



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULTADE DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUIMICA FUNDAMENTAL E INDUSTRIAL

***TEORIAS DE INTERACCIÓN IÓNICA Y EQUILIBRIO
QUIMICO: ESTUDIO DE LA PROTONACION DE
AMINOACIDOS EN MEDIOS SALINOS***

M.ª ISABEL BRANDARIZ LENDOIRO

La Coruña, Mayo 1994



UNIVERSIDADE DA CORUÑA
FACULDADE DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL E INDUSTRIAL

***TEORIAS DE INTERACCION IONICA Y EQUILIBRIO
QUIMICO: ESTUDIO DE LA PROTONACION DE
AMINOACIDOS EN MEDIOS SALINOS***

Memoria para optar al Grado de
Doctora en C.C. Químicas presentada por
M^a ISABEL BRANDARIZ LENDOIRO

LA CORUÑA, MAYO 1994

JOSE M^a QUINTELA LOPEZ, Director del Departamento de Química Fundamental e Industrial de la Universidad de La Coruña,

CERTIFICA:

Que la Graduada en Ciencias Químicas Dña. *Isabel Brandariz Lendoiro*, ha realizado en este Departamento, bajo la dirección del *Prof. Dr. D. Manuel Sastre de Vicente*, el trabajo que bajo el título: *Teorías de interacción iónica y equilibrio químico: Estudio de la protonación de aminoácidos en medios salinos*, presenta para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas.

Y para que así conste, expido y firmo la presente en La Coruña, a ~~22~~²³ Mayo de 1994.



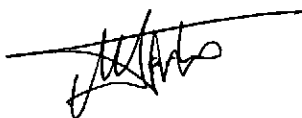
Fco. J.M. Quintela López

MANUEL ESTEBAN SASTRE DE VICENTE, Profesor Titular del Area de Química Fundamental e Industrial de la Universidad de La Coruña,

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de investigación titulado: *Teorías de interacción iónica y equilibrio químico: Estudio de la protonación de aminoácidos en medios salinos* ha sido realizado por la Licenciada Dña. *Isabel Brandariz Lendoiro* en el Departamento de Química Fundamental e Industrial, Laboratorio de Electroquímica, y que, como Director del mismo, autorizo su presentación como Tesis Doctoral a fin de que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, expido y firmo la presente en La Coruña, a 14 de Abril de 1994.



Fdo. M.E. Sastre de Vicente

Agradecimientos:

Quisiera, en primer lugar, manifestar mi más sincero agradecimiento y admiración a mi director, Dr. M. E. Sastre de Vicente, que con su constante esfuerzo y dedicación ha hecho posible este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio, Sarah, Tere y Roberto, que tanto me han ayudado y con quienes he compartido tan buenos momentos.

Al Decano de la Facultad de Ciencias, Dr. X.L. Armesto Barbeito, por haber apoyado, siempre que fue necesario, el desarrollo de nuestra tarea investigadora.

Al profesor Dr. E. Jiménez Cuesta y sus colaboradores del departamento de Física por permitirme llevar a cabo en su laboratorio las medidas de densidad.

A la Xunta de Galicia por la concesión de una beca de tercer ciclo durante el curso 1990-91 y al Ministerio de Educación por la beca F.P.I., concedida en 1992.

Indice

INDICE	1
GLOSARIO DE SIMBOLOS	3
INTRODUCCION	5
ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	11
I. Teorías de Interacción iónica	13
I.I. Introducción	13
I.II. Modelo de Guggenheim	16
I.III. Modelo de Scatchard	17
I.IV. Modelo de Pitzer	19
<i>Bibliografía</i>	21
II. Zwitteriones: Comportamiento y Estructura	23
II.I. Comportamiento ácido-base de los aminoácidos	23
II.II. Interpretación teórica de las propiedades de los iones dipolares	27
<i>Bibliografía</i>	32
PARTE EXPERIMENTAL	35
III. Procedimiento Experimental	37
III.I. Cálculo de las Constantes Estequiométricas	37
III.II. Aparatos y Reactivos	48
III.III. Calibrados	50
III.IV. Valoraciones	54
III.V. Determinación del pK_w^*	58
<i>Bibliografía</i>	59
IV. Dependencia de las Constantes de Equilibrio de la L-Valina con la Fuerza Iónica según los formalismos de Guggenheim, Scatchard y Pitzer	61
IV.I. Aplicación de los modelos de interacción a los equilibrios de un aminoácido	61
IV.I.I. Modelo de Guggenheim	62
IV.I.II. Modelo de Scatchard	64
IV.I.III. Modelo de Pitzer	66

IV.II. Resultados y Discusión	67
<i>Bibliografía</i>	74
V. Análisis Matemático de la forma de las curvas pK^* vs. I	77
V.I. Comportamiento pK_1^* vs. I	78
V.II. Comportamiento pK_2^* vs. I	82
V.III. Comportamiento pK_1^* vs. I para zwitteriones con gran separación de cargas	84
<i>Bibliografía</i>	85
VI. Aplicación de las Ecuaciones de Pitzer a Aminoácidos con diferentes posiciones de los grupos Amino y Carboxilo	87
VI.I. Dependencia pK_1^* vs. I para aminoácidos con separación de cargas	87
VI.II. Resultados y Discusión	90
VI.II.I. Constantes Estequiométricas y Parámetros de Interacción	90
VI.II.II. Aplicación de las ecuaciones de Pitzer al producto iónico del agua	100
<i>Bibliografía</i>	109
VII. Aplicación de las Teorías de Interacción Iónica a Equilibrios de Aminoácidos en Mezclas de Electrolitos	111
VII.I. Aplicación de los formalismos de Pitzer y Guggenheim a los equilibrios de la L-Valina en mezclas de electrolitos	112
VII.I.I. Ecuaciones de Guggenheim	112
VII.I.II. Ecuaciones de Pitzer	114
VII.I.III. Resultados y Discusión	115
VII.II. Constantes de formación de la α -Alanina en mezclas de electrolitos a fuerza iónica constante	122
VII.II.I. Aplicación de las Teorías de Pitzer y Friedman	122
VII.II.II. Resultados y Discusión	125
<i>Bibliografía</i>	130
CONCLUSIONES	131
APENDICES	137
Apéndice A	139
Apéndice B	143
Apéndice C	147
Apéndice D	151

Glosario de Símbolos

- a_D distancia de mínima aproximación entre los centros de cationes y aniones en la teoría de Debye-Hückel (ec.I.4)
- a, a' iones negativos (del electrolito soporte)
- A constante de la ley de Debye-Hückel ($A' = A/\ln 10$)
- A^- anión del aminoácido
- AH zwitterión del aminoácido
- AH_2^+ catión del aminoácido
- A_ϕ constante de la ley límite en la teoría de Pitzer (ec.I.18)
- A_J parámetro de interacción de Scatchard del electrolito J (ec.I.12)
- $B_{AB}^{(0)}$ parámetro de interacción de Scatchard para mezclas de los electrolitos A y B (ec.I.15)
- $B_{AB}^{(1)}$ parámetro de interacción de Scatchard para mezclas de los electrolitos A y B (ec.I.16)
- B_{ij} segundo coeficiente del virial; recoge interacciones dobles entre los iones i y j (ec.I.19)
- B'_{ij} derivada respecto a la fuerza iónica del coeficiente B_{ij}
- c, c' iones positivos (del electrolito soporte)
- C_{ij} (también C^{ϕ}_{ij}) tercer coeficiente del virial, recoge las interacciones triples
- D constante dieléctrica
- e carga del electrón
- E^0 potencial estándar del electrodo de vidrio (ec.III.7)
- f' definida en la ec.I.18
- $g_{MX}^{(n)}$ parámetro de interacción del electrolito MX
- I fuerza iónica
- k constante de Boltzmann

K^*	constante de equilibrio estequiométrica
K^T	constante de equilibrio termodinámica
m_i	molalidad del ion i
M_i	molaridad del ion i
N_{AV}	número de Avogadro
R	distancia entre las cargas del zwitterion
S	constante de la ley límite según Scatchard ($S=-A$)
T	temperatura absoluta
z_i	número de carga de i
Z	zwitterion

Letras Griegas

α_j	parámetro de interacción de Scatchard del electrolito J (ec.I.11)
β_{ij}	parámetro de interacción de Guggenheim entre los iones i y j
$\beta_{AB}^{(0)}$	parámetro de interacción de Scatchard para mezclas de los electrolitos A y B (ec.I.13)
$\beta_{AB}^{(1)}$	parámetro de interacción de Scatchard para mezclas de los electrolitos A y B (ec.I.14)
β_{ij}^c	(también β_{ij}^1) segundo coeficiente del virial para la interacción i - j
γ_i	coeficiente de actividad de la especie i
θ_{ij}	segundo coeficiente del virial para fuerzas de corto alcance entre los iones i y j
λ	segundo coeficiente del virial para especies neutras
μ	momento dipolar
Ψ_{ijk}	tercer coeficiente del virial para mezclas

Introducción

Introducción

La técnica potenciométrica con electrodos de vidrio comerciales es, por su sencillez y universalidad, uno de los métodos más recomendables para la determinación de constantes de equilibrio. Su aplicación al estudio del comportamiento ácido-base y las interacciones iónicas de compuestos orgánicos tales como los aminoácidos presenta, un gran interés, no sólo práctico, dado que son sustancias naturales, si no también teórico, debido a la presencia en disolución de iones dipolares o zwitteriones.

Aunque existen datos de constantes estequiométricas a fuerzas iónicas aisladas, los estudios sistemáticos sobre el tema son escasos¹, aún cuando a lo largo de los últimos **setenta años** se han elaborado distintas teorías de interacción específica. Todas ellas toman como punto de referencia la ecuación de **Debye-Hückel** pero persiguen una potencial extensión a fuerzas iónicas altas tal como se ha venido demostrando con su aplicación al estudio de la variación de coeficientes de actividad iónico medios y coeficientes osmóticos de electrolitos fuertes. Entre las teorías posteriores a la de **Debye-Hückel** destaca por su amplia utilización el tratamiento semiempírico de **Pitzer** desarrollado en la década de los setenta. Algunas vertientes importantes de su aplicación al estudio de equilibrios ácido-base de moléculas orgánicas ha sido objeto de análisis reciente en este laboratorio¹. Una aproximación

¹Fiol, S., Tesis Doctoral, Aplicación de la ecuaciones de Pitzer a equilibrios ácido-base: Estudio de la ionización de aminoácidos en agua de mar sintética, Universidad de La Coruña, Marzo, 1994

previa a la de **Pitzer** desarrollada por **Scatchard** en los años sesenta, no había sido aplicada al estudio de equilibrios, hasta la publicación de algunos resultados descritos en la presente memoria. Dado que tanto el formalismo de Pitzer como el de Scatchard tienen su antecedente más próximo en las ecuaciones, más sencillas, de **Guggenheim**, éstas también han sido consideradas en el presente trabajo.

La aplicación de los desarrollos teóricos mencionados anteriormente al estudio de la ionización de aminoácidos, se concreta en los apartados que se describen a continuación y que resumen los objetivos planteados en esta memoria:

i) En primer lugar se dedujeron las ecuaciones que describen la dependencia del pK_i^* , $i=1,2$, de un aminoácido con la fuerza iónica de la disolución, aplicando los tratamientos mencionados a los valores de pK_i^* de la L-valina obtenidos potenciométricamente.

ii) Se abordó el estudio de los posibles tipos de curvas pK_i^* vs. I que pueden obtenerse por aplicación de las distintas teorías de interacción iónica a los dos equilibrios ácido-base de un aminoácido, tanto en el caso en que la molécula neutra se considera sin separación de cargas, como en aquellas situaciones en que los grupos ácido y amino se alejan lo suficiente como para considerar que interaccionan con los iones del medio de forma independiente.

iii) Se inició un posible planteamiento de modelización de situaciones intermedias a los casos límite indicados en el apartado ii, que corresponde a una situación en la que las cargas positiva y negativa se alejan progresivamente. Con este fin se determinaron las constantes de ionización de la glicina, β -alanina, ácido γ -aminobutírico y ácido ε -aminocaproico, en KNO_3 .

iv) Una cuestión adicional que se ha analizado se refiere al comportamiento del zwitterion en medios más complejos constituidos por dos electrolitos. Por esta razón se ha considerado el estudio sistemático de la influencia que tanto la composición salina del medio, formado por mezclas de dos electrolitos, como el valor de la fuerza iónica alcanzada en dicho medio, ejercen sobre las constantes de disociación determinadas. Este análisis se llevó a cabo con el estudio de la dependencia de las constantes estequiométricas de equilibrio de la L-Valina en mezclas equimoleculares de KCl-KBr y de KCl-KNO₃, a varias fuerzas iónicas y la α -alanina en mezclas de KNO₃ y yoduro de tetraetilamonio, a fuerza iónica constante, variando la fracción de cada electrolito en la mezcla.

Los resultados descritos en esta memoria han dado lugar a las siguientes publicaciones:

- Dependence of Equilibrium Constants of L-Valine on Ionic Strength According to Guggenheim, Scatchard and Pitzer Models,

I. Brandariz, X.L. Armesto, F. Arce, F. Penedo, M. Sastre de Vicente
Monatsch. Chem., 124, 249 (1993)

- Dependence of the Protonation Constants of β -Alanine on Ionic Strength in KNO₃ According to Pitzer's Formalism,

I. Brandariz, R. Herrero, M. Sastre de Vicente
Ber. Bunsen. Phys. Chem., 97, (1), 59 (1993).

- **Protonation Constants of α -Alanine, γ -aminobutyric Acid, and ε -aminocaproic Acid,**
I. Brandariz, Fiol, S., Herrero, R., Vilarino, T., Sastre de Vicente, M.
J. Chem. Eng. Data, 38, 531, (1993)

- **Pitzer and Thermodynamic Parameters of Triethanolamine and Glycine in Aqueous Saline Solution,**
R. Herrero, I. Brandariz, Fiol, S., M. Sastre de Vicente
Collect. Czech. Chem. Commun., 59, 1269, (1993)

- **Application of Pitzer's and Guggenheim's Formalisms to Acid-base Equilibria of Triethanolamine and L-valine in Mixtures of Electrolytes,**
I. Brandariz, R. Herrero, M. Sastre de Vicente
J. Chim. Phys., 90, 63, (1993)

- **Errors Encountered in the Determination of Pitzer's Parameters from Stoichiometric Equilibrium Constants,**
Herrero, R., I. Brandariz, Fiol, S., Vilarino, T., Sastre de Vicente, M.E.,
An. Quím. 89, 602, (1993)

- **Pitzer's Parameters calculated from Stoichiometric Equilibrium Constants with Commercial H⁺ Electrodes,**
Fiol, S., I. Brandariz, Armesto, X.L., Arce, F., Sastre de Vicente, M.,
Ann. Chim. (Rome), 83, 175, (1993)

- **The protonation Constants of Glycine in NaCl at 25°C Based on the Pitzer and Scatchard Models. Data Analysis by Ridge Regression,**
Fiol, S., I. Brandariz, R. Herrero, Vilarino, T., Sastre de Vicente, M.,
Ber. Bunsen. Phys. Chem., 98, (2), 164 (1994).

- **The Protonation Constants of α -Alanine in Electrolyte Mixtures at a Constant Ionic Strength**
I. Brandariz, Fiol, S., Sastre de Vicente, M.
J. Sol. Chem., enviado (1994)

*Antecedentes
Bibliográficos*

I. Teorías de interacción iónica

I.I. Introducción

Las propiedades características de los electrolitos fuertes pueden describirse sin recurrir al concepto de asociación iónica; tal noción resulta, sin embargo, imprescindible a la hora de estudiar el comportamiento de los electrolitos débiles. Por lo tanto se hace necesario acudir a la combinación de las teorías de interacción iónica con la formulación de los pertinentes equilibrios de disociación cuando se pretende modelizar el comportamiento de sustancias orgánicas parcialmente disociadas en disolución acuosa.¹

De esta forma para un ácido débil AH parcialmente disociado según el equilibrio:



la constante termodinámica K^T viene dada por:

$$K^T = \frac{(A^-) \cdot (H^+)}{(AH)} = \frac{[A^-] \cdot [H^+]}{[AH]} \cdot \frac{\gamma_{A^-} \cdot \gamma_{H^+}}{\gamma_{AH}} = K^* \cdot \prod (\gamma_i)^{\nu_i} \quad (I.2)$$

donde K^* es la constante estequiométrica y el productorio recoge los coeficientes de actividad de las especies que intervienen en el equilibrio. Este último factor puede

expresarse en función de la fuerza iónica del medio utilizando cualquiera de las teorías de interacción iónica disponibles en la bibliografía, lo que evidencia que el conocimiento de las constantes estequiométricas en distintos medios salinos permite obtener información de como varían los coeficientes de actividad con la fuerza iónica. Ahora bien, teniendo en cuenta el estado actual de desarrollo del conocimiento de las disoluciones acuosas, los modelos utilizados para explicar el comportamiento de las disoluciones reales son mayoritariamente semiempíricos ya que los modelos más sofisticados que aporta la mecánica estadística, considerando, por ejemplo, la estructura de las moléculas del disolvente, no han alcanzado un grado de desarrollo suficiente para poder ser aplicados al cálculo rutinario de mezclas complejas.²

En las teorías más sencillas, el coeficiente de actividad iónico medio de un soluto, γ_{\pm} (J), se divide en dos términos³, uno electrostático y otro estadístico, según se recoge en la expresión:

$$\ln \gamma_{\pm}(J) = \ln \gamma_{EL} + \ln \gamma_{ESTAD} \quad (I.3)$$

γ_{EL} engloba las interacciones de largo alcance entre iones de distinta carga. Las ecuaciones usadas para este término tienen su origen en la descripción de las propiedades de las disoluciones diluidas ($I < 0.01$); la más extendida de todas ellas es la deducida por Debye y Hückel en 1923, quienes demuestran que para una disolución diluida en la que la desviación de la idealidad se supone debida únicamente a las interacciones electrostáticas de largo alcance, el coeficiente de actividad iónico medio viene dado por la ecuación:

$$\ln \gamma_{EL}^{(1)} = -A |z_1 z_2| \frac{\sqrt{I}}{(1 + B a_D \sqrt{I})} \quad (I.4)$$

donde I representa la fuerza iónica, A y B son constantes dependientes de la temperatura, la presión y el disolvente y a_D es el diámetro iónico medio.

Por otra parte, a principios de la década de los 70, Pitzer¹ utilizando la mecánica estadística, en lugar de un proceso de carga como el empleado en el desarrollo de la teoría de Debye-Hückel, deduce una expresión mejorada para el coeficiente de actividad, en la que aparece un nuevo término:

$$\ln \gamma_{EL}^{(2)} = -A_{\Phi} |z_1 z_2| \left[\frac{\sqrt{I}}{(1+1.2\sqrt{I})} + \frac{2}{1.2} \ln(1+1.2\sqrt{I}) \right] \quad (1.5)$$

La descripción de $\ln \gamma_{EL}$ según las ecs. 1.4 y 1.5 proporciona una forma matemática adecuada para extrapolar a dilución infinita; sin embargo no hay garantía de que estas mismas ecuaciones describan las interacciones de largo alcance a fuerzas iónicas más altas, aunque cualquier inexactitud debida a ello se corregiría al quedar incluida junto con cualquier interacción ion-disolvente en el término estadístico. Este, a su vez, recoge las interacciones dobles, triples, etc., de corto alcance y se expresa como un desarrollo en serie de potencias del tipo:

$$\ln \gamma_{ESTAD} = \sum_n g_{MX}^{(n)} m_{MX}^{(n)} \quad (1.6)$$

donde $g_{MX}^{(n)}$ es un parámetro de interacción y m_{MX} es la molalidad de la sal MX en disolución.

De todos los modelos el más sencillo es el de Guggenheim en el que se consideran únicamente las interacciones dobles entre iones de distinto signo, en este caso:

$$\ln \gamma_{\pm}(MX) = \ln \gamma_{EL}^{(1)} + g_{MX}^{(1)} m_{MX} \quad (1.7)$$

donde :

$$g_{MX}^{(1)} = \frac{2 \nu_1 \nu_2}{\nu} \cdot B_{1,2}^0 \quad (I.8)$$

siendo ν_i los coeficientes de los iones en la fórmula de la sal y $\nu = \nu_1 + \nu_2$. El parámetro $B_{1,2}^0$ se considera constante aunque, realmente, varía al aumentar la fuerza iónica. Este hecho es tenido en cuenta en modelos más sofisticados como el de Pitzer en el que además de recoger dicha dependencia se añaden más términos al desarrollo en serie.

Otra forma de abordar el problema la constituye el modelo de Scatchard^{5,6} en el que se incluyen más términos en el desarrollo en serie haciendo innecesario que los parámetros g dependan de la fuerza iónica.

Una alternativa diferente que permite explicar las desviaciones de las ecuaciones electrostáticas consiste en considerar que esta discrepancia se debe a la formación de agregados iónicos, con la consiguiente disminución de la concentración de iones libres en disolución; aunque esta última hipótesis no resulta necesaria para explicar las propiedades de electrolitos fuertes, sí lo es para el caso de electrolitos débiles, tal como se mencionó anteriormente.

I.II. Modelo de Guggenheim

Guggenheim desarrolla esta teoría en los años treinta y toma como puntos de partida la ecuación de Debye-Hückel (1923), y el principio de Bronsted de la interacción específica (1922); según éste, la interacción entre iones del mismo signo no depende de los iones de que se trate en particular sino únicamente de sus

cargas, ya que al ser de signos iguales tienden a alejarse y las fuerzas de corto alcance pueden considerarse despreciables. En los de cargas opuestas sí puede ser específica. La ecuación para el coeficiente de actividad de un ion M en una mezcla de electrolitos compleja adquiere la forma¹:

$$\ln \gamma_M = -A z_M^2 \frac{\sqrt{I}}{1+c\sqrt{I}} + 2 \sum_i \beta_{Mi} m_i \quad (I.9)$$

si M e i son del mismo signo $\beta=0$ según el principio de Bronsted. Aunque el valor del coeficiente β es constante hasta una fuerza iónica de aproximadamente 0.1, las desviaciones de la linealidad son pequeñas para la mayoría de los electrolitos hasta $I=2M$.⁴

I.III. Modelo de Scatchard

A principios de la década de los sesenta Scatchard^{5,6} desarrolla una nueva teoría más compleja que la de Guggenheim en la que se tienen en cuenta las interacciones de más de dos partículas. La expresión obtenida para el coeficiente de actividad de un electrolito A en presencia de otro B es:

$$\ln \gamma_{z_A} = \frac{I_A}{\nu_A m_A} [A_A + \alpha_A + (\alpha_B - \alpha_A) y_B + \beta_{AB}^{(0)} + (B_{AB}^{(0)} - \beta_{AB}^{(0)}) y_B^2 + \beta_{AB}^{(1)} y_B + 3(B_{AB}^{(1)} - \beta_{AB}^{(1)}) y_B^2 - 2(B_{AB}^{(1)} - \beta_{AB}^{(1)}) y_B^3] \quad (I.10)$$

donde y representa la fracción de fuerza iónica y los parámetros A, B, α , β son funciones de la fuerza iónica, la temperatura, la presión, el disolvente y las características de los solutos especificados en los subíndices. Los términos A y α recogen las propiedades de las disoluciones de los electrolitos puros, mientras que los B y β aparecen cuando hay mezclas. En este sentido, Scatchard recoge la idea de Friedman⁷ que propone que el exceso de energía libre (de la que derivando

se obtiene $\ln \gamma$) se puede expresar como la suma de dos términos, uno que recoja las contribuciones de cada electrolito puro a igual fuerza iónica (en el aparecerán los términos más complicados, que son función de I , $\ln I$, etc.) y otro que exprese el exceso de energía libre de mezcla expresado como un desarrollo en serie de potencias de la fuerza iónica.

Para una mezcla de dos electrolitos los términos A, que describen las disoluciones puras, son los más importantes, pero existen además una serie de términos B, de los cuales $B^{(0)}$ es sin duda, el más importante; de hecho según Scatchard $B^{(0)}$ y $B^{(1)}$ son suficientes para describir el comportamiento de todas las mezclas binarias por él estudiadas (aunque éstas se limitan en su mayoría a mezclas de electrolitos 1:1). Podrían añadirse más términos en el desarrollo en serie pero con éstos es normalmente suficiente.

La dependencia de A, B, α , y β con la fuerza iónica viene dada por las expresiones:

$$\alpha_j = \frac{2S}{A_j^3 i} [1 + a_j \sqrt{I} - \frac{1}{1 + a_j \sqrt{I}} + 2 \ln(1 + a_j \sqrt{I})] + a_j^{(1)} I + a_j^{(2)} I^2 + a_j^{(3)} I^3 \quad (\text{I.11})$$

$$A_j + \alpha_j = \frac{2S\sqrt{I}}{1 + a_j \sqrt{I}} + 2 a_j^{(1)} I + \frac{3}{2} a_j^{(2)} I^2 + \frac{4}{3} a_j^{(3)} I^3 \quad (\text{I.12})$$

$$\beta_{AB}^{(0)} = b_{AB}^{(0,1)} I + b_{AB}^{(0,2)} I^2 + b_{AB}^{(0,3)} I^3 \quad (\text{I.13})$$

$$\beta_{AB}^{(1)} = b_{AB}^{(1,2)} I^2 + b_{AB}^{(1,3)} I^3 \quad (\text{I.14})$$

$$B_{AB}^{(0)} = b_{AB}^{(0,1)} I + \frac{1}{2} b_{AB}^{(0,2)} I^2 + \frac{1}{3} b_{AB}^{(0,3)} I^3 \quad (\text{I.15})$$

$$B_{AB}^{(1)} = \frac{1}{2} b_{AB}^{(1,2)} I^2 + \frac{1}{3} b_{AB}^{(1,3)} I^3 \quad (\text{I.16})$$

donde los parámetros a y b son constantes que dependen de las especies señaladas en los subíndices y no son función de la fuerza iónica, aunque no deben ser usados para cálculos a fuerzas iónicas mayores que las utilizadas para determinar sus valores; por el contrario la extrapolación a fuerzas iónicas más bajas es menos problemática al haber incluido en las ecuaciones el término de Debye-Hückel. En cuanto al valor del parámetro a_j que aparece en las expresiones I.11 y I.12, Guntelberg y Guggenheim⁵ toman $a_j=1$ para $I < 0.1$; sin embargo Scatchard demuestra que para concentraciones mayores $a_j=1.5$ conduce a mejores resultados. Por otra parte Guggenheim y Stokes⁵ concluyen que para sales de iones polivalentes es preferible tomar este a_j como un parámetro ajustable, lo que es deseable también para electrolitos 1:1 como ha señalado el propio Scatchard.

Pocos años después, Scatchard⁸ publica otro modelo de similares características (un término de Debye-Hückel más desarrollos en serie de la fuerza iónica) pero en el que se expresa el coeficiente de actividad usando como componentes los iones en lugar de los electrolitos.

I.IV. Modelo de Pitzer

En la década de los setenta Pitzer publica otra teoría en la que también se toman los iones como componentes pero que resulta mucho más manejable que las de Scatchard. El coeficiente de actividad de un cation M se expresa como^{1,9}:

$$\begin{aligned}
 \ln \gamma_{M^+} = & z_M^2 f^{\gamma} + 2 \sum_a m_a [B_{Ma} + (\sum m_z) C_{Ma}] + \\
 & + 2 \sum_c m_c \theta_{Mc} + \sum_c \sum_a m_c m_a (z_M^2 B_{ca} + z_M C_{ca} + \psi_{Mca}) \quad (I.17) \\
 & + \frac{1}{2} \sum_a \sum_{a'} m_a m_{a'} (z_M^2 \theta'_{aa'} + \psi_{Maa'}) + \frac{z_M^2}{2} \sum_c \sum_{c'} m_c m_{c'} \theta'_{cc'}
 \end{aligned}$$

Para un ión negativo habría que intercambiar aniones por cationes.

La función f^{γ} recoge las interacciones electrostáticas de largo alcance y es función de la fuerza iónica de la que también depende B, en contraste con las anteriores teorías donde todos los parámetros eran independientes de ella. El parámetro B recoge las interacciones dobles en un electrolito (p.e. B_{aM} representa las interacciones a-a, M-M y a-M) mientras que C da cuenta de las triples⁽¹⁾ (p.e. C_{Ma} representa las interacciones M-M-a y a-a-M). ψ , θ y θ' son parámetros de mezcla, donde θ está asociado a las interacciones entre dos iones del mismo signo (p.e. θ_{Mc} da cuenta de la interacción M-c, M-M y c-c, siendo ambos cationes) mientras θ' es su derivada con respecto a la fuerza iónica ($\theta' = d\theta/dI$); este parámetro es, normalmente, omitido (excepto si hay mezclas de iones mono y trivalentes o similares) con lo cual θ se considera constante. Por otra parte ψ responde a las interacciones entre tres iones (p.e. ψ_{Mca} representa las interacciones M-c-a, M-M-a y c-c-a). Si el principio de Bronsted fuese correcto estos últimos términos serían nulos; pues bien, de hecho a veces son pequeños o despreciables, pero hay casos en los que son imprescindibles para ajustar los datos experimentales. Las interacciones triples entre iones del mismo signo no han sido tenidas en cuenta ya que son, normalmente, muy pequeñas.

⁽¹⁾ En muchas ocasiones en lugar de C se maneja el parámetro C^{ϕ} , ambos están relacionados por la expresión: $C_{MX}^{\phi} = C_{MX}^{\phi} / 2 |z_M z_X|^{1/2}$

Las expresiones para f^{γ} y B en función de la fuerza iónica son, según la teoría de Pitzer:

$$f^{\gamma} = -A_{\phi} \left[\frac{\sqrt{I}}{1+1.2\sqrt{I}} + \frac{2}{1.2} \ln(1+1.2\sqrt{I}) \right] \quad (I.18)$$

$$B = \beta^{(0)} + \frac{\beta^{(1)}}{2 \cdot I} [1 - (1 + 2\sqrt{I}) \exp(-2\sqrt{I})] \quad (I.19)$$

La función B' se obtiene derivando B respecto a la fuerza iónica. En el caso particular de los electrolitos 2:2, en los que existe tendencia a la formación de pares iónicos, el ajuste de los datos experimentales hace necesario añadir un término $\beta^{(2)}$ en la expresión de B.

Bibliografía

1. Pitzer, K.S., Theory: Ion Interaction Approach in Pytkowicz R.M. (ed) Activity Coefficients in Electrolyte Solutions, C.R.C. Press Inc., Boca Raton, Florida, (1979)
2. Clegg, S.L., Whitfield, M., Activity Coefficients in Natural Waters, in Activity Coefficients in Electrolyte Solutions, ed. Pitzer, K.S. 2nd Ed., C.R.C Press, Boca Raton, Florida, (1991).
3. Whitfield, M., Activity Coefficients in Natural Waters in Pytkowicz R.M. Activity Coefficients in Electrolyte Solutions, C.R.C.Press, Boca Raton, Florida, (1979)
4. Whitfield, M., *Mar.Chem.*, 1, 251,(1973)
5. Scatchard, G., *J.Am.Chem.Soc.* 83, 2636 (1961)
6. Wu, Y.C., Rush, R.M., Scatchard, G., *J.Phys.Chem.*, 72(12), 4048 (1968), *id.*, 73(6), 2047 (1969)
7. Friedman, H.L. Ionic Solution Theory, Interscience Publishers 1962, New York, London

8. Scatchard, G., Rush, R.M., Johnson, J.S., *J.Chem.Phys.*, 74(21), 3786, (1970)

9. Pitzer, K.S. *J.Phys.Chem.*, 77, (2), 268 (1973), Pitzer, K.S, Mayorga, G., *J.Phys.Chem.* 77, (19), 2300 (1973),

II. Zwitteriones: Comportamiento y Estructura

II.I. Comportamiento ácido-base de los aminoácidos

Küster empleó en 1897 el término *zwitterion* para describir la naturaleza de ciertos indicadores, tales como el naranja de metilo, que actúan como si tuvieran un grupo ácido y otro básico completamente ionizados en cada molécula.¹

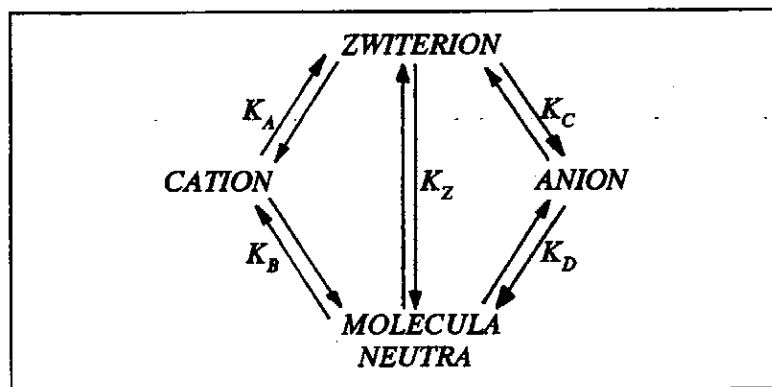
El hecho de que se forme este tipo de sustancias depende de la magnitud relativa de los pK de los grupos a ionizar: una molécula que tenga un pK_a ácido numéricamente inferior al pK_b básico se presentará en forma zwitteriónica, en la extensión en que los grupos ácido y básico sean capaces de neutralizarse mutuamente. En las sustancias anfóteras ordinarias la interacción entre los grupos es menos importante ya que solo se ioniza uno de cada vez. Además, el comportamiento ácido-base es justamente opuesto en ambos tipos de sustancias, así cuando un *zwitterion* o ion dipolar se valora con ácido el protón se añade al grupo carboxílico, mientras que si se añade base se arranca el protón del grupo $-NH_3^+$ (en el caso de un aminoácido); por el contrario en una sustancia anfótera al añadir ácido se neutraliza el grupo básico y viceversa. Una sustancia zwitteriónica se caracteriza, además, por ser más soluble en agua, menos soluble en disolventes orgánicos y tener un punto de fusión más elevado que los compuestos relacionados con un solo grupo a ionizar. Aunque estos signos son insuficientes para asegurar la presencia de un *zwitterion*, ya que pueden

encontrarse en sustancias que aunque no sean iones dipolares presenten un elevado momento dipolar. Es precisamente el momento dipolar elevado, al menos 15 Debyes, otra característica de este tipo de sustancias aunque hay que considerar con cuidado esta propiedad ya que se han encontrado series de zwitteriones aromáticos con momentos dipolares mucho más bajos, p.e. la p-metoxifenil glicina posee un momento dipolar de, aproximadamente, 2 Debyes¹.

Una prueba más efectiva la constituye el hecho de que el pK de uno de los grupos varía marcadamente en relación con el correspondiente a las moléculas en las que solo aparece dicho grupo; así por ejemplo, para la glicina $pK_1 = 2.4$ mientras que para el ácido acético es $pK = 4.8$, ya que el grupo amino ionizado atrae la carga y estabiliza el grupo aniónico; de forma similar el grupo $-NH_3^+$ posee un pK de 9.7 mientras que para el ester $^+H_3N-CH_2-COOCH_3$ el valor es 7.7 debiéndose esta diferencia a la carga del grupo $-COO^-$.

En el caso de aminoácidos, una prueba interesante la constituye la determinación de los pK en mezclas de agua con disolventes menos polares, como alcoholes, cuyo efecto consiste en disminuir la ionización de sustancias neutras (sin separación de cargas). Sin embargo, debido a que el zwitterion presenta asimetría de carga el efecto del cambio de disolvente sobre la posición del equilibrio es diferente; aunque, por otra parte, la proporción molécula neutra-zwitterion aumenta al aumentar la proporción de disolvente no polar. Este hecho permite deducir la proporción entre ambas formas en los distintos medios; un ejemplo ilustrativo se da en la referencia ², donde, además, se hace patente la utilidad de los espectros de absorción U.V. para determinar la presencia y proporción de zwitteriones.

Todos los posibles equilibrios entre zwitterion, forma neutra, catión y anión de un aminoácido se representan en el siguiente esquema¹:



Los valores de pK determinados experimentalmente para sustancias zwitteriónicas se denominan normalmente *constantes macroscópicas* porque describen solamente una combinación de los procesos que realmente ocurren.

Si se representa el catión por R^+ , el anión por R^- , el zwitterion por R^\pm , y la molécula neutra por R , entonces las constantes "microscópicas" del esquema anterior vienen dadas por³:

$$\begin{aligned} K_A &= \frac{(H^+)(R^\pm)}{(R^+)} & K_B &= \frac{(H^+)(R)}{(R^\pm)} \\ K_C &= \frac{(H^+)(R^-)}{(R^\pm)} & K_D &= \frac{(H^+)(R^-)}{(R)} \end{aligned} \quad (\text{II.1})$$

de donde la constante del zwitterion K_Z puede expresarse como:

$$K_Z = \frac{(R^\pm)}{(R)} = \frac{K_A}{K_B} = \frac{K_D}{K_C} \quad (\text{II.2})$$

Las constantes macroscópicas de disociación determinadas potenciométricamente, K_1 y K_2 , están relacionadas con las anteriores por las expresiones:

$$\begin{aligned}
 K_1 &= \frac{(H^+)[(R^+) + (R)]}{R^+} & K_1 &= K_A + K_B \\
 K_2 &= \frac{(H^+)(R^-)}{[(R^+) + (R)]} & \frac{1}{K_2} &= \frac{1}{K_C} + \frac{1}{K_D}
 \end{aligned}
 \tag{II.3}$$

por lo tanto conociendo K_1 y K_2 y al menos una de las constantes microscópicas se pueden determinar las demás. Una forma de obtener K_2 se presenta cuando la sustancia absorbe en el ultravioleta; en estos casos, la experiencia demuestra que el espectro del éster es idéntico al de la especie neutra del ácido correspondiente; no obstante el del catión del éster y del ácido son casi idénticos al del ácido en su forma zwitteriónica. El valor de K_2 viene dado por:

$$K_2 = \frac{\epsilon_{\text{éster}} - \epsilon_{\text{mol}}}{\epsilon_{\text{mol}} - \epsilon_{\text{cation}}}
 \tag{II.4}$$

donde ϵ_{mol} se obtiene restando de la absorbancia en el punto isoeléctrico la contribución de las especies aniónicas y catiónicas presentes.

Ahora bien, muchas sustancias zwitteriónicas no poseen espectros a partir de los que se pueda obtener K_2 ; en estos casos se suele suponer que la constante de disociación, K_E , del éster metílico o etílico correspondiente es aproximadamente igual a la de la especie neutra, con lo que $K_E = K_B$ y todas las demás constantes se pueden obtener de las ecuaciones anteriores. En el caso de aminoácidos alifáticos la proporción de la forma zwitteriónica es abrumadora frente a la forma neutra, así para la glicina es aproximadamente 250.000 veces mayor y para el ácido ϵ -aminocaproico 1.000.000 de veces⁽¹⁾, como se desprende de los datos de la tabla adjunta³:

⁽¹⁾cualquier inexactitud debida a la aproximación mencionada ($K_E = K_B$) es despreciable dado el enorme valor de K_2

TABLA II.1.- Valores de pK_z calculados a partir de pK_1 , pK_2 y pK_E

SUSTANCIA	pK_1	pK_2	pK_E	pK_z
glicina	2.31	9.72	7.73	5.42
leucina	2.34	9.64	7.63	5.29
β -alanina	3.60	10.19	9.13	5.53
ác γ -amino-butírico	4.23	10.43	9.71	5.48
ác. ϵ -amino-caproico	4.43	10.75	10.37	5.94

II.II. Interpretación teórica de las propiedades de los iones dipolares

En la década de los treinta Kirkwood publica varios artículos en los que trata de desarrollar una teoría que explique el comportamiento de los iones dipolares o zwitteriones en base a su peculiar estructura. Un interesante resumen de todas sus ideas al respecto viene recogida en la referencia⁴.

Kirkwood supone que la desviación de la idealidad de las disoluciones en las que se presentan iones dipolares se debe únicamente a la presencia de fuerzas intermoleculares de origen electrostático en un disolvente considerado como un continuo sin estructura. El coeficiente de actividad del zwitterion, despreciando las interacciones mutuas entre los iones dipolares, se obtiene usando la ecuación de Poisson-Boltzman tal y como se hace en la teoría de Debye-Hückel. La expresión obtenida para un zwitterion de geometría esférica, con radio b y momento dipolar μ , es:

$$\log \gamma_i = -K_{Ri} I$$

$$K_{Ri} = \frac{2 \pi N_{AV} e^2}{\ln 10 D k T} \left[\frac{2 \mu^2}{3 D a k T} - \frac{b^3 \alpha(\rho)}{a} \right] \quad (\text{II.5})$$

$$\alpha(\rho) = \frac{1}{3\rho^4} [(\rho^3 - 2) \log(1 + \rho) - (\rho^3 + 2) \log(1 - \rho) - 2\rho^2]$$

donde I es la fuerza iónica, k la constante de Boltzman, T la temperatura, D la constante dieléctrica, e la carga del electrón y $\rho = b/a$, siendo a la suma de los radios del ion y del zwitterion.

Si se considera el ion dipolar de forma elipsoidal con dos cargas $+e$ y $-e$ situadas en los focos la expresión obtenida para el coeficiente de actividad es:

$$\log \gamma_i = -K_{Ri} I$$

$$K_{Ri} = \frac{2 \pi N_{AV} e^4 g(\lambda_0) R}{\ln 10 (D k T)^2} \quad (\text{II.6})$$

$$g(\lambda_0) = \lambda_0^{-2} \left[\lambda_0 - \frac{(\lambda_0^2 - 1)}{2} \log \frac{(\lambda_0 + 1)}{(\lambda_0 - 1)} \right]^{-1}$$

donde $1/\lambda_0$ es la excentricidad del elipsoide y R la distancia interfocal (estas ecuaciones son exactas solamente en los casos límite, esto es, cuando la excentricidad es cero o uno).

Otro modelo considera también la molécula elipsoidal pero con una distribución de carga consistente en un dipolo puntual de momento dipolar μ , situado en uno de los focos y paralelo al eje mayor. Las ecuaciones obtenidas son:

$$\log \gamma_i = -K_{Ri} I$$

$$K_{Ri} = \frac{3 \pi N_{AV} e^2 u(\lambda_0) \mu^2}{\ln 10 (DkT)^2 R} \quad (\text{II.7})$$

$$u(\lambda_0) = \frac{8}{9} \frac{1 + 2(\lambda_0^2 - 1)^{-1} + 8(\lambda_0^2 - 1)^{-2}}{\lambda_0(\lambda_0^2 - 1) \left[\lambda_0 - \frac{(\lambda_0^2 - 1)}{2} \log \frac{(\lambda_0 + 1)}{(\lambda_0 - 1)} \right]^2}$$

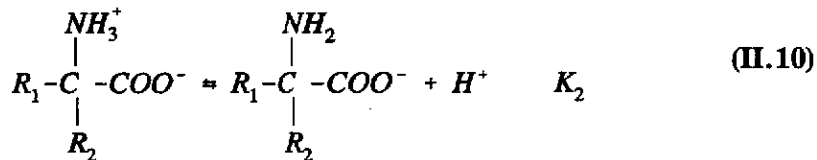
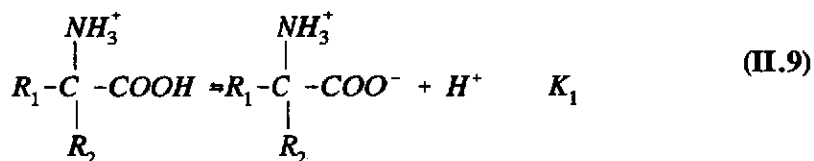
Kirkwood aplicó las ecuaciones de los modelos esférico y el primero de los modelos elipsoidales al zwitterion de la glicina y también a los péptidos di- y triglicina. Usando los datos experimentales de Scatchard y Cohn⁴ y sustituyendo el valor de las constantes universales, determinó el valor de R, el cual parece indicar que la separación entre las cargas es menor que para la conformación más extendida de estas moléculas, por lo que debe haber rotación interna en las mismas. Utilizando el último modelo, el mencionado autor calculó, nuevamente, a partir de datos obtenidos por Cohn, un momento dipolar para varios α -aminoácidos (glicina, α -alanina, leucina, ác. α -aminobutírico) de unos 13 D., valor que resulta ser aproximadamente igual para todos ellos, como era de esperar y que discrepa del valor 15 D., que se obtiene para la glicina empleando el modelo esférico.

Por tanto, el coeficiente de actividad de los zwitteriones, al igual que el de las especies no cargadas⁵, se considera como una función lineal de la fuerza iónica³. Sin embargo, un caso interesante se presenta cuando las cargas del zwitterion están lo suficientemente alejadas como para comportarse de forma independiente. Salvatore et al.⁶ han estudiado las constantes estequiométricas de algunos indicadores ácido-base llegando a la conclusión de que el coeficiente de actividad de moléculas como el naranja o el rojo de metilo en un electrolito 1:1, XK, pueden expresarse, según la teoría de Guggenheim, como:

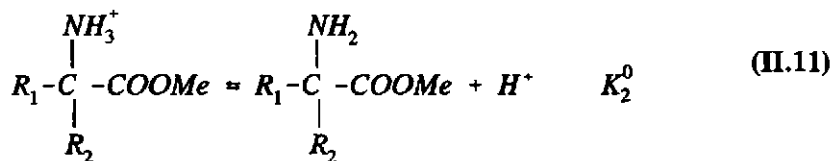
$$\ln \gamma_{Z^{\pm}} = -2A \frac{\sqrt{I}}{1+1.5\sqrt{I}} + 2(\beta_{Z^{\pm},X^{-}} + \beta_{Z^{\pm},K^{+}})I \quad (\text{II.8})$$

donde Z^{\pm} representa al zwitterion. El comportamiento del ion dipolar es el mismo que si se tratase de dos iones independientes de distinto signo, por lo que hay que considerar la interacción del ion positivo con el anión del electrolito, β_{ZX} , y del negativo con el catión, β_{ZK} . No es difícil predecir que pueden surgir complicaciones al tratar de modelizar el coeficiente de actividad cuando las cargas no están muy próximas, pero tampoco lo suficientemente alejadas como para comportarse de forma independiente.

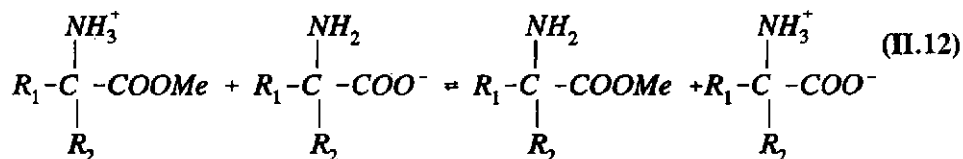
Un cálculo aproximado de la distancia entre las cargas de un zwitterion fue llevado a cabo por Kirkwood para algunos aminoácidos, basándose en ΔpK entre pK_2 y el pK del éster correspondiente. Los equilibrios ácido-base de un aminoácido pueden representarse como:



El equilibrio del éster metílico correspondiente es:



donde Me representa al grupo metilo. Entonces para la reacción:



la variación de energía libre de Gibbs estándar es:

$$\Delta G^0 = -N_{AV} k T \ln \frac{K_2^0}{K_2} \quad (\text{II.13})$$

y desde el punto de vista molecular representa el promedio del trabajo necesario para efectuar la transferencia del protón entre las especies que figuran en la ecuación II.12; dado que el éster y el aminoácido presentan el mismo grupo básico se puede suponer que la contribución principal a ΔG^0 se debe a la interacción electrostática entre el protón y la carga negativa del grupo carboxílico, por lo que si R es la distancia entre ambos, se cumple que:

$$\Delta G^0 = -\frac{N \cdot e^2}{D' \cdot R} \quad (\text{II.14})$$

donde D' es una constante dieléctrica efectiva, que se puede calcular para moléculas esféricas y elipsoidales, tal como hicieron Kirkwood y Westheimer^{7,4}. Combinando las ecs. II.13 y II.14, se obtiene:

$$\Delta pK = -\frac{e^2}{\ln 10 D'kTR} \quad (\text{II.15})$$

donde $\Delta pK = pK_2 - pK_2^0 = \ln 10 \ln K_2^0 / \ln K_2$.

Los resultados para R así calculados se encuentran en la tabla II.2:

TABLA II.2.- Distancia entre los grupos amino y carboxílico (R), calculados a partir de ΔpK y los correspondientes a la rotación libre.

	ΔpK	R	R_f
glicina	2.02	4.05	3.56
β -alanina	1.06	5.15	4.19
ác. γ -amino-butírico	0.72	6.10	4.72
ác. ϵ -amino-caproico	0.38	7.85	5.63

donde R_f representa el valor de la distancia para la rotación libre en la molécula.

A la vista de estos datos se puede deducir que las constantes de disociación están en entera armonía con la hipótesis de los iones dipolares.

Bibliografía

1. Albert, A., Serjeant, E.P., The Determination of Ionization Constant, A Laboratory Manual, 3rd Ed. Chapman and Hall, London, New York, 1984.
2. Niazi, M.S.K., Mollin, J., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 2605, (1987)
3. Edsall, J.T., Dipolar Ions and Acid-Base Equilibria (capítulo 4), en *Proteins, Amino Acids, and Peptides as Dipolar Ions*, Cohn, E.J., Edsall, J.T. Editores, Reinhold Publishing Corporation, New York, 1943
4. Kirkwood, J.G., The Theoretical Interpretation of the Properties of Solution of Dipolar Ions (capítulo 12), en *Proteins, Amino Acids, and Peptides as Dipolar Ions*, Cohn, E.J., Edsall, J.T. Editores, Reinhold Publishing Corporation, New York, 1943
5. Long, F.A., McDevit, W.F., *Chem. Rev.*, **51**, 119 (1952)
6. Salvatore, S., Ferri, D., Palombari, R., *J. Sol. Chem.*, **15**, 423 (1986)

7. Edsall, J.T., Some Relations between Acidity and Chemical Structure (capítulo 5), en Proteins, Amino Acids, and Peptides as Dipolar Ions, Cohn, E.J., Edsall, J.T. Editores, Reinhold Publishing Corporation, New York, 1943

Parte Experimental

III. Procedimiento experimental

III.1. Cálculo de las constantes estequiométricas

Los equilibrios a considerar en un aminoácido con dos grupos disociables son los siguientes:



donde para simplificar AH representa al zwitterion, AH_2^+ es la molécula del aminoácido protonada y A^- es su anión. Las constantes correspondientes a estos equilibrios son:

$$K_1^T = \frac{(AH)(H^+)}{(AH_2^+)} = \frac{\gamma_{AH}\gamma_{H^+}}{\gamma_{AH_2^+}} \frac{[AH][H^+]}{[AH_2^+]} = K_1^\gamma \cdot K_1^* \quad (III.3)$$

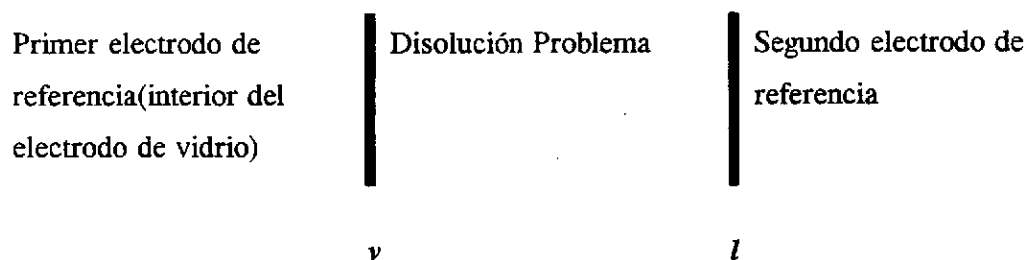
$$K_2^T = \frac{(A^-)(H^+)}{(AH)} = \frac{\gamma_{A^-}\gamma_{H^+}}{\gamma_{AH}} \frac{[A^-][H^+]}{[AH]} = K_2^\gamma \cdot K_2^* \quad (III.4)$$

donde K^T representa las constantes termodinámicas del aminoácido correspondiente que dependen de la temperatura, la presión y el disolvente; los términos K^* , que representa las constantes estequiométricas y K^γ que recoge la influencia de los

coeficientes de actividad, dependen además de la fuerza iónica de la disolución.

Cualquier método que permita conocer con la suficiente precisión la concentración de al menos una de las especies presentes en el equilibrio, proporciona la información necesaria, junto con la composición analítica de la disolución, para calcular la concentración de todas las especies restantes y por tanto la constante de equilibrio estequiométrica.

Una de las técnicas más interesantes a este respecto es, sin duda, la valoración potenciométrica con electrodo de vidrio¹, que permite conocer en cada punto de la valoración la concentración de protones. Para ello es necesario llevar a cabo el calibrado de dicho electrodo con el fin de obtener la relación entre el potencial que mide el pHmetro y la concentración de protones del medio. Es interesante que el calibrado se lleve a cabo en función de la concentración de protones y no de actividades² para evitar los errores inherentes al uso de la escala de pH.³ El sistema formado por la disolución de trabajo y el electrodo de vidrio puede representarse según el siguiente esquema:



donde v y l indican, respectivamente la membrana de vidrio y la unión líquida entre el puente salino y la disolución de trabajo. Existen cuatro contribuciones a la diferencia de potencial medida entre los dos electrodos de referencia. Dos surgen de los electrodos de referencia, tienen signos opuestos y normalmente magnitudes comparables, aunque lo más importante es que su contribución es independiente de la

disolución de trabajo y tiene, por tanto, un valor fijo, simbolizado aquí por E_r . Por otra parte existen sendas diferencias de potencial generadas a través de los límites v y l , que dependen de las actividades de las especies a cada lado de la membrana, y que se denotarán como E_v y E_l , con lo que la diferencia de potencial total de la célula se puede expresar como:

$$E_{célula} = E_r + E_l + E_v \quad (\text{III.5})$$

En el caso del potencial de unión líquida se requieren cambios considerables en la composición de la disolución de trabajo para que éste se altere significativamente, por lo que puede considerarse constante. En cuanto al electrodo de vidrio, se encuentra experimentalmente que exhibe una respuesta nernstiana, por lo que la ecuación anterior puede reescribirse:

$$E_{célula} = E_r + E_l + E_v^0 + p \log(H^+) \quad (\text{III.6})$$

donde E_v^0 representa el potencial estándar del electrodo de vidrio, $p=59.16\text{mV}$ es la pendiente nernstiana y (H^+) representa la actividad de protones. Ahora bien, si la fuerza iónica de la disolución permanece constante, el coeficiente de actividad del protón también es constante y la ecuación III.6 se convierte en:

$$E_{célula} = E^0 + p \log[H^+] \quad (\text{III.7})$$

$$E^0 = E_r + E_l + E_v^0 + p \log \gamma_H$$

Una forma usual de llevar a cabo el calibrado es añadir base sobre ácido, ambos de concentración conocida, y fuerza iónica ajustada⁴. Antes del punto de equivalencia la concentración de protones viene dada por:

$$[H^+] = \frac{c_a V_0 - c_b v}{V_0 + v} \quad (\text{III.8})$$

siendo c_a la concentración del ácido, c_b la de la base, V_0 el volumen inicial y v el volumen añadido en cada punto de la valoración. Después del punto de equivalencia se cumple:

$$[OH^-] = \frac{c_b v - c_a V_0}{V_0 + v} \quad (\text{III.9})$$

como :

$$K_w^* = [H^+][OH^-] \quad (\text{III.10})$$

entonces:

$$[H^+] = \frac{K_w}{[OH^-]} = \frac{K_w (V_0 + v)}{(c_b v - c_a V_0)} \quad (\text{III.11})$$

Sustituyendo en la ec.III.7 las expresiones para la concentración de protones antes y después del punto de equivalencia se puede obtener E^0 , K_w , y p , para ambos ajustes. Resulta recomendable usar el intervalo $p[H^+] = 2.3-2.9$ en medio ácido y $p[H^+] = 10.8-11.3$ en medio básico, zonas en las que experimentalmente se demuestra que la respuesta frente a E es lineal.²

Operando de esta forma, de la representación E vs. $p[H^+]$ se obtienen, normalmente, valores de p desviados de 59.16mV., que es el valor correcto para la pendiente nernstiana a 25°C, tanto en medio ácido como en básico. Este fenómeno es debido a la combinación de errores relativamente pequeños en el valor de las concentraciones de ácido y base, que sin embargo provocan desviaciones importantes en el valor de la pendiente.^{2,4} Existen al menos dos formas de subsanar este problema, una de ellas descrita en la ref² consiste en usar un programa de ordenador que corrija

las concentraciones de ácido y base hasta obtener la pendiente nernstiana, la otra consiste en realizar el calibrado añadiendo ácido o base sobre una disolución que contenga únicamente el electrolito inerte, evitando así la mencionada combinación de errores⁴. Si se añade ácido de concentración c , sobre un volumen V_0 de disolución de electrolito inerte:

$$[H^+] = \frac{c\nu}{V_0 + \nu} \quad (\text{III.12})$$

el calibrado en medio básico permitiría, en principio, obtener K_w , aunque con el calibrado ácido es suficiente para conocer E^0 . Utilizando este procedimiento se constata que la pendiente coincide con la nernstiana dentro del error experimental.

Una vez determinado el potencial formal del sistema, E^0 , la ec. III.7 permite calcular $[H^+]$ sustituyendo el potencial, E , medido en cada punto de la valoración de la sustancia problema.

En el caso particular de un aminoácido la valoración se puede realizar de dos formas distintas⁽¹⁾:

- Valorar una disolución de aminoácido con ácido estandarizado, lo que implica la protonación de la especie AH , ec.III.1 y permite calcular pK_1 , y en otra experiencia añadir base sobre una disolución de aminoácido, lo que supone arrancar un protón a la especie AH , ec.III.2 y permite calcular pK_2
- Valorar con base una disolución de aminoácido protonado (aminoácido + ácido fuerte), con lo que se sustraen sucesivamente dos protones a la especie AH_2^+ y se calculan ambos pK en una misma experiencia .

⁽¹⁾ Todas las disoluciones empleadas en una misma experiencia tienen idéntica fuerza iónica, determinada por un exceso de electrolito inerte y son de concentración conocida.

En principio resulta más interesante esta segunda opción ya que permite un interesante ahorro de tiempo en la determinación rutinaria de ambas constantes. El pK en cada punto de la valoración se calcula a partir de los balances de cargas y de conservación de materia aplicados a las especies presentes en los equilibrios.¹

Se parte de un volumen inicial, V_0 , de disolución de concentración c_0 de aminoácido y a_0 de ácido XH, que se valora con una disolución de base MOH, de concentración c_b . La condición de neutralidad eléctrica de la disolución se expresa mediante la siguiente igualdad:

$$[AH_2^+] + [H^+] + [M^+] = [X^-] + [OH^-] \quad (\text{III.13})$$

donde $[X^-]$ es igual a la concentración inicial de ácido HX que se añade al aminoácido.

Por otra parte como el aminoácido se encuentra en forma neutra y protonada se cumple:

$$c_0 = [AH_2^+] + [AH] \quad (\text{III.14})$$

Despejando los valores de $[AH]$ y $[AH_2^+]$ de las ecuaciones III.13 y 14:

$$[AH_2^+] = a_0 + [OH^-] - [H^+] - [MOH] \quad (\text{III.15})$$

$$[AH] = c_0 - [AH_2^+] \quad (\text{III.16})$$

sustituyendo cada concentración en la expresión de K_1^* , definida en la ecuación III.3, se obtiene:

$$K_1^* = [H^+] \frac{c_0 - a_0 - [OH^-] + [H^+] + [MOH]}{a_0 + [OH^-] - [H^+] - [MOH]} \quad (\text{III.17})$$

Teniendo en cuenta que el volumen en que están contenidas todas las especies es el mismo, las concentraciones en el numerador y el denominador de la fracción pueden sustituirse por el número de moles, o mejor, de milimoles de cada sustancia y el resultado es:

$$K_1^* = [H^+] \frac{a-B}{B} \quad (\text{III.18})$$

donde B viene dado por la expresión:

$$B = c + (V_0 + v_b) \cdot \left(\frac{K_w}{[H^+]} - [H^+] \right) - c_b \cdot v_b \quad (\text{III.19})$$

$$[H^+] = 10^{(E - E^0)/59.16} \quad (\text{III.20})$$

siendo:

a = número de milimoles iniciales de aminoácido

c = número de milimoles iniciales de ácido

v = volumen inicial de disolución en la célula de valoración (ml)

v_b = volumen de base añadido (ml)

c_b = concentración de base (moles/litro)

K_w = producto iónico del agua

Análogamente para el segundo equilibrio la condición de neutralidad eléctrica de la disolución y la de conservación de la masa permiten establecer las siguientes ecuaciones:

$$c_0 = [A^-] + [AH] \quad (\text{III.21})$$

$$[X^-] + [OH^-] + [A^-] = [H^+] + [M^+] \quad (\text{III.22})$$

Operando de la misma forma que para el primer equilibrio se obtiene:

$$K_2^* = [H^+] \cdot \frac{A}{a-A} \quad (\text{III.23})$$

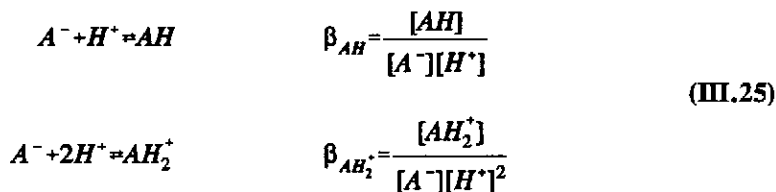
donde el parámetro A es:

$$A = c_b \cdot v + (V_0 + v_b) \left([H^+] - \frac{K_w}{[H^+]} \right) - c \quad (\text{III.24})$$

Las ecuaciones III.18 y 23 permiten calcular pK_1^* y pK_2^* de un aminoácido a partir de los datos de la correspondiente valoración potenciométrica.

En cualquier caso el cálculo de constantes a partir de valoraciones potenciométricas se suele llevar a cabo utilizando una gran variedad de programas de ordenador especialmente diseñados para ello. Uno de los que más se ha utilizado en los últimos años es el MINQUAD, cuya primera versión fue publicada en 1974.⁵

En realidad este y otros programas usan ecuaciones análogas a las que se han deducido anteriormente, aunque con la finalidad de aplicarlas de la forma más general posible resulta más adecuado manejar las constantes de formación acumulativas, que en el caso de un aminoácido son:



su relación con las constantes ya definidas es:

$$\begin{aligned} \beta_{AH} &= \frac{1}{K_2} & o & \log \beta_{AH} = pK_2^* \\ \beta_{AH_2} &= \frac{1}{K_2 \cdot K_1} & o & \log \beta_{AH_2} = pK_1^* + pK_2^* \end{aligned} \quad (\text{III.26})$$

Para el caso general de una reacción como:



las constantes de formación sucesivas adquieren la forma:

$$\beta_{abc\dots} = \frac{[A_a B_b C_c \dots]}{[A]^a [B]^b [C]^c \dots} \quad (\text{III.28})$$

Para cada punto experimental de la curva de valoración se puede escribir un sistema con las ecuaciones del balance de masa, para el caso general:

$$\begin{aligned} C_A &= [A] + \sum a \beta_{abc\dots} [A]^a [B]^b [C]^c \dots \\ C_B &= [B] + \sum b \beta_{abc\dots} [A]^a [B]^b [C]^c \dots \\ &\text{etc.} \end{aligned} \quad (\text{III.29})$$

donde C_a, C_b, \dots representan la concentración de los reactivos A, B, ...

El programa MINQUAD calcula los valores de las constantes de formación acumulativas, β , que hacen mínima la suma de los cuadrados de los residuos entre las concentraciones analíticas observadas y las calculadas:

$$U = \sum_i (C_i^{obs} - C_i^{calc})^2 \quad (\text{III.30})$$

donde el sumatorio abarca las ecuaciones de balance de materia de todos los puntos experimentales.

El programa lee los datos de la valoración y las estimaciones iniciales para las constantes. En cada punto de la valoración la concentración de una o dos especies se mide potenciométricamente (si se usa un electrodo de vidrio se conoce en cada punto la concentración de protones gracias al calibrado, pero también se pueden usar simultáneamente otro electrodo y procesar la información conjuntamente), la concentración de las restantes se conoce resolviendo el sistema de ecuaciones de los balances de masa. Estas concentraciones se usan como valores iniciales en el proceso de minimización, que concluye con la obtención de aquellos valores de las constantes de formación que hagan mínima la suma de los cuadrados de los residuos de todas las ecuaciones de los balances de masa.

Existe una gran cantidad de programas que al igual que el MINIQAD se utilizan para el refinamiento de constantes potenciométricas.⁶ Las diferencias se basan en el uso de distintos algoritmos para el proceso de minimización, en la consideración o no de un factor de peso estadístico para disminuir la importancia de los puntos que vienen acompañados de un mayor error (p.e. los cercanos al punto de equivalencia) y además en el hecho de que es posible definir la función U como suma de los cuadrados de los residuos de otras variables, como potenciales, volúmenes, etc., en lugar de concentraciones. De hecho no existe un criterio unánime en el trabajo potenciométrico acerca de que función es la más adecuada para expresar los residuos. Si como hace el MINIQAD, se usan las concentraciones, se está suponiendo que los valores de potencial son exactos, en cambio si se definen los residuos en función de los valores de potencial, se consideran las concentraciones libres de error. Evidentemente ambos procedimientos son en parte incorrectos ya que ninguno de los parámetros es exacto y los errores aunque aleatorios se convierten en sistemáticos para todos los puntos correspondientes a una misma curva de valoración. Por ello es necesaria una gran precaución a la hora de expresar las constantes calculadas por el programa con sus correspondientes desviaciones, ya que es frecuente que estas afecten a la tercera o cuarta cifra decimal del pK cuando son obtenidas para una sola curva

de valoración, mientras que si se analizan los datos de varias experiencias se encuentra un error mayor. Es, por tanto, recomendable calcular el promedio y la desviación a partir de los valores obtenidos en distintas experiencias, ya que existen errores sistemáticos inevitables en cada experimento. Como consecuencia de este hecho los errores en los datos de la curva de valoración pueden dejar de presentar una distribución normal. Algunos de los errores sistemáticos que pueden aparecer en las determinaciones potenciométricas atañen a:

- a) el calibrado del electrodo,
- b) preparación y valoración de las disoluciones,
- c) uso de reactivos contaminados (particularmente disoluciones alcalinas carbonatadas),
- d) cambios de temperatura,
- e) la calidad del agua,
- f) cambios en la fuerza iónica que afectan a las actividades,
- g) potenciales de unión líquida, e
- h) imperfecciones en la selectividad del electrodo.

Obviamente la mejor solución para evitar los errores sistemáticos es un cuidadoso trabajo experimental, aunque nunca es posible eliminarlos por completo. El refinamiento de los parámetros nunca puede sustituir a un cuidadoso procedimiento experimental, o dicho de otra forma, aunque se pretenda extraer de los datos experimentales la mayor cantidad de información posible, esta información nunca será mejor que los datos de los que ha sido obtenida.⁷ De hecho se ha llegado a afirmar⁸ que el efecto de la propagación de los errores sistemáticos es, por sí solo, capaz de causar las discrepancias que comúnmente afectan a las constantes de formación encontradas en bibliografía.

Por otra parte, si se tiene en cuenta, como se mencionó anteriormente, que no todos los puntos experimentales de una valoración tienen la misma importancia debería considerarse *el peso* estadístico de cada punto para disminuir la influencia sobre los parámetros optimizados de aquellos con mayor error experimental. Aunque

este factor de peso estadístico es normalmente ignorado, como en el caso del MINQUAD, este hecho no parece preocupante por dos motivos: primero que, por lo menos aparentemente, las funciones de residuos basadas en las concentraciones que omiten el factor estadístico no difieren apenas de las que lo consideran y segundo que aunque se considere este factor no se obtienen buenos resultados a menos que los errores sistemáticos hayan sido eliminados.⁹

III.II. Aparatos y reactivos

Todas las experiencias se llevaron a cabo en una célula con doble pared por la que circulaba agua procedente de un termostato a 25.0 ± 0.1 y se hacía burbujear nitrógeno del 99.999% de pureza con el fin de eliminar el CO_2 y agitar la disolución. Para la adición del valorante se usó una bureta CRISON microBU 2031 con jeringas de 2.5 y 10 ml. , que estaba controlada por un ordenador TANDON PAC 286, por medio del programa ALIA¹⁰, que después de cada adición leía los datos procedentes del pHmetro CRISON micropH 2002, conectado a un electrodo RADIOMETER GK2401C.

El programa utilizado, el ALIA, gobierna el proceso de valoración, pero para ello es necesario especificar una serie de instrucciones. Así, por ejemplo, el volumen de adición puede ser fijo, si se añaden siempre volúmenes iguales en toda la valoración, o variable, si se añade un volumen v_1 cuando la diferencia entre los dos últimos potenciales medidos es menor que un cierto valor y otro volumen más pequeño v_2 si es mayor, con lo cual se logra recoger pocos puntos cuando la diferencia entre potenciales sucesivos es pequeña y tener más puntos cuando esta variación se va haciendo más importante. Una vez añadido el valorante el ALIA efectúa la lectura de datos del pH-metro, para ello deja transcurrir unos segundos para homogeneizar la disolución y estabilizar la medida (8 segundos), pasado este tiempo

se toma el primer dato y se espera nuevamente antes de tomar la siguiente medida, si ambas se diferencian en más de 0.3 se toma otra y se repite la operación hasta que la diferencia sea menor. A continuación se realizan varias lecturas (se considera que cinco o seis son suficientes) a intervalos de tiempo regulares (cada 4 segundos) y se hace la media entre éstas, si la primera difiere más de 0.1 de la media se desprecia, se toma otra y se repite el proceso sucesivamente hasta que sea menor. El valor de f.e.m. así obtenido es el que recoge el programa en un archivo de datos que crea para cada valoración. Los parámetros antes indicados pueden ser cambiados, aunque para las experiencias llevadas a cabo se ha comprobado que permiten una buena estabilización de la medida.

El programa ALIA es capaz además de crear para cada experiencia un archivo de datos con el formato adecuado para introducir en el MINIQAD y obtener las constantes estequiométricas (también puede exportar los datos con el formato adecuado para introducir por ejemplo en el MAGEC) y permite, a su vez, la visualización de la gráfica f.e.m. vs. volumen durante el transcurso de la valoración.

En las siguientes tablas se muestra un resumen de todos los aparatos y reactivos utilizados:

TABLA III.1. Reactivos utilizados

REACTIVOS	
Sales para ajustar la fuerza iónica	KNO ₃ , KBr, KCl MERCK, p.a. ioduro de tetraetil amonio FLUKA
aminoácidos	glicina, L-valina, α-alanina, β-alanina, ác.γ-aminobutírico MERCK ác. ε -aminocaproico SIGMA
HCl	CARLO ERBA, 37%, ρ=1.186, grado reactivo
NaOH, KOH	MERCK, p.a.
Ftalato ácido de potasio	CARLO ERBA, p.a.

TABLA III.2. Aparatos utilizados

APARATOS	
Microbureta automática	CRISON microBU 2031, con jeringas HAMILTON de 2.5 y 10 ml.
pH-metro	CRISON micropH 2002
Electrodo	RADIOMETER GK2401C (electrodo de vidrio combinado)
Ordenador	TANDON DATA Pac-286
Termostato	TECTRON 3473100
Tratamiento previo del agua	Sistema Millipore-MilliQ Bidestilador Aquatron A4D
Equipo de medida de densidades	Densímetro AP PAAR DMA 60 Célula de densidad AP PAAR CMA 602 Termostato HAAKE F3 Termómetro digital AP PAAR DT 100-30

Se explican a continuación el procedimiento detallado que se ha seguido para la realización de los calibrados y valoraciones, así como los hechos experimentales más destacados que se han observado.

III.III. Calibrados

Como ya se mencionó en el apartado sobre el cálculo de las constantes estequiométricas la mejor manera de llevar a cabo los calibrados es añadir ácido fuerte de concentración conocida y fuerza iónica ajustada, sobre una disolución que contenga únicamente el electrolito inerte. La relación entre la concentración de protones y el potencial medido por el pHmetro es:

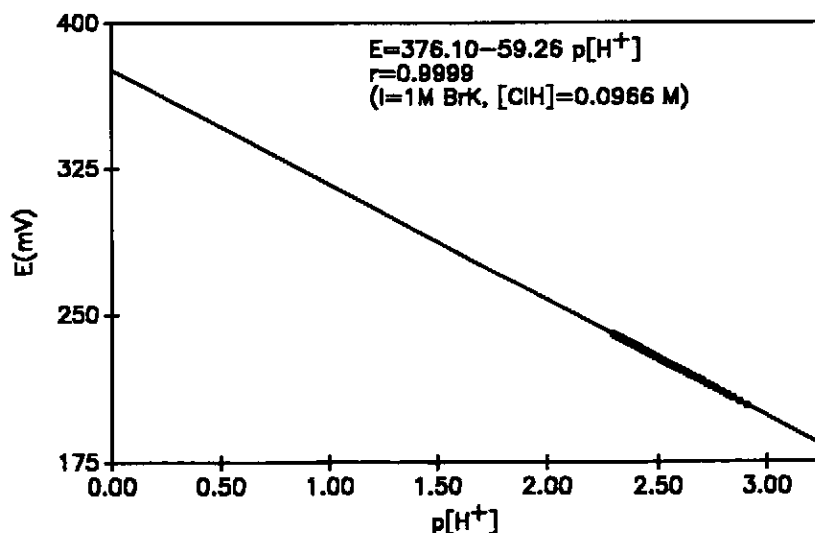
$$E = E^0 + p \log[H^+] \quad (\text{III.31})$$

$$[H^+] = \frac{c \cdot v}{V_0 + v} \quad (\text{III.32})$$

El calibrado se realiza añadiendo ácido desde el volumen que corresponde a $p[H^+] = 2.9$ al correspondiente a $p[H^+] = 2.3$, calculados a partir de las fórmulas anteriores. Normalmente se parte de 40ml. de disolución del electrolito inerte sobre la que se añaden de 0.04 en 0.04 ml del ácido para obtener el suficiente número de datos con los que realizar el ajuste de E vs. $p[H^+]$ por mínimos cuadrados y calcular E^0 y p .

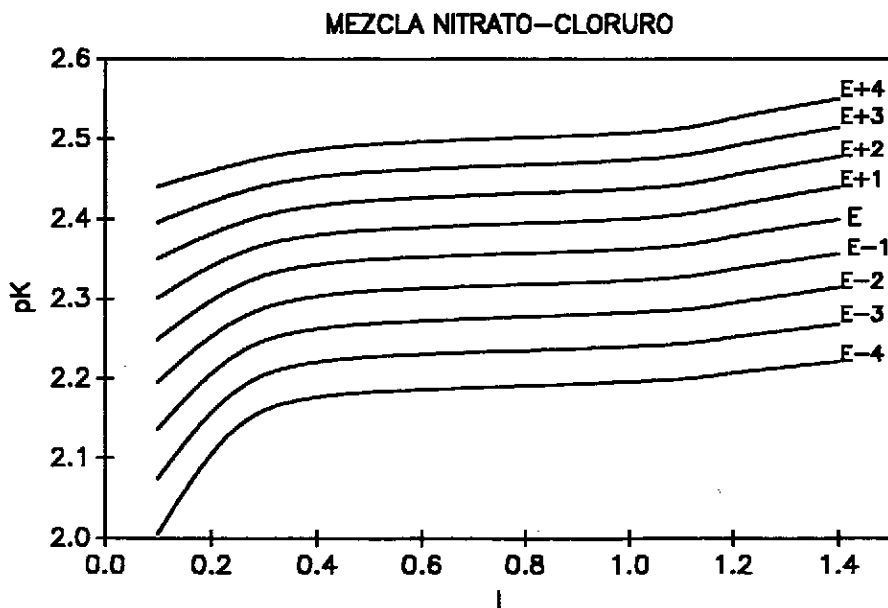
El potencial formal del sistema influye de manera importante en los cálculos posteriores ya que cualquier error en su valor afectará de forma sistemática a las constantes calculadas usando este calibrado (tal como se indicó en el apartado anterior). Un problema que surge en el cálculo del potencial formal y la pendiente es debido al estrecho margen de $p[H]$ en el que la respuesta del electrodo es lineal.² Un ejemplo típico de los calibrados realizados se recoge en la figura III.1:

FIGURA III.1. Calibrado en medio ácido



No es difícil deducir que una desviación relativamente pequeña con respecto a la pendiente de Nernst va a inducir un cambio significativo en la ordenada en el origen, esto es, en el potencial formal del sistema, el cual introducido en el MINIQAD va a producir un error sistemático en todas las constantes. Una forma interesante y sencilla de ver como afecta el error en E^0 (mV) a las constantes es tomar los datos de una valoración y recalculas las constantes sustituyendo E^0 por E^0+1 , E^0+2, \dots, E^0+4 y por E^0-1, \dots, E^0-4 , tal como se aprecia en el ejemplo de la figura III.2,

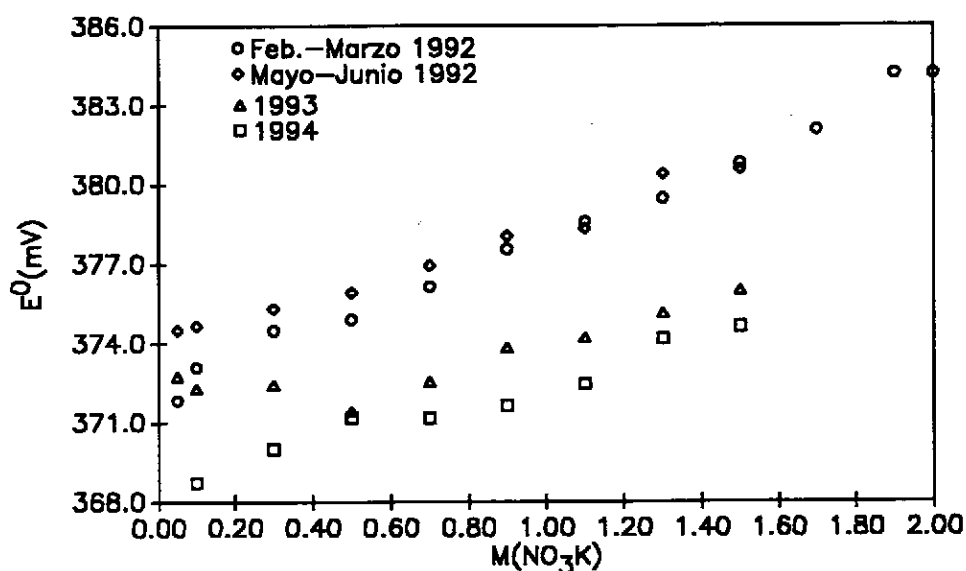
FIGURA III.2. Variación de la curva pK^*-I al cambiar el potencial formal del sistema de forma sistemática.



en la que se evidencia la gran influencia que ejerce un pequeño cambio en E^0 . Se ha de tener especial cuidado en la realización de los calibrados y es aconsejable despreciar aquellas experiencias en las que haya una desviación más o menos

importante de $p=59.16$ para evitar el error en E^0 . En la siguiente gráfica se recogen los datos de los calibrados llevados a cabo con el mismo electrodo en KNO_3 a diferentes fuerzas iónicas, a lo largo de varias semanas, en diferentes años.

FIGURA III.3. *Potencial formal obtenido de los calibrados en KNO_3 en medio ácido en diferentes momentos con el mismo electrodo*



La pendiente más baja que se ha usado para obtener el valor medio de E^0 en estos calibrados es 58.4 y la más alta 60.5 (en el apéndice A se recogen los valores de todos los calibrados realizados en nitrato potásico).

Por otra parte, los calibrados a una misma fuerza iónica se repitieron en días diferentes, observándose que en un corto plazo de tiempo, días, o semanas, no se aprecian cambios significativos, pero sí a lo largo de varios meses. Teniendo esto

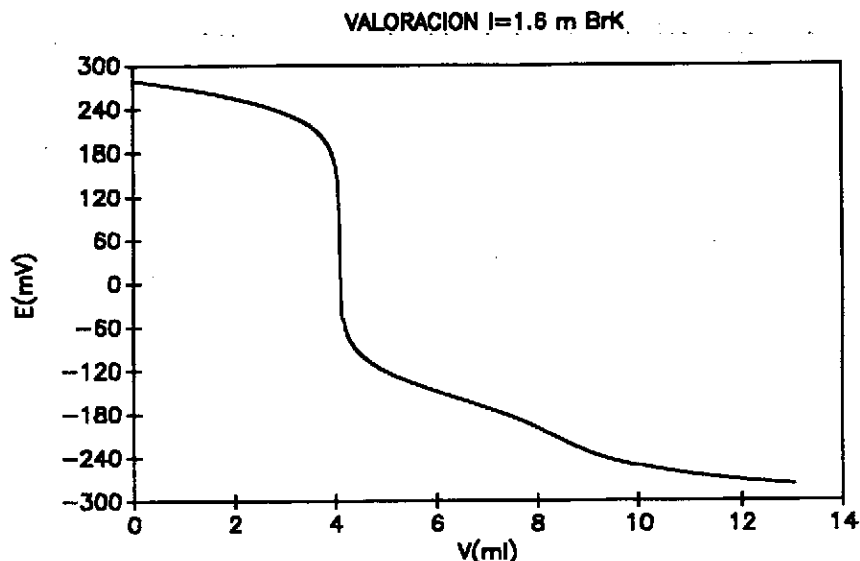
en cuenta no parece imprescindible realizar calibrado y valoración en el mismo momento, y además parece correcto realizar la media de todos los calibrados a una misma fuerza iónica y usarlos para refinar todas las constantes a esa misma fuerza iónica, siempre que ambos hayan sido obtenidos en un plazo de tiempo razonable (días o semanas). Se ha apreciado, además, que la dispersión de los valores para fuerzas iónicas bajas, $I \leq 0.1$ molar, es mayor, con lo que el posible error en las constantes sería más importante (esto no se refleja en la gráfica al haber tomado valores medios para E^0).

Por otra parte los calibrados realizados en medio básico son menos satisfactorios que los que se llevan a cabo en medio ácido, obteniéndose mayores divergencias respecto a la pendiente nernstiana, que en medio ácido.⁴

III.IV. Valoraciones

Las valoraciones se realizan añadiendo NaOH o KOH 0.1 M sobre una disolución 0.01 M de aminoácido con aproximadamente igual concentración de HCl, de tal forma que el aminoácido se encuentra como AH_2^+ y la base le sustrae sucesivamente ambos protones.

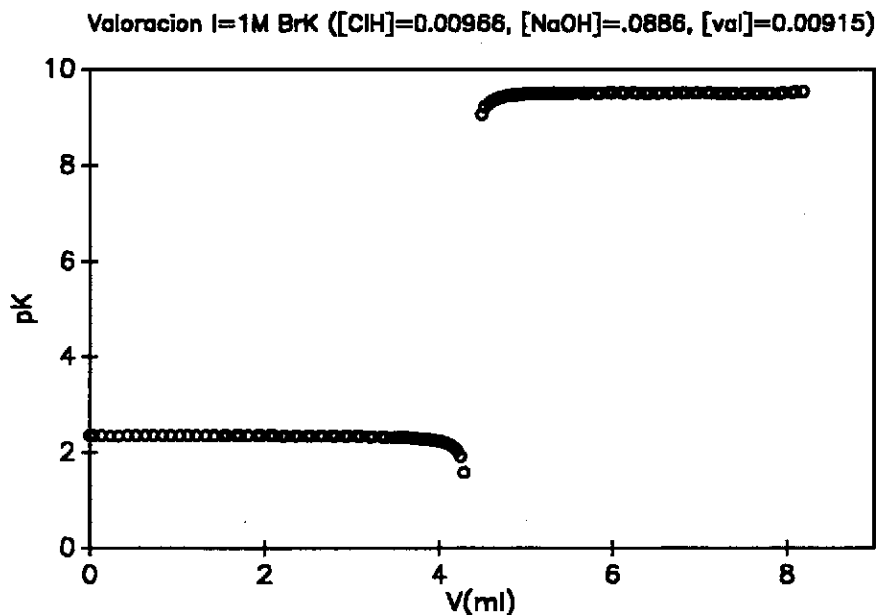
Un caso típico de curva de valoración así obtenida se aprecia en la figura III.4:

FIGURA III.4. Curva de valoración de la L-valina en KBr con $I=1.6M$.

Los valores E , v de cada experiencia, junto con las concentraciones de reactivos, el potencial formal del sistema y un valor aproximado de las constantes son introducidos en el MINQUAD para obtener el valor exacto de dichas constantes. Para el caso particular de un aminoácido la forma de los archivos introducidos en el programa viene recogida en el apéndice B, tanto para el caso en que se calculan los dos pK en una misma experiencia, como cuando se calculan separadamente.

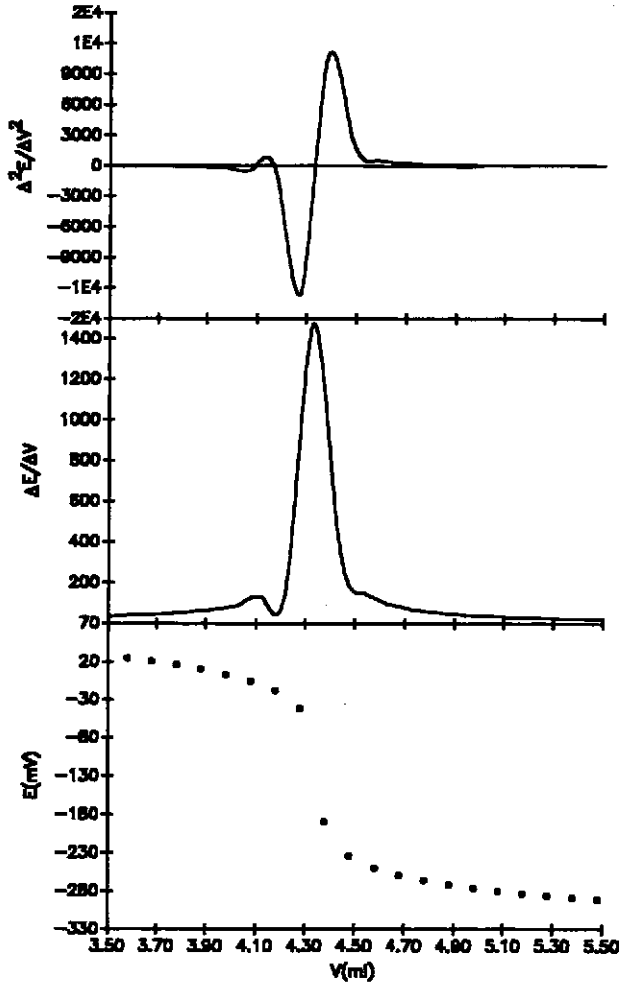
Cuando se introducen los datos en el MINQUAD se eliminan aquellos más cercanos al punto de equivalencia, que vienen afectados por un mayor error. Si se calcula el pK en cada punto con las ecuaciones III.18 y 23, y se representa frente al volumen, se aprecia como estos puntos son los que más se desvían:

FIGURA III.5. Representación del pK^* en cada punto de la valoración calculado a partir de las ecs. III.18 y III.23 para la L-valina en KBr $I=1.0 M$.



Una causa de error en la determinación de constantes es, como se mencionó en el apartado III.I, el error en la concentración de las especies utilizadas. Para comprobar que las concentraciones de ácido y base son las correctas se puede representar la primera derivada, $\Delta E/\Delta V$, calculada numéricamente, frente al volumen. La presencia de un punto de inflexión que ha de coincidir con el punto de equivalencia, supone la presencia de un extremo, máximo o mínimo, en la primera derivada; para la segunda se espera que $\Delta E/\Delta V=0$, en ese punto. La primera y segundas derivadas para una valoración típica, se representan en la figura III.6:

FIGURA III.6. Representación de la curva y primera y segunda derivadas de una valoración potenciométrica



Por último otro factor interesante a tener en cuenta a la hora de determinar constantes estequiométricas se evidencia cuando se trabaja en disoluciones de bajas fuerzas iónicas, $I \leq 0.1$ M. En este caso la respuesta del electrodo es más lenta, sobre todo en las inmediaciones del punto de equivalencia, así p.e. una

valoración a $I=0.1$ M. para cualquiera de los aminoácidos usados dura aproximadamente tres horas, en lugar de las dos horas que dura en igualdad de condiciones a fuerzas iónicas más altas. En este caso el realizar la determinación de los dos pK^* por separado puede llegar a suponer un ahorro de tiempo.

III. V. Determinación del pK_w^*

La relación entre la concentración de protones y el potencial medido por el pHmetro cuando se añade ácido sobre una disolución que contiene únicamente el electrolito inerte viene dada, tal como se explicó en el apartado anterior, por las expresiones III.31-32. Si en lugar de añadir ácido, se añade base, no se conoce la concentración de protones sino la de hidroxilos, con lo que resulta conveniente expresar E en función de $[OH^-]$ a partir del producto iónico del agua; como $K_w = [H^+]/[OH^-]$, entonces:

$$E = E^0 + p \log[H^+] = E^0 + p \log \frac{K_w^*}{[OH^-]} \quad (\text{III.31})$$

$$E = E^0 - p pK_w^* - p \log[OH^-] = E^1 - p \log[OH^-]$$

donde:

$$E^0 = E^1 - p pK_w^* \quad (\text{III.32})$$

de donde despejando se obtiene el producto iónico del agua:

$$pK_w^* = \frac{E^1 - E^0}{p} \quad (\text{III.33})$$

Bibliografía

1. Albert, A., Serjeant, E.P., The Determination of Ionization Constants, A Laboratory Manual, 3^{er} Ed. Chapman and Hall, London, New York, 1984.
2. May, P.M., Williams, D.R., Linder, P.W., Torrington, R.G. *Talanta*, 29, 249 (1982).
3. Illingworth, J.A., *Biochem.J.*, 195, 259 (1981).
4. Fiol, S., Arce, F., Armesto, X.L., Penedo, F., Sastre de Vicente, M., *Fresenius J.Anal.Chem.*, 343, 469, (1992)
5. Vacca, A., Sabatini, A., *MINIQUAD and MIQUV Two Approaches for the Computation of Formation Constants from Potentiometric Data* Cap. 5; May, P.M., Williams, D.R., *MAGEC, A Program for the Definitive Calibration of the Glass Electrode*, en Computational Methods for the determination of Formation Constants, Plenum, New York, 1985.
6. Casassas, E., Tauler, R., Filella, M., *Anal.Chim. Acta*, 191, 399 (1986)
7. Casassas, E., Filella, M., Tauler, R., *Anal.Chim. Acta*, 191, 413 (1986)
8. May, P.E., Murray, K. *Talanta*, 35, (12), 933 (1988)
9. May, P.M., Murray, K., *Talanta*, 35, (12) 927, (1988)
10. Penedo, F., Arce, F., Resultados no publicados

IV. Dependencia de las constantes de equilibrio de la L-Valina con la fuerza iónica según los formalismos de Guggenheim, Scatchard y Pitzer

IV.1. Aplicación de los modelos de interacción a los equilibrios de un aminoácido

Las constantes termodinámicas de equilibrio están relacionadas con las estequiométricas por medio de los coeficientes de actividad, según se recoge en la siguiente expresión:

$$K^* = K^T \prod (\gamma_i)^{\nu_i} \quad (\text{IV.1})$$

donde i se refiere a todas las especies que aparecen en el equilibrio considerado, ν_i son los coeficientes estequiométricos y γ_i los coeficientes de actividad, que, en general, son función de la fuerza iónica de la disolución.

A partir de la ecuación IV.1, sustituyendo γ_i por la función de la fuerza iónica correspondiente según los modelos de Guggenheim, Scatchard y Pitzer se obtiene la expresión de pK^* vs. I , para los dos pK^* de cualquier aminoácido.

Tomando logaritmos decimales en las ecs. III.4 y III.5, se tiene:

$$\begin{aligned} pK_1^* &= pK_1^T + \log \gamma_{AH} + \log \gamma_{H^+} - \log \gamma_{AH_2^+} = \\ &= pK_1^T + \frac{1}{\ln 10} [\ln \gamma_{AH} + \ln \gamma_{H^+} - \ln \gamma_{AH_2^+}] \end{aligned} \quad (IV.2)$$

$$\begin{aligned} pK_2^* &= pK_2^T + \log \gamma_{A^-} + \log \gamma_{H^+} - \log \gamma_{AH} = \\ &= pK_2^T + \frac{1}{\ln 10} [\ln \gamma_{A^-} + \ln \gamma_{H^+} - \ln \gamma_{AH}] \end{aligned} \quad (IV.3)$$

Los parámetros correspondientes a las distintas teorías se han calculado para la L-valina a partir de las constantes estequiométricas determinadas experimentalmente en disoluciones en las que KCl y KBr se usaron para mantener la fuerza iónica constante en las distintas experiencias. Se determinan, primeramente, las expresiones para los pK_i^* en los tres modelos, para, a continuación, exponer los datos experimentales obtenidos y el resultado del ajuste de dichos datos a los modelos propuestos.

IV.1.1. Modelo de Guggenheim

Los coeficientes de actividad que aparecen en las ecs. IV.2 IV.3 son según la teoría de Guggenheim, ec.I.9, en un electrolito 1:1, de fórmula, XK:

$$\ln \gamma_{AH_2^+} = -A \frac{\sqrt{I}}{1+c\sqrt{I}} + 2I\beta_{AH_2^+,X^-} \quad (IV.4)$$

$$\ln \gamma_{H^+} = -A \frac{\sqrt{I}}{1+c\sqrt{I}} + 2I\beta_{H^+,X^-} \quad (IV.5)$$

$$\ln \gamma_{A^-} = -A \frac{\sqrt{I}}{1+c\sqrt{I}} + 2I\beta_{A^-,X^-} \quad (IV.6)$$

$$\ln \gamma_Z = 2\lambda I \quad (\text{IV.7})$$

donde Z representa el zwitterion del aminoácido y las otras especies se representan con las mismas letras que las indicadas anteriormente, (ver ecs. III.1 y III.2); en cuanto al valor de c, puede tomarse $c=1.5$, tal como se indica en la ref.¹ El coeficiente de actividad del zwitterion se ha considerado igual al de una molécula neutra, sin ninguna carga, tal como se indicó en el apartado II.II.

Sustituyendo las ecs. IV.4 a IV.7 en IV.2 y IV.3, se obtiene:

$$pK_1^* = pK_1^T + \epsilon_1 \cdot I \quad (\text{IV.8})$$

$$pK_2^* = pK_2^T - 2A' \frac{\sqrt{I}}{1+c\sqrt{I}} + \epsilon_2 \cdot I \quad (\text{IV.9})$$

siendo:

$$\epsilon_1 = \frac{2}{\ln 10} [\lambda - \beta_{AH_2^+X^-} + \beta_{H^+X^-}] \quad (\text{IV.10})$$

$$\epsilon_2 = \frac{2}{\ln 10} [-\lambda + \beta_{A^-X^-} + \beta_{H^+X^-}] \quad (\text{IV.11})$$

donde $A' = A/\ln 10$.

Por lo tanto la representación pK_1^* vs. I debe ser una línea recta, mientras pK_2^* vs. I presenta una forma diferente debida a la presencia del término que contiene la ley límite de Debye-Hückel.

IV.I.II. Modelo de Scatchard

Considerando el contraión de la especie AH_2^+ , que debe ser el Cl^- ya que se añade HCl para protonar al aminoácido, la constante para el primer equilibrio puede escribirse como:

$$K_1^T = K_1^* \frac{\gamma(Z) \gamma_{\pm}^2(HX)}{\gamma_{\pm}^2(AH_2X)} \quad (IV.12)$$

La modificación anterior se realiza porque en la teoría desarrollada por Scatchard en los años 60 se usan coeficientes de actividad iónico medios. A partir de la ec. I.10, los coeficientes de actividad que figuran en la ec. IV.12, son:

$$2 \ln \gamma_{\pm}(XH) = A_{XH} + \alpha_{XK} + B_{XH,XK}^0 - B_{XH,XK}^1 \quad (IV.13)$$

$$2 \ln \gamma_{\pm}(AH_2X) = A_{AH_2X} + \alpha_{XK} + B_{XAH_2,XK}^0 - B_{XAH_2,XK}^1 \quad (IV.14)$$

$$\ln \gamma_Z = h_0 I \quad (IV.15)$$

Sustituyendo las ecs. IV.13 a IV.15 en la ec. IV.12, se obtiene:

$$\ln K_1^T = \ln K_1^* + \ln \gamma_Z + A_{XH} - A_{AH_2X} + B_{HX,XK}^0 - B_{AH_2X,XK}^0 + B_{AH_2X,XH}^1 - B_{HX,XK}^1 \quad (IV.16)$$

Si A y B se expresan en función de la fuerza iónica ecs. I.11-I.16, tomando hasta los términos con I^2 , y considerando $a_j = 1.5$ para todas las especies, el resultado es:

$$pK_1^* = pK_1^T - \frac{A_1}{\ln 10} I - \frac{B_1}{2 \ln 10} I^2 \quad (\text{IV.17})$$

donde:

$$A_1 = a_{AH_2X}^{(1)} + b_{AH_2XXK}^{(0,1)} - a_{HX}^{(1)} - b_{HX, XK}^{(0,1)} - h_0 \quad (\text{IV.18})$$

$$B_1 = a_{AH_2X}^{(2)} - a_{HX}^{(2)} + b_{AH_2XXK}^{(0,2)} - b_{HX, XK}^{(0,2)} + b_{HX, XK}^{(1,2)} - b_{AH_2XXK}^{(1,2)} \quad (\text{IV.19})$$

La segunda constante puede formularse, análogamente:

$$K_2^T = K_2^* \frac{\gamma_{A^-} \gamma_{H^+}}{\gamma_Z} = K_2^* \frac{\gamma_{\pm}^2(AH)}{\gamma_Z} \quad (\text{IV.20})$$

donde $\gamma_{\pm}^2(AH)$ es el coeficiente de actividad iónico medio de los iones A^- y H^+ , y no de la especie zwitteriónica neutra AH , que por este motivo se ha simbolizado como Z , y no como AH , para evitar posibles confusiones (únicamente en este apartado). Operando de igual forma que para pK_1^* se tiene:

$$pK_2^* = pK_2^T + \frac{2S\sqrt{I}}{\ln 10 (1+a\sqrt{I})} + \frac{A_2}{\ln 10} I + \frac{B_2}{2 \ln 10} I^2 \quad (\text{IV.21})$$

donde:

$$A_2 = a_{AH}^{(1)} + b_{AH, XK}^{(0,1)} + a_{KX}^{(1)} - h_0 \quad (\text{IV.22})$$

$$B_2 = a_{AH}^{(2)} + 2a_{KX}^{(2)} + b_{AH, XK}^{(0,2)} - b_{AH, XK}^{(1,2)} \quad (\text{IV.23})$$

En este caso pK_1^* vs. I es una función polinómica de la fuerza iónica, mientras que en el segundo aparece nuevamente la ley límite modificando la forma de

la curva pK_2^* vs. I.

IV.1.III. Modelo de Pitzer

Los coeficientes de actividad de las ecs. IV.2 y IV.3, según la teoría de Pitzer, son:

$$\ln \gamma_{H^+} = f^{\gamma} + 2I(B_{XH} + I \cdot C_{XH}) + I^2(B'_{XK} + C_{XK}) + I(2\theta_{HK} + I \psi_{HXY}) \quad (IV.24)$$

$$\ln \gamma_{AH_2^+} = f^{\gamma} + 2I(B_{XAH_2} + I \cdot C_{XAH_2}) + I^2(B'_{XK} + C_{XK}) + I(2\theta_{AH_2K} + I \psi_{AH_2XK}) \quad (IV.25)$$

$$\ln \gamma_{A^-} = f^{\gamma} + 2I(B_{AK} + I \cdot C_{AK}) + I^2(B'_{XK} + C_{XK}) + I(2\theta_{AX} + I \psi_{AXK}) \quad (IV.26)$$

$$\ln \gamma_Z = 2\lambda_{ZK} I_K + 2\lambda_{ZX} I_X = 2I\lambda_{ZXK} \quad (IV.27)$$

donde el coeficiente de actividad del zwitterion se considera como el de una especie neutra, sin asimetría de carga.²

Sustituyendo de igual forma que en los anteriores modelos y tomando la función B de la ec.I.19, se obtiene:

$$pK_1^* = pK_1^T - \frac{2I}{\ln 10} [\beta_{XAH_2}^0 - \lambda_{ZXK} - \beta_{HX}^0] - \frac{g}{\ln 10} [\beta_{XAH_2}^1 - \beta_{HX}^1] \quad (IV.28)$$

$$pK_2^* = pK_2^T + \frac{2f^{\gamma}}{\ln 10} + \frac{2I}{\ln 10} [\beta_{AK}^0 - \lambda_{ZXK} + \beta_{HX}^0] + \quad (IV.29)$$

$$+ \frac{g}{\ln 10} [\beta_{AK}^1 + \beta_{HX}^1 - \beta_{XK}^1] + \frac{2I}{\ln 10} \beta_{XK}^1 e^{-2\sqrt{I}}$$

donde la función g es:

$$g = 1 - (1 + 2\sqrt{I})e^{-2\sqrt{I}} \quad (IV.30)$$

y los parámetros θ , ψ y C, han sido omitidos, ya que, en general, son despreciables

La forma matemática de las curvas pK^* vs. I , es para ambos equilibrios más compleja que en los dos modelos anteriores, debido a los términos exponenciales que aparecen a consecuencia de la dependencia de B con la fuerza iónica, además de lo cual Pitzer añade un nuevo término a la ley límite (ver ec. I.18).

IV.II. Resultados experimentales y discusión

Las constantes estequiométricas determinadas tal como se indica en el apartado III.I, son:

TABLA IV.1. pK_i^* de la *L*-valina a distintas fuerzas iónicas de KCl, ambos valores se expresan en molalidad

$I(KCl)$	pK_i^*	pK_i^*
0	2.286	9.719
0.10	2.303	9.548
0.25	2.252	9.457
0.51	2.280	9.480
0.72	2.326	9.474
1.03	2.282	9.469
1.25	2.280	9.480
1.46	2.305	9.511
1.68	2.352	9.518

TABLA IV.2. pK_i^* de la L-valina a distintas fuerzas iónicas de KBr, ambos valores se expresan en molalidad

I(KBr)	pK_1^*	pK_2^*
0	2.286	9.719
0.25	2.297	9.487
0.51	2.231	9.461
0.72	2.347	9.482
1.04	2.361	9.497
1.26	2.377	9.528
1.48	2.399	9.550
1.70	2.429	9.563

El error medio de los valores de pK^* está comprendido entre 0.005 y 0.050

Los valores de pK^T se han tomado de la ref.⁴, dado que al no haberse determinado el pK_i^* a fuerzas iónicas lo suficientemente bajas como para poder extrapolar con un mínimo de fiabilidad, se consideró más adecuado utilizar los valores termodinámicos ya publicados por otros autores. Por otra parte, las constantes fueron determinadas en la escala de molaridad y las transformaciones a molalidad, fueron realizadas utilizando datos de densidades⁵, a partir de la relación entre molaridad(c) y molalidad(m) expresada por la ecuación (ver apéndice C)⁶:

$$m_i = \frac{M_i}{\rho - \sum_i M_i \cdot PM_i} \quad (\text{IV.31})$$

donde el sumatorio se extiende a todas las especies i en disolución, ρ es la densidad y PM la masa molecular. La relación entre pK_{molal}^* y pK_{Molar}^* es:

$$pK_m^* = pK_M^* + \log(\rho - \sum M \cdot PM) \quad (\text{IV.32})$$

Los valores de las tablas IV.1 y 2 se ajustaron a las distintas funciones de la fuerza iónica empleando el programa de cálculo estadístico SOLO⁷ y se calcularon los parámetros de interacción que se tabulan a continuación:

TABLA IV.3. Parámetros de interacción y pK^T de la L-valina en KCl y KBr según la teoría de Guggenheim, calculados a partir de las ecs. IV.8-11

	pK_1^T	ϵ_1	σ_1
KCl	2.261 ± 0.018	0.09 ± 0.04	0.042
KBr	2.283 ± 0.008	0.18 ± 0.02	0.015

	pK_2^T	ϵ_2	σ_2
KCl	9.734 ± 0.011	0.32 ± 0.02	0.020
KBr	9.729 ± 0.007	0.40 ± 0.02	0.013

TABLA IV.4. Parámetros de interacción y pK^T de la L-valina en KCl y KBr según la teoría de Scatchard, calculados a partir de las ecs. IV.17 y 21

	KCl	KBr
pK_1^T	2.281 ± 0.024	2.287 ± 0.012
A_1	$+0.09 \pm 0.16$	-0.15 ± 0.07
B_1	-0.21 ± 0.17	-0.04 ± 0.08
σ_1	0.042	0.016

	KCl	KBr
pK_2^T	9.726 ± 0.015	9.722 ± 0.010
A_2	$+0.40 \pm 0.09$	$+0.46 \pm 0.07$
B_2	-0.09 ± 0.10	-0.07 ± 0.08
σ_2	0.024	0.013

TABLA IV.5. Parámetros de interacción y pK^T de la L-valina en KCl y KBr según la teoría de Pitzer, calculados a partir de las ecs. IV.28-29

	KCl	KBr
pK_1^T	2.290 ± 0.032	2.286 ± 0.014
$\beta_{XAH_2}^1$	0.70 ± 0.37	0.39 ± 0.16
$\beta_{XAH_2}^0 - \lambda_{Z,XX}$	0.06 ± 0.07	0.10 ± 0.03
σ_1	0.042	0.016

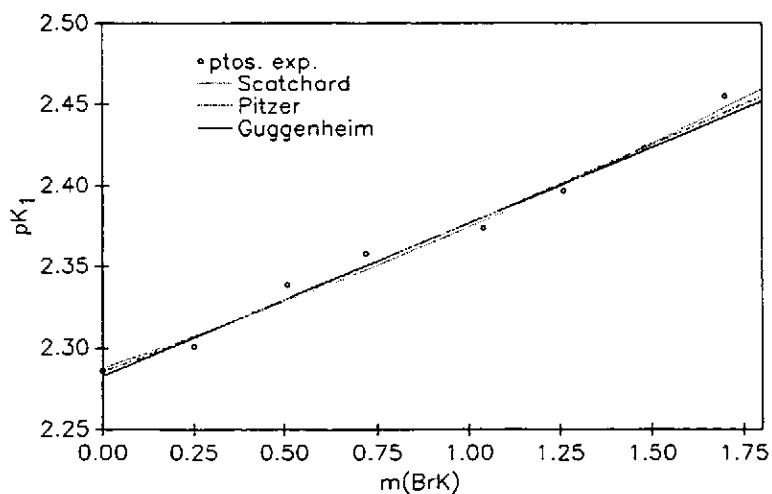
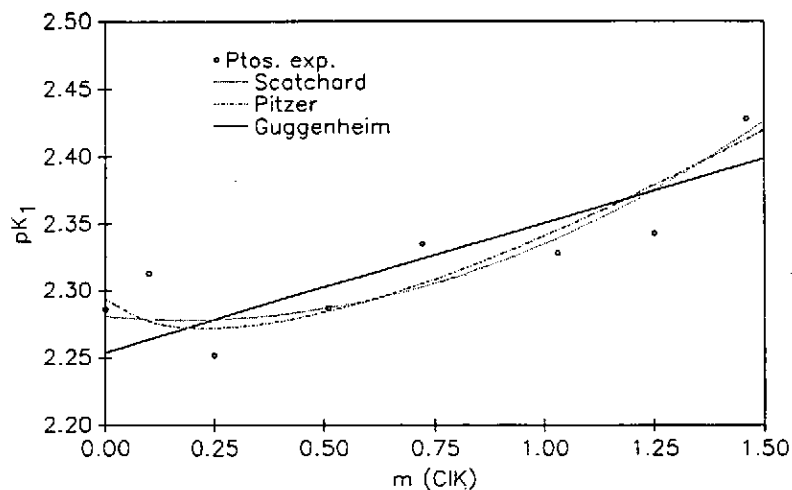
	KCl	KBr
pK_2^T	9.722 ± 0.019	9.721 ± 0.012
β_{AK}^1	0.54 ± 0.21	0.40 ± 0.14
$\beta_{AK}^0 - \lambda_{Z,XX}$	0.01 ± 0.04	0.04 ± 0.03
σ_2	0.024	0.014

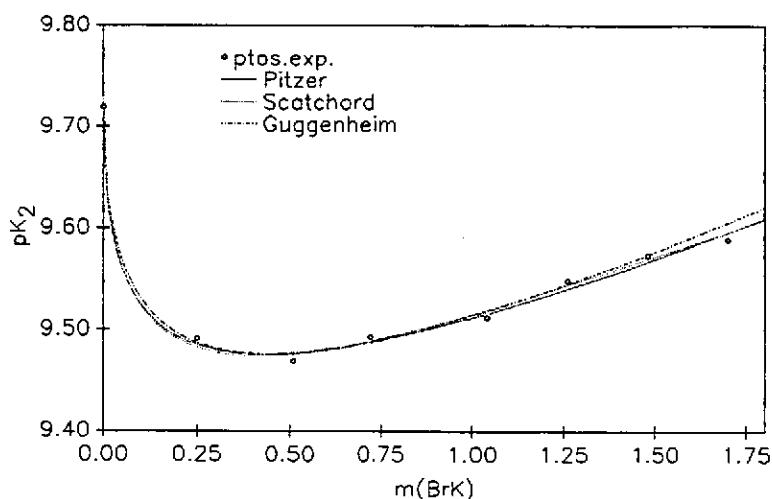
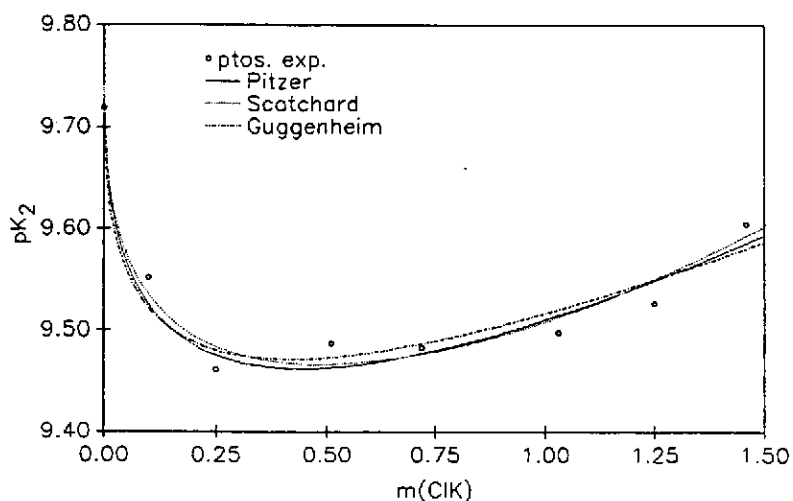
Como se puede apreciar existen elevados errores en algunos de los parámetros, aunque el error del ajuste (σ_1 y σ_2 para el primer y segundo equilibrios respectivamente) es pequeño y en consecuencia el error en los valores de pK^* está dentro del margen aceptado para este tipo de medidas según textos especializados (0.06 unidades de pK^*)^{8,9,10}. Recientemente se ha abordado el estudio de la problemática que plantean los errores mediante la utilización de un modelo de regresión alternativo al de mínimos cuadrados ordinarios denominado regresión ridge¹¹⁻¹⁴.

Otra conclusión que se desprende del análisis de las tablas anteriores y

de la representación gráfica de la figura IV.1 es que cualquiera de las tres teorías es buena para explicar el comportamiento experimental, sin que ninguna se manifieste claramente mejor que las otras.

FIGURA IV.1. Representación pK_1^* vs. I para la L-Valina en los electrolitos indicados





Por otra parte se observa una destacable diferencia en las curvas pK_1^* vs. I : en la gráfica pK_2^* vs. I aparece un importante incremento en pK_2^* cuando $I \rightarrow 0$, mientras que tal comportamiento no se observa para pK_1^* . Para entender esta diferencia resulta interesante estudiar la forma de la derivada de la función $pK_1^*(I)$ cuando $I \rightarrow 0$.

A partir de las ecuaciones IV.28 y IV.17 se obtiene, respectivamente, para los modelos de Pitzer y Scatchard:

$$\lim_{I \rightarrow 0} \left[\frac{d(pK_1^*)}{dI} \right] = -\frac{2}{\ln 10} [\beta_{XAH_2}^0 - \lambda_{Z, XK} - \beta_{HK}^0] - \frac{2}{\ln 10} [\beta_{XAH_2}^1 - \beta_{HK}^1] \quad (IV.33)$$

$$\lim_{I \rightarrow 0} \left[\frac{d(pK_1^*)}{dI} \right] = -\frac{A_1}{\ln 10} \quad (IV.34)$$

En la función $pK_2^*(I)$ aparece un nuevo término en cualquiera de las tres teorías, en la de Pitzer es f^y (ec. I.18):

$$f^y = -A_\phi \left[\frac{\sqrt{I}}{1+1.2\sqrt{I}} + \frac{2}{1.2} \ln(1+1.2\sqrt{I}) \right] \quad (IV.35)$$

cuando $I \rightarrow 0$ se cumple:

$$\lim_{I \rightarrow 0} \left[\frac{df^y}{dI} \right] = -\infty \quad \Rightarrow \quad \lim_{I \rightarrow 0} \left[\frac{dpK_2^*}{dI} \right] = -\infty \quad (IV.36)$$

Para las otras dos teorías la nueva función es:

$$S \left[\frac{\sqrt{I}}{1+a\sqrt{I}} \right] \quad (IV.37)$$

que es la misma tanto en el desarrollo de Scatchard como en el de Guggenheim ya que $A = -S = A'/\ln 10$, como $S < 0$, entonces se cumple, también, la ecuación IV.36, lo que implica un importante crecimiento del pK_2^* a fuerzas iónicas bajas.

De esta forma queda explicada la diferencia de comportamiento entre los valores de pK_i^* de la L-valina, pero surge la interesante cuestión de cuales son las posibles formas que se pueden encontrar en las representaciones pK_i^* vs. I para los dos tipos de equilibrios que se presentan en un aminoácido sencillo, en base a las

funciones de la fuerza iónica que se proponen en las teorías de interacción. Un análisis matemático sobre las distintas formas de las curvas constituye el contenido del apartado siguiente.

Bibliografía

1. Scatchard, G., *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 2636 (1961)
2. Pitzer, K.S., Theory: Ion Interaction Approach in Pytkowicz R.M. (ed) Activity Coefficients in Electrolyte Solutions, C.R.C. Press Inc., Boca Raton, Florida, (1979)
3. Pitzer, K.S., *J. Chem. Phys.*, **77**(2), 268, (1973)
4. Robison, R.A, Stokes, R.H., Electrolyte Solutions, Butterworths, London, (1959)
5. C.R.C. Handbook of chemistry C.R.C. Press 1986-1987(1986)
6. Whitfield, M., Activity Coefficients in Natural Waters in Pytkowicz R.M. Activity Coefficients in Electrolyte Solutions, C.R.C.Press, Boca Raton, Florida, (1979)
7. Statistical Package SOLO. Distributed by BMDP Statistical Software Inc. Version 03 8/88.
8. Albert, A., Serjeant, E.P., Determination of Ionization Constants, Chapman and Hall, Cambridge, (1984)
9. Herrero, R., Armesto, X.L., Arce, F., Sastre de Vicente, M., *J. Sol .Chem.* **21**, (11), 1185, (1992)
10. Fiol, S., I. Brandariz, Armesto, X.L., Arce, F., Sastre de Vicente, M., *Ann. Chim. (Rome)*, **83**, 175, (1993)
11. Fiol, S., Tesis Doctoral, Aplicación de la ecuaciones de Pitzer a equilibrios ácido-base: Estudio de la ionización de aminoácidos en agua de mar sintética, Universidad de La Coruña, Marzo, 1994
12. Fiol, S., I. Brandariz, R. Herrero, Vilarriño, T., Sastre de Vicente, M., *Ber. Bunsen. Phys. Chem.*, **98**, (2), 164 (1994).
13. I. Brandariz, Fiol, S., Herrero, R., Vilarriño, T., Sastre de Vicente, M. *J. Chem. Eng. Data*, **38**, 531, (1993)
14. Herrero, R., I. Brandariz, Fiol, S., Vilarriño, T., Sastre de Vicente, M.E., *An. Quím.* **89**, 602, (1993)

13. I. Brandariz, Fiol, S., Herrero, R., Vilariño, T., Sastre de Vicente, M. *J. Chem. Eng. Data*, 38, 531, (1993)

14. Herrero, R., I. Brandariz, Fiol, S., Vilariño, T., Sastre de Vicente, M.E., *An. Quím.* 89, 602, (1993)

V. Análisis matemático de la forma de las curvas pK^* vs. I

A la vista del diferente comportamiento observado en las representaciones pK^* vs. I, para los dos tipos de equilibrio que se presentan en un aminoácido con dos grupos dissociables, tal como la L-valina, se ha considerado interesante analizar de forma más general los distintos tipos de curvas que pueden obtenerse en las gráficas pK^* vs. I como consecuencia de la aplicación de distintas teorías de interacción iónica a equilibrios ácido-base.¹

Los dos equilibrios a considerar aparecen en las ecs. III.1 y III.2, y las funciones pK^* vs. I fueron deducidas en el apartado anterior utilizando los modelos de interacción iónica de Guggenheim, Pitzer y Scatchard. El análisis se centrará en la forma que pueden adoptar las representaciones de las curvas IV.28 y IV.29, según la teoría de Pitzer; para las de Scatchard y Guggenheim el comportamiento debería ser más sencillo ya que para pK_1^* vs. I, es simplemente un polinomio en la fuerza iónica. Para el segundo equilibrio el comportamiento debería ser más limitado que el del modelo de Pitzer, ya que en este aparece un término más como resultado del parámetro responsable de las interacciones dobles y que, además, es dependiente de la fuerza iónica.

En las referencias^{2,3} se describen otras simulaciones de las ecuaciones

de Pitzer aplicadas a equilibrios ácido-base que analizan la influencia de errores sistemáticos en la fuerza iónica, errores aleatorios en el valor de pK^* , número de puntos empleados en el ajuste de pK^* vs. I , así como el intervalo de fuerza iónica considerado y el efecto de la multicolinealidad del modelo.

V.I. Comportamiento pK_1^* vs. I

El primer equilibrio a considerar es:



La constante correspondiente es:

$$K_1^T = \frac{(AH)(H^+)}{(AH_2^+)} = \frac{\gamma_{AH}\gamma_{H^+}}{\gamma_{AH_2^+}} \frac{[AH][H^+]}{[AH_2^+]} = K_1^\gamma \cdot K_1^* \quad (V.2)$$

Después de tomar logaritmos y sustituir cada coeficiente de actividad por su valor según el modelo de Pitzer, ecs. IV.24 a IV.27, se obtiene:

$$pK_1^* = \alpha + \zeta f^{(1)} + \delta f^{(2)} + \varepsilon f^{(3)} \quad (V.3)$$

donde:

$$\begin{aligned} f^{(1)} &= 2 \cdot I \\ f^{(2)} &= 1 - (1 + 2\sqrt{I})e^{-2\sqrt{I}} \\ f^{(3)} &= I^2 \\ \alpha &= pK_1^T \end{aligned} \quad (V.4)$$

ζ , δ y ε son función de los parámetros de interacción ($\beta^{(0)}$, $\beta^{(1)}$, C^ϕ , θ , ψ) entre las especies presentes en disolución. La ec.V.3 se diferencia de la ec. IV.28 en que aparece el término $f^{(3)}$, ya que no se han despreciado los parámetros θ , ψ y C , con

el fin de hacer más general el presente estudio; no obstante el término ε va a ser importante solo a concentraciones elevadas $I > 2M$.

Con el objeto de construir distintas curvas que evidencien los diferentes comportamientos pK^* vs. I , se han escogido diversas combinaciones de valores para las constantes ζ , δ y ε de la ecuación V.3 que oscilan entre los siguientes intervalos:

$$-1.5 < \zeta < 1.5 \quad -6 < \delta < 6 \quad -1 < \varepsilon < 1$$

Resultados representativos de las simulaciones efectuadas se recogen en la figura V.1. El valor de α solo influye en la ordenada en el origen y se ha escogido arbitrariamente como $\alpha=2$.

La ecuación V.3 puede ser desdoblada en una parábola y la función $f^{(2)}$, de tal forma que $pK^* = Y_1 + Y_2$, donde:

$$Y_1 = \alpha + 2\zeta I + \varepsilon I^2 \quad Y_2 = \delta f^{(2)} \quad (V.5)$$

• **Función Y_1 .**- El comportamiento de la parábola es bien conocido y permite predecir un valor pequeño para el parámetro ε , ya que de otro modo el pK^* aumentaría drásticamente con la fuerza iónica, tal como se ilustra en la figura V.1.a; se aprecia, además, que el signo de ε determina la dirección de las ramas de la parábola. Si se tiene en cuenta que en el vértice de la parábola $I_v = -\zeta/\varepsilon$, se puede predecir que solo aparecerá un mínimo o un máximo, si la solubilidad del electrolito lo permite, cuando ζ y ε tengan signos diferentes, ya que si no el extremo de la función aparecería a un valor de I negativo, lo cual carece de significado físico.

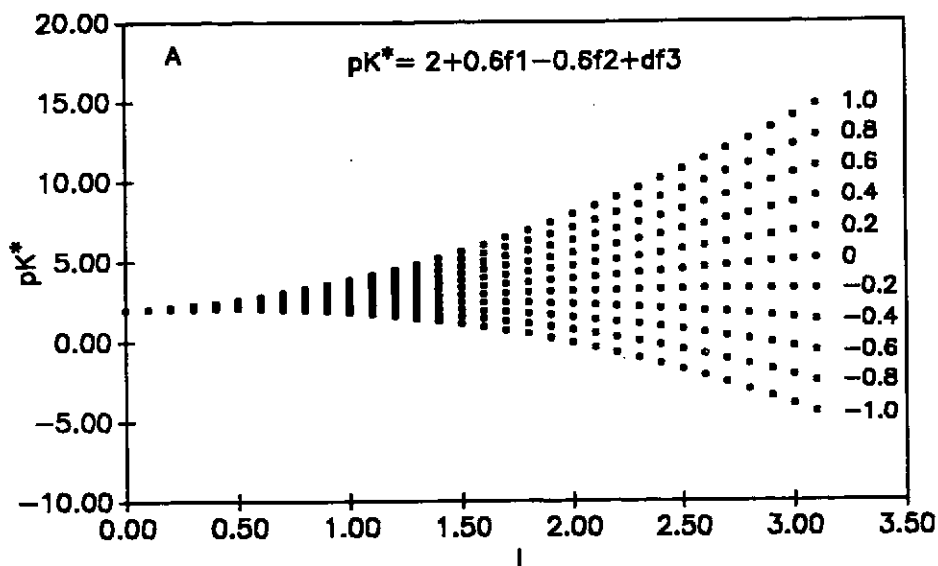
• **Función Y_2 .**- En cuanto a $f^{(2)}$, es una función monótona creciente con una asíntota horizontal en 1, con lo que Y_2 varía entre 0 y δ , como se deduce de las siguientes ecs.:

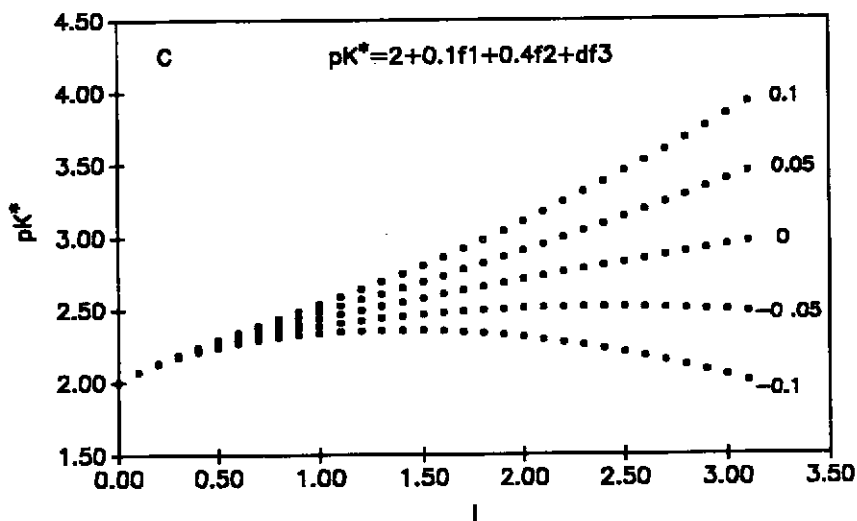
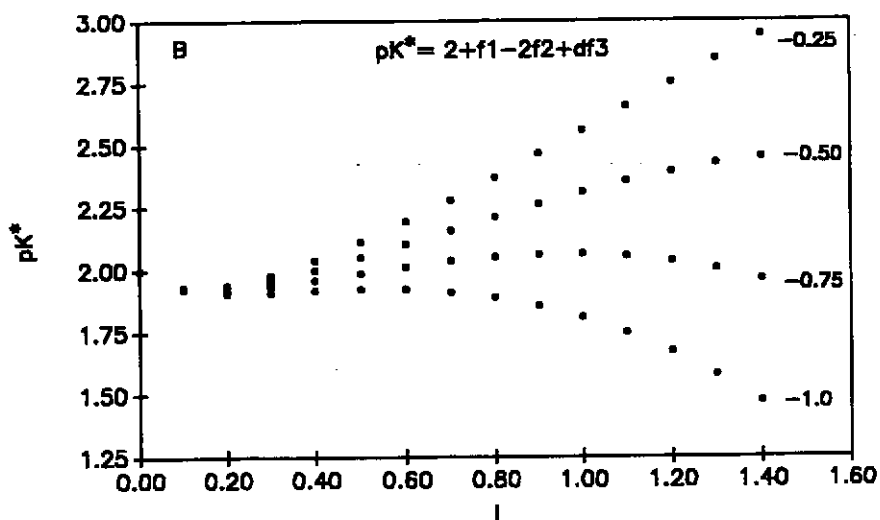
$$\frac{df^{(2)}}{dI} = 2\exp(-2\sqrt{I}) > 0 \Rightarrow \text{monótona creciente} \quad (\text{V.6})$$

$$\lim_{I \rightarrow \infty} f^{(2)} = 1 \Rightarrow \text{asintota horizontal} \quad (\text{V.7})$$

El efecto de esta función varía fuertemente dependiendo del coeficiente δ y es particularmente marcado a fuerzas iónicas bajas, donde la influencia de la parábola es menos importante. Si tiene una tendencia contraria a la de la parábola, entonces puede aparecer un máximo o un mínimo en la región de bajas fuerzas iónicas, aún en el caso de que los coeficientes, ζ y ε sean del mismo signo. Si este efecto se añade al del vértice puede aparecer un senoide como se aprecia en la figura V.1.b. En el caso de que el coeficiente ζ sea muy pequeño, el efecto de esta función va a ser, prácticamente, inapreciable.

FIGURA V.1. Curvas representativas pK^* vs. I para el primer equilibrio





Es interesante estudiar el comportamiento a bajas fuerzas iónicas dada la dificultad que plantea obtener puntos experimentales en tales condiciones y la necesidad de extrapolar para determinar los pKs termodinámicos a $I=0$. Para ello, al igual que en el apartado anterior se calcula la derivada de pK_1^* cuando $I \rightarrow 0$, que es:

$$\lim_{I \rightarrow 0} \left[\frac{d(pK_1^*)}{dI} \right] = \lim_{I \rightarrow 0} \left[\frac{Y_1}{dI} \right] + \lim_{I \rightarrow 0} \left[\frac{Y_2}{dI} \right] = 2\zeta + 2\delta \quad (V.8)$$

El comportamiento de la función dependerá de los valores relativos de ζ y δ , que están relacionados con β^0 y β^1 , como se deduce si se compara con la ec.IV.28.

V.II. Comportamiento pK_2^* vs. I

El equilibrio a considerar es:



donde AH representa al zwitterion y A^- es su anión. La constante correspondiente es:

$$K_2^T = \frac{(A^-)(H^+)}{(AH)} = \frac{\gamma_{A^-} \gamma_{H^+}}{\gamma_{AH}} \frac{[A^-][H^+]}{[AH]} = K_2^\gamma \cdot K_2^* \quad (V.10)$$

que después de tomar logaritmos y sustituir los coeficientes de actividad tal como se hizo para el primer equilibrio, queda:

$$pK_2^* = \alpha' + \zeta' f^{(1)} + \delta' f^{(2)} + \varepsilon' f^{(3)} + \omega' f^{(4)} + \chi' f^{(5)} \quad (V.11)$$

donde las funciones $f^{(1)}$, $f^{(2)}$ y $f^{(3)}$ ya fueron definidas, $f^{(4)} = f'$, ec. I.18, y $f^{(5)} = 1 + (1 + 2I^{1/2} + 2I)\exp(-2I^{1/2})$. El parámetro $\omega' = 2$, mientras que todos los demás varían de un sistema a otro.

La ec. V.11 puede considerarse como suma de cuatro funciones, dos iguales a las del primer equilibrio y dos nuevas: Y_1 e Y_2 definidas para el primer equilibrio, además de $Y_3 = \omega' f^{(4)}$ e $Y_4 = \chi' f^{(5)}$. La diferencia más importante con pK_1^* tiene lugar a fuerzas iónicas bajas, por lo que se calcula la derivada de cada una de estas cuatro funciones, el resultado es:

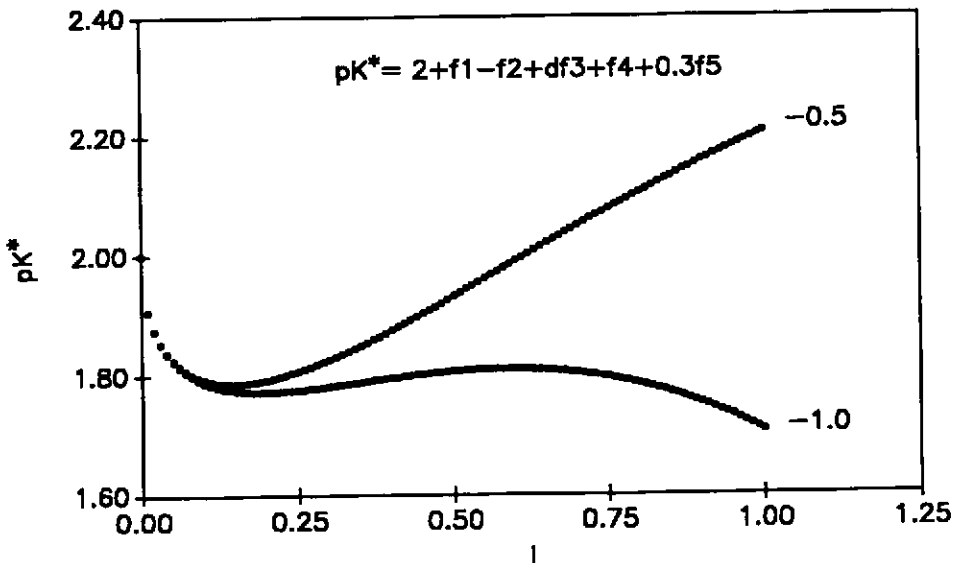
$$\begin{aligned}
 \frac{dY_1}{dI} &= 2\zeta' + 2\varepsilon'I \\
 \frac{dY_2}{dI} &= 2\delta'\exp(-2\sqrt{I}) \\
 \frac{dY_3}{dI} &= -\omega'A_\phi \frac{1 + 2(1 + b\sqrt{I})}{2\sqrt{I}(1 + b\sqrt{I})^2} \\
 \frac{dY_4}{dI} &= -2\chi'\sqrt{I}\exp(-2\sqrt{I})
 \end{aligned}
 \tag{V.12}$$

cuando $I \rightarrow 0$:

$$\lim_{I \rightarrow 0} \frac{dpK_2^*}{dI} = \lim_{I \rightarrow 0} \frac{dY_1}{dI} + \lim_{I \rightarrow 0} \frac{dY_2}{dI} + \lim_{I \rightarrow 0} \frac{dY_3}{dI} + \lim_{I \rightarrow 0} \frac{dY_4}{dI} = -\infty
 \tag{V.13}$$

El límite es $-\infty$ debido a la función Y_3 , esto es, el término correspondiente a la ley límite, que provoca el comportamiento observado en la figura V.2 o en la IV.1, en las que los valores de pK_2^* se incrementan considerablemente al acercarse al valor $I=0$, tal como se señaló en el capítulo IV.

FIGURA V.2. Curvas representativas pK^* vs. I para el segundo equilibrio



V.III. Comportamiento de pK^* vs. I para zwitteriones con gran separación de cargas

En toda la discusión anterior se ha considerado que el zwitterion se comporta igual que una molécula neutra, sin separación de carga, como sucede en el caso de los α -aminoácidos. Sin embargo tal como se mencionó en el apartado II, ec.II.8, en los zwitteriones de ciertos indicadores las cargas están muy alejadas y pueden interaccionar separadamente con los iones del medio, por lo que el coeficiente de actividad toma la forma⁴:

$$\ln \gamma_{Z^{\pm}} = -2A \frac{\sqrt{I}}{1+1.5\sqrt{I}} + 2(\beta_{Z^{\pm}, X^{-}} + \beta_{Z^{\pm}, X^{+}})I \quad (V.14)$$

para un electrolito 1:1, KX , según la teoría de Guggenheim. Para los modelos de Pitzer y Scatchard habría que considerar también las interacciones dobles entre iones de igual carga y las triples; pero de cualquier modo lo que es evidente es que la función que representa la ley límite aparece en el coeficiente de actividad del zwitterion, lo que antes no sucedía y además está multiplicada por dos (ya que se consideran las dos cargas como iones independientes). Si se tiene esto en cuenta al sustituir cada coeficiente de actividad por su correspondiente función de la fuerza iónica en las expresiones de las dos constantes estequiométricas, se encuentra que la ley límite aparece en la ecuación del pK_1^* y desaparece en el caso del pK_2^* , con lo que el comportamiento esperado para ambos pK se intercambia respecto al descrito en los apartados V.I y V.II. Por tanto todas las conclusiones que se obtuvieron para el pK_2^* y en concreto el aumento brusco de pK^* , cuando $I \rightarrow 0$, debe corresponder al pK_1^* , mientras el comportamiento adscrito al pK_1^* , corresponde en estas circunstancias al pK_2^* en cualquiera de las tres teorías. Ahora bien, es claro que el problema surge al intentar modelizar las situaciones intermedias en las que las cargas del ion dipolar no están lo suficientemente alejadas, ni lo suficientemente juntas para exhibir las pautas de

comportamiento aquí indicadas; tal problemática se discutirá en la sección siguiente.

Bibliografía

1. Herrero, R., I. Brandariz, Sastre de Vicente, M., *Ber. Bunsen. Phys. Chem.*, 97, (1), 59 (1993).
2. Fiol, S., Tesis Doctoral, Aplicación de la ecuaciones de Pitzer a equilibrios ácido-base: Estudio de la ionización de aminoácidos en agua de mar sintética, Universidad de La Coruña, Marzo, (1994)
3. Herrero, R., I. Brandariz, Fiol, S., Vilariño, T., Sastre de Vicente, M.E., *An. Quím.* 89, 602, (1993)
4. Salvatore, S., Ferri, D, Palombari, R., *J.Sol.Chem.*, 15, 423 (1986)

VI. Aplicación de las ecuaciones de Pitzer a aminoácidos con diferentes posiciones de los grupos amino y carboxilo

VI.1. Dependencia pK_i^* vs. I para aminoácidos con separación de cargas

Los dos equilibrios a considerar en un aminoácido con dos grupos disociables aparecen recogidos en las ecs. III.1 y III.2, y las constantes correspondientes en las ecs. III.3 y III.4. Tomando logaritmos decimales en ambas expresiones se obtiene:

$$pK_1^* = pK_1^T + \frac{1}{\ln 10} [\ln \gamma_{AH} + \ln \gamma_{H^+} - \ln \gamma_{AH_2^+}] \quad (VI.1)$$

$$pK_2^* = pK_2^T + \frac{1}{\ln 10} [\ln \gamma_{A^-} + \ln \gamma_{H^+} - \ln \gamma_{AH}] \quad (VI.2)$$

Los coeficientes de actividad en KNO_3 , de las especies iónicas que aparecen en los equilibrios anteriores pueden expresarse según la teoría de Pitzer, ec. I.17, como:

$$\ln \gamma_{AH_2} = f^{\gamma} + 2 \cdot I (B_{NO_3, AH_2} + I \cdot C_{NO_3, AH_2}) + 2 \cdot I \cdot \theta_{AH_2, K} + I^2 \cdot (B'_{NO_3, K} + C_{NO_3, K} + \Psi_{AH_2, NO_3, K}) \quad (VI.3)$$

$$\ln \gamma_{H^+} = f^{\gamma} + 2 \cdot I (B_{NO_3, H^+} + I \cdot C_{NO_3, H^+}) + 2 \cdot I \cdot \theta_{H^+, K} + I^2 \cdot (B'_{NO_3, K} + C_{NO_3, K} + \Psi_{H, NO_3, K}) \quad (VI.4)$$

$$\ln \gamma_{A^-} = f^{\gamma} + 2 \cdot I (B_{A, K} + I \cdot C_{A, K}) + 2 \cdot I \cdot \theta_{A, NO_3} + I^2 \cdot (B'_{NO_3, K} + C_{NO_3, K} + \Psi_{A, NO_3, K}) \quad (VI.5)$$

donde B y la función f^{γ} vienen dadas por las expresiones I.18 y 19, respectivamente.

El coeficiente de actividad del zwitterion (AH), en el caso de que las cargas estuviesen lo suficientemente juntas como para exhibir el mismo comportamiento que una molécula neutra, sin asimetría de carga, puede expresarse como¹:

$$\ln \gamma_{AH} = 2 \cdot I (\lambda_{AH, NO_3} + \lambda_{AH, K}) = 2 \cdot I \cdot \lambda \quad (VI.6)$$

Sin embargo, si se considera que las cargas se comportan de forma independiente, esto es, los grupos $-NH_3^+$ y $-COO^-$ interaccionan de manera autónoma con las distintas especies presentes en el medio, el coeficiente de actividad del zwitterion se expresa como²:

$$\begin{aligned} \ln \gamma_{AH} = & f^{\gamma} + 2 \cdot I (B_{NH_3, NO_3} + I \cdot C_{NH_3, NO_3}) + 2 \cdot I \cdot \theta_{NH_3, K} + I^2 \cdot (B'_{NO_3, K} + C_{NO_3, K} + \Psi_{NH_3, NO_3, K}) + \\ & + f^{\gamma} + 2 \cdot I (B_{COO, K} + I \cdot C_{COO, K}) + 2 \cdot I \cdot \theta_{COO, NO_3} + I^2 \cdot (B'_{NO_3, K} + C_{NO_3, K} + \Psi_{COO, NO_3, K}) = \\ = & 2 \cdot f^{\gamma} + 2 \cdot I [B_{NH_3, NO_3} + B_{COO, K} + I (C_{NH_3, NO_3} + C_{COO, K})] + 2 \cdot I (\theta_{NH_3, K} + \theta_{COO, NO_3}) + \\ & + 2 \cdot I^2 \cdot (B'_{NO_3, K} + C_{NO_3, K}) + I^2 \cdot (\Psi_{NH_3, NO_3, K} + \Psi_{COO, NO_3, K}) \end{aligned} \quad (VI.7)$$

Con el objeto de modelizar situaciones intermedias a las descritas arriba, se ha supuesto que el logaritmo del coeficiente de actividad del zwitterion consta de una contribución ponderada de cada una de las situaciones descritas anteriormente. Esto equivale a considerar que en una fracción p de moléculas de zwitterion los dos

grupos cargados se comportan de forma independiente, en tanto que en la fracción restante, $1-p$, actúan como una especie neutra, sin separación de cargas, entonces el logaritmo del coeficiente de actividad sería:

$$(\ln \gamma_{AH})_{REAL} = (1-p) \cdot (\ln \gamma_{AH})_{NEUTRA} + p \cdot (\ln \gamma_{AH})_{CARGA DOBLE} \quad (VI.8)$$

Tomando esta expresión, junto a la de los otros coeficientes de actividad, ecs. VI.3-5, y sustituyendo en la ec. VI.1, se obtiene:

$$pK_1^* = pK_1^T + \frac{1}{\ln 10} \left\{ 2p [f^I + \beta_{NO_3,K}^{(1)} \cdot I \cdot e^{-2\sqrt{I}}] + \right. \\ \left. + Cte_1 [1 - (1+2\sqrt{I}) \cdot e^{-2\sqrt{I}}] + Cte_2 \cdot 2 \cdot I + Cte_3 \cdot I^2 \right\} \quad (VI.9)$$

donde:

$$Cte_1 = \beta_{NO_3,H}^{(1)} - \beta_{NO_3,AH_2}^{(1)} + p \cdot A \\ Cte_2 = \beta_{NO_3,H}^{(0)} - \beta_{NO_3,AH_2}^{(0)} + \theta_{H,K} - \theta_{AH_2,K} + p \cdot B + \lambda(1-p) \\ Cte_3 = C_{NO_3,H}^\phi - C_{NO_3,AH_2}^\phi + \psi_{NO_3,K,H} - \psi_{NO_3,K,AH_2} + p \cdot C \quad (VI.10)$$

Para el segundo equilibrio:

$$pK_2^* = pK_2^T + \frac{1}{\ln 10} \left\{ 2 \cdot (1-p) [f^I + \beta_{NO_3,K}^{(1)} \cdot I \cdot e^{-2\sqrt{I}}] \right. \\ \left. + Cte'_1 [1 - (1+2\sqrt{I}) \cdot e^{-2\sqrt{I}}] + Cte'_2 \cdot 2 \cdot I + Cte'_3 \cdot I^2 \right\} \quad (VI.11)$$

donde:

$$\begin{aligned}
 Cte_1' &= \beta_{NO_3,H}^{(1)} + \beta_{A,K}^{(1)} - \beta_{NO_3,K}^{(1)} - p \cdot A \\
 Cte_2' &= \beta_{NO_3,H}^{(0)} + \beta_{A,K}^{(0)} + \theta_{H,K} + \theta_{A,NO_3} - p \cdot B - \lambda(1-p) \\
 Cte_3' &= C_{NO_3,H}^\phi + 2C_{NO_3,K}^\phi + C_{A,K}^\phi + \psi_{NO_3,K,H} + \psi_{A,NO_3,K} - p \cdot C
 \end{aligned} \tag{VI.12}$$

además A, B y C corresponden a:

$$\begin{aligned}
 A &= \beta_{NH_3,NO_3}^{(1)} + \beta_{COO,K}^{(1)} - \beta_{NO_3,K}^{(1)} \\
 B &= \beta_{NH_3,NO_3}^{(0)} + \beta_{COO,K}^{(0)} + \theta_{NH_3,K} + \theta_{NO_3,COO} \\
 C &= C_{NH_3,NO_3}^\phi + C_{NO_3,K}^\phi + C_{COO,K}^\phi + \psi_{NH_3,NO_3,K} + \psi_{COO,NO_3,K}
 \end{aligned} \tag{VI.13}$$

VI.II. Resultados y discusión

VI.II.I. Constantes estequiométricas y parámetros de interacción

Se han determinado las dos constantes estequiométricas de varios aminoácidos en los que los grupos funcionales se van alejando progresivamente: glicina, β -alanina, ác. γ -aminobutírico y ác. ε -aminocaproico, a 25°C y a distintas fuerzas iónicas en nitrato potásico, usando el procedimiento descrito en el apartado III. El paso de molaridad a molalidad se efectuó según se describe en el apéndice C. Los resultados figuran en las tablas VI.1 y 2, y algunos valores de pK^* encontrados en la bibliografía en el apéndice D.

**TABLA VI.1. pK_1 , en KNO_3 , de los aminoácidos indicados.
Valores expresados en escala de molalidad**

m	glicina	β -alanina	γ -aminobutírico	ϵ -aminocaproico
0.01			4.006	4.356
0.05		3.578	4.037	4.380
0.10	2.371	3.563	4.035	4.386
0.20				4.375
0.30	2.397	3.581	4.070	4.390
0.51	2.405	3.584	4.075	4.416
0.72	2.436	3.617	4.129	4.451
0.94	2.435	3.632	4.149	4.482
1.15	2.444	3.666	4.183	4.482
1.38	2.453	3.676	4.194	4.509
1.60	2.501	3.698	4.230	4.536
1.83		3.742		
2.06		3.768		
2.18		3.777		

Error experimental entre 0.005 y 0.05

**TABLA VI.2. pK_2 , en KNO_3 , de los aminoácidos indicados.
Valores expresados en escala de molalidad**

m	glicina	β -alanina	γ -aminobutírico	ϵ -aminocaproico
0.01			10.361	10.674
0.05		10.168	10.361	10.686
0.10	9.627	10.098	10.357	10.659
0.20				10.687
0.30	9.536	10.065	10.345	10.685
0.51	9.542	10.046	10.344	10.705
0.72	9.592	10.058	10.351	10.713
0.94	9.608	10.061	10.385	10.747
1.15	9.628	10.068	10.405	10.767
1.38	9.659	10.089	10.415	10.789
1.60	9.703	10.096	10.451	10.808
1.83		10.104		
2.06		10.126		
2.18		10.169		

Error experimental entre 0.005 y 0.05

En el ajuste de los datos experimentales se ha despreciado el término correspondiente a interacciones triples, que en general, debe ser poco importante por debajo de 2 molar³ y se han llevado a cabo diversos análisis, tal como se refleja en las tablas VI.3-6:

- ajuste considerando el parámetro p variable, incluyendo el dato a $I=0.01$, y omitiéndolo.
- ajuste considerando el parámetro $p=0$, incluyendo el dato a $I=0.01$, y omitiéndolo.

Las razones por las que se han efectuado dichos ajustes son las siguientes:

- Estudiar la validez del modelo propuesto para el comportamiento del zwitterion con p variable en comparación al modelo que considera $p=0$, y que es ampliamente aceptado para el caso de los α -aminoácidos.¹
- El mayor error existente en los valores de pK^* a fuerzas iónicas bajas justifica el estudio de su inclusión o no en el ajuste (en general los datos a $I < 0.1M$ son menos reproducibles y plantean más problemas experimentales).
- Comprobar como afecta a los parámetros determinados la inclusión o no de datos a fuerzas iónicas bajas, sobre todo a la forma de las curvas y al pK^T .

Los resultados obtenidos para los parámetros de interacción calculados usando un método estándar de regresión lineal con el programa SOLO⁴, a partir de los datos de las tablas VI.1-2 y de las ecs. VI.9-13 se encuentran recogidos en las tablas VI.3-6.

TABLA VI.3. *Parámetros de interacción y pK^T , según la teoría de Pitzer, de los aminoácidos indicados, en KNO_3 , calculados usando todos los datos de las tablas VI.1-2 y aplicando las ecs. VI.9-13*

	glicina	β -alanina	ác. γ -aminobut.	ác. ϵ -aminocapr.
pK_1^T	2.19 ± 0.19	3.61 ± 0.04	3.99 ± 0.03	4.36 ± 0.03
p	-1.1 ± 1.1	0.23 ± 0.28	-0.23 ± 0.22	0.03 ± 0.21
Cte ₁	-1.9 ± 2.0	0.12 ± 0.51	-0.40 ± 0.51	-0.02 ± 0.50
Cte ₂	0.10 ± 0.05	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.03	0.12 ± 0.04
σ	0.013	0.008	0.010	0.012

	glicina	β -alanina	ác. γ -aminobut.	ác. ϵ -aminocapr.
pK_2^T	10.27 ± 0.16	10.36 ± 0.08	10.36 ± 0.02	10.68 ± 0.02
p	-2.7 ± 1.0	-0.3 ± 0.5	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.2
Cte ₁ '	5.1 ± 1.7	1.2 ± 0.9	0.85 ± 0.32	-0.04 ± 0.40
Cte ₂ '	0.28 ± 0.04	0.18 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.14 ± 0.03
σ	0.012	0.013	0.010	0.009

TABLA VI.4. *Parámetros de interacción y pK^T de los aminoácidos indicados, en KNO_3 , calculados usando todos los datos de las tablas VI.1-2 y aplicando las ecs. VI.9-13, con $p=0$*

	glicina	β -ala.	ác. γ -aminobut.	ác. ϵ -aminocapr.
pK_1^T	2.37 ± 0.02	3.57 ± 0.01	4.02 ± 0.01	4.36 ± 0.01
Cte ₁	0.03 ± 0.22	-0.29 ± 0.07	0.13 ± 0.12	0.04 ± 0.12
Cte ₂	-0.08 ± 0.04	0.16 ± 0.01	0.12 ± 0.03	0.12 ± 0.03
σ	0.013	0.008	0.011	0.011

	glicina	β -ala.	ác. γ -aminobut.	ác. ϵ -aminocapr.
pK_2^T	9.82 ± 0.03	10.32 ± 0.01	10.48 ± 0.02	10.79 ± 0.02
Cte_1'	0.35 ± 0.29	0.70 ± 0.11	1.7 ± 0.3	2.1 ± 0.2
Cte_2'	0.33 ± 0.06	0.18 ± 0.02	0.08 ± 0.06	0.03 ± 0.05
σ	0.017	0.013	0.002	0.020

TABLA VI.5. Parámetros de interacción y pK^T de los aminoácidos indicados, en KNO_3 , calculados aplicando las ecs. VI.9-13 y usando los datos de las tablas VI.1-2, omitiendo los datos a $I=0.01$

	ác. γ -aminobut.	ác. ϵ -aminocapr.		ác. γ -aminobut.	ác. ϵ -aminocapr.
pK_1^T	4.08 ± 0.07	4.48 ± 0.06	pK_2^T	10.38 ± 0.05	10.73 ± 0.06
p	0.36 ± 0.50	0.8 ± 0.4	p	1.0 ± 0.4	0.6 ± 0.4
Cte_1	0.7 ± 0.9	1.4 ± 0.7	Cte_1'	-0.5 ± 0.7	0.5 ± 0.8
Cte_2	0.13 ± 0.04	0.09 ± 0.03	Cte_2'	0.19 ± 0.03	0.12 ± 0.03
σ	0.010	0.009	σ	0.007	0.009

TABLA VI.6. Parámetros de interacción y pK^T de los aminoácidos indicados, en KNO_3 , calculados aplicando las ecs. VI.9-13 y usando los datos de las tablas VI.1-2, omitiendo los datos a $I=0.01$, para $p=0$

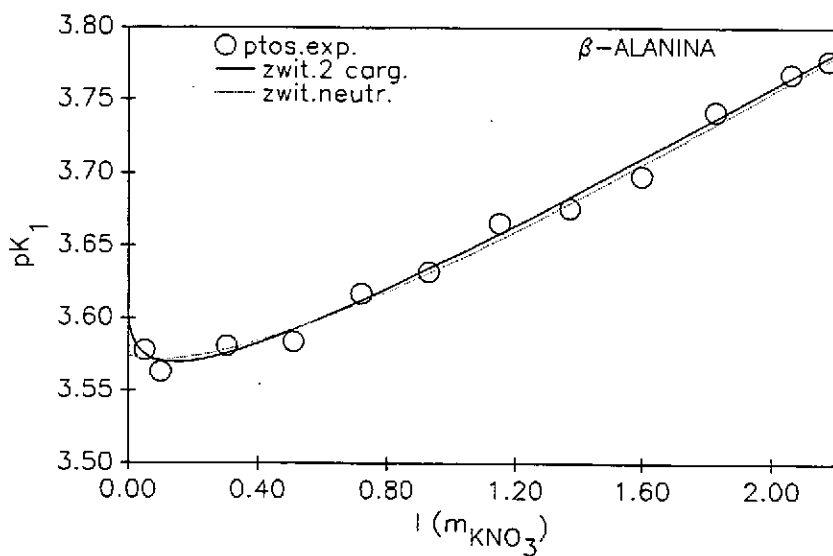
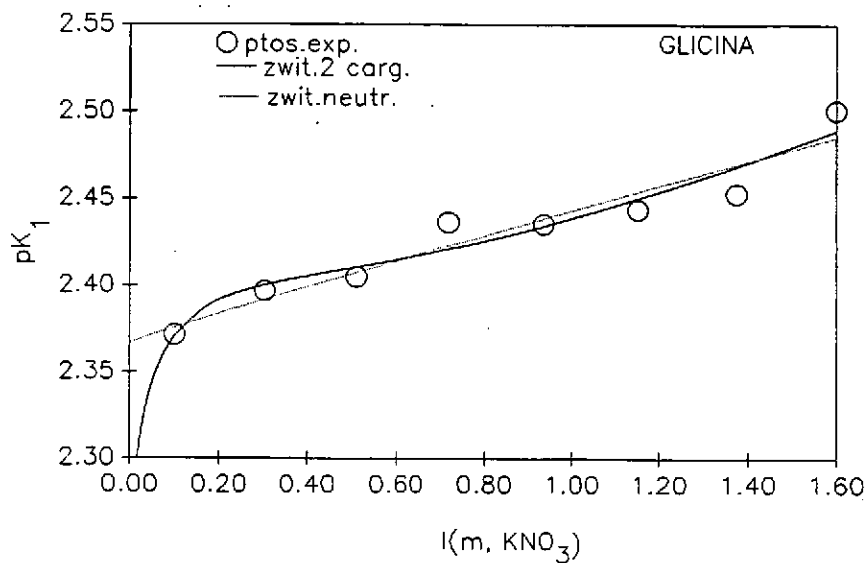
	ác. γ -aminobut.	ác. ϵ -aminocapr.		ác. γ -aminobut.	ác. ϵ -aminocapr.
pK_1^T	4.03 ± 0.01	4.37 ± 0.01	pK_2^T	10.52 ± 0.01	10.82 ± 0.01
Cte_1	0.01 ± 0.13	-0.03 ± 0.14	Cte_1'	1.3 ± 0.1	1.7 ± 0.1
Cte_2	0.14 ± 0.03	0.13 ± 0.03	Cte_2'	0.15 ± 0.03	0.09 ± 0.03
σ	0.010	0.011	σ	0.010	0.011

Los resultados reflejados en las tablas VI.3-6 permiten apreciar que para el modelo con p ajustable los valores de este parámetro no están comprendidos entre 0 y 1, tal y como era de esperar, aunque hay que considerar dos cuestiones importantes al respecto. La primera es que el valor de p viene afectado, en general, por errores importantes, aunque el error del ajuste está dentro de los márgenes aceptados para valores de pK , según textos especializados⁵. En segundo lugar hay que tener en cuenta que la mayor diferencia existente en las curvas pK^* vs. I , para los dos modelos límite, esto es, $p=1$ y $p=0$, se debe a la presencia del término correspondiente a la ley límite, en el pK_1^* para el primer caso y en el pK_2^* para el segundo (véase el apartado V.3). El análisis anterior permite concluir que son, precisamente, los datos a fuerzas iónicas bajas los de mayor peso a la hora de calcular el parámetro p . Sin embargo es en esta región donde es más impreciso el trabajo experimental y los datos presentan mayor error, lo que explica la diferencia de comportamientos cuando $I \rightarrow 0$ en las figuras VI.1-2, y por tanto las diferencias en el pK^T y el parámetro p . De esta forma se explica, también, que con el modelo con p ajustable para la glicina no se obtenga un valor $p=0$ del ajuste, aunque este comportamiento está perfectamente comprobado en bibliografía¹.

Por último, es interesante destacar que los parámetros Cte_1 y Cte_2 no varían, dentro del error experimental, ni de un modelo a otro, ni al cambiar de aminoácido. Esta circunstancia ha sido observada con anterioridad al analizar datos de otros autores⁶.

FIGURA VI.1. pK_1 vs. I obtenidos en KNO_3 .

Trazadas las curvas correspondientes a los distintos ajustes realizados.



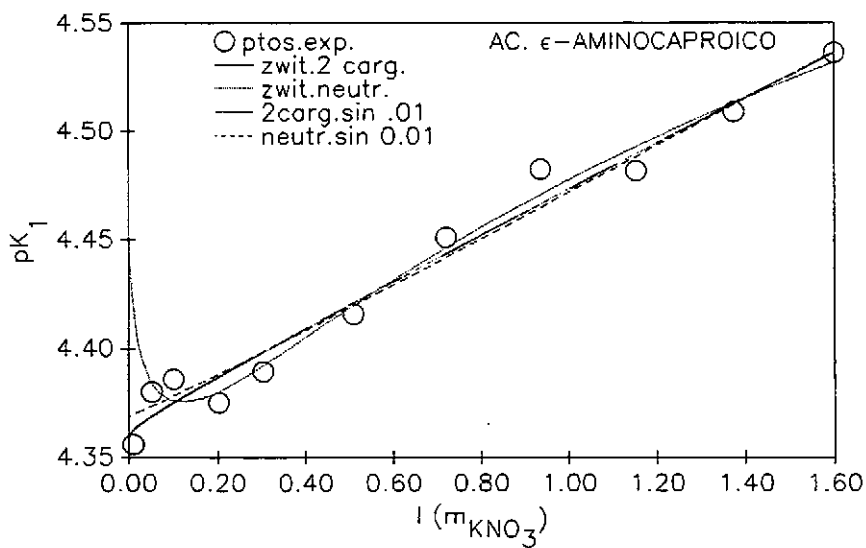
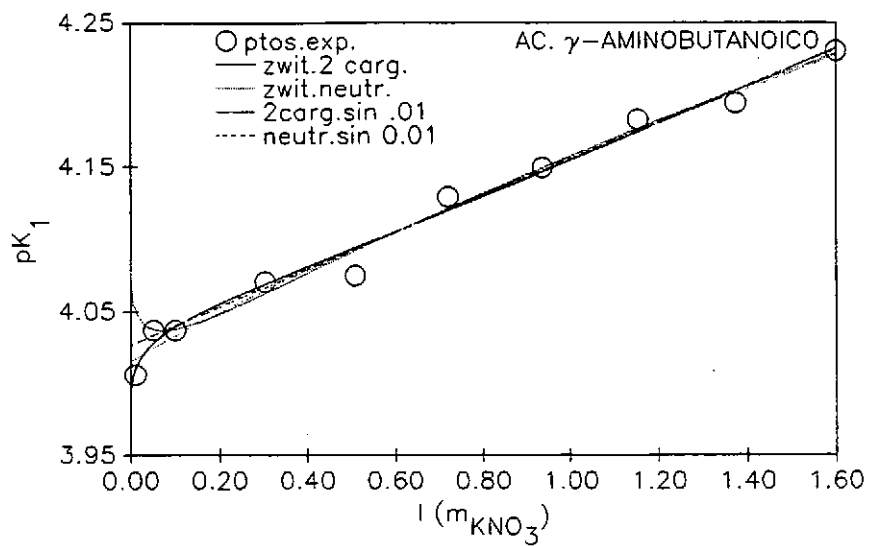
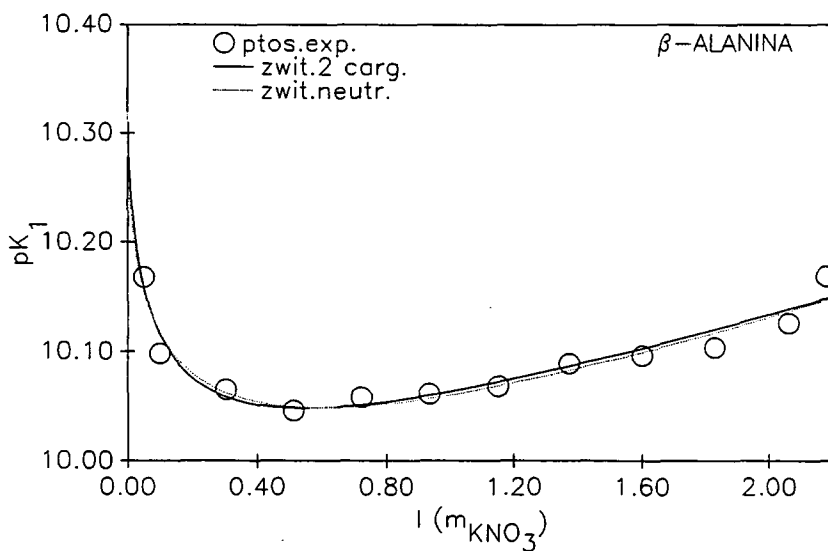
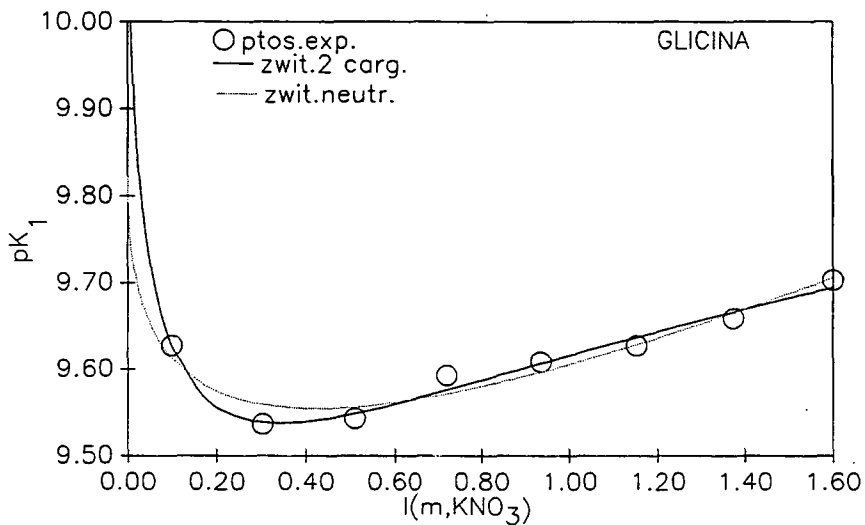
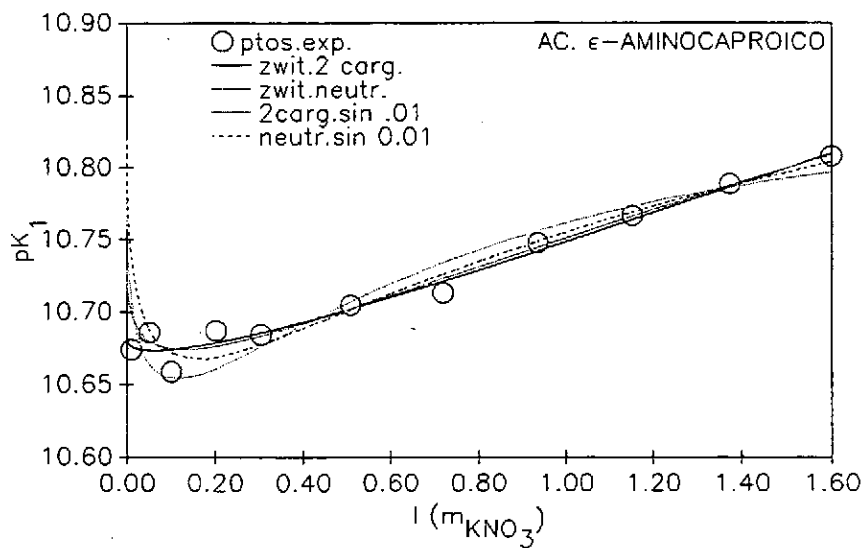
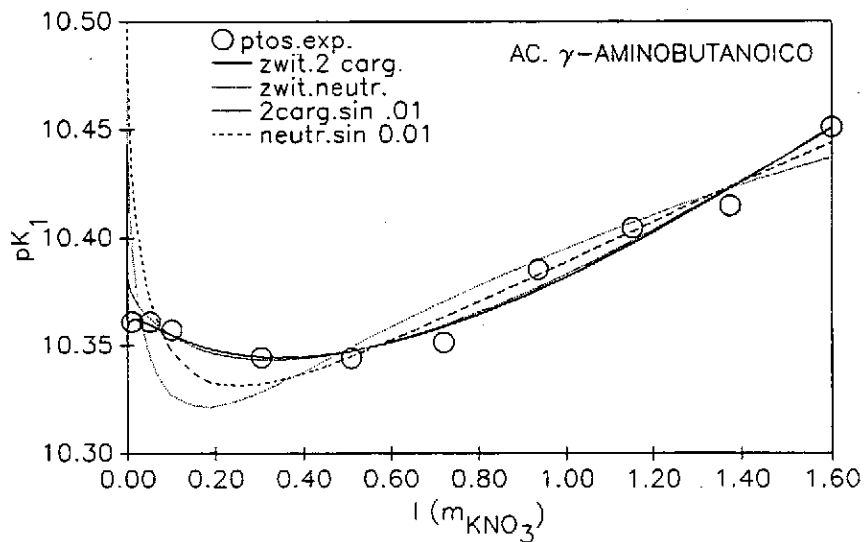


FIGURA VI.2. pK_2 vs. I obtenidos en KNO_3 .

Trazadas las curvas correspondientes a los distintos ajustes realizados.





VI.II.II. Aplicación de las ecuaciones de Pitzer al producto iónico del agua

La determinación de las constantes ácido-base de los aminoácidos estudiados en el apartado anterior se llevó a cabo siguiendo el procedimiento experimental descrito en el apartado III, usando, por tanto, el MINIQAD⁷ para el ajuste de las constantes. El producto iónico del agua, pK_w^* , aparece en las ecuaciones III.18 y III.23, que son básicamente las mismas que utiliza este programa, aunque las planteo de forma más general. El pK_w^* puede ser introducido como un valor fijo o a refinar por el mencionado programa. Esta última opción constituye el procedimiento utilizado para obtener los resultados que se recogen en la figura VI.3 y la tabla VI.7, en la que se aprecia que el valor del producto iónico del agua depende en gran medida del tipo de aminoácido presente, cuando debería ser una constante a cada fuerza iónica.

FIGURA VI.3. pK_w^* vs. I obtenidos en el ajuste del MINIQAD de los pK de los aminoácidos indicados en la figura y los calculados usando los calibrados en medio básico

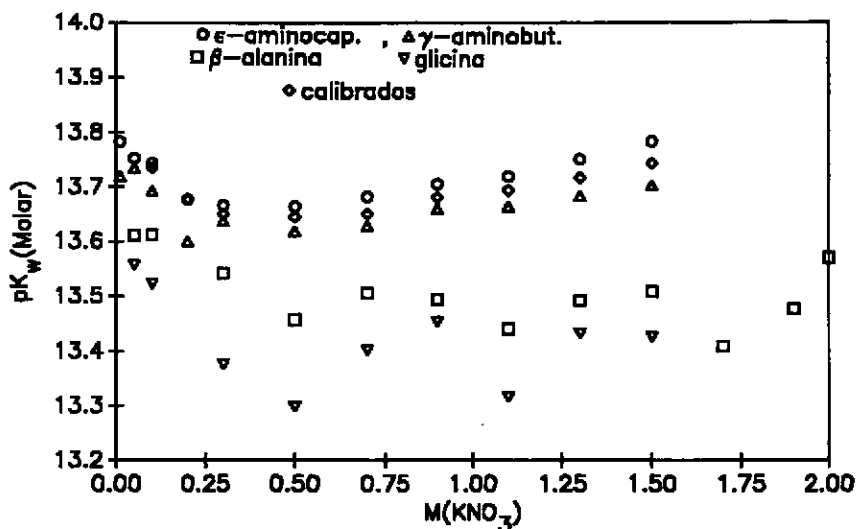


TABLA VI.7. pK_w^* en KNO_3 , calculados por el MINQUAD para los aminoácidos indicados, y valores obtenidos a partir del calibrado. Todos ellos expresados en molaridad

M	calibrado	glicina	β -alanina	γ -amino-butírico	ϵ -amino-caproico
0.10	13.770	13.533	13.613	13.693	13.744
0.20					13.677
0.30	13.650	13.377	13.542	13.638	13.666
0.50	13.651	13.299	13.458	13.619	13.664
0.70	13.642	13.403	13.506	13.629	13.682
0.90	13.677	13.454	13.494	13.660	13.706
1.10	13.699	13.317	13.441	13.664	13.720
1.30		13.433	13.492	13.683	13.751
1.50		13.426	13.508	13.702	13.783
1.70			13.409		
1.90			13.477		
2.00			13.570		

El valor de pK_w^* se puede determinar, además, realizando los calibrados en medio básico, tal como se explicó en el apartado III.V; los resultados aparecen recogidos en la tabla VI.7 y en la figura VI.3. La diferencia en los valores del producto iónico calculados para los distintos aminoácidos puede deberse a que la diferencia entre el pK_2^* y pK_w^* en la glicina y la β -alanina no permite el cálculo de la constante del agua con los datos de las valoraciones correspondientes a estos aminoácidos. Por esta razón se calcula pK_w^* como la media de los valores obtenidos en los calibrados y de los ácidos γ -aminobutírico y ϵ -aminocaproico (tabla VI.8).

TABLA VI.8. Media de pK_w^* en KNO_3 , obtenidos para los ácidos γ -aminobutírico y ϵ -aminocaproico y valores obtenidos a partir del calibrado, expresados en molaridad

M	pK_w^*
0.10	13.732
0.20	13.669
0.30	13.640
0.51	13.627
0.72	13.625
0.94	13.648
1.15	13.653
1.38	13.669
1.60	13.687

(La conversión de molaridad a molalidad se lleva a cabo tal como se indica en el Apéndice C)

Por otra parte, la ausencia en la bibliografía⁸⁻¹² de valores de esta constante en KNO_3 es, a su vez, la causa de que no aparezca tabulado el valor de algunos parámetros de mezcla del protón y el hidroxilo con los iones nitrato y potasio, que, por tanto, han de ser determinados a partir de los datos de pK_w^* vs. I. Para calcularlos es necesario aplicar el formalismo de Pitzer al equilibrio de ionización del agua:



cuya constante termodinámica es:

$$K_w^T = \frac{(H^+) \cdot (OH^-)}{(H_2O)} = [H^+] \cdot [OH^-] \cdot \frac{\gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}}{(H_2O)} = K_w^* \cdot \frac{\gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}}{(H_2O)} \quad (VI.15)$$

donde $K_w^* = [H^+][OH^-]$. Tomando logaritmos:

$$pK_w^* = pK_w^T + \log \frac{\gamma_{H^+} \gamma_{OH^-}}{a_{H_2O}} \quad (VI.16)$$

Los coeficientes de actividad de los iones H^+ y OH^- en presencia de un electrolito 1:1, XK, se pueden expresar usando el formalismo de Pitzer según las ecuaciones:

$$\ln \gamma_{H^+} = f^{\prime} + 2 \cdot I(B_{XH} + I \cdot C_{XH}) + 2 \cdot I \cdot \theta_{HK} + I^2 \cdot (B'_{XK} + C_{XK} + \psi_{HXK}) \quad (VI.17)$$

$$\ln \gamma_{OH^-} = f^{\prime} + 2 \cdot I(B_{OHK} + I \cdot C_{OHK}) + 2 \cdot I \cdot \theta_{OHX} + I^2 \cdot (B'_{XK} + C_{XK} + \psi_{OHXK}) \quad (VI.18)$$

sumando ambas se llega a:

$$\ln(\gamma_{H^+} \cdot \gamma_{OH^-}) = 2f^{\prime} + 2 \cdot I[B_{XH} + B_{OHK} + I(C_{OHK} + C_{XH})] + 2 \cdot I(\theta_{HK} + \theta_{OHX}) + 2I^2(B'_{XK} + C_{XK}) + I^2(\psi_{HXK} + \psi_{OHXK}) \quad (VI.19)$$

sustituyendo cada parámetro por su valor, omitiendo los parámetros de mezcla (θ y ψ) se obtiene:

$$\ln(\gamma_{H^+} \cdot \gamma_{OH^-}) = 2f^{\prime} + 0.6406 \cdot g + 0.0494 \cdot g' + 0.4834 \cdot I + 0.0117 \cdot I^2$$

donde:

$$f^{\prime} = -0.3910 \left[\frac{\sqrt{I}}{1+1.2\sqrt{I}} + \frac{2}{1.2} \ln(1+1.2\sqrt{I}) \right] \quad (VI.20)$$

$$g = 1 - (1+2\sqrt{I}) \cdot e^{-2\sqrt{I}}$$

$$g' = -1 + (1+2\sqrt{I}+2I) \cdot e^{-2\sqrt{I}}$$

Para calcular la actividad del agua se recurre a su relación con el coeficiente osmótico¹³:

$$\phi = -1000 \cdot \frac{\ln a_{H_2O}}{M_w \cdot \nu \cdot m} = \frac{-250}{9 \cdot I} \ln a_{H_2O} \quad (\text{VI.21})$$

donde M_w es la masa molecular del disolvente, ν es la suma de los coeficientes estequiométricos de los iones de la sal, $\nu = \nu_{NO_3} + \nu_K = 2$ y m es la molalidad del soluto, que es igual a la fuerza iónica por tratarse de un electrolito 1:1. El coeficiente osmótico, es según las ecuaciones de Pitzer:

$$\begin{aligned} \phi - 1 &= -0.3910 \left[\frac{\sqrt{I}}{1 + 1.2 \sqrt{I}} \right] + I \cdot (\beta_{NO_3K}^0 + \beta_{NO_3K}^1 \cdot e^{-2\sqrt{I}}) + I^2 \cdot C_{NO_3K}^\phi \\ &= -0.3910 \left[\frac{\sqrt{I}}{1 + 1.2 \sqrt{I}} \right] - 0.0816I + 0.0494Ie^{-2\sqrt{I}} + 0.0066I^2 \end{aligned} \quad (\text{VI.22})$$

Sustituyendo las ecs. VI.20 y VI.21 en la ec. VI.23 se obtiene el producto iónico del agua:

$$pK_w^* = 13.997 + \frac{1}{\ln 10} \left[\ln(\gamma_H \cdot \gamma_{OH^-}) + \frac{9I}{250} \phi \right] \quad (\text{VI.23})$$

donde se ha sustituido el pK^T del agua por su valor.⁸

Si se agrupan todos los parámetros conocidos en un miembro de la ecuación el resultado es:

$$pK_w^* - 13.997 - \frac{1}{\ln 10} \left[\ln(\gamma_H \cdot \gamma_{OH^-}) + \frac{9I}{250} \phi \right] = \theta_{OH,NO_3} \cdot \frac{I}{\ln 10} + (\psi_{H,NO_3,K} + \psi_{OH,NO_3,K}) \cdot \frac{I^2}{\ln 10}$$

donde:

$$\ln(\gamma_H \cdot \gamma_{OH^-}) = 2f^{\gamma} + 0.6406 \cdot g + 0.0494 \cdot g' + 0.4834 \cdot I + 0.0117 \cdot I^2$$

$$\phi - 1 = -0.3910 \left[\frac{\sqrt{I}}{1 + 1.2 \sqrt{I}} \right] - 0.0816I + 0.0494Ie^{-2\sqrt{I}} + 0.0066I^2$$

(VI.24)

El ajuste pK_w^* vs. I de los datos experimentales que figuran en tabla VI.8, a la ec. VI.24 se realiza con el programa SOLO⁴, y el resultado se recoge en la tabla VI.9 y en la figura VI.4 respectivamente.

FIGURA VI.4. Representación de los valores del producto iónico del agua y la curva correspondiente al ajuste realizado usando la escala de molalidades

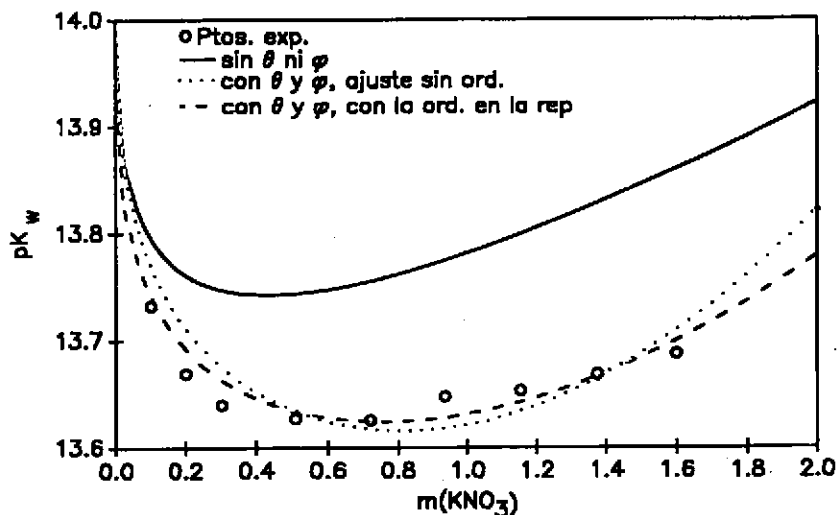


TABLA VI.9. Parámetros de interacción calculados usando el producto iónico del agua

ordenada origen	-0.037 ± 0.014
θ_{OH,NO_3}	-0.40 ± 0.11
$\psi_{H,NO_3,K} + \psi_{OH,NO_3,K}$	0.14 ± 0.07
σ	0.021

Se aprecia que aunque el error del ajuste es bueno, los parámetros θ y ψ poseen valores atípicamente altos si se comparan con datos análogos ya publicados¹⁴.

Por otra parte, los parámetros de mezcla que aparecen en las ecuaciones para el cálculo del producto iónico del agua deberían ser despreciables a fuerzas iónicas moderadas $I < 2 \text{ M}^3$ y permitir el cálculo de pK_w sin tenerlos en consideración. En este caso el producto iónico del agua se obtendría a partir de la ecuación VI.24 pero omitiendo los parámetros θ y ψ en el cálculo de los coeficientes de actividad. La curva correspondiente a este ajuste se recoge en la figura VI.4, pero como se aprecia responde peor al comportamiento experimental que la correspondiente al modelo que considera la ecuación completa.

Otro electrolito para el que sí se encuentran datos publicados de la constante de ionización del agua es el cloruro potásico. En la ref.⁸ aparece tabulado el valor de $(\gamma_H \gamma_{OH})/a_{\text{agua}}$, frente a la fuerza iónica de KCl a la que se determinó cada valor, lo que permite calcular el producto iónico del agua que figura en la tabla VI.10, a partir de la expresión:

$$pK_w^* = -\log \left[\frac{K_w^T}{\frac{\gamma_H \cdot \gamma_{OH^-}}{a_w}} \right] \quad (\text{VI.25})$$

TABLA VI.10. Valores del producto iónico del agua en KCl

I(m)	$\frac{\gamma_{H^+} \cdot \gamma_{OH^-}}{a_{H_2O}}$	pK _w *
0.01	0.816	13.906
0.02	0.760	13.875
0.03	0.726	13.855
0.04	0.702	13.840
0.06	0.668	13.819
0.11	0.618	13.785
0.21	0.574	13.753
0.51	0.534	13.722
1.01	0.592	13.766
1.51	0.672	13.821
2.01	0.787	13.890
3.01	1.056	14.018
3.51	1.205	14.075

Para el computo de pK_w* a partir de las ecuaciones de Pitzer es necesario conocer la actividad del agua y los coeficientes de actividad del protón y el hidroxilo.

El producto de los coeficientes de actividad es, usando los parámetros θ y ψ :

$$\ln(\gamma_{H^+} \cdot \gamma_{OH^-}) = 2f' + 0.6145 \cdot g + 0.2122 \cdot g' + 0.5246 \cdot I - 0.01094 \cdot I^2 \quad (VI.26)$$

si éstos se omiten el resultado es:

$$\ln(\gamma_{H^+} \cdot \gamma_{OH^-}) = 2f' + 0.6145 \cdot g + 0.2122 \cdot g' + 0.6146 \cdot I + 0.0041 \cdot I^2 \quad (VI.27)$$

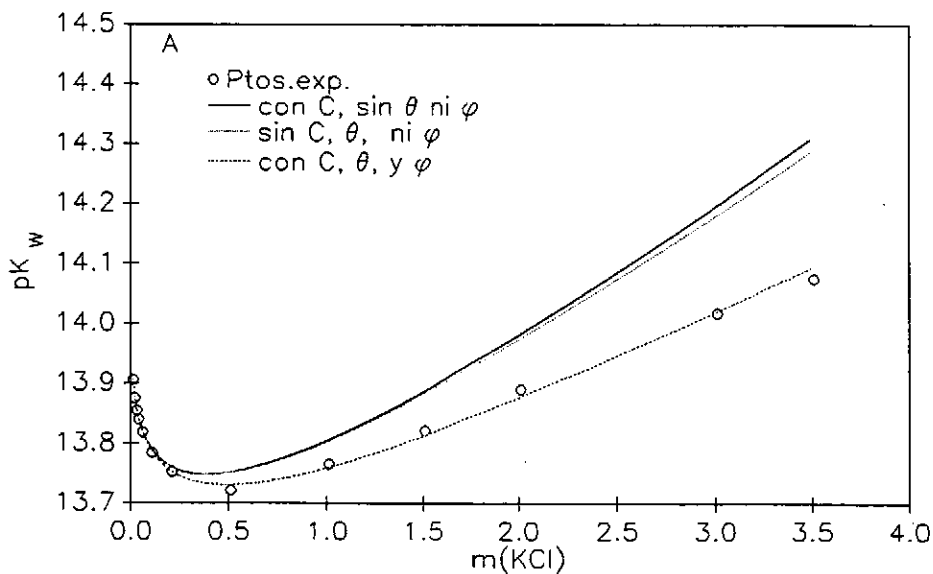
Por otra parte, la ecuación del coeficiente osmótico aplicando el formalismo de Pitzer, es:

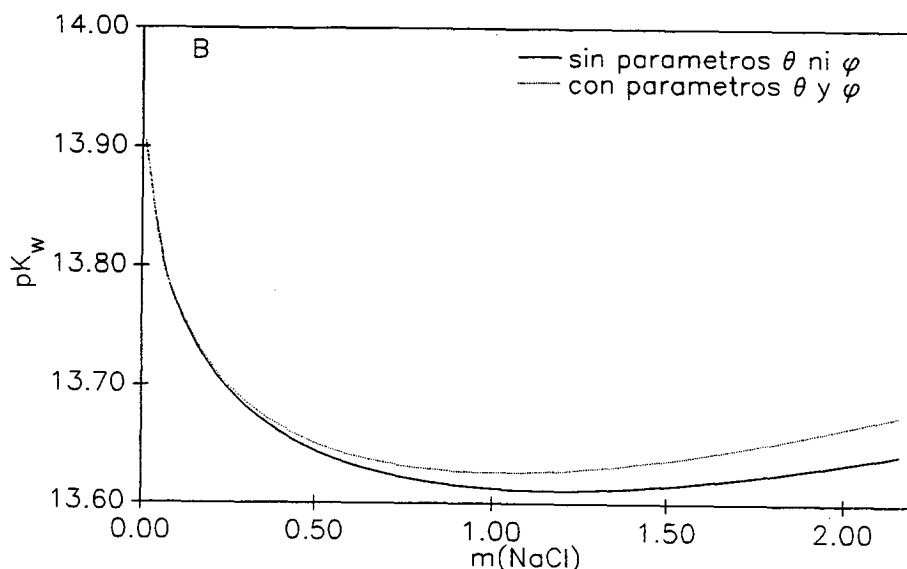
$$\phi = 1 - 0.3910 \left[\frac{\sqrt{I}}{1 + 1.2 \sqrt{I}} \right] + 0.04835I + 0.2122Ie^{-2\sqrt{I}} - 0.00084I^2 \quad (\text{VI.28})$$

Sustituyendo en la ecuación VI.23 las ecuaciones VI.26 y VI.28 y las ecs. VI.27 y VI.28, se obtienen sendas curvas representadas en la figura VI.5.

Se aprecia, por tanto, que la concordancia es muy buena, aún a fuerzas iónicas elevadas, siempre que se usen los parámetros θ y ψ ; en caso contrario la discrepancia con el experimento es mayor a medida que aumenta la fuerza iónica, como es de esperar. Otro sistema para el que se ha realizado este tipo de cálculo es el NaCl. En este caso la curva obtenida incluyendo los parámetros θ y ψ es prácticamente igual a la dibujada sin tenerlos en cuenta.

FIGURA VI.5. Constante del agua vs. I para el KCl(A) y NaCl(B).





Bibliografía

1. Edsall, J.T., Dipolar Ions and Acid-Base Equilibria (capítulo 4), en *Proteins, Amino Acids and Peptides as Dipolar Ions*, Cohn, E.J., Edsall, J.T. Editores, Reinhold Publishing Corporation, New York, (1943)
2. Salvatore, S., Ferri, D, Palombari, R., *J.Sol.Chem.*, 15, 423 (1986)
3. Pitzer, K.S., *J.Chem. Phys.*, 77(2), 268, (1973)
4. Statistical Package SOLO. Distributed by BMDP Statistical Software Inc. Version 03 8/88.
5. Albert, A., Serjeant, E.P., *Determination of Ionization Constants*, Chapman and Hall, Cambridge, (1984)
6. Fiol, S., Brandariz, I., Armesto, X.L., Arce, F., Sastre de Vicente, M.E. *Ann. Chim.(Rome)*, 83, 175, (1993)
7. Vacca, A., Sabatini, A., *MINIQUAD and MIQUV Two Approaches for the Computation of Formation Constants from Potentiometric Data* Cap. 5 en *Computational Methods for the determination of Formation Constants*, Plenum, New York, 1985

8. Harned, H.S., Owen, B.B., *Physical Chemistry of Electrolyte Solutions*, Reinhold Publishing Corporation, Chapman and Hall, London, 1958
9. Baes, C.F. Jr, Mesmer, R.E., *The Hydrolysis of Cations*, Wiley-Interscience Publication, New York, 1976
10. Liberti, A., Light, T.S., *J.Chem.Educ.* 39(5), 237, (1962)
11. Covington, A. K., Ferra, M., Robinson, R. A., *J.Chem. Soc. Faraday Trans.*, 1721, (1977)
12. Braibanti, A., Brusdri, C., Fiscaro, E., Pasquali, *Talanta*, 33(6), 471, (1986)
13. Stokes, R.H., *Thermodynamics of Solutions* en Pytkowicz R.M.(ed) *Activity Coefficients in Electrolyte Solutions*, C.R.C. Press Inc., Boca Raton, Florida, (1979)
14. Pitzer, K.S., *Theory: Ion Interaction Aproach* in Pytkowicz R.M.(ed) *Activity Coefficients in Electrolyte Solutions*, C.R.C. Press Inc., Boca Raton, Florida, (1979)

VII. Aplicación de las teorías de interacción iónica a equilibrios de aminoácidos en mezclas de electrolitos

Normalmente la determinación de constantes de equilibrio ácido-base se lleva a cabo en medios electrolíticos sencillos, esto es, constituidos por un solo electrolito inerte con el fin de mantener constante la fuerza iónica del medio¹. Este hecho es la causa de que prácticamente no existan datos tabulados de constantes de equilibrio en medios constituidos por dos o más electrolitos. Por esta razón se ha considerado interesante el estudio sistemático de la influencia que tanto la composición salina del medio, formado por mezclas de dos electrolitos, como el valor de la fuerza iónica alcanzada en dicho medio, ejercen sobre las constantes de disociación determinadas. Este análisis se ha materializado con el estudio de la dependencia de las constantes estequiométricas de equilibrio de los siguientes sistemas:

- L-Valina en mezclas equimoleculares de KCl-KBr y de KCl-KNO₃, a fuerzas iónicas comprendidas entre 0.1 y 1.5.
- α -alanina en mezclas de KNO₃ y ioduro de tetraetil amonio, a fuerza iónica constante, variando la fracción de cada electrolito en la mezcla.

Los resultados obtenidos se detallan en los siguientes apartados.

VII.1. Aplicación de los formalismos de Pitzer y Guggenheim a los equilibrios ácido-base de la L-valina en mezclas de electrolitos

Se han determinado las constantes de equilibrio estequiométricas de la L-valina en mezclas equimoleculares de KCl-KBr y de KCl-KNO₃, a fuerzas iónicas comprendidas entre 0.1 y 1.5. Estos datos han sido analizados empleando los modelos de Pitzer y Guggenheim para los coeficientes de actividad de las especies que intervienen en los equilibrios, lo que permite expresar la dependencia de las constantes estequiométricas en función de la fuerza iónica de la disolución. El modelo propuesto por Pitzer² en la década de los 70, supone un considerable aumento en complejidad en relación al de Guggenheim³, puesto que el número de parámetros que dan cuenta de las interacciones existentes en el medio es mucho mayor. No obstante este modelo es relativamente sencillo comparado con otros, como por ejemplo los propuestos por Scatchard⁴ o Reilly y Wood⁵, que se han empleado con resultados muy satisfactorios en la representación de coeficientes osmóticos y de actividad para electrolitos fuertes en amplios intervalos de fuerzas iónicas.

VII.1.1. Ecuaciones de Guggenheim

Los coeficientes de actividad que aparecen en las ecs. IV.2 y IV.3 son según la teoría de Guggenheim (ec.I.9), para una mezcla de electrolitos 1:1, de fórmulas, JK y LK:

$$\ln \gamma_{AH_2^+} = -A \frac{\sqrt{I}}{1+1.5\sqrt{I}} + \beta_{AH_2^+,J^-} \cdot I + \beta_{AH_2^+,L^-} \cdot I \quad (\text{VII.1})$$

$$\ln \gamma_{H^+} = -A \frac{\sqrt{I}}{1+1.5\sqrt{I}} + \beta_{H^+J^-} \cdot I + \beta_{H^+L^-} \cdot I \quad (\text{VII.2})$$

$$\ln \gamma_{A^-} = -A \frac{\sqrt{I}}{1+c\sqrt{I}} + 2I \cdot \beta_{A^-K^+} \quad (\text{VII.3})$$

$$\ln \gamma_{AH} = 2\lambda^m I \quad (\text{VII.4})$$

donde AH representa el zwitterion del aminoácido y las otras especies se representan con las mismas letras que las indicadas anteriormente (ver apartado III.I). La fuerza iónica total es I, por lo que la molalidad de K^+ es I, y las de J^- y L^- son I/2.

Sustituyendo las ecs. VII.1-4 en IV.2 y IV.3, se obtiene:

$$pK_1^* = pK_1^T + \epsilon_1^m \cdot I \quad (\text{VII.5})$$

$$pK_2^* = pK_2^T - 2A' \frac{\sqrt{I}}{1+c\sqrt{I}} + \epsilon_2^m \cdot I \quad (\text{VII.6})$$

siendo:

$$\epsilon_1^m = \frac{1}{\ln 10} [2 \cdot \lambda^m - \beta_{AH_2^+J^-} + \beta_{H^+J^-} - \beta_{AH_2^+L^-} + \beta_{H^+L^-}] \quad (\text{VII.7})$$

$$\epsilon_2^m = \frac{1}{\ln 10} [-2 \cdot \lambda^m + 2 \cdot \beta_{A^-K^+} + \beta_{H^+J^-} + \beta_{H^+L^-}] \quad (\text{VII.8})$$

El superíndice **m** indica que el parámetro en cuestión se refiere a la mezcla y no a los electrolitos simples (sección IV.I.D).

Por lo tanto la representación pK_1^* vs. I debe ser una línea recta; sin embargo pK_2^* vs. I presenta una forma diferente debido a la presencia de la ley límite de Debye-Hückel, tal como sucede cuando solo se emplea un electrolito para controlar la fuerza iónica del medio (ver sección IV.I.I, ecs. IV.8-9).

VII.I.II. Ecuaciones de Pitzer

Los coeficientes de actividad de las ecs. IV.2 y IV.3, según la teoría de Pitzer, en una mezcla equimolecular de electrolitos JK/LK, son:

$$\begin{aligned} \ln \gamma_{H^+} = f^{\gamma} + I [B_{JH} + B_{LH} + I(C_{JH} + C_{LH})] + 2I\theta_{HK} \\ + \frac{I^2}{2} (B'_{JK} + B'_{LK} + C_{JK} + C_{LK} + \psi_{HJK} + \psi_{HLK} + \frac{1}{2}\psi_{HLJ}) \end{aligned} \quad (\text{VII.9})$$

$$\begin{aligned} \ln \gamma_{AH_2^+} = f^{\gamma} + I [B_{JAH_2} + B_{LAH_2} + I(C_{JAH_2} + C_{LAH_2})] + 2I\theta_{AH_2K} \\ + \frac{I^2}{2} (B'_{JK} + B'_{LK} + C_{JK} + C_{LK} + \psi_{AH_2JK} + \psi_{AH_2LK} + \frac{1}{2}\psi_{AH_2LJ}) \end{aligned} \quad (\text{VII.10})$$

$$\begin{aligned} \ln \gamma_{A^-} = f^{\gamma} + 2I (B_{AK} + I C_{AK}) + I(\theta_{AJ} + \theta_{AL}) + \\ + \frac{I^2}{2} (B'_{JK} + B'_{LK} + C_{LK} + C_{JK} + \psi_{AJK} + \psi_{ALK}) \end{aligned} \quad (\text{VII.11})$$

$$\ln \gamma_{AH} = I\lambda_{AHJK} + I\lambda_{AHXK} = I\lambda^m \quad (\text{VII.12})$$

donde el coeficiente de actividad del zwitterion se considera como el de una especie neutra.⁶

Operando de igual forma que en el modelo anterior y sustituyendo B, ec.I.19, se obtiene:

$$\begin{aligned}
pK_1^* = pK_1^T - \frac{I}{\ln 10} & \left[\beta_{JAH_2}^0 + \beta_{LAH_2}^0 - \lambda_{AHJK} - \lambda_{AHLK} - \beta_{HJ}^0 - \beta_{HL}^0 + 2(\theta_{AH_2K} - \theta_{HK}) \right] - \\
& - \frac{g}{2 \ln 10} \left[\beta_{JAH_2}^1 + \beta_{LAH_2}^1 - \beta_{HJ}^1 - \beta_{HL}^1 \right] - \frac{I^2}{2 \ln 10} \left[C_{JAH_2}^\phi + C_{LAH_2}^\phi - C_{HJ}^\phi - C_{HL}^\phi + \right. \\
& \left. + \psi_{JAH_2K} + \psi_{LAH_2K} - \psi_{HJK} - \psi_{HLK} + \frac{1}{2} (\psi_{AH_2JL} - \psi_{KJL}) \right] \quad (\text{VII.13})
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
pK_2^* = pK_2^* + \frac{2f^\gamma}{\ln 10} + \frac{I}{\ln 10} & \left[\beta_{JK}^1 + \beta_{LK}^1 \right] e^{-2\sqrt{I}} + \frac{g}{2 \ln 10} \left[\beta_{JH}^1 + \beta_{LH}^1 - \beta_{JK}^1 - \beta_{LK}^1 + 2 \beta_{AK}^1 \right] \\
& + \frac{I}{\ln 10} \left[2 \beta_{AK}^0 - \lambda_{AHJK} - \lambda_{AHLK} + \beta_{HJ}^0 + \beta_{HL}^0 + \theta_{AJ} + \theta_{AL} + 2 \theta_{HK} \right] + \quad (\text{VII.14}) \\
& + \frac{I^2}{2 \ln 10} \left[2 C_{AK}^\phi + C_{JH}^\phi + C_{LH}^\phi + C_{KJ}^\phi + C_{KL}^\phi + \psi_{AJK} + \psi_{ALK} + \psi_{HJK} + \psi_{HLK} + \frac{1}{2} \psi_{HJL} \right]
\end{aligned}$$

La forma de las curvas pK^* vs. I , es similar a la esperada para el caso de un solo electrolito, ya que varían solamente las constantes que multiplican a las distintas funciones de la fuerza iónica (ver sección V).

VII.1.III. Resultados y discusión

Los valores de las constantes estequiométricas de equilibrio para la L-Valina figuran en la tabla VII.1. Tanto la fuerza iónica como los pK se encuentran referidos a la escala de molalidades.

TABLA VII.1. pK_1^* y pK_2^* para la L-valina en mezclas equimoleculares de KCl-KBr y KCl-KNO₃

L-Valina				
l/m	KCl-KBr		KCl-KNO ₃	
	pK_1^*	pK_2^*	pK_1^*	pK_2^*
0.10	2.278	9.539	2.244	9.527
0.25	2.324	9.473	2.313	9.486
0.50			2.345	9.493
0.51	2.346	9.481		
0.71	2.364	9.491		
1.02	2.365	9.492	2.354	9.498
1.22	2.362	9.522		
1.23			2.369	9.504
1.43	2.407	9.563		
1.44			2.387	9.524

Error experimental entre 0.005 y 0.05

Los parámetros obtenidos mediante la aplicación del modelo de Pitzer ec. VII.13 y VII.14 a los datos de la tabla VII.1 empleando un método estándar de regresión⁷ figuran en la tabla VII.2, junto con el error obtenido en cada ajuste (σ).

TABLA VII.2. Parámetros de interacción de Pitzer para la L-valina en mezclas de electrolitos

L-Valina					
	KCl-KBr		KCl-KNO ₃		
	pK_1	pK_2	pK_1	pK_2	σ
pK_1	2.273 ± 0.002	2.269 ± 0.002	pK_2	9.72 ± 0.17	9.71 ± 0.01
A_1	0.81 ± 0.84	0.04 ± 0.91	A_2	-0.11 ± 0.58	0.04 ± 0.42
B_1	-0.96 ± 1.89	0.5 ± 2.1	B_2	0.68 ± 0.66	0.71 ± 0.47
C_1	-0.35 ± 0.60	0.14 ± 0.67	C_2	0.20 ± 0.41	-0.04 ± 0.15
σ	0.03	0.03	σ	0.02	0.01

siendo:

$$\begin{aligned}
 A_1 &= \beta_{JAH_2}^0 + \beta_{LAH_2}^0 - \lambda_{AH,JK} - \lambda_{AH,LK} + 2\theta_{AH_2K} \\
 B_1 &= \beta_{JAH_2}^1 + \beta_{LAH_2}^1 \\
 C_1 &= C_{JAH_2}^\phi + C_{LAH_2}^\phi + \psi_{JAH_2K} + \psi_{LAH_2K} + \frac{1}{2} \psi_{AH_2JL} \\
 A_2 &= 2\beta_{AK}^0 - \lambda_{AH,JK} - \lambda_{AH,LK} + \theta_{AJ} + \theta_{AL} \\
 B_2 &= \beta_{AK}^1 \\
 C_2 &= 2C_{AK}^\phi + \psi_{AJK} + \psi_{ALK} + \frac{1}{2} \psi_{HJL}
 \end{aligned}$$

También se ha llevado a cabo el ajuste eliminando los términos correspondientes a las interacciones triples C^ϕ , así como los parámetros de mezcla ψ y θ , aproximación justificada cuando $I < 2M$.⁸ En este caso las ecuaciones quedan:

$$\begin{aligned}
 pK_1^* &= pK_1^T - \frac{I}{\ln 10} [\beta_{JAH_2}^0 + \beta_{LAH_2}^0 - \lambda_{AH,JK} - \lambda_{AH,LK} - \beta_{HJ}^0 - \beta_{HL}^0] - \\
 &\quad - \frac{g}{2 \ln 10} [\beta_{JAH_2}^1 + \beta_{LAH_2}^1 - \beta_{HJ}^1 - \beta_{HL}^1]
 \end{aligned} \tag{VII.15}$$

$$\begin{aligned}
 pK_2^* &= pK_2^* + \frac{2f^\gamma}{\ln 10} + \frac{g}{2 \ln 10} [\beta_{JH}^1 + \beta_{LH}^1 - \beta_{JK}^1 - \beta_{LK}^1 + 2\beta_{AK}^1] + \\
 &\quad + \frac{I}{\ln 10} [\beta_{JK}^1 + \beta_{LK}^1] e^{-2\sqrt{I}} + \frac{I}{\ln 10} [2\beta_{AK}^0 - \lambda_{AH,JK} - \lambda_{AH,LK} + \beta_{HJ}^0 + \beta_{HL}^0]
 \end{aligned} \tag{VII.16}$$

Los parámetros obtenidos según las ecs. VII.15 Y VII.16 se recogen en la tabla VII.3:

TABLA VII.3. *Parámetros de interacción de Pitzer para la L-valina en mezclas de electrolitos*

L-Valina					
	KCl-KBr	KCl-KNO ₃		KCl-KBr	KCl-KNO ₃
pK ₁	2.28 ± 0.02	2.27 ± .02	pK ₂	9.72 ± 0.01	9.716 ± .009
A ₁	0.35 ± 0.12	-0.06 ± .16	A ₂	0.13 ± 0.09	-0.01 ± .07
B ₁	0.04 ± 0.56	0.10 ± 0.66	B ₂	0.41 ± 0.19	0.77 ± 0.15
σ	0.03	0.03	σ	0.02	0.01

siendo:

$$A_1 = \beta_{JAH_2}^0 + \beta_{LAH_2}^0 - \lambda_{AH,JK} - \lambda_{AH,LK}$$

$$B_1 = \beta_{JAH_2}^1 + \beta_{LAH_2}^1$$

$$A_2 = 2\beta_{AK}^0 - \lambda_{AH,JK} - \lambda_{AH,LK}$$

$$B_2 = \beta_{AK}^1$$

Comparando los resultados de las tablas VII.2 y VII.3 puede apreciarse que los parámetros son significativamente diferentes, mientras que el error del ajuste es similar. Por lo tanto, si ambos ajustes pueden considerarse igualmente aceptables-ya que σ está dentro del margen de error permitido para este tipo de medidas- resulta más aconsejable utilizar el más sencillo, ecuaciones VII.15 Y VII.16. En cualquier caso, si C^ϕ , ψ y θ son despreciables a $I < 2M$ - como sugiere el formalismo de Pitzer- los valores de los otros parámetros no debieran variar apreciablemente al tomar las ecuaciones completas o las simplificadas, aunque no es este el comportamiento observado. Esta discrepancia puede explicarse, sin embargo, teniendo en cuenta el alto porcentaje de error que afecta a los parámetros de regresión (tablas VII.2 y VII.3) que a su vez es compatible con un error promedio del ajuste, perfectamente aceptable en la determinación de constantes de equilibrio empleando electrodos de vidrio comerciales⁹.

Resulta también de interés la comparación de estos resultados con los obtenidos al utilizar como electrolito soporte una de las sales, ecuaciones IV.28 y VII.29, y las correspondientes a las mezclas, ecs. VII.15 Y VII.16. Se aprecia que el parámetro que multiplica a la fuerza iónica en la ecuación VII:15, para la mezcla, es la suma de los parámetros que multiplican a la fuerza iónica en la ecuación para los electrolitos por separado, ec. IV.28. Esto mismo sucede para los otros parámetros en los dos equilibrios. Por lo tanto, previsiblemente, los valores calculados en la tabla VII.3 a partir de las experiencias realizadas con las mezclas podrían estimarse a partir de datos obtenidos usando los electrolitos puros. Los valores de los parámetros obtenidos para L-valina en KBr y en KCl se encuentran recogidos en la tabla IV.5.

Sin embargo no se observa la aditividad de parámetros prevista; conviene, no obstante, recordar que el error con que se determinaron los pK^* con electrodo de vidrio es totalmente aceptable para este tipo de medidas.

Por otra parte los parámetros correspondientes al modelo de Guggenheim se encuentran recogidos en la tabla VII.4. Los parámetros para la L-valina en las dos mezclas pueden considerarse iguales dentro del error con que se determinan. Asimismo el error del ajuste es aproximadamente el mismo que el obtenido con las ecuaciones de Pitzer y como puede apreciarse en las figuras VII.1 y VII.2 ambos modelos describen aceptablemente el comportamiento de los datos experimentales, lo que parece indicar que la precisión obtenida en los valores de pK^* determinados con electrodo de vidrio comerciales no permite apreciar la mayor exactitud que la teoría de Pitzer ha demostrado para dar cuenta del comportamiento de los coeficientes osmóticos de gran cantidad de sistemas (fundamentalmente electrolitos fuertes) sobre todo a fuerzas iónicas elevadas.

El problema de los errores asociados a los parámetros ha sido ampliamente analizado en las referencias¹⁰⁻¹³.

TABLA VII.4. Parámetros de interacción de Guggenheim para la L-valina en mezclas de electrolitos

L-Valina				
	KCl+KBr		KCl+KNO ₃	
	pK_1^*	pK_2^*	pK_1^*	pK_2^*
pK	2.30 ± 0.01	9.73 ± 0.01	2.28 ± 0.01	9.74 ± 0.02
ϵ	0.07 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.17 ± 0.02
σ	0.03	0.02	0.02	0.03

FIGURA VII.1. pK_1^* vs. I para la L-valina en KCl+KBr y KCl+KNO₃

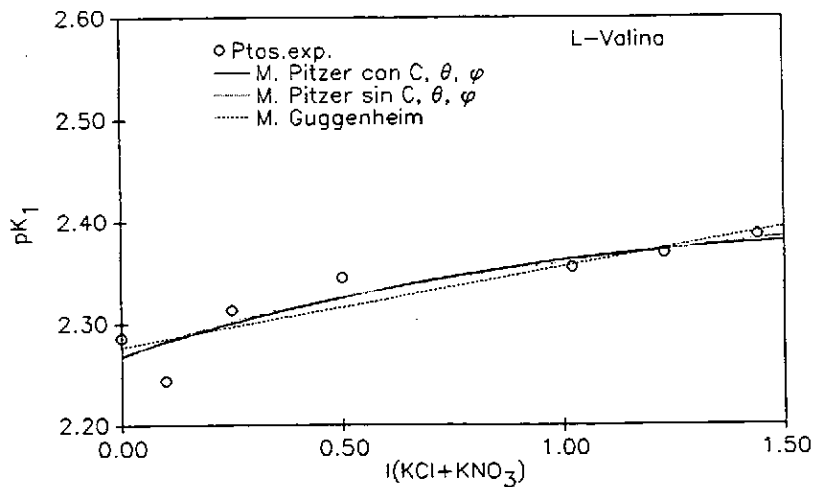
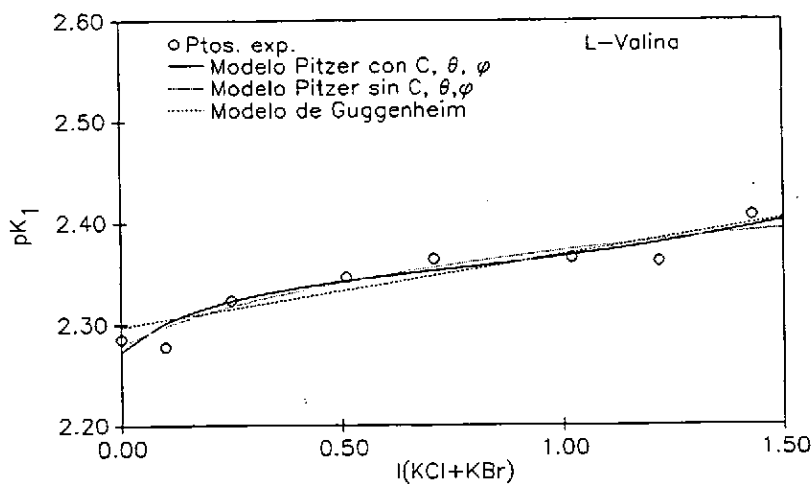
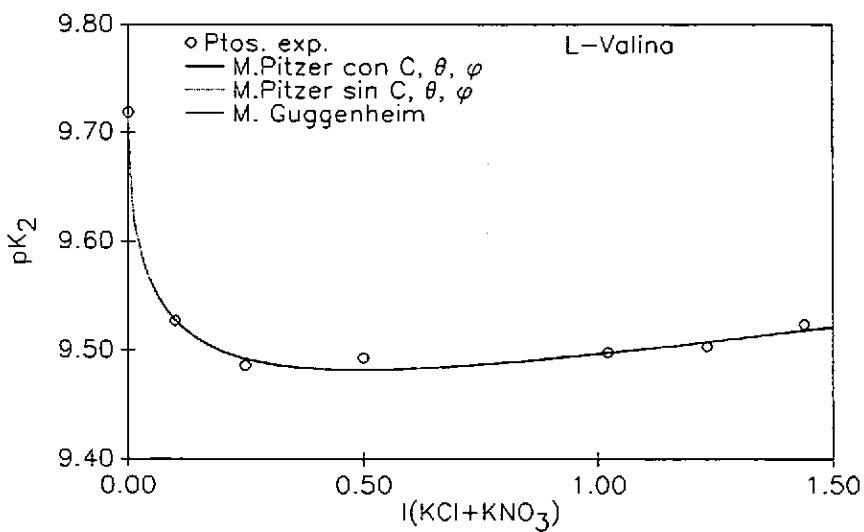
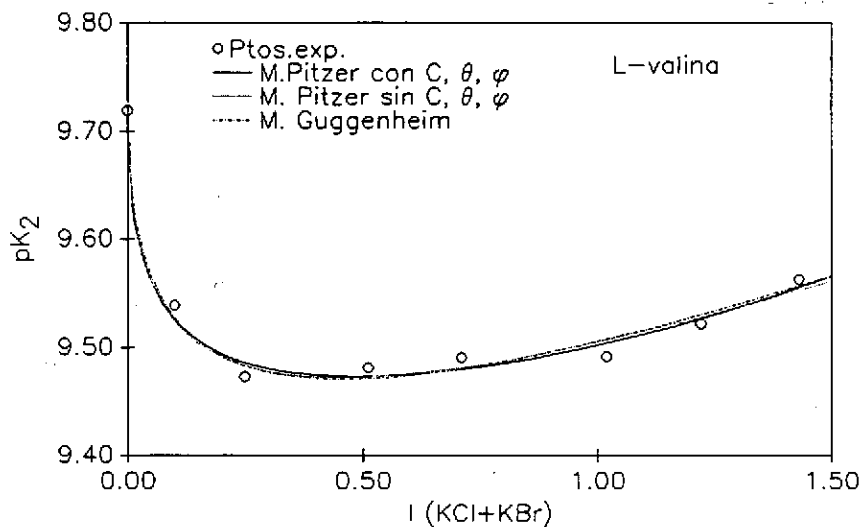


FIGURA VII.2. pK_2^* vs. I para la L-valina en $KCl+KBr$ y $KCl+KNO_3$



VII.II. Constantes de protonación de la α -alanina en mezclas de electrolitos a fuerza iónica constante

Se han determinado las constantes estequiométricas de equilibrio ácido-base de la α -alanina en mezclas de $\text{Et}_4\text{NI} + \text{KNO}_3$ a fuerza iónica constante $I = 1.4\text{m}$ y $T = 25^\circ\text{C}$. Los resultados obtenidos se analizan a partir de los tratamientos de Pitzer^{2,8} y Friedman^{14,15}.

VII.II.I Aplicación de las teorías de Pitzer y Friedman

Los dos equilibrios a considerar en un aminoácido con dos grupos disociables están recogidos en las expresiones III.1 y III.2, y las constantes de equilibrio correspondientes en las ecs. III.3 y III.4. Los coeficientes de actividad de las especies iónicas que aparecen en los equilibrios anteriores pueden escribirse según la teoría de Pitzer, para una mezcla de KNO_3 - Et_4NI como:

$$\begin{aligned} \ln \gamma_{H^+} = & f^I + 2 \cdot I \cdot (1-y) (B_{\text{NO}_3, H} + I \cdot C_{\text{NO}_3, H}) + 2 \cdot I \cdot \gamma (B_{I, H} + I \cdot C_{I, H}) + \\ & + 2 \cdot I \cdot (1-y) \cdot \theta_{H, K} + 2 \cdot I \cdot \gamma \cdot \theta_{H, N} + (1-y)^2 \cdot I^2 (B'_{\text{NO}_3, K} + C_{\text{NO}_3, K} + \varphi_{H, \text{NO}_3, K}) + \\ & + y^2 \cdot I^2 (B'_{N, I} + C_{N, I} + \varphi_{H, N, I}) + (1-y) \cdot \gamma \cdot I^2 (B'_{\text{NO}_3, N} + C_{\text{NO}_3, N} + \varphi_{H, \text{NO}_3, N}) + \\ & + (1-y) \cdot \gamma \cdot I^2 (B'_{I, K} + C_{I, K} + \varphi_{H, I, K}) + I^2 \cdot \gamma \cdot (1-y) \cdot \varphi_{H, \text{NO}_3, I} \end{aligned} \quad (\text{VII.17})$$

$$\begin{aligned} \ln \gamma_{A^-} = & f^I + 2 \cdot I \cdot (1-y) (B_{A, K} + I \cdot C_{A, K}) + 2 \cdot I \cdot \gamma (B_{A, N} + I \cdot C_{A, N}) + \\ & + 2 \cdot I \cdot (1-y) \cdot \theta_{A, \text{NO}_3} + 2 \cdot I \cdot \gamma \cdot \theta_{A, I} + (1-y)^2 \cdot I^2 (B'_{\text{NO}_3, K} + C_{\text{NO}_3, K} + \varphi_{A, \text{NO}_3, K}) + \\ & + y^2 \cdot I^2 (B'_{N, I} + C_{N, I} + \varphi_{N, I, A}) + (1-y) \cdot \gamma \cdot I^2 (B'_{\text{NO}_3, N} + C_{\text{NO}_3, N} + \varphi_{A, \text{NO}_3, N}) + \\ & + (1-y) \cdot \gamma \cdot I^2 (B'_{I, K} + C_{I, K} + \varphi_{A, I, K}) + I^2 \cdot \gamma \cdot (1-y) \cdot \varphi_{A, N, K} \end{aligned} \quad (\text{VII.18})$$

en la que $m_K = m_{\text{NO}_3} = I(1-y)$, y $m_I = m_{\text{Et}_4\text{N}} = I \cdot y$, I es la fuerza iónica total, e y representa la fracción de fuerza iónica correspondiente al ioduro de tetraetilamonio. El símbolo N ha sido utilizado para representar el ion Et_4N^+ . La expresión

correspondiente a $\ln \gamma_{AH_2}$ es idéntica a la ec. VII.17 pero sustituyendo H^+ por AH_2^+ . La dependencia del parámetro B, que da cuenta de las interacciones dobles entre iones de distinto signo, con la fuerza iónica viene dada por la ec. I.19, y la función f^γ por la ec. I.18.

El coeficiente de actividad del zwitterion (AH), en el caso de que presente el mismo comportamiento que una molécula neutra, sin separación de cargas, viene dado por:

$$\begin{aligned} \ln \gamma_{AH} &= 2I(1-y)(\lambda_{AH,NO_3} + \lambda_{AH,K}) + 2Iy(\lambda_{AH,I} + \lambda_{AH,N}) = \\ &= 2I(1-y)(\lambda_{NO_3,K}) + 2Iy(\lambda_{I,N}) \end{aligned} \quad (VII.19)$$

La dependencia de las dos constantes de equilibrio con la fracción de fuerza iónica se obtiene después de tomar logaritmos y sustituir cada coeficiente de actividad en las ecs. III.3-4:

$$\begin{aligned} -\ln K_1^* &= -\ln K_1^T + (1-y) \cdot 2I \{ B_{H,NO_3} - B_{AH_2,NO_3} + I(C_{H,NO_3} - C_{AH_2,NO_3}) + \theta_{H,K} - \theta_{AH_2,K} + \lambda_{I,N} \} + \\ &+ y \cdot 2I \{ B_{H,I} - B_{AH_2,I} + I(C_{H,I} - C_{AH_2,I}) + \theta_{H,N} - \theta_{AH_2,N} + \lambda_{NO_3,K} \} + \\ &+ (1-y)^2 \cdot I^2 (\psi_{H,NO_3,K} - \psi_{AH_2,NO_3,K}) + y^2 \cdot I^2 (\psi_{H,N,I} - \psi_{AH_2,N,I}) \\ &+ y(1-y) I^2 (\psi_{H,NO_3,I} - \psi_{AH_2,NO_3,I} + \psi_{H,NO_3,N} - \psi_{AH_2,NO_3,N} + \psi_{H,I,K} - \psi_{AH_2,I,K}) \end{aligned} \quad (VII.20)$$

$$\begin{aligned} -\ln K_2^* &= -\ln K_2^T + 2f^\gamma + y \cdot 2I \{ B_{H,I} + B_{A,N} + I(C_{H,I} + C_{A,N}) + \theta_{A,I} + \theta_{H,N} - \lambda_{I,N} \} + \\ &+ (1-y) \cdot 2I \{ B_{A,K} + B_{H,NO_3} + I(C_{A,K} + C_{H,NO_3}) + \theta_{H,K} + \theta_{A,NO_3} - \lambda_{NO_3,K} \} + \\ &+ y^2 \cdot I^2 (2B_{N,I}^* + 2C_{N,I} + \psi_{A,N,I} + \psi_{H,N,I}) + \\ &+ (1-y)^2 \cdot I^2 (2B_{NO_3,K}^* + 2C_{NO_3,K} + \psi_{A,NO_3,K} + \psi_{H,NO_3,K}) + \\ &+ y(1-y) I^2 (2B_{I,K}^* + 2C_{I,K} + \psi_{A,I,K} + \psi_{H,I,K} + 2B_{NO_3,N}^* + 2C_{NO_3,N} + \psi_{A,NO_3,N} + \psi_{H,NO_3,N}) + \\ &+ y(1-y) I^2 (\psi_{A,N,K} + \psi_{H,I,NO_3}) \end{aligned} \quad (VII.21)$$

Para el caso en que I sea constante, todos los términos que multiplican a $1-y$ e y también lo son. Se aprecia en las ecuaciones anteriores que el término cuadrático en el caso de pK_2^* es una suma de parámetros B , C y ψ , mientras que en el caso del pK_1^* es una diferencia entre pares de parámetros ψ , por lo que en el caso de ser estos de la misma magnitud e igual signo implicaría prácticamente la desaparición de dicho término.

En aquellas situaciones en las que el aminoácido se encuentre en presencia de un único electrolito, por ejemplo nitrato potásico o ioduro de tetraetilamonio, para la α -alanina las expresiones correspondientes para los coeficientes de actividad de las distintas especies se obtienen de las ecuaciones anteriores haciendo $y=1$, si solo existe ioduro o bien, $y=0$ si solo existe nitrato y suprimiendo las interacciones cruzadas tales como N, NO_3 y K, I , inexistentes en los sistemas sencillos.

Ahora bien, teniendo en cuenta que los coeficientes de actividad recogen la desviación de la idealidad de los sistemas reales se hace patente la posibilidad de ligar las expresiones anteriores con algún tipo de energía libre de exceso:

$$\ln K^T = \ln K^* - \ln \frac{\prod_r \gamma_r^{n_r}}{\prod_p \gamma_p^{n_p}} = \ln K^* - \frac{\Delta G^{0,ex}}{RT} \quad (\text{VII.22})$$

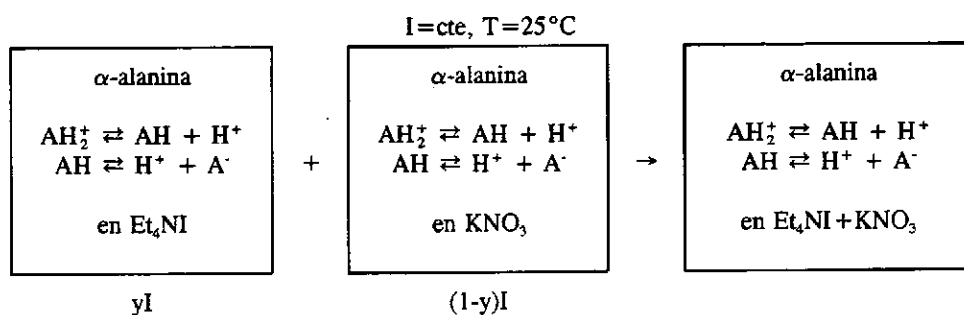
en donde $\Delta G^{0,ex}$ representa el término logarítmico que contiene el cociente de los coeficientes de actividad de las especies que intervienen en el equilibrio en cuestión. Pasando a logaritmos decimales se obtiene:

$$pK^* = pK^T + \frac{1}{RT \ln 10} \Delta G^{0,ex} \quad (\text{VII.23})$$

Por analogía con el procedimiento empleado en el estudio clásico de

mezclas en ausencia de un equilibrio químico¹⁴, para el proceso representado en la Fig. VII.3:

FIGURA VII.3



se define:

$$\Delta_m[\Delta G^{0,ex}] = \Delta G^{0,ex} - [y \Delta G_{\text{ioduro}}^{0,ex} + (1-y) \Delta G_{\text{nitrate}}^{0,ex}] \quad (\text{VII.24})$$

Según Friedman¹⁴ la variación de la energía libre de Gibbs de exceso de mezcla se puede expresar como:

$$\Delta_m[\Delta G^{0,ex}](y,I) = I^2 RT y(1-y) \sum g_p (1-2y)^p \quad p=0,1,2,\dots \quad (\text{VII.25})$$

En el apartado siguiente se hará una comparación de las expresiones obtenidas a partir de los desarrollos de Pitzer y Friedman a la luz de los resultados obtenidos.

VII.II.II. Resultados y discusión

En la Fig. VII.4 se observa una variación lineal del pK_m^* con la fracción de fuerza iónica. Los datos utilizados en la representación gráfica se recogen en la tabla VII.5:

TABLA VII.5. Valores de pK_m^* frente a la fracción de la fuerza iónica de yoduro con $I=1.4$ m para la α -alanina

y_N	pK_1^*	pK_2^*
0.00	2.448	9.789
0.25	2.463	9.737
0.50	2.482	9.695
0.75	2.495	9.658
1.00	2.533	9.629

Si restamos a cada valor del pK_i^* ($i=1$ y 2) en la mezcla, los valores de los pK_i^* en los electrolitos puros multiplicados por la fracción de fuerza iónica de cada uno de ellos en la mezcla, se obtiene, para ambos equilibrios de la α -alanina:

$$\begin{aligned}
 \Delta_{m,1} &= (pK_1^*)_m - y(pK_1^*)_{NI} - (1-y)(pK_1^*)_{KNO_3} = \\
 &= \frac{I^2}{\ln 10} (\Psi_{H,NO_3,I} - \Psi_{AH_2,NO_3,I} + \Psi_{H,NO_3,N^-} \\
 &\quad - \Psi_{AH_2,NO_3,N^+} + \Psi_{H,I,K} - \Psi_{AH_2,I,K}) y(1-y) = \\
 &= A_1 I^2 y(1-y)
 \end{aligned} \tag{VII.26}$$

$$\begin{aligned}
 \Delta_{m,2} &= (pK_2^*)_m - y(pK_2^*)_{NI} - (1-y)(pK_2^*)_{KNO_3} = \\
 &= \frac{I^2}{\ln 10} (2B_{NO_3,N^+}^+ + 2C_{NO_3,N^+} + \Psi_{H,NO_3,N^+} + \Psi_{A,N,NO_3,N^+} \\
 &\quad + 2B_{I,K}^+ + 2C_{I,K} + \Psi_{H,I,K} + \Psi_{A,I,K} + \Psi_{H,NO_3,I} + \Psi_{A,N,K}) y(1-y) = \\
 &= A_2 I^2 y(1-y)
 \end{aligned} \tag{VII.27}$$

donde en los términos A_1 y A_2 se han incluido, para los dos equilibrios, los parámetros constantes y el factor de conversión entre logaritmos.

De todas formas para comprender el significado de $\Delta_{m,1}$ y $\Delta_{m,2}$ en función de energías de exceso es necesario tener en cuenta que al restar al pK_1^* y pK_2^* del aminoácido en la mezcla, el correspondiente al sistema en el que se haya solo presente uno de los electrolitos, multiplicado por su fracción de fuerza iónica, supone que se anula la energía de exceso debida a interacciones que ya existían en los dos sistemas más sencillos (aminoácido + Et_4NI y aminoácido + KNO_3), quedando solo reflejadas en $\Delta_{m,1}$ y $\Delta_{m,2}$ las interacciones nuevas propias de la mezcla ternaria que no existían en las binarias, esto es, las interacciones triples recogidas en los parámetros presentes en las ecuaciones VII.26 y VII.27. Estos parámetros se pueden relacionar con la energía de exceso correspondiente al proceso de mezcla, simbolizada como $\Delta_m G^E$, obteniéndose a partir de las ecuaciones VII.26 y VII.27:

$$\Delta_m G_1^E = RT A_1 y(1-y)^2 \quad (\text{VII.28})$$

$$\Delta_m G_2^E = RT A_2 y(1-y)^2 \quad (\text{VII.29})$$

donde todos los parámetros constantes han sido englobados en A_1 y A_2 , en tanto que y varía entre 0 y 1; de esta forma las representaciones de $\Delta_m G^E$ vs. y , donde $y \in [0, 1]$, debieran ser parábolas simétricas con respecto a la recta $y=0.5$, que cortan al eje de abscisas en $y=0$ e $y=1$, con un máximo en $y=0.5$.

Reordenando la ecuación de Friedman, se observa que concuerda con la ecuación VII.25 para $p=0$ y en consecuencia:

$$g_0 = A_1 \quad \text{para el 1}^{\text{er}} \text{ eq.} \quad (\text{VII.30})$$

$$g_0 = A_2 \quad \text{para el 2}^{\text{do}} \text{ eq.} \quad (\text{VII.31})$$

la posible presencia de términos superiores varía la forma de la representación $\Delta_m G^E$ vs. y , así por ejemplo, cuando se observa asimetría en la parábola suele atribuirse al término g_1 .

Si se parte de las ecuaciones VII.26 y VII.27 y se considera aproximadamente cero el segundo miembro, lo que puede deberse a que los coeficientes $\psi \rightarrow 0$ (es decir, que no se consideren interacciones triples), entonces se obtiene la ecuación:

$$(pK^*)_m = y(pK^*)_{NI} + (1-y)(pK^*)_{KNO_3} \quad (\text{VII.32})$$

lo que constituiría una expresión aplicada a situaciones de equilibrio químico de la primera regla de Young^{16,17}, según la cual, la propiedad de la mezcla se puede aproximar a través de una ponderación apropiada de las propiedades de las disoluciones de los electrolitos simples. Definiendo:

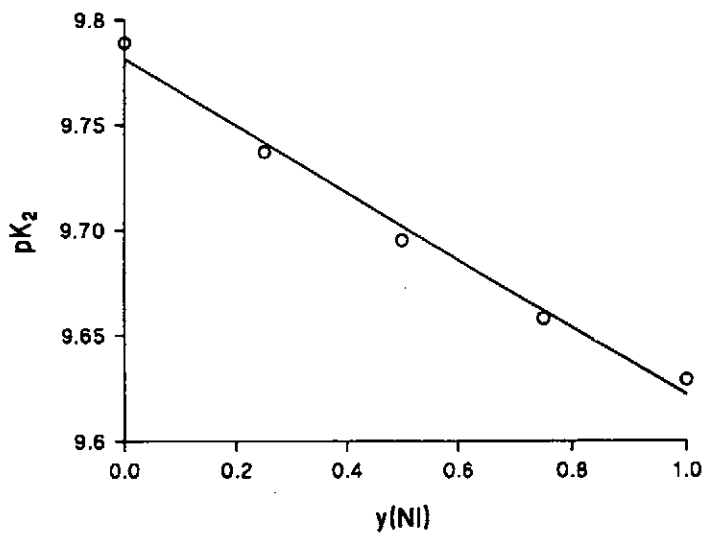
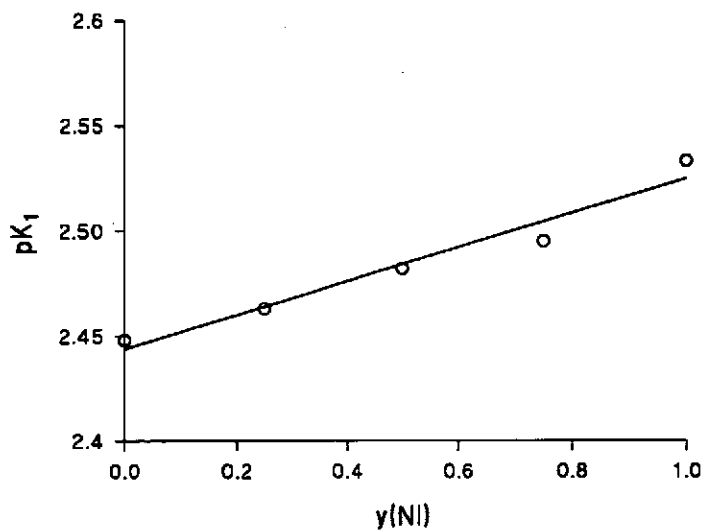
$$\frac{(pK^*)_{KNO_3}}{(pK^*)_{NI}} = r \quad (\text{VII.33})$$

se obtiene:

$$(pK^*)_m = (pK^*)_{NI} [r + y \cdot (1-r)] \quad (\text{VII.34})$$

por lo tanto en este caso el pK^* de la mezcla es una función lineal de la fracción de fuerza iónica, tal y como se observa en la Figura VII.4.

FIGURA VII.4. Valores de pK_m^* frente a la fracción de fuerza iónica de ioduro con $I=1.4$ para la α -alanina



Bibliografía

1. Perrin, D.D. in: Organic Ligands. Pergamon Press, (1979).
2. Pitzer, K.S., Theory: Ion Interaction Approach in Pytkowicz R.M.(ed) Activity Coefficients in Electrolyte Solutions, C.R.C. Press Inc., Boca Raton, Florida, (1979)
3. Pitzer, K.S. and Brewer, L. Revision of Lewis and Randall's Thermodynamics Mc Graw-Hill, New York, Chapter 23., (1961).
4. Scatchard, G., *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 2636, 1961.
5. Reilly, P.J.; Wood, R. H., Robinson, R.A., *J. Phys. Chem.*, 75, (9) 1305, (1971).
6. Pitzer, K.S., Silvester, L.F., *J.Sol.Chem.*, 5, 269, (1976).
7. Statistical Package SOLO. Distributed by BMDP Statistical Software Inc. Version 03 8/88.
8. Pitzer, K.S., *J. Chem. Phys.*, 77(2), 268, (1973)
9. Albert, A., Serjeant, E.P., Determination of Ionization Constants, Chapman and Hall, New York, Cap. 3, (1984).
10. Fiol, S., Tesis Doctoral, Aplicación de la ecuaciones de Pitzer a equilibrios ácido-base: Estudio de la ionización de aminoácidos en agua de mar sintética, Universidad de La Coruña, Marzo, 1994
11. Fiol, S., I. Brandariz, R. Herrero, Vilariño, T., Sastre de Vicente, M., *Ber. Bunsen. Phys. Chem.*, 98, (2), 164 (1994).
12. I. Brandariz, Fiol, S., Herrero, R., Vilariño, T., Sastre de Vicente, M. *J. Chem. Eng. Data*, 38, 531, (1993)
13. Herrero, R., I. Brandariz, Fiol, S., Vilariño, T., Sastre de Vicente, M.E., *An. Quím.* 89, 602, (1993)
14. Friedman, H.L. Ionic Solution Theory, Interscience-Wiley, New York, (1962).
15. Hua Xu, Friedman, H.L., *J.Sol.Chem.*, 19(12), 1155 (1990)
16. Young, T.F., Smith, M.B., *J.Phys.Chem.*, 58, 716 (1954)
17. Young, T.F., *Rec.Chem.Proc.*, 12, 81 (1951)

Conclusiones

Conclusiones

1. La dependencia pK_1^* vs. I para pK_1^* y pK_2^* de un α -aminoácido puede ser explicada expresando los coeficientes de actividad de las especies que aparecen en los equilibrios en función de la fuerza iónica aplicando las teorías de Guggenheim, Scatchard o Pitzer. Los resultados obtenidos para la L-valina permiten constatar que ninguna de las tres es superior a las otras a la hora de explicar el comportamiento experimental.

2. Se ha llevado a cabo un análisis matemático de las funciones que describen la dependencia de la constante estequiométrica ácido-base con la fuerza iónica, al aplicar el formalismo de Pitzer a los coeficientes de actividad de las especies que aparecen en dos equilibrios de monoprotación representativos. Se ha efectuado, también, una simulación de las curvas de pK_1^* en función de la fuerza iónica que permite globalmente interpretar la dependencia pK_1^* vs. I .

3. Se han ensayado dos modelos de coeficiente de actividad para la especie zwitteriónica:

a) Bien como una molécula sin separación de carga o bien considerando que las dos cargas interactúan de forma independiente con los iones del medio. El comportamiento de pK^{\ddagger} vs. I en ambas situaciones es opuesto; esto es, en el primer caso se observa un crecimiento pronunciado del pK^{\ddagger} cuando $I \rightarrow 0$, por el contrario este hecho se observa para pK^{\ddagger} en el segundo caso.

b) El intento de modelización de situaciones intermedias a los dos comportamientos límite del zwitterion ha puesto de manifiesto la importancia de valores a fuerzas iónicas bajas y el modelo utilizado en la determinación del pK^{\ddagger} .

4. El modelo de Pitzer resulta más manejable que el de Scatchard al estudiar equilibrios en una mezcla de dos o más electrolitos. Los parámetros de mezcla a partir de esta teoría pueden ser despreciados para electrolitos débiles a fuerzas iónicas relativamente bajas, tal y como se pone de manifiesto al calcular los parámetros de interacción en el intervalo de I comprendido entre 0.1 y 1.5 con igual fuerza iónica de dos electrolitos. Este hecho conduce a la posibilidad de extrapolar el comportamiento en la mezcla a partir de los datos obtenidos en los electrolitos sencillos aunque el error con que se calculan los parámetros no permite comprobar esta apreciación, tal y como se evidencia a partir de los datos obtenidos para la L-valina en mezclas de KCl-KBr y KNO_3 -KCl.

5. La determinación de pK_1^* y pK_2^* de la α -alanina en una mezcla de yoduro de tetraetilamonio y nitrato potásico, a fuerza iónica constante variando la proporción de cada uno de ellos en la mezcla ha puesto de manifiesto el cumplimiento de la regla de Young, esto es, la posibilidad de calcular el pK_1^* en la mezcla a partir de los correspondientes a los electrolitos puros.

Apéndices

Apéndice A

Datos del potencial formal en nitrato potásico obtenido de los calibrados ácidos en las fechas que se indican en las tablas. La representación de los valores medios se haya representada en la figura III.3.

I, M(KNO ₃) ⁽¹⁾	E ⁰	p (mV) ⁽²⁾	r	fecha
0.05	370.57	57.89	0.9999	17-3-1992
0.05	371.86	58.24	0.999	16-3-1992
0.1	372.83	58.61	0.9999	6-2-1992
0.1	373.25	58.70	0.9999	7-2-1992
0.1	373.19	58.68	0.9999	6-2-1992
0.3	374.24	59.45	0.9999	3-2-1992
0.3	373.74	59.17	0.9999	3-2-1992
0.5	374.91	59.41	0.9999	3-2-1992
0.7	376.15	59.58	0.9999	3-2-1992
0.9	377.69	59.61	0.9999	4-2-1992
0.9	377.42	59.41	0.9999	10-2-1992
1.1	378.59	59.74	0.9999	4-2-1992
1.3	379.46	59.61	0.9999	5-2-1992
1.5	380.31	59.68	0.9999	5-2-1992
1.5	381.26	60.03	0.9999	10-2-1992
1.7	382.49	60.11	0.9999	11-2-1992
1.7	381.58	59.89	0.9999	5-2-1992
1.9	383.93	60.69	0.9999	6-2-1992
1.9	384.41	60.79	0.9999	6-2-1992
1.9	384.23	60.58	0.9999	10-2-1992
2.0	384.18	60.47	0.9999	23-3-1992

⁽¹⁾ I, M(KNO₃) es la fuerza iónica de nitrato potásico expresada en la escala de molaridad

⁽²⁾ pendiente Nersntiana que debe ser aproximadamente 59.16 mV

I, M(KNO_3)	E°	p (mV)	r	fecha
0.05	371.66	58.36	0.9998	14-5-1992
0.05	374.65	59.43	0.9999	15-5-1992
0.05	377.19	60.01	0.9999	24-6-1992
0.1	373.68	59.11	0.9999	15-5-1992
0.1	375.78	60.26	0.9999	14-5-1992
0.1	374.51	59.50	0.9999	24-6-1992
0.3	375.01	59.10	0.9999	30-4-1992
0.3	375.62	59.85	0.9999	24-6-1992
0.5	376.90	60.11	1.0000	8-5-1992
0.5	374.66	59.33	0.9999	12-5-1992
0.5	376.21	59.75	0.9999	24-6-1992
0.7	376.40	59.58	0.9999	24-6-1992
0.7	377.47	59.93	0.9999	16-6-1992
0.9	378.04	59.76	0.9999	16-6-1992
1.1	378.32	59.44	0.9999	16-6-1992
1.3	380.37	60.00	0.9999	16-6-1992
1.5	380.56	59.66	0.9999	16-6-1992
1.5	375.95	60.38	0.9999	18-5-1992

I, M(KNO ₃)	E°	p (mV)	r	fecha
0.05	367.26	57.04	0.998	-
0.05	373.19	59.32	0.99999	-
0.05	374.87	59.98	0.99996	-
0.1	372.56	59.06	0.99999	23-3-1993
0.1	372.36	58.95	0.99995	23-3-1993
0.1	372.65	59.32	0.99999	5-5-1993
0.1	371.63	58.95	0.99999	5-5-1993
0.3	372.49	59.17	0.99998	23-3-1993
0.3	373.14	59.39	0.99998	23-3-1993
0.3	371.50	59.03	0.99999	5-5-1993
0.3	372.62	59.49	0.99999	6-5-1993
0.5	371.38	59.24	0.99999	20-4-1993
0.5	371.48	59.28	0.99999	20-4-1993
0.7	372.40	58.92	0.99999	22-4-1993
0.7	372.62	58.88	0.99999	22-4-1993
0.7	372.65	59.20	0.99999	26-4-1993
0.9	374.57	59.46	0.99999	4-5-1993
0.9	374.20	59.48	0.99999	27-4-1993
0.9	373.95	59.24	0.99999	30-4-1993
0.9	374.88	59.74	0.99999	-1993
1.1	374.21	59.12	0.99999	27-4-1993
1.3	375.13	59.13	0.99999	27-4-1993
1.3	375.99	59.15	0.99999	27-4-1993

I, M(KNO_3)	E^0	p (mV)	r	fecha
0.1	368.73	58.67	0.9999	14-3-1994
0.3	368.79	58.94	0.99999	18-1-1994
0.3	369.97	59.22	1.00000	15-3-1994
0.3	371.24	59.03	0.99999	19-1-1994
0.5	370.81	59.28	0.99999	15-3-1994
0.5	370.23	58.95	0.99999	17-1-1994
0.5	371.90	59.08	0.99999	18-1-1994
0.5	371.76	59.19	0.99999	19-1-1994
0.7	370.97	59.00	0.99999	14-3-1994
0.7	371.20	58.85	1.00000	16-3-1994
0.7	371.40	58.83	0.99999	18-1-1994
0.7	371.07	58.84	0.99999	19-1-1994
0.9	370.58	58.82	0.99999	14-3-1994
0.9	371.95	58.57	1.00000	16-3-1994
0.9	371.76	59.17	1.00000	18-3-1994
0.9	371.99	58.97	0.99999	18-1-1994
0.9	371.94	59.03	0.99999	19-1-1994
1.1	371.62	58.29	1.00000	18-3-1994
1.1	372.61	58.99	0.99997	18-1-1994
1.1	373.14	59.30	0.99999	19-1-1994
1.3	372.93	58.85	0.99999	18-3-1994
1.3	374.98	59.29	1.00000	16-3-1994
1.3	374.58	58.70	0.99999	20-1-1994
1.5	374.62	58.92	0.99999	21-4-1994

Apéndice B

Archivos del MINIQAD empleados para un aminoácido con dos grupos disociables cuando se determinan las dos constantes y cuando se determina cada una de ellas por separado.

Archivo para calcular K_1

Valoración, $I=0.05$ (nitrato potásico), $[\text{ácido}]=0.0199$, 0.08629 milimoles de β -alanina, en 40 ml. de volumen inicial, a 25°C .

```

  2  2  2
25.000000
3.550000  3  1  1  1
1.780000 -14  0 -1  1
  2  1  2  1  0  0
  1
0.086290 0.000000
0.000000 0.019900
372.760000
40.000000
  0  0.440 +99.0
  0  0.480 +101.5
  0  0.520 +103.8
.....
  0  4.020 +176.1
 -1  4.120 +177.3
  3
 -1
```

*Archivo para calcular K_2^**

Valoración I=0.05 (nitrato potásico), [base]=0.0178, 0.0854 milimoles de β -alanina, en 40 ml. de volumen inicial, a 25°C.

2 2 2

25.000000

2.510000 10 1 1 1

1.780000 -14 0 -1 1

2 1 2 1 0 0

1

0.085400 0.085400

0.000000 -0.017780

372.760000

40.000000

0 0.500 -166.7

0 0.540 -168.9

0 0.580 -171.0

0 0.620 -173.0

.....
-1 4.140 -241.3

3

-1

Archivo para calcular K_1^ y K_2^**

Valoración, I=0.3 (nitrato potásico), [base]=0.1070, 0.3848 milimoles de aminoácido, 0.4194 milimoles de HCl, 0.8042 mlmoles de HCl+aminoác., en 40 ml. de volumen inicial, a 25°C.

```

3 3 2
25.000000
5.620000 10 1 1 1
1.500000 15 1 2 1
1.780000 -14 0 -1 1
2 1 2 1 0 0
1
0.384800 0.804200
0.000000 -0.107000
374.960000
40.000000
0 0.440 +174.8
0 0.480 +172.6
0 0.520 +170.4
0 0.560 +168.3
.....
-1 10.100 -304.2
3
-1
    
```

Apéndice C

Las constantes estequiométricas fueron determinadas en la escala de molaridad y las transformaciones a molalidad, fueron realizadas utilizando datos de densidades, bien obtenidos de la referencia⁽¹⁾, cuando se usa un solo electrolito inerte, o bien midiéndola cuando se trata de mezclas de electrolitos cuyas densidades no se encuentran en la bibliografía.

La relación entre molalidad (m) y molaridad (M) de una disolución viene dada por la expresión⁽²⁾:

$$m = \frac{M}{\rho - \sum_i M_i \cdot PM_i} \quad \Leftrightarrow \quad M = \frac{m \cdot \rho}{1 + \sum_i m_i \cdot PM_i} \quad (\text{C.1})$$

donde el sumatorio se extiende a todas las especies i en disolución, ρ es la densidad y PM la masa molecular. La relación entre K_{molal}^* y K_{Molar}^* para un equilibrio cuya constante es del tipo $K = m_1 \cdot m_2 / m_3$ viene dada por:

$$K_m^* = \frac{m_1 \cdot m_2}{m_3} = \frac{M_1 \cdot M_2}{M_3} \left[\frac{1}{\rho - \sum_i M_i \cdot PM_i} \right] = K_M^* \left[\frac{1}{\rho - \sum_i M_i \cdot PM_i} \right] \quad (\text{C.2})$$

⁽¹⁾ C.R.C. Handbook of Chemistry C.R.C. Press 1986-1987(1986)

⁽²⁾ Whitfield, M., Activity Coefficients in Natural Waters in Pytkowicz R.M. Activity Coefficients in Electrolyte Solutions, C.R.C.Press, Boca Raton, Florida, (1979)

o bien, tomando logaritmos:

$$pK_m^* = pK_M^* + \log \left(\rho - \sum_i M_i \cdot PM_i \right) \quad (\text{C.3})$$

Sin embargo para el producto iónico del agua se convierte de una escala a otra por la ecuación:

$$K_m^* = m_H \cdot m_{OH^-} = M_H \cdot M_{OH^-} \left[\frac{1}{\rho - \sum_i M_i \cdot PM_i} \right]^2 = K_M^* \left[\frac{1}{\rho - \sum_i M_i \cdot PM_i} \right]^2 \quad (\text{C.4})$$

que, tomando logaritmos:

$$pK_M^* = pK_m^* + 2 \cdot \log \left[\frac{1}{\rho - \sum_i M_i \cdot PM_i} \right] \quad (\text{C.5})$$

donde el cociente encerrado entre corchetes corresponde a la relación m/M.

Usando los datos de la referencia² y ajustando m vs. M se obtienen las siguientes expresiones para los electrolitos indicados:

$$m_{KNO_3} = 7.1923 \cdot 10^{-4} + 0.99627 \cdot M_{KNO_3} + 0.0466 \cdot M_{KNO_3}^2 \quad (\text{C.6})$$

$$m_{KCl} = 6.336 \cdot 10^{-4} + 0.9978 \cdot M_{KCl} + 0.0328 \cdot M_{KCl}^2 \quad (C.7)$$

$$m_{KBr} = 5.913 \cdot 10^{-4} + 0.9976 \cdot M_{KBr} + 0.04037 \cdot M_{KBr}^2 \quad (C.8)$$

que permiten el paso de molaridad a molalidad y, también, conocer el valor del cociente indicado.

Apéndice D

Algunos valores de constantes de los aminoácidos estudiados en esta memoria se recogen en las siguientes tablas:

TABLA D.1.

pK_1 de los aminoácidos indicados a distintas fuerzas iónicas de KNO_3 , a 25°C. Todos los valores se expresan en la escala de molaridad

M	glicina	β -alanina	γ -amino- butírico	ϵ -amino- caproico
0.00	2.35	3.55*	4.031	4.373
0.00	2.31*	3.60	4.23*	4.43*
0.10	2.26	3.55		
	2.41			
	2.39			
0.50		3.68		
1.00	2.47			

TABLA D.2.

pK₂ de los aminoácidos indicados a distintas fuerzas iónicas de KNO₃, a 25°C. Todos los valores se expresan en molaridad

M	glicina	β -alanina	γ -amino-butírico	ϵ -amino-caproico
0.00	9.778	10.295	10.556	10.804
0.00	9.72*	10.19*	10.43*	10.77*
0.10	9.61	10.15		
	9.63			
	9.56			
	9.55			
	9.70			
0.50		10.03		
1.00	9.83			

Todos los datos pertenecen a la referencia⁽¹⁾, salvo los indicados con un asterisco se han tomado de la referencia⁽²⁾.

⁽¹⁾ Perrin, D.D., Organic Ligands, Pergamon Press (1979)

⁽²⁾ Amino Acids, and Peptides as Dipolar Ions, Cohn, E.J., Edsall, J.T. Editores, Reinhold Publishing Corporation, New York (1943)

UNIVERSIDADE DA CORUÑA
Servicio de Bibliotecas



1700744240