

DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA, TOXICOLOGIA  
Y ANALISIS QUIMICO APLICADO

FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA

Director: R. GARCÍA-VILLANOVA

COMPLEJOS METALICOS FLUORESCENTES  
CON DIACETILDIISONICOTIN HIDRAZONA (dDIH).

I.—ESTUDIO DEL COMPLEJO Y(III)-dDIH

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

RESUMEN

Se ha realizado un estudio espectrofotométrico y espectrofluorimétrico del complejo de Y(III) con diacetildiisonicotin hidrazona (dDIH) sintetizada por nosotros. El complejo cumple la Ley de Lambert-Beer. Se ha determinado la estequiometría, la absortividad molar y el error fotométrico mínimo de acuerdo con Ringbom. El complejo en medio neutro es fluorescente.

SUMMARY

A spectrophotometric and spectrofluorometric study of diacetildiisonicotin hydrazone (dDIH)-Y(III) complex has been realized. The reagent dDIH was formerly reported by us. The complex obeies Beer's law. Stoichiometry, molar absortivity and minimum photometric error according to Ringbom are described. In neutral medium is fluorescent.

INTRODUCCION

En un estudio anterior (1) se ha podido confirmar que el catión Y(III), así con dDIH —producto de condensación del diacetilo con isoniacida

obtenido por nosotros (2)— para dar un complejo soluble de color amarillo en medio alcalino que impide la precipitación del hidróxido. De igual modo se ha confirmado que el citado complejo presenta fluorescencia en medio neutro o débilmente ácido.

Todo ello ha servido de base para realizar un estudio del complejo Y(III)-dDIH y conocer sus posibilidades analíticas.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Material*

Espectrofotómetro U. V. marca 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*

Cloruro de Ytrio hexahidratado "Merck" (R. A.).

Imidazol "Merck" (R. A.).

El resto de los reactivos utilizados fueron de pureza analítica.

## ESTUDIO ESPECTROFOTOMETRICO

### *Efecto del pH y del tiempo en el espectro de absorción visible del complejo dDIH-Y(III)*

La experiencia se realizó con disoluciones clorhídricas de dDIH  $3.10^{-3}$  M e Y(III)  $1.5.10^{-4}$  M en agua desionizada y los valores de pH se alcanzaron al añadir disolución de NaOH. La relación de concentración Y(III)/dDIH era por tanto de 1:20.

En la Tabla I están representados los valores de las absorbancias medidas a la longitud de onda de los máximos observados en los respectivos espectros, así como los valores de pH.

TABLA I  
EFECTO DEL pH EN EL ESPECTRO DE ABSORCION  
DEL COMPLEJO dDIH-Y(III)

<i>pH</i>	<i>A</i>	<i>máx. (nm)</i>
5	0,38	390
6	1,66	390
7	1,82	390
8	1,82	412
9	1,20	430
10	0,88	430

Las medidas de las muestras con los valores de pH 5-8 se hicieron frente a blancos de agua y los de pH 9 y 10 frente a blancos con la misma concentración de dDIH y a los mismos valores de pH.

Las disoluciones a pH 3 y 4 no presentaron casi coloración, por lo que las absorbancias eran prácticamente despreciables.

En la figura 1 se representan los espectros de absorción visible de aquellas disoluciones que presentaron los máximos de mayor intensidad. Los complejos obtenidos a pH 9 y 10 modifican sus espectros con el tiempo, desplazándose los máximos hacia longitudes de onda más pequeñas, efecto que se produce igualmente en presencia de disoluciones reguladoras y a los mismos valores de pH.

Las figuras 2 y 3 muestran los espectros de absorción de los complejos formados a valores de pH 9 y 10 y diferentes tiempos (recién preparados RP, 1h, 3,5h y 24h).

La figura 4 muestra el espectro de absorción ultravioleta del complejo dDIH-Y(III) a pH 7.

Con la finalidad de evitar la formación del complejo no fluorescente y la forma alcalina de color amarillo del exceso de dDIH, los ensayos se practicaron a valores inferiores de pH 8. La escala de valores de pH estaba comprendida entre 6,4 y 7,6 a intervalos de 0,2 unidades de pH.

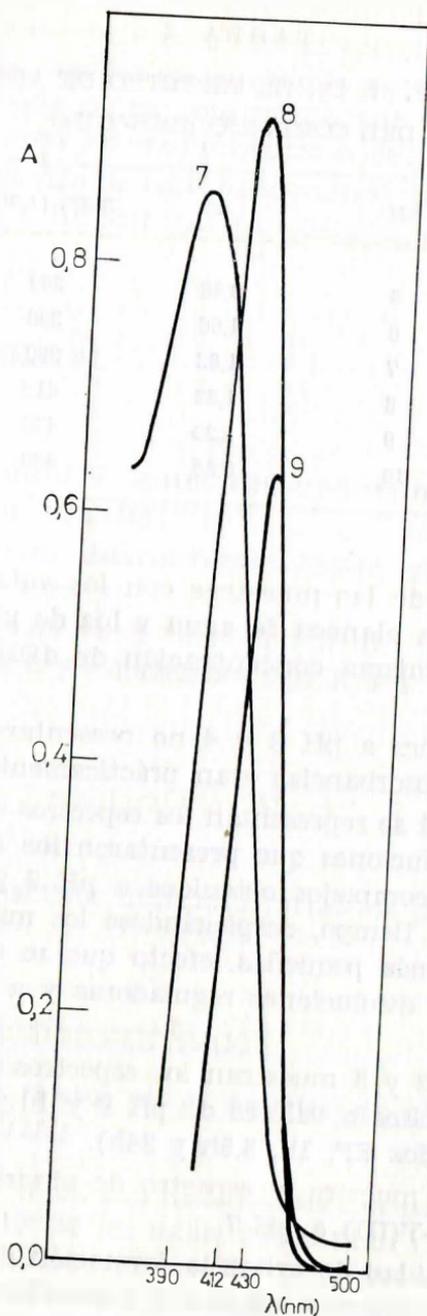


Figura 1.—Espectros de absorción visible del complejo dDIH-Y(III) a los valores de pH que se indican.

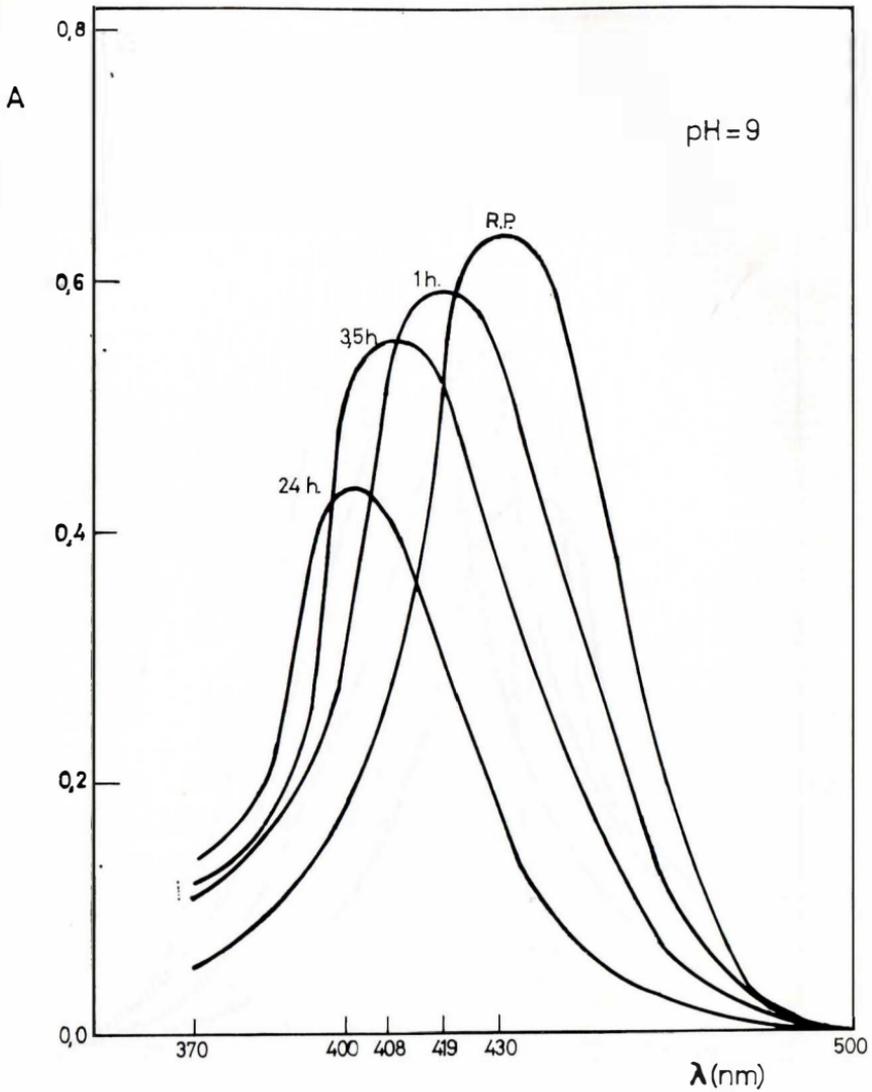


Figura 2.—Variación del espectro de absorción visible del complejo dDIH-Y(III) con el tiempo a pH 9.

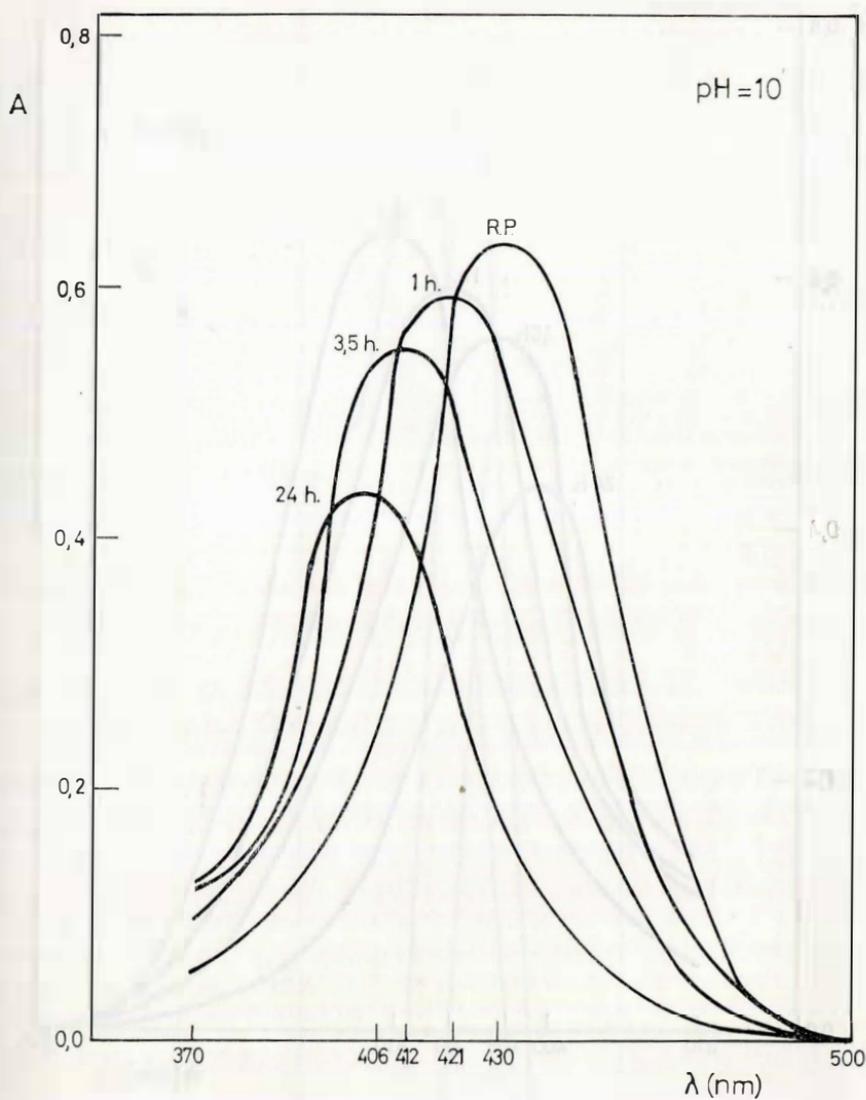


Figura 3.—Variación del espectro de absorción visible del complejo dDIH-Y(III) con el tiempo a pH 10.

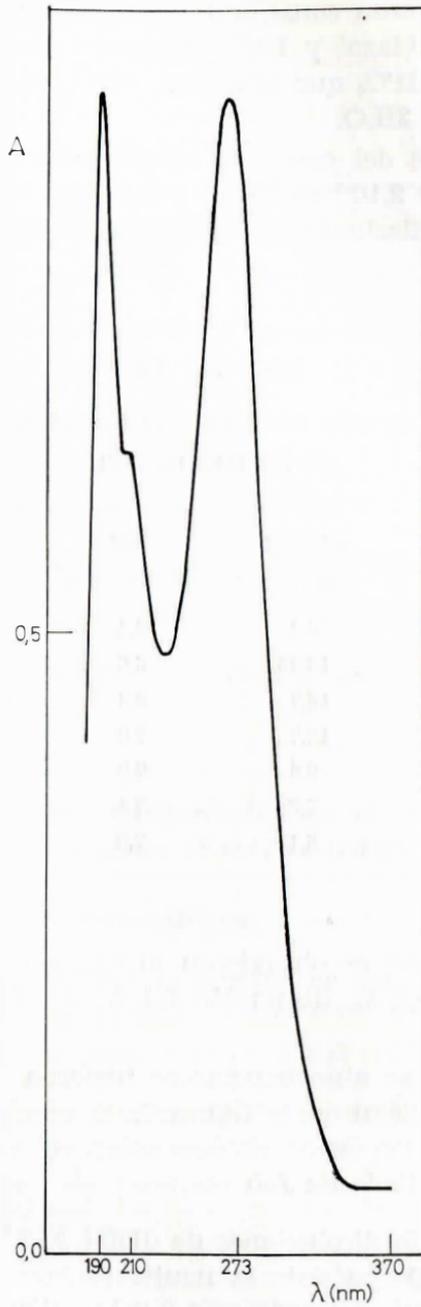


Figura 4.—Espectro de absorción UV del complejo dDIH-Y(III) a pH 7.

Estos valores fueron conseguidos con volúmenes adecuados de disoluciones de imidazol y HCl en vez de disolución reguladora de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  que pudieran haber dado lugar a la precipitación de  $\text{PO}_4\text{Y}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Las disoluciones del complejo se prepararon de dDIH  $5\cdot 10^{-4}$  M y  $2\cdot 10^{-5}$  de Y(III) y en todos los casos se agregaron 2 ml de las disoluciones reguladoras que se indican en la Tabla II.

TABLA II  
VALORES DE pH DE LAS DISOLUCIONES REGULADORAS  
DE IMIDAZOL, HCl

<i>ml HCl</i>	<i>pH</i>
20,2	6,4
18,25	6,6
15,7	6,8
12,7	7,0
9,8	7,2
7,3	7,4
5,1	7,6

Estas disoluciones se obtuvieron mezclando 12,5 ml de disolución de imidazol 0,2 M, disolución 0,1 M de HCl y agua desionizada hasta 35 ml.

La medida de las absorbancias se hicieron a 390 nm y a los tiempos que se indican en la figura 5.

#### *Estequiometría. Método de Job*

Se han empleado disoluciones de dDIH  $2\cdot 10^{-3}$  M y de Y(III) de igual molaridad. Después de la neutralización con disolución de NaOH, se han puesto en cada una 5 ml de disolución reguladora de imidazol de pH 7 y agua desionizada hasta 50 ml. Las medidas de absorbancia se

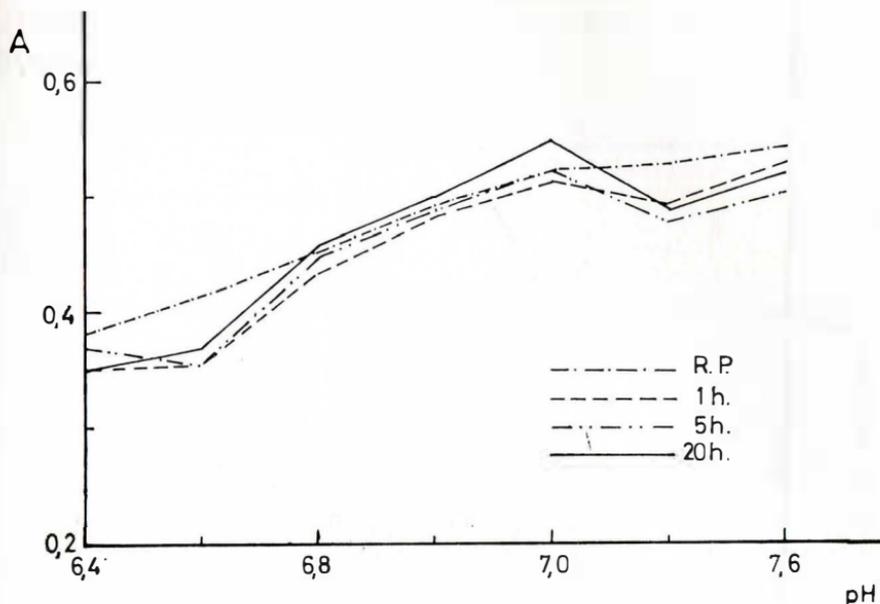


Figura 5.—Variación de la absorbancia con el pH y tiempo.

En la figura 6 están representados los valores de absorbancia en función de la relación  $[Y(III)]/[dDIH] + [Y(III)]$

### Características espectrofotométricas

La Ley de Lambert-Beer se cumple en un margen de concentraciones de Y(III) comprendidas entre  $5 \cdot 10^{-6}$  M y  $5 \cdot 10^{-5}$  M en presencia de un exceso de disolución de dDIH ( $10^{-3}$  M).

El error fotométrico mínimo deducido de la representación de Ringbom al aplicar los datos que sirvieron para conocer el cumplimiento de la Ley de Lambert-Beer, está comprendido entre 1,3 y 4,0 ppm de Y(III).

La absorptividad molar, calculada con los valores de absorbancia comprendidos en la zona de mínimo error fotométrico y después de aplicar el método de los mínimos cuadrados alcanza el valor de  $E_{390} = 13.133 \text{ l. mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

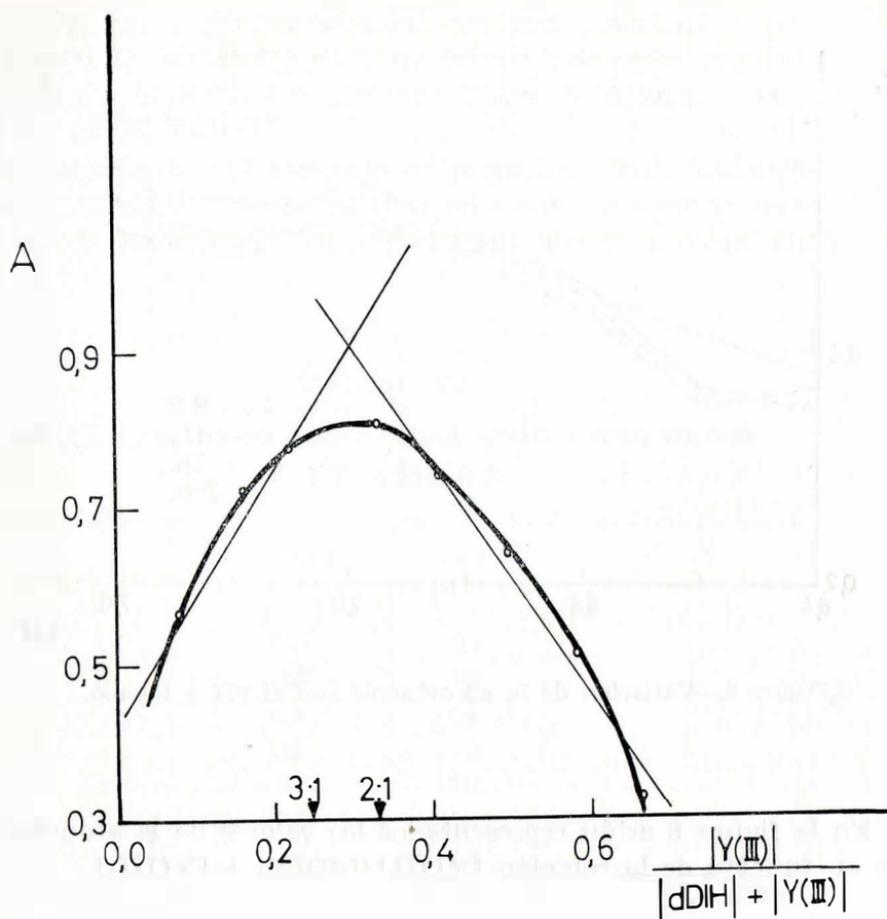


Figura 6.—Estequiometría del complejo dDIH-Y(III). Método de Job.

## ESTUDIO ESPECTROFLUORIMETRICO

### *Espectros de excitación y fluorescencia*

Se ha partido de disoluciones de dDIH  $2 \cdot 10^{-5}$  M y  $4 \cdot 10^{-5}$  M de Y(III) en presencia de 2 ml de disoluciones reguladoras de imidazol-HCl en un ámbito de valores de pH desde 6,2 a 7 con intervalos de 0,2 unidades y un volumen total en todos los casos de 50 ml. Después de borbotear una corriente de  $N_2$  se procedió finalmente al registro de los espectros de excitación y fluorescencia.

Fijando la longitud de onda de fluorescencia en 490 nm y la sensibilidad en  $9 \times 1$  se obtuvo el espectro representado en la figura 7.

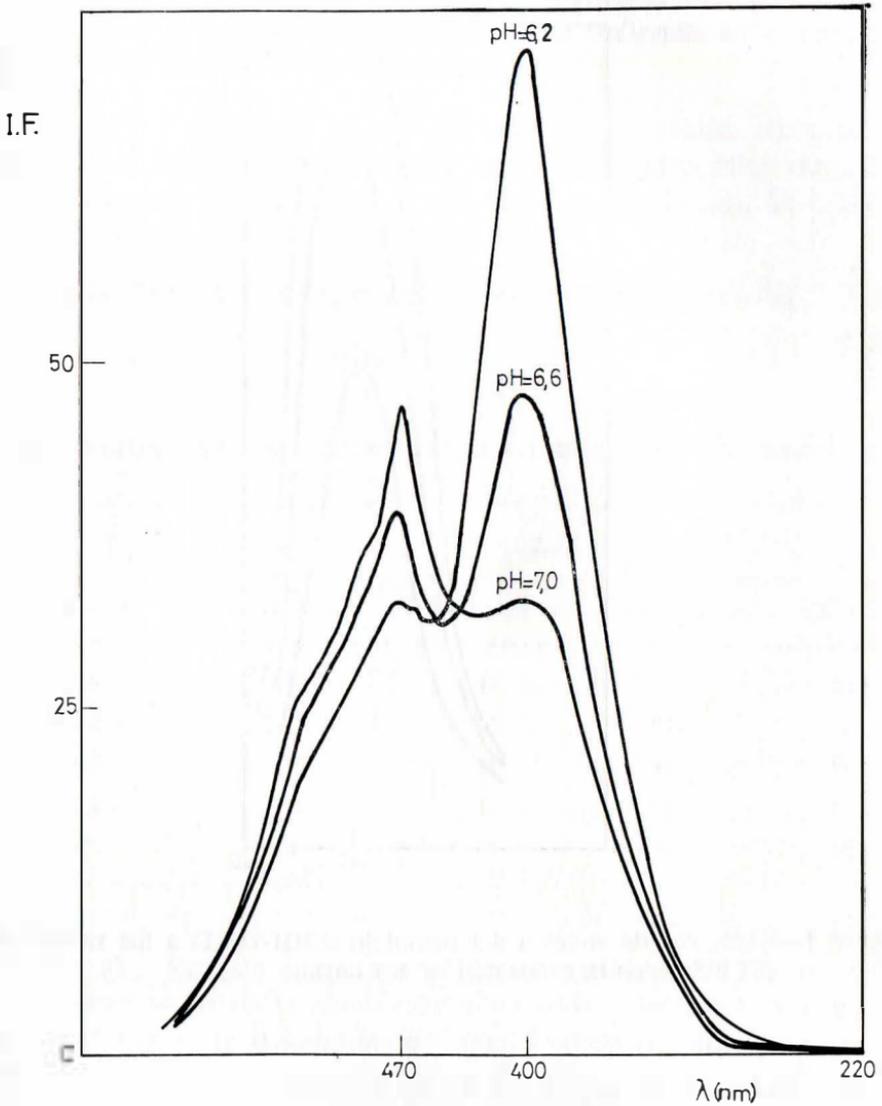


Figura 7.—Espectros de excitación del complejo dDIH-Y(III) a los valores de pH indicados ( $\lambda$  emisión = 490 nm).

Para conocer los espectros de fluorescencia a distintos valores de pH, fue fijada la longitud de onda de excitación en 400 nm, la sensibilidad en  $9 \times 1$  y partiendo de 420 nm se obtuvieron los espectros de fluorescencia de la figura 8.

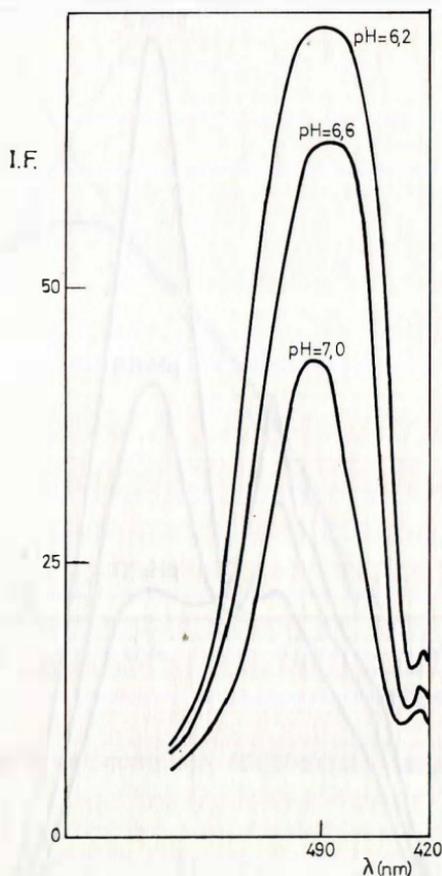


Figura 8.—Espectros de emisión del complejo dDIH-Y(III) a los valores de pH indicados ( $\lambda$  excitación = 400 nm).

### *Investigación de la inhibición de la fluorescencia*

Al suponer que la causa de la inhibición podría estar producida por los siguientes factores: 1) alta concentración de complejo formado (autoinhibición), 2) alta concentración del Y(III) en ex-

ceso, 3) alta concentración de la disolución reguladora de imidazol y HCl, se han investigado estas tres causas a través de las siguientes experiencias:

1) Se han puesto concentraciones de dDIH e Y(III)  $2.10^{-4}$  M y  $4.10^{-4}$  M y se ha operado en la forma ya indicada en el apartado anterior.

Con las disoluciones así preparadas se diluyeron como se indica en la Tabla III y midieron las intensidades relativas de la fluorescencia con radiación de excitación de 400 nm, de emisión de 490 nm y sensibilidad  $8 \times 1$ .

En la Tabla III se exponen los resultados encontrados.

TABLA III

INTENSIDAD DE LA FLUORESCENCIA DEL COMPLEJO dDIH-Y(III)

pH	I. F.			
	no dil.	dil. 1/2	dil. 1/4	dil 1/8
7,0	58	42	31	25
6,8	60	44	34	29
6,6	73	54	42	34
6,4	85	65	53	44
6,2	79	61	46	37

2) y 3). En este caso se modifica el exceso la concentración de la disolución reguladora. Se parte de 5 ml de dDIH  $10^{-3}$  M y de disolución de Y(III) como se indica en la Tabla IV. Asimismo se ponen las cantidades de disolución reguladora de pH 6,4 de la Tabla citada. Después de operar en la forma habitual se realizan las medidas de las intensidades relativas de fluorescencia como se indica en 1).

La Tabla IV resume el resultado de esta experiencia.

TABLA IV

I. F. DEL COMPLEJO dDIH-Y(III) EN FUNCION  
DE LAS CONCENTRACIONES DE Y(III) Y DISOLUCION  
REGULADORA

Y(III) ml	I. F.		
	0,5	1	4 (ml de disol. reg.)
5	63	63	58
10	65	65	58
20	65	63	55
40	62	61	57

#### *Interpretación de los resultados*

En los espectros de absorción en el visible en relación con el pH desde 7 a 9; al pH 10 ya posee la misma banda de absorción que el de pH 9.

Al registrar sucesivos espectros de absorción de los valores de pH 9 y 10 a la hora, 3,5 horas y 24 horas, se observó un desplazamiento ipsocrómico a la vez que otro hipocrómico. Había, por tanto, desplazamiento de la banda de absorción hacia los valores de  $\lambda$  máximo que presentaban los complejos a valores de pH 8 y 7.

Puesto que no se había producido variación del pH en el seno de estas disoluciones por estar reguladas, cabe pensar que los complejos formados a los valores de pH 9 y 10, se transforman con el tiempo en aquellos que se producen a los valores de pH 8 y 7 instantáneamente.

El espectro UV del complejo formado a pH 7 no difiere gran cosa de el del propio reactivo a pH ácido.

Como valor de pH óptimo se eligió el de 7,0 ya que, aunque no es el de mayor absorbancia, en él no aparece la especie coloreada del reactivo, lo que habría que compensar con un blanco de igual concentración. Esto, además, llevaría consigo el peligro de insolubilización del reactivo a ese pH, lo que se evita al pH elegido, usando agua como blanco.

La estequiometría del complejo parece ser la de 2:1 dDIH-Y(III). Otros métodos espectrofotométricos resultaron inviables, bien por la labilidad del complejo o bien por la imposibilidad de usar grandes excesos de reactivo o del catión que precipitarían.

La Ley de Lambert se cumple, aunque con alguna dispersión de valores, a concentraciones comprendidas entre  $5 \cdot 10^{-6}$  y  $5 \cdot 10^{-5}$  M en Y(III).

Con relación a los espectros de excitación y emisión, al pH de 7, el complejo es fluorescente cuando se excita con luz de 400 nm, emitiendo a la de 490 nm. No se produce emisión al excitar con  $\lambda$  de 470 nm.

Del estudio realizado para conocer la inhibición de la fluorescencia se desprende que a las concentraciones de  $2 \cdot 10^{-3}$  en dDIH y exceso de Y(III), el complejo formado no produce inhibición de la fluorescencia, ya que al disminuir su concentración, también lo hace la I. F.

Tampoco producen inhibición moderados excesos de Y(III) y solamente concentraciones de disolución reguladora  $5,6 \cdot 10^{-3}$  M en imidazol y  $2,8 \cdot 10^{-3}$  M en HCl ya la producen.

La absorptividad molar del complejo ha sido determinada a 390 nm y el valor es  $\epsilon_{390} = 13.133 \text{ l. mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

#### BIBLIOGRAFIA

- 1.—R. J. GARCÍA-VILLANOVA: Tesis Doctoral, p. 134. Universidad de Granada (1981).
- 2.—R. J. GARCÍA-VILLANOVA y R. GARCÍA-VILLANOVA: Acta Química Compostelana, 4 (1), 14-22 (1981).