los tiempos que se indi  
a las fracciones que, habiendo sido calentadas una hora, fueron  
medidas a las 6 y 24 horas.

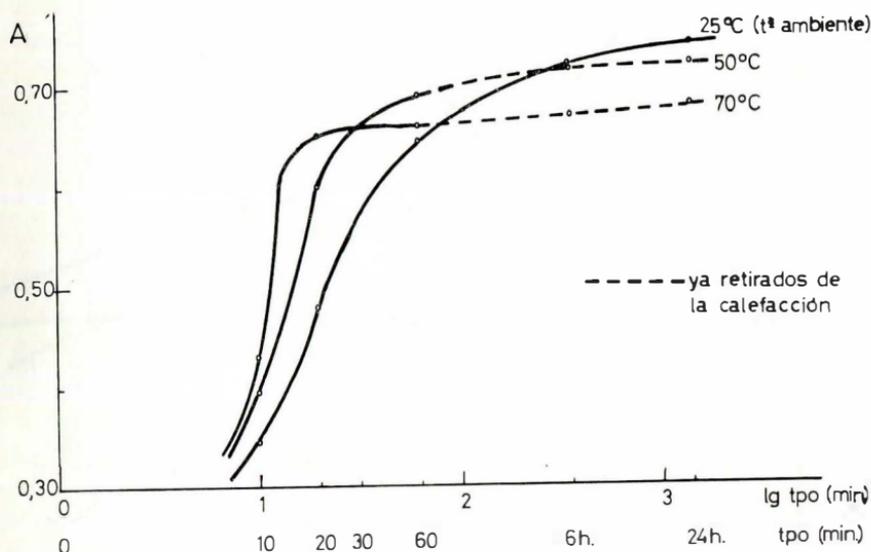


Figura 3.—Efecto de la temperatura y del tiempo en la formación del complejo dDIH-Sn(II).

### Características espectrofotométricas

La Ley de Lambert-Beer se cumple para concentraciones de Sn(II) comprendidas entre  $5 \cdot 10^{-6}$  y  $2 \cdot 10^{-5}$  M y pH 1,7 y el error fotométrico mínimo de acuerdo con la representación de Ringbom está comprendido entre 2 y 7 pp.

La absortividad molar calculado por el método de los mínimos cuadrados es  $E_{425} = 13.089 \text{ l. mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

### Determinación de la estequiometría del complejo

a) *Método de Job.*—Se han empleado disoluciones de dDIH y Sn(II)  $2 \cdot 10^{-3}$  M en las cantidades precisas en un volumen total de 50 ml. El valor del pH fue de 1,7 en todas las disoluciones y las medidas de la absorbancia se realizaron a las seis horas

de la preparación. En la figura 4 están representados los valores de la absorbancia frente a la relación de concentraciones  $[\text{Sn(II)}]/[\text{dDIH}] + [\text{Sn(II)}]$ .

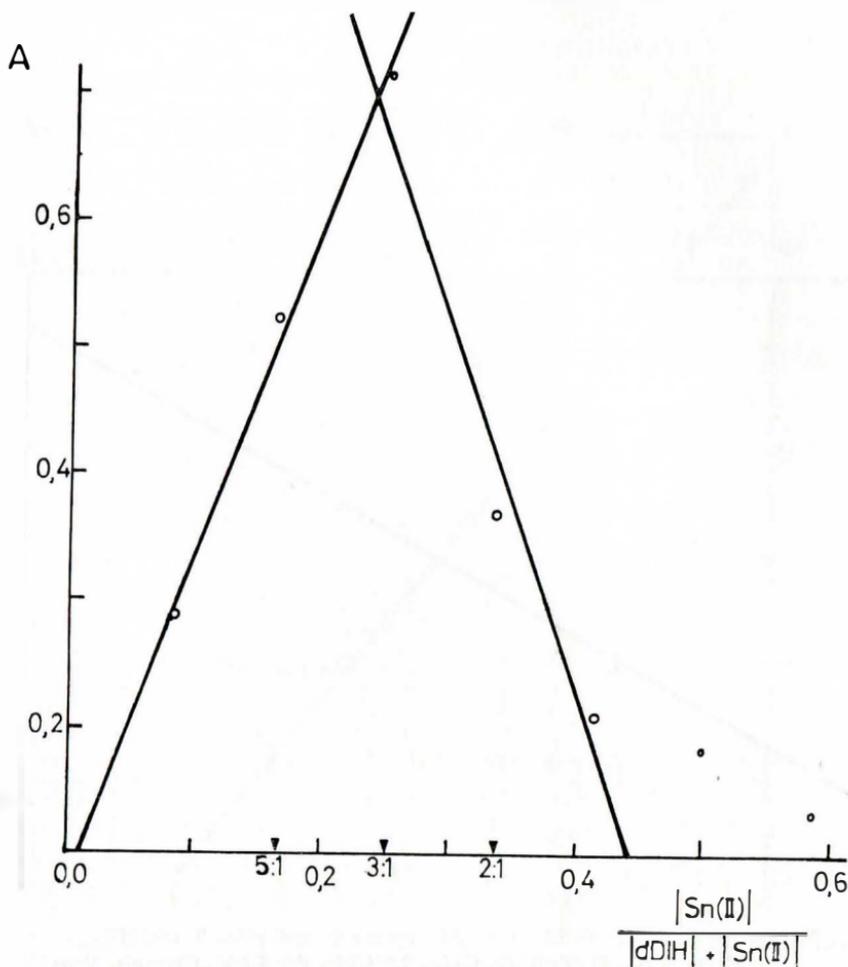


Figura 4.—Estequiometría. Método de Job.

#### b) Método de Bent-French

Experiencia I.—La disolución de dDIH fue en todos los casos de  $8 \cdot 10^{-3}$  M y las concentraciones de Sn(II) las que constan en la gráfica de la figura 5. El resto de las condiciones de trabajo

fueron idénticas a las ya conocidas. La figura 5 muestra el valor de la pendiente de la recta = 0,59 en esta primera experiencia.

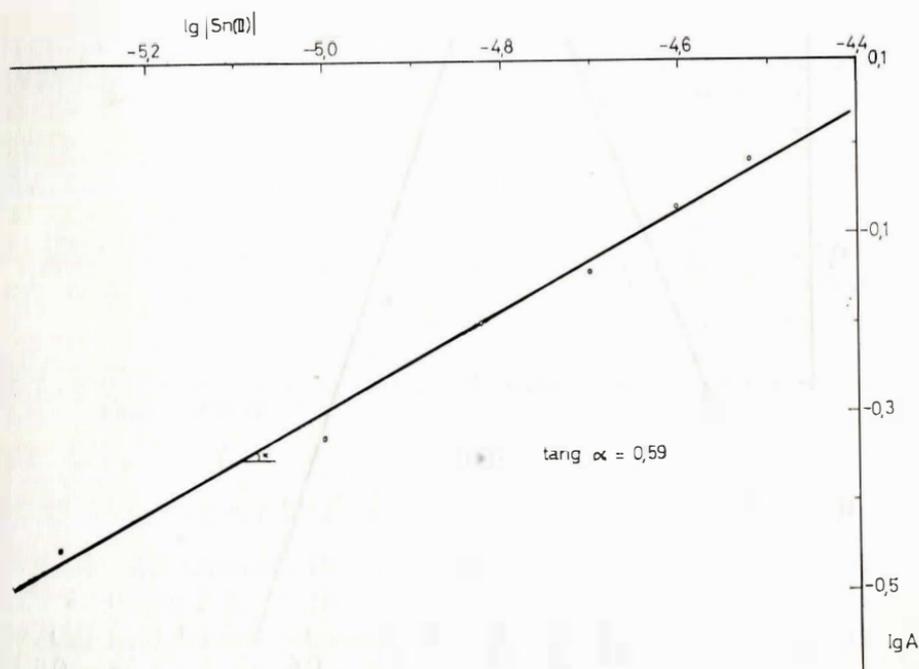


Figura 5.—Estequiometría. Método de Bent-French. Exp. I.

Experiencia II.—La concentración de Sn(II) en esta experiencia fue  $3 \cdot 10^{-2}$  M y las de dDIH son las que constan en la gráfica de la figura 6. Las demás condiciones de la experiencia son las ya conocidas. La figura 6 nos da el valor de la pendiente de la recta = 1,23.

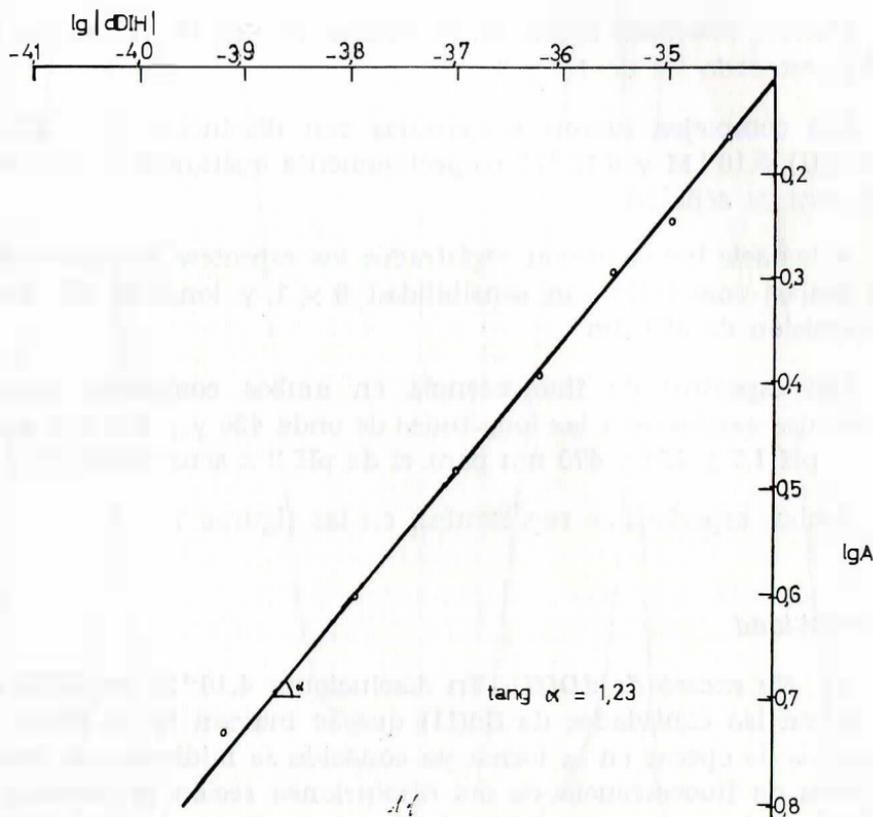


Figura 6.—Estequiometría. Método de Bent-French. Exp. II.

## ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO

En todas las experiencias que siguen se ha suprimido la adición de NaHSO<sub>3</sub> debido a que produce en la disolución del complejo una concentración de SO<sub>2</sub> incontrolable que afecta a la fluorescencia del complejo produciendo inhibición. Se trató de

evitar la posibilidad de oxidación del Sn(II) saturando de N<sub>2</sub> la disolución que contiene el reactivo ya diluido, con anterioridad a la adición de Sn(II).

### *Espectros de excitación y fluorescencia*

Fueron obtenidos a diferentes valores de pH, de los cuales se han destacado los de 1,7 y 3.

Los complejos fueron preparados con disoluciones de dDIH y Sn(II)  $5.10^{-4}$  M y  $6.10^{-5}$  M respectivamente operando en las condiciones ya señaladas.

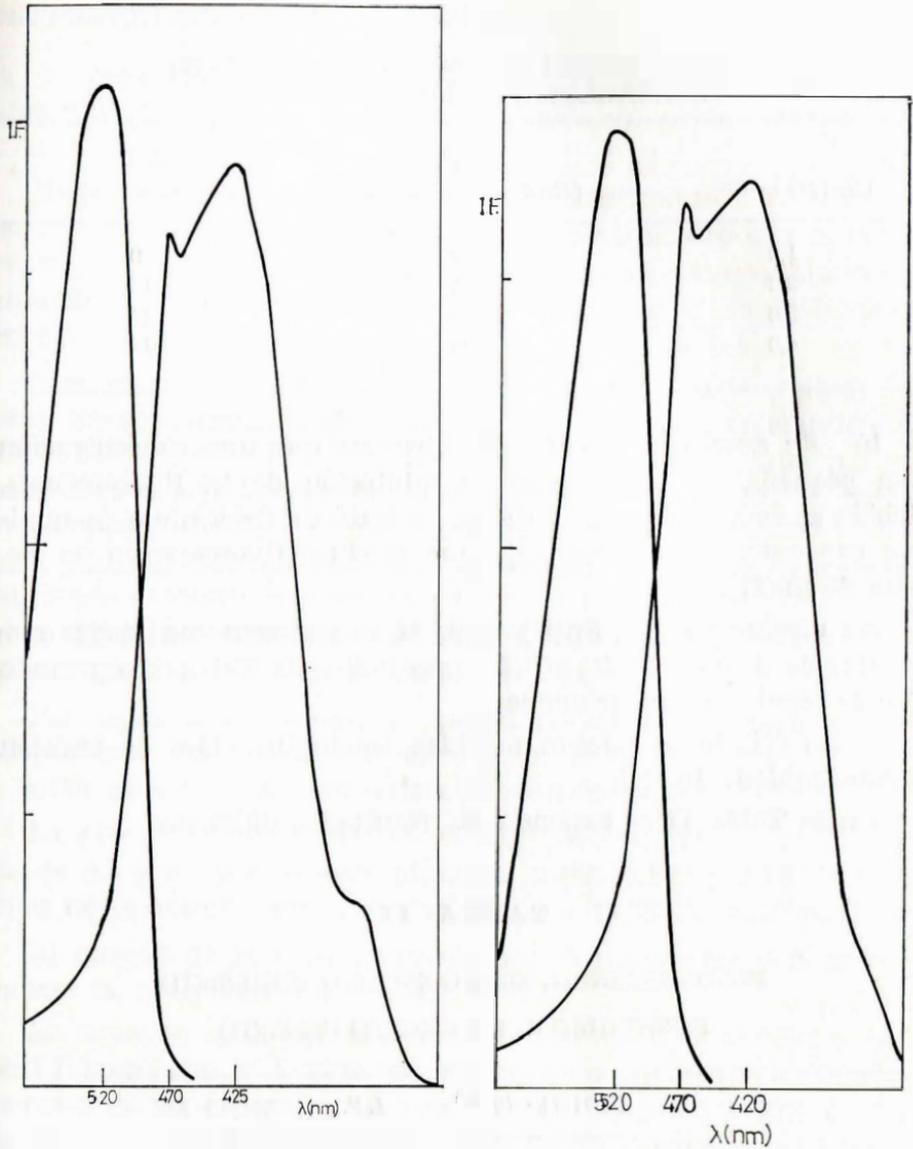
A las seis horas fueron registrados los espectros de excitación de ambos complejos con sensibilidad  $9 \times 1$  y longitud de onda de emisión de 520 nm.

Los espectros de fluorescencia en ambos complejos fueron obtenidos excitando a las longitudes de onda 420 y 470 nm para el de pH 1,7 y 420 y 470 nm para el de pH 3 a sensibilidad  $9 \times 1$ .

Ambos espectros se representan en las figuras 7 y 8.

### *Sensibilidad*

a) *En exceso de dDIH.*—En disoluciones  $4.10^{-4}$  M de dDIH se pusieron las cantidades de Sn(II) que se indican en la Tabla I. Después de operar en la forma ya conocida se midieron las intensidades de fluorescencia de las disoluciones recién preparadas y a las seis horas con sensibilidad  $10 \times 1$ . La Tabla citada resume los resultados.



Figuras 7 y 8.—Espectros de excitación y emisión del complejo dDIH-Sn(II) a pH 1,7.

( $\lambda$  excit. = 420 nm;  $\lambda$  emis. = 520 nm).

TABLA I

FLUORESCENCIA DEL COMPLEJO dDIH-Sn(II)  
SENSIBILIDAD EN EXCESO DE dDIH

$[Sn(II)] \cdot 10^{-6}$	<i>I. F.</i> (Recién preparadas)	<i>I. F.</i> (A las 6 horas)
1,0	19	9
2,0	24	16
3,0	25	14
4,0	25	14

b) *En exceso de Sn(II)*.—Al observar que una concentración tan pequeña de Sn(II) produce inhibición de la fluorescencia, debido al enorme exceso de dDIH, se trató de determinar la mínima concentración de complejo que produce fluorescencia en exceso de Sn(II).

En disoluciones de Sn(II)  $6 \cdot 10^{-4} M$  se pusieron cantidades crecientes de disolución de dDIH como indica la Tabla II operando con la técnica ya mencionada.

A las seis horas fueron medidas las intensidades de emisión a sensibilidad:  $10 \times 1$ .

En la Tabla II se exponen los resultados obtenidos

TABLA II

FLUORESCENCIA DEL COMPLEJO dDIH-Sn(II)  
SENSIBILIDAD EN EXCESO DE Sn(II)

$[dDIH] \cdot 10^{-6}$	<i>I. F.</i>
11,0	29
1,0	18
3,0	26
5,0	35
7,0	34
9,0	45

## INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

El complejo  
algo diferentes, pero con máximo parecido, en medio ácido a 425  
y en alcalino a 430 nm.

El pH óptimo es 1,7. No obstante, al principio se obtienen mayores absorbancias para valores de pH mayores, pero con el tiempo se produce un paulatino desplazamiento de estos máximos de absorbancia hacia valores de pH menores, hasta las seis horas en que ya se detiene esta variación en el valor de 1,7.

Con relación al efecto de la temperatura y para acelerar la reacción de formación del complejo, se ensayó la calefacción a distintas temperaturas. Se observa que si bien al principio el calor acelera algo la reacción, acaba también destruyendo en parte el complejo, siendo de difícil control uno y otro proceso. Por otra parte el SO<sub>2</sub> que satura la disolución escapa de la misma, quedando el Sn(II) desprotegido frente a la oxidación por el oxígeno del aire. Probablemente sea ésta otra de las causas por las que el proceso resultaba de difícil control.

Por todas estas razones se prescinde de la calefacción y se adopta como tiempo de reacción óptimo el de seis horas, ya que a partir de éste el aumento de absorbancia es despreciable.

La Ley de Lambert-Beer se cumple  
cia de 0,3 y 0,7 y concentraciones de Sn(II)  $5 \cdot 10^{-6}$  y  $2 \cdot 10^{-5}$  M y el valor de la absorptividad molar es de  $\epsilon_{425} = 13.089 \text{ l. mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

El estudio de la estequiometría por el método de Job parece indicar la estequiometría 3:1 dDIH-Sn(II).

La experiencia II del método de Bent-French se ensayó al pH de 1,7 igual que la I, pero resultaron unas absorbancias mucho menores de las esperadas. Se pensó en que esto era debido a una parcial hidrólisis del dDIH a ese valor de pH —fenómeno ya estudiado— durante el tiempo de reacción, ya que cuando queda complejo el Sn(II) ya no se debe producir hidrólisis, tesis que se postula más ampliamente al estudiar el complejo de Zr(IV) (4). Para evitar o disminuir esta hidrólisis se realizó esta misma experiencia a pH 2, al cual el Sn(II) se encuentra en una concentración algo superior a la que permite el producto de solubilidad de su hidróxido. No se añadió NaHSO<sub>3</sub> por considerar que encon-

trándose el Sn(II) en elevada concentración una pequeña oxidación del mismo no afectaría el resultado. Se obtuvieron absorbancias algo mayores, pero también muy por debajo de las esperadas, como se deduce de la comparación con las obtenidas en la Ley de Lambert-Beer.

La pendiente de la recta resultó algo menor de la esperada debido a la mencionada hidrólisis. La relación de pendiente es 2,196. Por tanto podría postularse, en base a los resultados del método de Job y a las consideraciones de este último, una estequiometría de 3:1 dDIH-Sn(II).

En los espectros de excitación y emisión obtenidos a los valores de pH 1,7 y 3, se observan las mismas bandas para los de excitación con máximos a 425 y 470 nm y también la misma banda para los de emisión con máximos a 520 nm.

La sensibilidad en exceso de dDIH disminuye considerablemente así como en exceso de Sn(II), por lo que la determinación espectrofluorimétrica no sería posible pero sí la espectrofotométrica como se ha visto en el cumplimiento de la Ley de Lambert-Beer.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1.—R. J. GARCÍA-VILLANOVA y R. GARCÍA-VILLANOVA: *Ars Pharmaceutica* (en prensa).
- 2.—R. J. GARCÍA-VILLANOVA y R. GARCÍA-VILLANOVA: *Ars Pharmaceutica* (en prensa).
- 3.—R. J. GARCÍA-VILLANOVA: Tesis Doctoral. Universidad de Granada, pág. 187 (1981).
- 4.—R. J. GARCÍA-VILLANOVA: Tesis Doctoral. Universidad de Granada, pág. 150 (1981).