

T. UDC-196



UNIVERSIDADE DA CORUÑA
FACULTADE DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL E INDUSTRIAL

***ESTUDIO CINÉTICO DE LAS REACCIONES DE
FORMACIÓN Y DESCOMPOSICIÓN
DE N-CI-DIPÉPTIDOS***

*Memoria para optar al grado de
doctora en ciencias químicas de:*

MARÍA VICTORIA GARCÍA DOPICO.



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULTADE DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL E INDUSTRIAL

***ESTUDIO CINÉTICO DE LAS REACCIONES DE
FORMACIÓN Y DESCOMPOSICIÓN
DE N-CI-DIPÉPTIDOS***

*Memoria para optar al grado de
doctora en ciencias químicas de:*

MARÍA VICTORIA GARCÍA DOPICO.

DEPARTAMENTO DE
QUÍMICA FUNDAMENTAL
E INDUSTRIAL



Facultade de Ciencias
Campus da Zapateira
15071 A Coruña (España)
Telf.: 34-981-10.00.00 (Ext. 2049)
Fax: 34-981-10.41.29

UNIVERSIDADE DA CORUÑA
FACULTADE DE CIENCIAS

Don Xosé María Quintela López, director do Departamento de Química Fundamental e Industrial da Facultade de Ciencias da Universidad da Coruña:

CERTIFICA que a licenciada en Ciencias Químicas **Dña. María Victoria García Dopico** ven de realizar neste departamento o traballo de tese doctoral titulado "*Estudio cinético de las reacciones de formación y descomposición de N-Cl-dipéptidos*" baixo a dirección dos profesores D. Juan Arturo Santaballa López e D. Xosé Luis Armesto Barbeito, que o presenta para optar o Grao de Doutor en Ciencias Químicas

Para que conste, asina a presente.

A Coruña, Maio de mil novecentos noventa e cinco.

DIRECTOR DO DPTO. QUÍMICA FUNDAMENTAL E INDUSTRIAL.



Asdo.: José M^a Quintela López.

 Índice

* Capítulo 1: Introducción	3.
* Capítulo 2: Informe bibliográfico	9.
2.1.- AGENTES HALOGENANTES	9.
2.1.1.- CLORO	9.
2.1.2.- BROMO	12
2.1.3.- ÁCIDOS HIPOHALOSOS Y ANIONES HIPOHALITOS	13
2.1.4.- HALOAMINAS	17
2.1.4.1.- Monohaloamina	19
2.1.4.2.- Dihaloaminas	24
2.1.4.3.- Trihloaminas	25
2.1.5.- DIÓXIDO DE CLORO	26
2.1.6.- CLORAMINA-T Y COMPUESTOS RELACIONADOS	26
2.1.7.- OTROS AGENTES HALOGENANTES	28
2.2.- FORMACIÓN DE N-HALO-COMPUESTOS	30
2.2.1.- FORMACIÓN DE N-HALO-AMINAS	30
2.2.1.1.- Cloración por ácido hipocloroso, hipoclorito y cloro	30
2.2.1.2.- Cloración por Cloramina-T	34
2.2.1.3.- Cloración por Cloramina-B	35
2.2.1.4.- Cloración por N-Cl-succinimida	35
2.2.1.5.- Bromación por ácido hipobromoso, hipobromito y bromo	36
2.2.2.- FORMACIÓN DE N-HALO-AMIDAS	37
2.2.3.- FORMACIÓN DE N-HALO-AMINOÁCIDOS	37
2.2.3.1.- Cloración por ácido hipocloroso, hipoclorito y cloro	37
2.2.3.2.- Cloración por Cloramina-T	40
2.2.3.3.- Cloración por Cloramina-B	41

2.2.4.- FORMACIÓN DE N-HALO-PÉPTIDOS	42
2.3.- DESCOMPOSICIÓN DE H-HALO-COMPUESTOS	44
2.3.1.- DESCOMPOSICIÓN DE N-HALO-AMIDAS	44
2.3.2.- DESCOMPOSICIÓN DE N-HALO-AMINOÁCIDOS	47
2.3.3.- DESCOMPOSICIÓN DE N-CL-PÉPTIDOS	57
<i>* Capítulo 3: Procedimiento experimental.</i>	63
3.1.- REACTIVOS Y PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES	63
3.1.1.- DISOLUCIONES DE HIPOCLORITO SÓDICO	63
3.1.2.- DISOLUCIONES DE HIPOBROMITO SÓDICO	64
3.1.3.- DISOLUCIONES DE N-COMPUESTOS	64
3.1.4.- DISOLUCIONES PARA EL AJUSTE DE LA FUERZA IÓNICA	65
3.1.5.- DISOLUCIONES REGULADORAS	65
3.1.6.- OTROS REACTIVOS	66
3.2.- INSTRUMENTAL UTILIZADO	66
3.2.1.- DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA	66
3.2.2.- DETERMINACIÓN POTENCIOMÉTRICA	67
3.3.- ESTUDIO ESPECTROGRÁFICO	67
3.4.- PREPARACIÓN DE MEZCLAS DE REACCIÓN.	70
3.4.1.- REACCIONES DE FORMACIÓN DE N-CL-COMPUESTOS	70
3.4.2.- REACCIONES DE DESCOMPOSICIÓN DE N-CL-COMPUESTOS	70
3.5.- MÉTODOS CINÉTICOS	72
3.6.- MÉTODOS NUMÉRICOS	73
3.6.1.- OPTIMIZACIÓN LINEAL	73
3.6.2.- OPTIMIZACIÓN NO LINEAL	74
3.7.- ANÁLISIS DE PRODUCTOS	76
3.7.1.- DETERMINACIÓN DE AMONIACO	76
3.7.2.- DETERMINACIÓN DE CLORO ACTIVO	77
3.7.3.- DETERMINACIÓN DE ALDEHIDOS Y CETONAS	77

3.8.- DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE EQUILIBRIO DE IONIZACIÓN ÁCIDO-BASE	78
3.8.1.- DETERMINACIÓN DEL PKA DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO	78
3.8.2.- DETERMINACIÓN DEL PKA DE LOS N-COMPUESTOS	80
* Capítulo 4: Descomposición de la N-Cl-valina	85
4.1.- RESULTADOS EXPERIMENTALES	85
4.1.1.- COMPROBACIÓN DEL ORDEN DE REACCIÓN	85
4.1.2.- INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE REACTIVOS	86
4.1.3.- INFLUENCIA DEL PH	88
4.1.4.- INFLUENCIA DE LA FUERZA IÓNICA	90
4.1.5.- INFLUENCIA DE LAS DISOLUCIONES REGULADORAS	93
4.1.5.1.- Influencia de la disolución reguladora trifluoretanol/trifluoretóxido	93
4.1.5.2.- Influencia de la disolución reguladora dihidrógeno/hidrógeno fosfatado	94
4.1.6.- INFLUENCIA DEL DISOLVENTE	96
4.1.7.- INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	97
4.2.- DISCUSIÓN DEL MECANISMO	99
4.2.1.- MECANISMO CATALIZADO POR BASES	101
4.2.2.- MECANISMO DE FRAGMENTACIÓN UNIMOLECULAR	103
* Capítulo 5: Formación de N-Cl-dipéptidos	111
5.1.- RESULTADOS EXPERIMENTALES	111
5.1.1.- COMPROBACIÓN DEL ORDEN DE REACCIÓN	111
5.1.2.- INFLUENCIA DEL PH	112
5.1.3.- INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	112
5.2.- DISCUSIÓN DEL MECANISMO	114

* Capítulo 6: Descomposición de la N-Cl-dipéptidos	135
6.1.- RESULTADOS EXPERIMENTALES	135
6.1.1.- ESPECTROS DE REACCIÓN	135
6.1.1.1. Medio básico	135
6.1.1.2.- Medio neutro	137
6.1.2.- PÉRFIL DE REACCIÓN	138
6.1.3.- COMPROBACIÓN DEL ORDEN DE REACCIÓN	141
6.1.4.- INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS REACTIVOS	142
6.1.5.- INFLUENCIA DEL PH	142
6.1.5.1.- Influencia de la concentración de hidróxido sódico	142
6.1.5.2.- Influencia de la disolución reguladora dihidrógeno/hidrógeno fosfato	144
6.1.6.- ANÁLISIS DE PRODUCTOS	146
6.1.6.1.- Análisis de cloro activo	146
6.1.6.2.- Análisis de amoníaco	146
6.2.- DISCUSIÓN DEL MECANISMO	148
* Capítulo 7: Conclusiones	157
* Capítulo 8: Bibliografía	161
* Apéndice 1: Modelo SCD	173
* Apéndice 2: Tablas	187

Capítulo 1

Introducción

Introducción

Debido al gran desarrollo industrial y a la formación de grandes ciudades, el deterioro de la naturaleza es cada vez mayor. Esto obliga a la búsqueda de métodos que contrarresten el paulatino aumento de la contaminación.

Hoy en día se hace uso de diversas técnicas para la depuración de las aguas, como son cloración (Reynolds & Mekraš, 1989, Smith, 1975, Sánchez, 1979, Díaz, 1988), bromación (Díaz, 1988, Ingols & Wyckoff, 1953), ozonización (Reynolds, 1889, Smith, 1975, Díaz, 1988), uso de radiación ultravioleta (Díaz, 1988), etc. Hay otras técnicas en estudio, como son el tratamiento con ultrasonidos o la utilización de láseres. La técnica más usada de todas es la cloración, por ser la que ofrece más ventajas por el momento.

La generalizada utilización del cloro como agente desinfectante se debe a dos razones fundamentalmente:

- a) La pequeña cantidad necesaria para la desinfección, que generalmente oscila entre 1 y 16 mg/l en aguas potables y de 10 a 64 mg/l en aguas residuales.
- b) El bajo coste que supone la fabricación a gran escala de este gas.

La purificación de agua de uso doméstico ya empezó a ser considerada en el siglo I a.c. por los egipcios, como método de saneamiento. Según Mercer y Somers (Mercer & Somers, 1957) la utilización del cloro es anterior al conocimiento de sus propiedades químicas, siendo su primera aplicación como desodorante. Sin embargo la utilización del cloro como desinfectante químico, no empezó hasta mediados del siglo XIX. Así por ejemplo en 1854 se empleó en Londres para controlar la epidemia de cólera. La popularidad de este agente desinfectante fue aumentando considerablemente, siendo aceptado como técnica de desinfección por la asociación pública sanitaria americana (American Public Health Association).

Duyk, en 1902, la emplea en Bélgica como proceso de tratamiento continuo y la misma decisión fue adoptada en Londres en 1904 y por los E.E.U.U. en 1908 (Sánchez, 1979, White, 1978).

Actualmente la cloración es el proceso de desinfección de aguas más extendido. Basta indicar que en los E.E.U.U. se emplean entre 0.3 y 0.4 millones de toneladas con fines sanitarios. Este método tiene aplicaciones en el lavado de equipos industriales (Mercer & Somers, 1957) y de alimentos (White, 1978)). También se usa como agente madurante en las harinas de trigo, como blanqueador en las industrias de papel, como colorante y purificador en los vertidos de la industria textil, etc..

Sin embargo, la utilización de cloro como agente desinfectante presenta algunas desventajas, como son la gran elevada demanda de cloro que presenta a veces el agua y la posibilidad de que reaccione con determinadas sustancias formando compuestos que son potencial y/o probadamente tóxicos (Reynolds, 1989).

Hay estudios encaminados a conocer la toxicidad de los productos secundarios que se originan en el proceso de cloración de aguas. Los realizados por la National Recoinansure Survey demuestran que la presencia de compuestos clorados en el agua originan la formación

de productos con propiedades carcinogénicas y mutagénicas (Sánchez, 1979). Se cree que los agentes clorantes pueden atacar a las cadenas de ADN de las células, que dejarían así de comportarse con normalidad (Bellar & Lichtumberg, 1974, Tardiff & Carlron, 1975). En algunos casos se probó la toxicidad para el pescado de los compuestos orgánicos clorados (Smith, 1975). Los derivados clorados se acumulan en el tejido adiposo de los pescados y, por lo tanto, pueden ingerirse en cantidades considerables (White, 1978). En E.E.U.U. se ha establecido una correlación entre la mortalidad de cáncer y el agua desinfectada. Había 15% más de casos de cáncer en los hombres que ingerían agua clorada que en los que la tomaban sin clorar (Smith, 1975, Sánchez, 1979). Los trihalometanos formados durante la cloración como productos secundarios presentan actividad carcinogénica (Sánchez, 1979), al igual que diferentes compuestos clorados derivados de cetonas y ácido fenilacético que se forman en la dechloración de productos alimenticios (Symons & Bellar, 1978).

Debido a los graves problemas que puede llevar consigo la cloración es de interés general controlar la producción de sustancias tóxicas y conocer con exactitud el proceso o procesos de cloración de todas las sustancias que hay en el agua.

De las sustancias que se pueden encontrar en el agua están los contaminantes orgánicos; la mayoría de estos son compuestos nitrogenados, entre los que se encuentran los aminoácidos y las proteínas. Pocklington en 1971, encontró que la cantidad de aminoácidos disueltos en las aguas del Atlántico Norte es de 22 $\mu\text{gr/l}$. Este dato fue obtenido hace 20 años y en aguas de mar, con lo que podemos considerar que en la actualidad la cantidad será mucho mayor, sobre todo en las aguas de los ríos. Así por ejemplo, Le Cloirec *et al.* encontraron hasta 400 $\mu\text{gr/l}$ en aguas de bebida (Le Cloirec *et al.*, 1985). Si consideramos, por otra lado, las aguas residuales, el contenido debe de ser mucho mayor (puede llegar a ser quince veces mayor que en aguas naturales) (Antelo *et al.*, 1988).

Guy Martin, establece que el contenido de nitrógeno en efluentes urbanos varía entre 30 y 100 mg/l ; siendo un 60% nitrógeno amoniacal, un 40% nitrógeno orgánico y menos de un 1% de nítrico y nitroso (Guy Martin, 1968). Independientemente Weil y Morris obtuvieron, concentraciones de aminoácidos entre 0.3 y 1.0 mg/l en este tipo de aguas (Weil & Morris, 1983).

Otros datos son los de Vallentyne que indican que el nitrógeno amínico comprendía más de un 60% del nitrógeno orgánico total (Vallentyne, 1957). Por otra parte Gocke comprobó que los aminoácidos disueltos representaban el 5% y el 10.3% respecto a la materia orgánica disuelta o el 23% y 32% frente al nitrógeno orgánico total (Gocke, 1970). Hutchinson hizo un estudio sobre los lagos de E.E.U.U. e indicó que las concentraciones medias de aminoácidos libres, péptidos y nitrógeno no amínico correspondían a 0.076, 0.172 y 0.194 mg/l respectivamente (Hutchinson, 1957).

Con todos estos datos, resulta evidente que los aminoácidos y las proteínas están en proporciones considerables en el agua. Por otra parte son sustancias esenciales para la vida, por lo que no debería plantear ningún problema su presencia en el agua. Lo que ocurre es que durante el proceso de cloración, se forman N-Cl-aminoácidos y N-Cl-dipéptidos, que aunque se descomponen, son sustancias potencialmente tóxicas (Trehy *et al.*, 1986; Glaze *et al.*, 1975).

Por estas razones, es necesario conocer con exactitud el proceso de formación y descomposición de los N-Cl-aminoácidos y N-Cl-dipéptidos. La carencia de estudios que analizasen la formación y descomposición de los N-Cl-dipéptidos ha determinado la puesta en marcha de esta investigación cuyos objetivos principales se resumen a continuación:

a) Determinación de los factores que son determinantes en el proceso de formación de

los N-Cl-dipéptidos en disolución acuosa

- b) Proponer un mecanismo de formación de la reacción de cloración de dipéptidos
- c) Establecer los factores que influyen sobre la descomposición de aminoácidos y dipéptidos en presencia de diferentes bases, tanto en medio neutro como en básico.
- d) Presentar un mecanismo de descomposición de los N-Cl-compuestos anteriores.

A continuación se hará un resumen de la bibliografía que hay publicada relacionada con este trabajo y después se tratará de los aspectos relacionados con el procedimiento experimental, resultados de la investigación y conclusiones.

Capítulo 2

Informe bibliográfico

Informe bibliográfico

Existe un gran volumen de bibliografía relacionada con la de formación y descomposición de N-X-compuestos, a continuación se presenta un resumen de los trabajos más representativos.

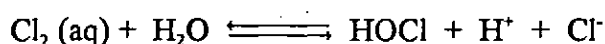
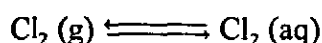
2.1.- AGENTES HALOGENANTES

Existen numerosas sustancias que pueden actuar como agentes halogenantes: el cloro, el bromo, el yodo, los ácidos hipohalogenosos, los iones hipohalitos, las mono- y di-cloraminas, el dióxido de cloro, el tricloruro de nitrógeno, la cloramina-T, etc.

2.1.1. CLORO

Cuando se disuelve cloro en agua, las especies que inicialmente aparecen son: el ion cloruro, el cloro molecular, el ácido hipocloroso y el ion hipoclorito; las cantidades de las mismas están determinadas por las condiciones de pH y temperatura.

Cuando el cloro se disuelve en agua puede pasar a cloro solvatado o hidrolizarse rápidamente de acuerdo con la siguientes reacciones:



La constante de equilibrio de solvatación tiene un valor de 0.062 a 25 °C y la de hidrólisis $1.5 \cdot 10^{-4}$ a 0 °C y $4.0 \cdot 10^{-4} \text{ M}^{-2}$ a 25 °C. Para este último caso, la constante cinética de la reacción directa es 13.7 s^{-1} y para la reacción inversa $2.8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-2}$ a 25 °C, esto permite estimar un tiempo de vida media para el cloro de 0.05 s (Eigen & Kustin, 1962, Margerum *et al*, 1978, Lifsnitz & Hayman, 1967). En las condiciones de cloración de aguas naturales y residuales, la hidrólisis es completa a valores de pH mayores de 6 (Jolley & Carpenter, 1981). Cuando la concentración de cloro en agua pura es de 10^{-3} M , el cloro está hidrolizado en un 99%; el porcentaje de hidrólisis aumenta al disminuir la concentración de cloro o sea al aumentar el pH. La reacción de hidrólisis es rápida a 20°C, ocurre en décimas de segundo y a 0°C en pocos segundos, por lo tanto la principal especie oxidante en las disoluciones acuosas de cloro, es el ácido hipocloroso; su concentración depende del pH del medio, como se verá más adelante.

Un estudio muy reciente de la reacción de hidrólisis del cloro fue llevado por Wang y Margerum. Utilizando la técnica de flujo detenido determinaron la dependencia de la constante

cinética de hidrólisis con la temperatura y fuerza iónica, calculando los parámetros de activación de las reacciones directa y reversa (Wang & Margerum, 1994).

En el ámbito del tratamiento de aguas, el cloro que está presente en disoluciones acuosas como ácido hipocloroso e ion hipoclorito es llamado cloro libre (cloro libre residual o cloro libre disponible). En aguas con valores de pH próximos a 7, el cloro molecular y el tricloruro de nitrógeno son considerados también como cloro libre. El cloro presente en las cloraminas, tricloruro de nitrógeno y compuestos orgánicos N-clorados, en los cuales el cloro que contienen tiene un bajo potencial oxidante, es llamado cloro combinado (cloro residual combinado o cloro disponible combinado). El tricloruro de nitrógeno, aunque normalmente aparece como cloro libre, está definido como cloro combinado. La suma de ambos es el cloro total.

Se ha estudiado la formación de otras especies en soluciones acuosas de cloro como son H_2OCl^+ , Cl^+ y Cl_3^- pero están en cantidades muy pequeñas en comparación con las otras especies antes indicadas (Morris, 1983) como se pone de manifiesto observando el valor de las distintas constantes de equilibrio:

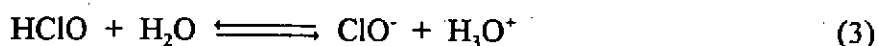


Tabla 2.1.: Constantes de equilibrio de las diferentes especies de cloro en agua

Constantes de equilibrio *	Referencia
$K_1 = 10^{-60} M$	Moris, 1966
$K_2 = 10^{-30} M$	Bell, 1951
$K_3 = 2.9 \cdot 10^{-8} M$	Morris, 1966
$K_4 = 0.18 M^{-1}$	Eigen, 1962

* T= 298°K

La tabla 2.2 muestra la distribución de las principales especies oxidantes en las disoluciones acuosas de cloro a valores de pH entre 5 y 9 para a una temperatura de 15°C y una concentración analítica de cloro de $10^{-2} M$. La fracción de cloro molecular presente está en torno a las partes por millón para la mayoría de las condiciones tabuladas. Como se puede observar en la última línea de la tabla, la presencia de ion cloruro en el agua de mar, sólo incrementa la fracción de cloro sobre 10 ppm del cloro total:

Capítulo 2

Informe bibliográfico

Existe un gran volumen de bibliografía relacionada con la de formación y descomposición de N-X-compuestos, a continuación se presenta un resumen de los trabajos más representativos.

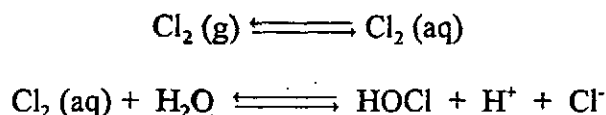
2.1.- AGENTES HALOGENANTES

Existen numerosas sustancias que pueden actuar como agentes halogenantes: el cloro, el bromo, el yodo, los ácidos hipohalogenosos, los iones hipohalitos, las mono- y di-cloraminas, el dióxido de cloro, el tricloruro de nitrógeno, la cloramina-T, etc.

2.1.1. CLORO

Cuando se disuelve cloro en agua, las especies que inicialmente aparecen son: el ion cloruro, el cloro molecular, el ácido hipocloroso y el ion hipoclorito; las cantidades de las mismas están determinadas por las condiciones de pH y temperatura.

Cuando el cloro se disuelve en agua puede pasar a cloro solvatado o hidrolizarse rápidamente de acuerdo con la siguientes reacciones:



La constante de equilibrio de solvatación tiene un valor de 0.062 a 25 °C y la de hidrólisis $1.5 \cdot 10^{-4}$ a 0 °C y $4.0 \cdot 10^{-4} \text{ M}^{-2}$ a 25 °C. Para este último caso, la constante cinética de la reacción directa es 13.7 s^{-1} y para la reacción inversa $2.8 \cdot 10^4 \text{ M}^{-2}$ a 25 °C, esto permite estimar un tiempo de vida media para el cloro de 0.05 s (Eigen & Kustin, 1962, Margerum *et al*, 1978, Lifsnitz & Hayman, 1967). En las condiciones de cloración de aguas naturales y residuales, la hidrólisis es completa a valores de pH mayores de 6 (Jolley & Carpenter, 1981). Cuando la concentración de cloro en agua pura es de 10^{-3} M , el cloro está hidrolizado en un 99%; el porcentaje de hidrólisis aumenta al disminuir la concentración de cloro o sea al aumentar el pH. La reacción de hidrólisis es rápida a 20°C, ocurre en décimas de segundo y a 0°C en pocos segundos, por lo tanto la principal especie oxidante en las disoluciones acuosas de cloro, es el ácido hipocloroso; su concentración depende del pH del medio, como se verá más adelante.

Un estudio muy reciente de la reacción de hidrólisis del cloro fue llevado por Wang y Margerum. Utilizando la técnica de flujo detenido determinaron la dependencia de la constante

cinética de hidrólisis con la temperatura y fuerza iónica, calculando los parámetros de activación de las reacciones directa y reversa (Wang & Margerum, 1994).

En el ámbito del tratamiento de aguas, el cloro que está presente en disoluciones acuosas como ácido hipocloroso e ion hipoclorito es llamado cloro libre (cloro libre residual o cloro libre disponible). En aguas con valores de pH próximos a 7, el cloro molecular y el tricloruro de nitrógeno son considerados también como cloro libre. El cloro presente en las cloraminas, tricloruro de nitrógeno y compuestos orgánicos N-clorados, en los cuales el cloro que contienen tiene un bajo potencial oxidante, es llamado cloro combinado (cloro residual combinado o cloro disponible combinado). El tricloruro de nitrógeno, aunque normalmente aparece como cloro libre, está definido como cloro combinado. La suma de ambos es el cloro total.

Se ha estudiado la formación de otras especies en soluciones acuosas de cloro como son H_2OCl^+ , Cl^+ y Cl_3^- pero están en cantidades muy pequeñas en comparación con las otras especies antes indicadas (Morris, 1983) como se pone de manifiesto observando el valor de las distintas constantes de equilibrio:

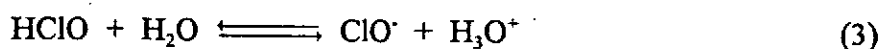
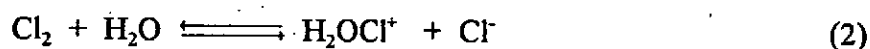


Tabla 2.1.: Constantes de equilibrio de las diferentes especies de cloro en agua

Constantes de equilibrio *	Referencia
$K_1 = 10^{-60} \text{ M}$	Moris, 1966
$K_2 = 10^{-30} \text{ M}$	Bell, 1951
$K_3 = 2.9 \cdot 10^{-8} \text{ M}$	Morris, 1966
$K_4 = 0.18 \text{ M}^{-1}$	Eigen, 1962

* T= 298°K

La tabla 2.2 muestra la distribución de las principales especies oxidantes en las disoluciones acuosas de cloro a valores de pH entre 5 y 9 para a una temperatura de 15°C y una concentración analítica de cloro de 10^{-2} M . La fracción de cloro molecular presente está en torno a las partes por millón para la mayoría de las condiciones tabuladas. Como se puede observar en la última línea de la tabla, la presencia de ion cloruro en el agua de mar, sólo incrementa la fracción de cloro sobre 10 ppm del cloro total:

Tabla 2.2.: Distribución de las especies en disoluciones acuosas de cloro, 15 °C

pH	pCl [*]	Fracción de Cl ₂ · 10 ⁶	HOCl	ClO ⁻
5	2	360	1	0.003
6	2	36	0.98	0.025
7	2	2.9	0.8	0.0203
8	2	0.1	0.28	0.72
9	2	0.001	0.04	0.962
7.8	0.3	11	0.38	0.618

*pCl = - log [Cl₂]_{analítica}

La reactividad relativa de las distintas formas oxidantes del cloro en disoluciones acuosas diluidas a pH 7 se muestra en la tabla 6.3. Las reactividades tabuladas son relativas respecto a la reactividad del HOCl que se le asignó un valor de 1; son valores estimados, basados principalmente en su reactividad con compuestos nitrogenados y por lo tanto, no deben de ser considerados como valores universales (Moris, 1983):

Tabla 6.3.: Reactividades estimadas de las formas de cloro activo pH=7, T=15 °C

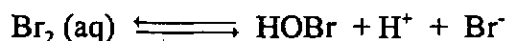
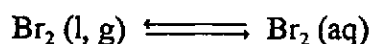
Especie	Reactividad específica estimada	Fracción de cloro	Reactividad relativa neta
Cl ₂	10 ³	3·10 ⁶	0.003
HOCl	1	0.8	0.8
ClO ⁻	10 ⁻⁴	0.2	0.00002
H ₂ OCl ⁺	10 ⁵	10 ⁻⁸	0.001

De la tabla anterior se desprende que el ácido hipocloroso es la especie más reactiva a valores de pH entre 5 y 9. En disolventes no acuosos la hidrólisis se produce en menor escala y por lo tanto la especie reactiva dominante es el cloro molecular, lo mismo ocurre en disoluciones fuertemente ácidas. Se ha postulado la presencia de otras especies en disolución acuosa como el H₂OCl⁺ (catión hipoclorosacido), el Cl⁺ (catión clorinio) y el Cl₃⁻ (anión tricloruro). El hipoclorosacido, se cree que participa en los procesos de cloración (Mare, *et al*, 1960, Swain, & Ketley, 1955, Sánchez, 1979) y no el catión clorinio. La participación de este último explica mejor el comportamiento cinético, pero consideraciones termodinámicas muestran que su concentración es demasiado baja para tenerla en cuenta desde el punto de vista cinético.

La reactividad del anión tricloruro está poco estudiada. La constante de equilibrio para su formación a partir de cloro y cloruro es de 0.18 M⁻¹. La mayor concentración de tricloruro se presenta en torno a pH 2, alrededor del 0.44 % de la concentración del cloro total (Turner, 1986).

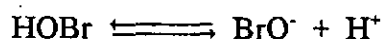
2.1.2. BROMO

El bromo es ligeramente soluble en agua (33.6 g/l a 25 °C). En sus disoluciones acuosas existen otras especies además de las moléculas de bromo solvatadas, ya que tiene lugar rápidamente una reacción de hidrólisis (Cotton & Wilkison, 1989):



La constante de equilibrio para el proceso de solvatación tiene un valor de 0.21 y la constante de equilibrio de hidrólisis de $5.8 \cdot 10^{-9} \text{ M}^2$ a 25 °C (Liebhafsky, 1939). Por otra parte, esta reacción de hidrólisis es muy rápida, siendo su constante de velocidad para el proceso directo 110 s^{-1} a 20 °C (Eigen & Kustin, 1962).

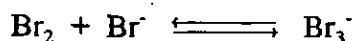
Una diferencia importante con respecto al cloro es que a valores de pH próximos a 7 se encuentran concentraciones relativamente altas de bromo molecular, comparadas con las bajas concentraciones de cloro molecular. Otra diferencia importante es que a un valor de pH dado, el HOBr se ioniza unas diez veces menos que el HOCl.



La constante disociación del HOBr es $2.9 \cdot 10^{-9} \text{ M}$ a 25 °C (Farkas & Lewin, 1950). De hecho, dado que las formas no iónicas son las más efectivas en los procesos de desinfección y potabilización, aquellos sistemas que contengan iones bromuro, como el agua de mar, responderán de manera diferente a una dosificación de cloro sobre la base de la rápida reacción de desplazamiento de iones cloruro:



Otros procesos de equilibrio importantes en disolución acuosa se deben a la capacidad del bromo para formar polibromuros en presencia de iones bromuro:



proceso para el cual la constante de equilibrio tiene un valor de 17 M^{-1} a 25 °C. (Kelly & Tartar, 1956).

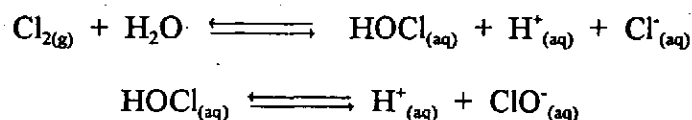
Teniendo en cuenta todos los equilibrios puede deducirse que a temperatura constante, el pH de la disolución tiene gran influencia en la distribución de las especies resultantes de la hidrólisis de bromo. Así, mediante cálculos de equilibrio resulta que a valores de pH ácido las especies predominantes son el bromo molecular y el ion tribromuro, a valores de pH próximos a 7 predomina el HOBr y a valores de pH básico la especie predominante es el ion hipobromito. por lo tanto, la reactividad de las disoluciones acuosas del bromo, va a depender en gran medida de la distribución de estas especies, ya que cada una de ellas posee una reactividad diferente.

Se ha postulado la existencia de las especies catiónicas Br^+ (catión brominio) y H_2OBr^+

(catión hipobromosacido) para justificar el aumento de reactividad del ácido hipobromoso en medio ácido en las reacciones de sustitución aromática electrofílica (Derbyshire & Waters, 1949). Sin embargo, la existencia de estas especies, así como las análogas para los halógenos, ha generado gran controversia (Berliner, 1966, Bell & Gelles, 1951).

2.1.3. ÁCIDOS HIPOHALOSOS Y ANIONES HIPOHALITOS

Como se indicó en el apartado 2.1.1, el ácido hipocloroso es uno de los productos que resultan de la hidrólisis del cloro



La extensión en la que se producen estas reacciones depende en gran medida del pH. La constante de disociación del ácido hipocloroso varía entre de $1.6 \cdot 10^{-8}$ a $3.2 \cdot 10^{-8}$ M para un intervalo de temperaturas entre 0° y 25°C (Morris, 1983) y para el ácido hipobromoso tiene un valor de $2 \cdot 10^{-9}$ a 25°C .

Un estudio de las constantes de ionización del ácido hipocloroso fue llevado a cabo por Morris (Morris, 1966), quien realizó la investigación entre 0° y 35°C , calculando los valores del pK_a mediante una técnica espectrofotométrica (tabla 2.4):

Tabla 2.4.: Valores del pK_a del ácido hipocloroso a diferentes temperaturas.

pK_a	$T (^\circ\text{C})$
7.825	0
7.754	5
7.690	10
7.852	20
7.537	25
7.497	30
7.463	35

Las constantes cinéticas de la reacción de ionización del ácido hipocloroso, tienen un valor de $k_1=28.6 \text{ s}^{-1}$ y $k_{-1}=2.8 \cdot 10^4 \text{ M}^2 \text{ s}^{-1}$ a 25°C (Eigen & Kustin, 1962, Lifshkhitz & Hayman, 1967, Margerum *et al*, 1978).

En cuanto a la eficacia del ácido hipocloroso como agente clorante, se dice que es el agente más poderoso de todas las formas derivadas del cloro (Díaz, 1988, Sánchez, 1979, Morris, 1983). Su actividad germicida es 150-300 veces mayor que la del ion hipoclorito y ha sido atribuida a la facilidad de penetrar a través de la pared celular (Smith, 1975, Díaz, 1988); está

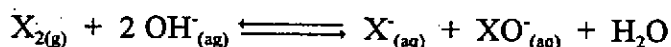
fácil penetración se ha justificado tanto por su bajo peso molecular como por su neutralidad eléctrica (Sánchez, 1979).

Si bien se desconoce con toda certeza como se produce esta acción; existe un acuerdo unánime que la eficacia de su acción depende de la velocidad de difusión a través de la pared celular del agente activo; una vez dentro de la célula se postula que el compuesto desinfectante tiene capacidad para atacar a un grupo enzimático vital del organismo y así causar la muerte celular (Díaz, 1988, Sánchez, 1979, Ingolds & Wyckoff, 1953, Dakin & Cohen, 1916).

Se han propuesto modelos teóricos para explicar como actúa el ácido hipocloroso en las bacterias, así Haas (Hass, 1980) ha sugerido un modelo cinético para la inactivación del virus por ácido hipocloroso, postula la existencia de un intermedio -un complejo desinfectante-organismo- que gobierna la velocidad de inactivación del virus. Este modelo fue comprobado por Floyd (Floyd & Johnson, 1979) para la desactivación del polivirus tipo I. Engelbrecht *et al* (Engelbrecht & Weber, 1978) observaron una meseta en la velocidad de inactivación del polivirus tipo I cuando incrementaba la concentración de cloro; Brigano *et al* (Brigano & Scarpino, 1978) encontraron la misma meseta para el caso que el virus estuviera en contacto con dióxido de cloro.

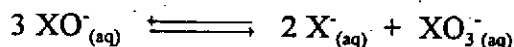
La formación de los iones hipohalito ya se revisó en la hidrólisis de los ácidos hipohalosos, aunque también pueden obtenerse haciendo reaccionar el ácido hipohaloso con una base (Morris, 1966, Cotton & Wilkinson, 1989).

La reacción de formación de estos iones en medio básico está muy desplazada hacia la derecha y las reacciones son rápidas pero, en contrapartida, estos iones se desproporcionan con facilidad, (Jolley, 1981, Morris, 1966):



La constante de equilibrio para el cloro es), $7.5 \cdot 10^{-5} M^2$ a $25^\circ C$ (Morris, 1966) y para el bromo $2 \cdot 10^8$.

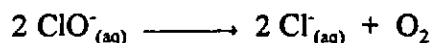
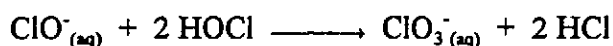
Los iones hipohalogenito tienden a desproporcionarse para dar aniones halogenato de acuerdo con:



Para la reacción de desproporción las correspondientes constantes de equilibrio son muy favorables y la velocidad de reacción crece en la secuencia $OCl^- < OBr^- < OI^-$. El valor para el hipoclorito es de 10^{27} y es lenta a $20^\circ C$, para el hipobromito es de $8 \cdot 10^{14}$ siendo moderadamente rápida a $20^\circ C$ y para el hipiodito es de $5 \cdot 10^{23}$ y es rápida a $20^\circ C$.

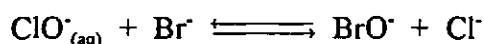
Hay que tener en cuenta que la velocidad de la desproporción depende mucho de la temperatura y de la intensidad de luz que incide sobre la disolución. Por ello, las disoluciones de hipoclorito se conservan mejor a bajas temperaturas y en condiciones de poca luz.

No se ha esclarecido totalmente el mecanismo de la desproporción y este ha sido investigado por Lister, (Lister, 1956, 1956b, Lister & Petterson, 1962) que estudió esta reacción de descomposición para el caso de hipoclorito de sodio; propone dos reacciones de descomposición:



Realiza un estudio cinético de ambas calculando sus constantes de velocidad. Al mismo tiempo muestra que estas reacciones pueden ser catalizadas por óxidos de metales de transición como el cobalto.

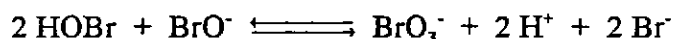
Farkas *et al* (Farkas & Lewin, 1950) estudiaron la reacción entre el hipoclorito y bromuros, en un intervalo de pH entre 10 y 14 encontrando que se producía la siguiente reacción:



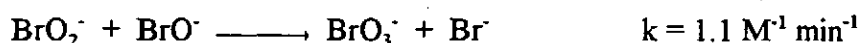
A valores de pH más bajos ocurren una serie de reacciones en las cuales los iones hipoclorito e hipobromito se oxidan dando clorato y bromato. Encontraron que la reacción era de orden dos para valores de pH comprendidos entre 10 y 14 y que la velocidad era proporcional a la concentración de hipoclorito y bromuro.

La desproporción del hipobromito es moderadamente rápida a temperatura ambiente, obteniéndose rendimientos prácticamente cuantitativos de BrO_3^- a temperaturas superiores a 50 °C (Cotton & Wilkinson, 1989).

La reacción de desproporción del hipobromito fue estudiada por Liehafsky y Makover (Liehafsky & Makover, 1933) quienes postularon un mecanismo en el que la reacción es de tercer orden, la reacción que proponen es la siguiente:



En un estudio posterior realizado por Engel *et al* se propone un mecanismo por dos etapas (Engel *et al*, 1954):

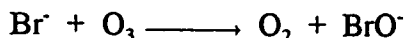


Observando además que la velocidad de esta reacción disminuye al aumentar el pH.

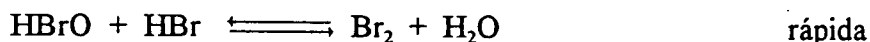
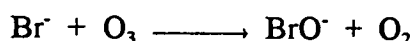
Bousher *et al* han estudiado la reactividad del hipoclorito en agua de mar, donde se forma hipobromito por oxidación de los iones bromuro y pares iónicos entre el hipoclorito y algunos de los cationes presentes en el agua de mar: NaOCl , KOCl , CaOCl^+ , MgOCl^+ , etc. Las constantes de velocidad de las reacciones en las que están implicados los pares iónicos CaOCl^+ y MgOCl^+ son comparables a las de la reacción con el HOCl , mientras que las correspondientes a los otros pares son despreciables (Bousher *et al*, 1986). A partir de los valores de las constantes de velocidad de estos pares iónicos se puede estudiar la influencia que la presencia de iones metálicos tiene sobre la velocidad de la reacción total. Así, en el agua de mar natural, los pares iónicos son los responsables de la formación del 3.5 % del hipobromito; pero a valores de pH más altos, este porcentaje puede incrementarse. Los cationes de los metales de transición (Fe^{+3} , Cr^{+3} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2}) en concentraciones de $5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ no tienen efecto catalítico sobre la

reacción, sin embargo los iones Fe^{+2} y Mn^{+2} son oxidados.

El bromuro se puede oxidar a hipobromito con ozono.

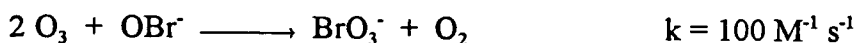
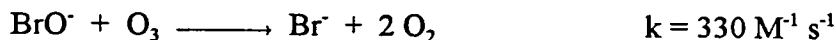
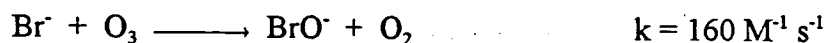


Diversos autores han estudiado esta reacción proponiendo distintos mecanismos de reacción. La cinética de este proceso ha sido estudiada y se ha propuesto el siguiente mecanismo de reacción (Haruta & Takeyama, 1981):



en el cual la etapa lenta determinante de la velocidad es la reacción entre el ozono y los iones bromuro, reacción que depende del pH.

Cuando el ozono está en exceso en el medio de reacción, se produce la destrucción catalítica del ozono por el hipobromito (Haag & Hoigné, 1983):



Estas reacciones de oxidación de bromuros tiene gran importancia en los procesos de desinfección de aguas sobre todo agua de mar (Pacik & Rice, 1991).

Las reacciones de los ácidos hipohalosos a menudo están vinculadas al carácter oxidante de dichas especies. En cuanto a las reacciones de oxidación frente especies inorgánicas presentes en las aguas naturales, el cloro es capaz de oxidar el Fe^{+2} a Fe^{+3} , al Mn^{+2} a Mn^{+3} y Mn^{+4} , oxida a los nitritos a nitratos, también oxida los sulfuros y sulfitos a sulfatos (Morris, 1978). En cuanto a las posibles reacciones que puede presentar frente a los compuestos orgánicos se incluyen: oxidaciones, adiciones y sustituciones con la consiguiente formación de derivados N-clorados y C-clorados. Pero las reacciones que presentan mayor interés para este trabajo son las reacciones de las de sustitución y en concreto a aquellas llevadas a cabo sobre sustratos nitrogenados presentes en medios naturales acuáticos, como por ejemplo aminoácidos, aminas, dipéptidos, ácidos húmicos, etc, que son capaces de reaccionar fácilmente con los ácidos hipohalosos para formar N-derivados.

Tanto el átomo de cloro como el de oxígeno pueden actuar como centro de reacción. El comportamiento habitual del ácido hipocloroso frente al carbono y nitrógeno en sustratos orgánicos es como agente electrofílico, en donde el cloro toma las características del ion clorinio Cl^+ y se combina con el par electrónico del sustrato.

Un estudio intensivo de las reacciones del ácido hipocloroso con diversos sustratos

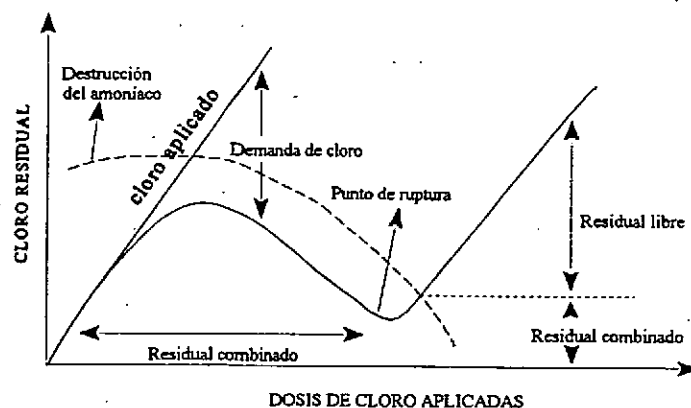
orgánicos fue realizado por Friend (Friend, 1956). Su investigación se basó en la distribución de productos monoclorados a partir de una mezcla de dos compuestos nitrogenados, estudió la formación de derivados clorados a partir de dimetilamina, dietilamina, sarcosina, glicina, alanina, entre otros aminoácidos. Posteriormente Margerum, con la incorporación de técnicas de flujo retenido, estudió las reacciones de cloración (Margerum *et al*, 1978).

2.1.4 HALOAMINAS

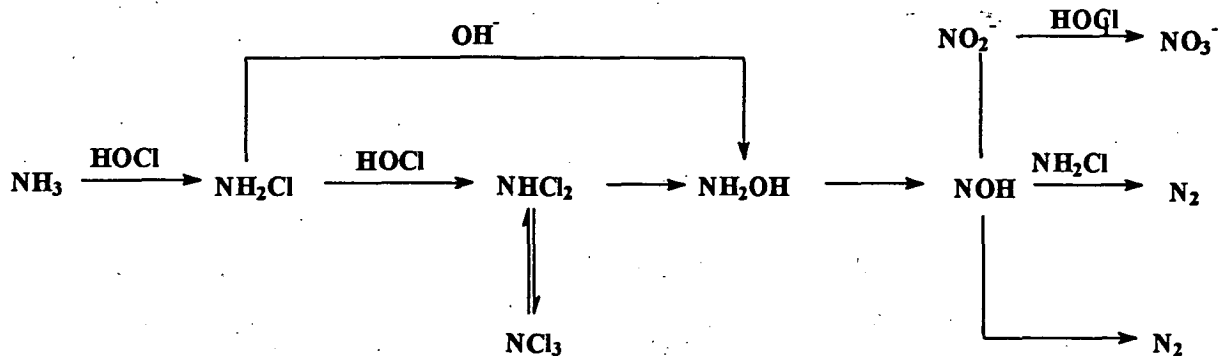
La formación de cloraminas es otra de las reacciones, como agente clorante, del ácido hipocloroso. Este ácido reacciona rápidamente con amoníaco para dar monocloramina, dicloramina y tricloruro de nitrógeno.

Normalmente, la monocloramina, es la única cloramina formada cuando pH es mayor de 8 y cuando la relación entre las concentraciones del ácido hipocloroso y del amoníaco es menor o igual que 1. Cuando la relación de concentraciones es mayor y el pH es más bajo se forman dicloraminas y tricloraminas. A pH menor de 3 sólo se detecta tricloruro de nitrógeno. Estas y otras cloraminas orgánicas son producidas durante los procesos de cloración de aguas naturales, las cuales contienen compuestos nitrogenados.

Cuando el cloro se añade a agua conteniendo amoníaco, ocurre el fenómeno llamado como "punto de ruptura". El nombre de "punto de ruptura" viene de la forma de la curva que resulta de hacer la representación gráfica del cloro total frente al cloro añadido. Este fenómeno se produce a valores de pH entre 6 y 9. Se puede explicar de modo siguiente: cuando la relación molar entre el cloro y el amoníaco está entre 0 y 1 se forma la monocloramina y de esta manera el cloro residual combinado se incrementa hasta alcanzar un máximo. Cuando la relación molar es mayor de uno, se forma la dicloramina, que como es inestable, tal como se verá más adelante, se descompone. Por lo tanto con la adición de más cloro, el cloro residual aparente decrece desde una relación molar de cloro-amoníaco de 1 hasta aproximadamente 1.65 (el "punto de ruptura"). El cloro que se añade después de este punto está como cloro libre (Gordon & Pacey, 1987). En la figura siguiente se visualiza el comportamiento descrito.



Las reacciones que se pueden producir se indican a continuación:



Esquema 2.1.: Reacciones del cloro con amoníaco

Las cinéticas de las reacciones individuales han sido estudiadas extensamente por Issac y Morris (Russel & Morris, 1980, 1985); su química es complicada y varía marcadamente con la composición de la disolución. Un conocimiento detallado de todas las reacciones implicadas obliga a conocer la concentración de todas las especies del sistema.

Según se ha indicado cloro es ligeramente soluble en agua, conduciendo a la formación de otras especies, tales como HOCl, ClO^- y Cl_2^- , cuyas respectivas proporciones dependen de la temperatura, pH y concentración de haluro.

Por otra parte, en presencia de amoníaco se forman las correspondientes cloraminas de acuerdo con las ecuaciones del esquema anterior. Cada una de ellas tiene una estabilidad diferente y por tanto el tipo de cloramina formado depende de la relación cloro/amoníaco y del pH del medio. Soulard *et al* realizaron estudios espectrofotométricos UV de las cloraminas formadas al mezclar las disoluciones acuosas de cloro y amoníaco, permitiéndoles obtener los diagramas de existencia de especies en función del pH y del log R ($R = [\text{cloro inicial}] / [\text{amoníaco inicial}]$) (Soulard *et al*, 1981, 1984). Para llevar a cabo estos diagramas hay que tener en cuenta los equilibrios entre las diferentes especies existentes en el medio (hidrólisis del cloro, disociación de ácido hipocloroso, hidrólisis de cloraminas, etc).

La reacción de monocloramina a dicloramina es una reacción difícil de estudiar, debido a que pueden interferir otros procesos, de hecho en la bibliografía existen valores discrepantes para la constante de velocidad de la reacción (Margerum *et al*, 1978, Wei, 1972). Por otro lado los valores de las constantes de la reacción inversa de hidrólisis son más concordantes (Morris, 1983, Margerum *et al*, 1978).

En el esquema 2.1 se observa que se puede producir ion nitrato; esto ocurre cuando $R < 1$. En este caso se forma nitrato y otro producto todavía sin identificar que es relativamente estable y oxidante (Valentine *et al*, 1986; Leung, 1989; Valentine & Wilber, 1990; Pressley *et al*, 1972). En presencia de un exceso de agente clorante se forma tanto nitrógeno molecular como ion nitrato (Pressley *et al*, 1972; Yiin & Margerum, 1990). También se ha observado que cuando $R = 2$ y $\text{pH} = 5$ el 1 % del amoníaco inicial se transforma en ion nitrato, mientras que a $\text{pH} = 8$ lo hace el 15 %. No se conoce con precisión el mecanismo de formación de nitrato, habiéndose

mostrado que cuando $R > 1.6$ la formación de ion nitrato aumenta notablemente para $6 < \text{pH} < 7$, reduciéndose el incremento a la mitad cuando $7 < \text{pH} < 8$ (Karper *et al*, 1991).

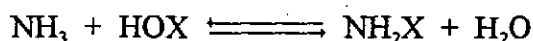
Otro sistema de difícil estudio es la formación de la tricloramina (NCl_3) a partir de la dicloramina, debido a la inestabilidad de esta última. La tricloramina aparece en condiciones muy ácidas y a valores de R altos. Se ha propuesto para descomposición de la dicloramina un ataque nucleófilo de la misma al ácido hipocloroso. El proceso es de segundo orden con catálisis general básica, formándose tricloramina como reactivo intermedio en presencia de dicloramina a valores de pH altos (Hand & Margerum, 1983; Jafvert & Valentine, 1987).

La presencia de las cloraminas proporciona mal olor y sabor al agua. Las cloraminas son tóxicas para el pescado, dependiendo de su concentración en el agua, por lo tanto es importante conocer su formación, estabilidad y reactividad (Gray *et al*, 1978, Weil & Morris, 1949, Jolley & Carpenter, 1981).

Las disoluciones acuosas del bromo, al igual que las del cloro, reaccionan con el amoníaco para formar bromoaminas (NH_2Br , NHBr_2 , y NBr_3) y lo mismo que para el cloro la proporción relativa de estos compuestos depende de la proporción inicial de bromo, amoníaco y del pH . La monobromoamina es la especie predominante a valores de pH alcalinos o a pequeñas relaciones de bromo/amoníaco ($R < 0.1$), mientras que la tribromoamina predomina en disoluciones ácidas o a valores de R elevados. Las bromoaminas están totalmente hidrolizadas en medio ácido, siendo la especie dominante el Br_2 , a diferencia del cloro, las especies dominantes en medio ácido son la tricloramina, dicloramina y HOCl , sólo a valores de pH muy ácidos el cloro molecular se convierte en la especie predominante.

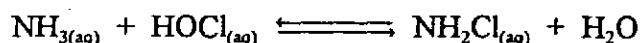
2.1.4.1. Monohaloamina

Las monohaloaminas se forman rápidamente por reacción entre el correspondiente ácido hipohalogenoso y el amoníaco de acuerdo con la reacción:



dependiendo los productos de reacción del pH , de las concentraciones relativas de HOX y amoníaco, del tiempo de reacción y de la temperatura.

La monocloramina es la principal cloramina que se encuentra en las condiciones en las que se produce la cloración de las aguas residuales. La reacción de formación es la siguiente:



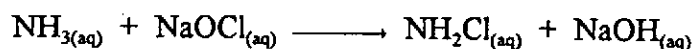
Por lo general la monocloramina se forma cuando el $\text{pH} > 8$ y cuando $R \leq 1$. Esta reacción ha sido estudiada por muchos investigadores, llegando todos ellos a la conclusión de que se trata de una reacción de orden total dos, uno respecto a cada reactivo, y que la dependencia con el pH y con la fuerza iónica permiten sugerir que la reacción transcurre a través de moléculas sin carga (Jolley & Carpenter, 1981; Margerum *et al*, 1978; Edmod & Soper, 1949; Weil & Morris, 1949; Gray *et al*, 1978; Anbar & Yagil, 1962, Hull *et al*, 1966; Patton & Crouch, 1977; Issac, 1981; Chapin, 1929; Issac & Morris, 1983).

Issac y Morris calcularon un valor de la constante cinética de segundo orden de la

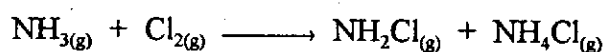
reacción anterior $k \approx 4.2 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 25°C (Issac & Morris, 1983); Margerum *et al* realizaron el mismo cálculo estimando un valor de $2.8 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Margerum *et al*, 1978).

La constante de equilibrio para la reacción anterior fue calculada por varios investigadores. Así por ejemplo, Corbett *et al* calculan un valor de $3.6 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}$ (15°C , $K_{\text{HOCl}} = 2.7 \cdot 10^8 \text{ M}$) (Corbett *et al*, 1953) mientras que Yagil y Ambar exponen evidencias de que el valor es mayor que 10^{15} M^{-1} (27.3°C , $\mu = 0.1 \text{ M}$, $K_{\text{HOCl}} = 4 \cdot 10^8 \text{ M}$) (Anbar & Yagil, 1962). Por otra parte Granstrom calcula el valor $2.4 \cdot 10^{11} \text{ M}^{-1}$ usando datos cinéticos (25°C , $\mu = 0.45 \text{ M}$, $K_{\text{HOCl}} = 2.9 \cdot 10^8 \text{ M}$) (Granstrom, 1954).

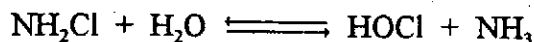
Otro posible método para generar monocloraminas es (Kovacic *et al*, 1970):



o bien en fase gas

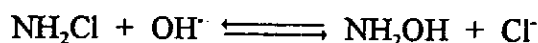


Por otra parte la monocloramina se hidroliza según la ecuación:



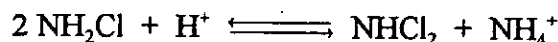
La constante de velocidad para la reacción fue obtenida por Granstrom, $k = 2 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$ (Granstrom, 1954); Margerum *et al* calcularon la misma constante, su valor es de $1.5 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$ (Margerum *et al*, 1978). La constante equilibrio fue calculada por Gray $K = 6.7 \cdot 10^{-12}$ a 25°C (Gray *et al*, 1978).

La hidrólisis también puede ocurrir en medio básico:



Se produce en medios fuertemente alcalinos, obteniéndose hidroxilamina. Esta reacción tiene un tiempo de vida media de 350 años (Jolley & Carpenter, 1981) por lo que no ocurre en los tratamientos de aguas. Anbar y Yagil calcularon un valor de la constante de velocidad de $6.3 \cdot 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Anbar & Yagil, 1962).

A valores de pH menores que 6 la monocloramina se desproporciona convirtiéndose en dicloramina según la reacción:



Gray *et al* obtuvieron un valor para la constante de equilibrio de esta reacción de $4.3 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ a 25°C (Gray *et al*, 1978) y Granstrom un valor para la constante de velocidad directa $0.056 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 25°C (Granstrom, 1954).

La monocloramina es un agente clorante de compuestos con nitrógeno en disoluciones acuosas; así Margerum *et al* estudiaron la transferencia del cloro desde la monocloramina hasta la glicina (Margerum *et al*, 1978):



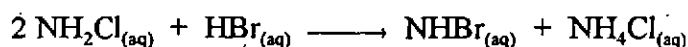
Sus investigaciones muestran que la reacción es mucho más rápida que la hidrólisis siendo su constante cinética $1.5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ entre pH 4 y 9 a 25°C .

Weil y Morris realizaron un estudio cinético de las cloraminas, investigando la velocidad de formación de monoclорamina, N-clorometilamina y N-clorodimetilamina. En sus conclusiones dudan sobre el mecanismo propuesto para la formación de las cloraminas; indican que pueden producirse por dos caminos, considerando especies neutras o iónicas. Finalmente proponen un mecanismo con un estado de transición eléctricamente neutro, cuya etapa determinante de la velocidad es de tipo concertado. También realizan un cálculo de las constantes de ionización de las cloraminas (Weil & Morris, 1949, 1949b). Otros autores (Margerum *et al*, 1978) proponen un mecanismo que transcurre mediante una transferencia de cloro a través de un ion clorinio, proceso que ocurriría con una velocidad próxima al límite de control por difusión ($k \approx 4 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Sin embargo hay que tener en cuenta que la participación de iones clorinio en reacciones en disolución es bastante improbable (Engel *et al*, 1954)

Trabajos sobre dialquilcloraminas fueron llevados a cabo por Edmond y Soper. Observaron que la formación era muy rápida en disoluciones neutras pero que decrecía en disoluciones ácidas (Edmond & Soper, 1949).

Metcalf hace un estudio de las espectros de absorción de mono-, di- y tri-cloraminas y algunos de sus derivados alifáticos (Metcalf, 1942). Por otra parte, Jolly estudia las propiedades termodinámicas de las cloraminas, dicloraminas y del tricloruro de nitrógeno (Jolly, 1956).

Otro trabajo sobre cloraminas fue llevado a cabo por Trofe *et al*; estudia las cinéticas de descomposición de las monoclорaminas en presencia de ion bromuro. Encuentran que la reacción es de primer orden con respecto a la monoclорamina, al ion bromuro y a los hidrogeniones, la reacción que tiene lugar es (Trofe *et al*, 1980):



Reynolds *et al*, han sugerido que las cloraminas no cloran con facilidad al nitrógeno orgánico, reduciendo significativamente los niveles de formación de trihalometanos. Sin embargo parece que pueden generar nitritos por oxidación de los compuestos orgánicos nitrogenados (Reynolds *et al*, 1989).

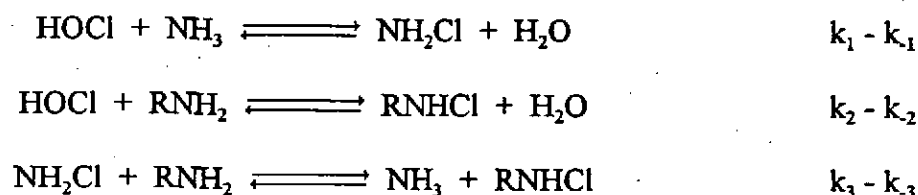
Dakin investigó la oxidación de aminoácidos con cloraminas observando la producción de aldehídos cuando la relación de cloramina/aminoácido es menor que 1, mientras que si esta relación es mayor que 1 se formaban también los correspondientes nitrilos con un carbono menos que el aminoácido de partida (Dakin, 1916, 1917, Dakin *et al*, 1916)

Una revisión bibliográfica sobre estos compuestos fue el llevada a cabo por Kovacic *et al*, comprende un estudio bastante amplio sobre la química de las N-cloraminas y N-bromaminas (Kovacic *et al*, 1970).

La potencia bactericida de la monoclорamina es función de su hidrólisis, que produce ácido hipocloroso, que a su vez es función del tiempo de contacto con el agua, de su potencial redox o de su lenta velocidad de difusión a través de la pared celular. Para conseguir el mismo grado de desinfección del ácido hipocloroso, el tiempo de contacto debe de ser de 1 ó 2 horas más, ya que su hidrólisis es lenta. Hay que tener en cuenta que debido a la presencia de amoníaco

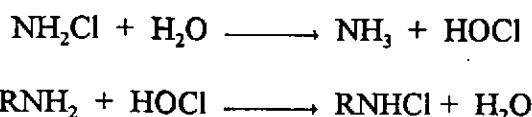
en el agua y de otros compuestos nitrogenados, la cantidad de monocloraminas en las aguas naturales es bastante elevada; el cloro residual está constituido probablemente por casi 100% de monocloramina (Reynolds *et al*, 1989; Díaz, 1988; Sánchez, 1979; Ingolds, 1953; Chambers, 1971; Jolley & Carpenter, 1981).

Yoon y Jensen han desarrollado un modelo para explicar la transferencia de cloro entre cloraminas y compuestos nitrogenados (Yoon & Jensen, 1993). Tienen en cuenta tres procesos:

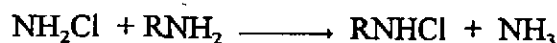


El último de los procesos puede transcurrir mediante transferencia directa o mediante hidrólisis previa de la cloramina para formar cloro y la subsecuente cloración:

1.-A través de la hidrólisis:



2.-Transferencia directa:



Cuando la relación [agente clorante]/[compuesto nitrogenado] es mucho menor que uno puede ignorarse la formación de dicloraminas. Estos autores proponen dos modelos:

-el primero supone que en exceso de amoníaco carecerá de importancia una transferencia directa desde la cloramina al compuesto nitrogenado, y la concentración de ácido hipocloroso podrá considerarse cero, ya que la hidrólisis de la cloramina es mucho más lenta que la N-cloración (Morris, 1983).

-el segundo modelo asume que el balance de masa para la amina, amoníaco y cloro permanece constante y que la concentración de hipoclorito es pequeña e invariable (condiciones de estado estacionario).

En este trabajo se concluye que tanto la transferencia a través de la hidrólisis como la directa se ven afectadas de igual manera por la basicidad de la cloramina, confirmándose que el incrementarse ésta aumenta la velocidad de la cloración.

Estos procesos de transferencia de cloro ya habían sido estudiados con anterioridad por otros autores (Gray *et al*, 1978; Granstom, 1954, Higuchi & Hussain, 1967) y se proponían dos mecanismos: la hidrólisis de la cloramina para formar ácido hipocloroso y posterior cloración del N-derivado por este último o mediante transferencia directa.

Granstom propuso el primer mecanismo; si éste fuera cierto, la velocidad vendría controlada por la hidrólisis de la cloramina y sería independiente de la naturaleza y

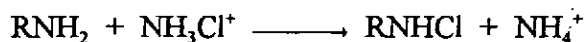
concentración del N-derivado.

Higuchi y Hasewaga postulan que la principal vía de intercambio de cloro es la transferencia directa del ion clorinio Cl^+ , y no la hidrólisis de la cloramina y posterior reacción del HOCl formado (Higuchi & Hasewaga, 1965).

Otros estudios llevados a cabo por Issac y Morris (Russell & Morris, 1980, 1983, 1985), Snyder y Margerum (Snyder, 1982; Snyder & Margerum, 1982) establecen que el mecanismo correcto es el segundo. En realidad, Issac y Morris, afirman que pueden ocurrir los dos mecanismos dependiendo de la concentración del N-derivado. Si la concentración es muy alta (mayor o igual que 10^{-4} M), el proceso que ocurre es el segundo; demuestran que el proceso es de orden total dos, uno respecto a cada reactivo. En caso contrario (concentraciones menores o iguales 10^{-4} M), el proceso puede transcurrir por la hidrólisis, pero este mecanismo será poco significativo frente al directo. Por otro lado, Snyder y Margerum estudiaron la transferencia de cloro desde la monocloramina a aminas, aminoácidos y péptidos, encontrando al igual que Issac y Morris, un orden total dos para valores de pH comprendidos entre 2 y 10, calculan la constante de velocidad que va desde 0.1 a $7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 25°C y observan que la velocidad es independiente del pH en el intervalo de 4 a 7, si bien aumenta con la basicidad de la amina alcanzando un máximo de $2.4 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para un pK_a aproximado de 11.

Tanto Issac y Morris como Snyder y Margerum, calcularon las constantes de velocidad de las reacciones anteriores llegando a resultados similares, salvo en algunos casos en los que Issac y Morris los justifican manifestando que no se empleó la misma constante de protonación de la monocloramina ni tampoco se utilizaron iguales condiciones de fuerza iónica.

Con todo esto se puede afirmar que la reacción se produce por un ataque nucleófilo de un nitrógeno amínico no protonado al cloro de la cloramina protonada:

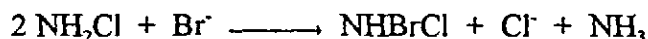


Ferriol *et al* llegan a la conclusión de que el mecanismo de transferencia de cloro desde la cloramina a otro nitrógeno amínico puede tener lugar a través de la vía anterior (interacción de la cloramina protonada (NH_3Cl^+) y el nitrógeno amínico) o mediante un proceso de catálisis ácida general en el que están implicadas la NH_2Cl y el nitrógeno amínico no protonado. Afirman que estas vías son indistinguibles desde el punto de vista cinético (Ferriol *et al*, 1989, 1990).

Otro estudio interesante es el que realiza Kamwiski en el que se indica que variando los sustituyentes del nitrógeno que soporta el átomo de cloro, se puede conseguir una cierta selectividad en el proceso de transferencia de cloro, lo que representa una gran ventaja en el proceso de tratamiento de desinfección del agua (Kamwisky & Boder, 1976).

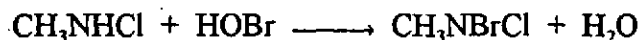
Otros estudios de transferencia de cloro entre centros nitrogenados fueron con hidroxiaminas (Dennis *et al*, 1967) y utilizando dietanolamina y monoetanolamina con cloramina-T (Chandra & Bansal, 1978).

En el estudio de la reacción de descomposición de la monocloramina en presencia de iones bromuro Trofe *et al* encuentran evidencias cinéticas y espectroscópicas de la existencia de una haloamina mixta, la (N-Br, N-Cl)-cloramina (NHBrCl), que es producto mayoritario de esta reacción:



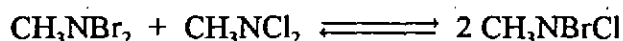
Llegan a un ecuación de velocidad de orden tres y a partir de la influencia de los distintos reactivos sobre la constante de velocidad, proponen un mecanismo que les permite justificar todos los resultados experimentales observados (Trofe *et al*, 1980).

Casi simultáneamente Haag y Jolley hacen un estudio que ponen de manifiesto la existencia de estas haloaminas mixtas (Haag, 1980, 1980b, Haag & Jolley, 1983). Haag prepara la (N-Br, N-Cl)-metilamina haciendo reaccionar la N-Cl-metilamina con ácido hipobromoso:



caracterizando las propiedades físicas y espectroscópicas (UV, IR, RMN) de estas haloaminas mixtas.

Por otra parte, Haag encuentra que en disoluciones concentradas de CH_3NBrCl , rápidamente se establece el equilibrio:

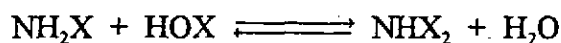


obteniendo para dicha constante el valor de 4.01 ± 0.04 , lo cual indica que el equilibrio está ligeramente desplazado hacia la formación de la haloamina mixta, y que la diferencia de energía entre reactivos y productos es muy pequeña.

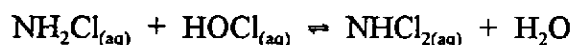
Gazda y Margerum también estudiaron la formación de bromocloraminas mediante la reacción de las monocloraminas con Br_2 , Br_3^- , HOBr y BrO^- (Gazda & Margerum, 1994). Utilizaron un técnica cinética nueva para las reacciones más rápidas (del orden de 10^8 - $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) llamada flujo acelerado y pulsado PAF (del inglés pulsed-accelerated-flow). El mecanismo que proponen es un ataque nucleófilo del nitrógeno que facilita la transferencia del Br^+ desde los compuestos con bromo para formar la bromocloramina, la cual se descompone más lentamente que se forma. Si las especies bromadas están en exceso se forma la dibromocloramina que se descompone rápidamente ($t_{1/2} = 5 \text{ min}^{-1}$).

2.1.4.2. Dihaloaminas

Las dihaloaminas se forman en la reacción:



La dicloramina:

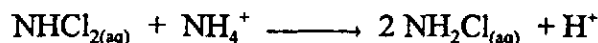


se forma cuando el pH es menor que 8 y si hay un exceso de ácido hipocloroso. La constante cinética fue calculada por diversos autores. Morris (Morris & Weil, 1950) determinó un valor de $3.4 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 30°C y otros autores (Huffman, 1976, Gray, 1977) usando flujo detenido obtuvieron un valor de $2.3 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 25°C . La reacción de formación de la dicloramina es más lenta que la de la monocloramina, porque la monocloramina a través de la que pasa la formación de la dicloroamina es menos nucleófila que el amoníaco (Gray *et al*, 1978;

Margerum *et al*, 1978).

A pesar de que no existen en la bibliografía medidas de la velocidad con que se hidroliza la dicloramina, Isaac y Morris han estimado un valor aproximado de $7.6 \cdot 10^7$ a 25°C , para lo que se basan en la constante de equilibrio de hidrólisis, que estiman en $2.2 \cdot 10^{-9}$ M a 25°C (Isaac & Morris, 1983)

La dicloramina se desproporciona según la reacción:



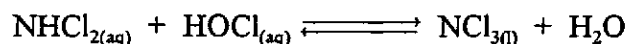
La constante de velocidad de esta reacción es del orden de $6.4 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 25°C y se produce a valores de pH mayores que 6 (Margerum *et al*, 1978).

Sus propiedades como agente clorante, la hacen ser más efectiva que la monocloramina, una o dos veces, pero se debe de evitar su producción en el tratamiento de aguas potables, por problemas de sabor y olor (Reynolds *et al*, 1989, Díaz, 1988, Jolley & Carpenter, 1981, Sánchez, 1979).

2.1.4.3. Trihaloaminas

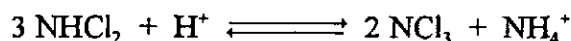
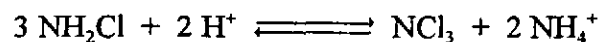
Estos compuestos se forman por reacción de amoníaco con el correspondiente ácido hipohalogenoso en gran exceso o bien por halogenación de la dihaloamina.

La tricloramina se forma a partir de la monocloramina o bien haciendo reaccionar el amoníaco con un gran exceso de ácido hipocloroso a $\text{pH} < 3$.



La velocidad de esta reacción fue estudiada por Saquinsin el cual obtuvo un valor para la constante de velocidad de $2.1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 25°C (Saquinsin, 1975).

A valores de pH muy ácidos, tanto la mono- como la dicloramina se convierten en tricloruro de nitrógeno (Jolley & Carpenter, 1981, Saquinsin, 1975)



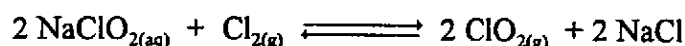
La constante de equilibrio de la segunda reacción fue calculada por Gray (130 ± 40) M (Gray *et al*, 1978) y también por Jolly (Jolly, 1956), quien halló un valor mucho más alto (10^4 M).

En disolución acuosa se descompone lentamente dando amoníaco y ácido hipocloroso. Esta hidrólisis es dependiente del pH (Jolley & Carpenter, 1981). No se recogen en la bibliografía valores de su constante de hidrólisis.

El tricloruro de nitrógeno es mucho más oxidante y desinfectante que las otras cloraminas, pero presenta serios problemas de sabor en el agua de consumo, por lo que no se recomienda su empleo (Jolley & Carpenter, 1981, Sánchez, 1979).

2.1.5. DIÓXIDO DE CLORO

El dióxido de cloro es un gas muy inestable. Es preciso prepararlo *in situ* mediante la siguiente reacción:



Teniendo en cuenta que en la reacción se produce 1 mol de dióxido de cloro por 1 mol de clorito de sodio, es preciso utilizar en la práctica un exceso del 200 a 300% del cloro estequiométrico necesario (Sánchez, 1979; Díaz, 1978).

El dióxido de cloro es un agente oxidante y desinfectante muy activo. En concentración equivalente es un oxidante más energético que el cloro libre en las aguas naturales con un pH mayor de 7,5. Oxida a los compuestos mangánicos más rápidamente que el cloro; en las aguas con un gran contenido en ion amonio puede ser más ventajoso que el cloro debido a que no reacciona con el amoníaco para formar cloraminas (Sánchez, 1979; Díaz, 1978; Reynolds *et al*, 1979).

Se emplea en aguas con fenoles, gran contenido de manganeso, ion amonio, o en el tratamiento de vertidos de aguas residuales industriales.

Una gran ventaja es que no conduce a la formación de trihalometanos. Además ha sido demostrado que cuando el dióxido de cloro está presente, la tendencia del cloro a formar trihalometanos se reduce (Reynolds, *et al*, 1989).

La desventaja que presenta es el alto coste del clorito de sodio y que se necesita cloro para elaborarlo con lo que hay que tener en cuenta todos los factores que intervienen en la producción y manipulación del cloro.

Nagawa *et al* estudiaron la formación de cloruros orgánicos haciendo reaccionar aldehidos, cetonas, alcoholes, etc. con dióxido de cloro. Encontraron que entre los productos estaba el cloroformo, que aparecía en menor o en mayor concentración dependiendo de si se usaba como agente clorante el dióxido de cloro o el cloro respectivamente y que el pH influía en la reacción dependiendo del compuesto orgánico estudiado (Nagawa & Kitoshi, 1983).

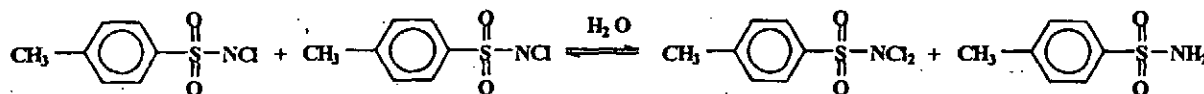
Otro estudio fue el llevado a cabo por Tan *et al*, investigaron la reacción del cloro y dióxido de cloro con aminoácidos, péptidos y proteínas (Tan *et al*, 1987).

2.1.6. CLORAMINA-T Y COMPUESTOS RELACIONADOS

La cloramina T es la N-Cl, N-Na p-toluensulfonamida; es un agente clorante sobre el que se han realizado un elevado número de estudios pues es un fuerte agente oxidante tanto en medio ácido como básico. Su potencial redox varía con el pH del medio.

Se han realizado estudios sobre su reacción de desproporción. La cloramina-T (CAT) se desproporciona dando dicloramina-T (DCAT) y p-toluensulfonamida (esquema 2.3.).

Edmond y Soper obtuvieron un valor de la constante de equilibrio de la reacción de desproporción de 0.061 a 25°C (Soper & Soper, 1949). Higuchi *et al* estudiaron la desproporción reversible de este compuesto a distintos valores de pH y calcularon la constante de equilibrio espectrofotométricamente, obteniendo un valor de 0.058 (Higuchi & Ikeda, 1967).



Esquema 2.2.: Desproporción de la Cloramina-T

También Higuchi (Higuchi *et al*, 1965, 1967, 1968) realizó estudios sobre el mecanismo y termodinámica de las reacciones en las que se producen transferencia de cloro entre agentes organoclorantes. Investigó la transferencia de cloro entre la N-clorosuccinimida y la cloramina-T, observando que cuando la concentración de cloramina-T estaba en exceso aparecía como intermedio la dicloramina-T.

Otro estudio llevado a cabo por el mismo autor (Higuchi & Hussain, 1967) fue la cloración del cresol por cloramina-T; observó que la velocidad era independiente de la concentración de cresol y que la reacción se producía a través de la dicloramina-T.

Dakin (Dakin & Cohen, 1916, Dakin, 1916, 1917) realizó una investigación de la oxidación de los aminoácidos con cloramina-T, observa que si existe poca cloramina-T con respecto a la concentración de aminoácido se formaba el aldehído y, en cambio, si hay exceso se generaba el nitrilo. En estos trabajos también se indica el empleo de la cloramina-T como antiséptico y fungicida.

En función del pH del medio aparece bajo distintas formas reactivas (Gowda & Sherigara, 1987b, Gupta & Gupta, 1985, Campbell & Johnson, 1978); a valores de pH bajos predominan CAT, DCAT, HOCl y Cl₂, en tanto que en medio alcalino lo hacen RNCl y OCl⁻.

Según Gowda, la CAT es una fuente de iones clorinio (Cl⁺), HOCl y ClO⁻, pudiendo actuar como base y como nucleófilo (Gowda & Sherigara, 1987b).

Campbell y Johnson han llevado a cabo una revisión bibliográfica de las reacciones de diversos compuestos orgánicos con CAT (Campbell & Johnson, 1978).

Los estudios sobre la oxidación de aminoácidos con cloramina-T son muy amplios y variados, a continuación se mencionaran los más representativos.

Kumar *et al* analizaron el mecanismo de la oxidación de leucina por cloramina-T en medio alcalino, observan una dependencia de primer orden en cloramina-T y leucina y de orden menos uno en ion hidróxido; no teniendo influencia la fuerza iónica y la adición de metanol (Kumar & Bose, 1975).

Katgeri *et al* también examinaron la oxidación de aminoácidos por cloramina-T pero en medio ácido, encontrando dependencia de primer orden con respecto la concentración de cloramina-T y de protones e independencia de la concentración aminoácido. La fuerza iónica y la concentración de cloramina-T no influyen y observan que el ion cloruro cataliza la reacción (Katgeri *et al*, 1979, 1979b, 1980).

Gupta *et al* investigaron la oxidación de los aminoácidos por cloramina-T en medio alcalino, encuentran a diferencia de Katgeri un orden inverso y fraccionario para la concentración de ion hidróxido (Gupta & Gupta, 1985).

Mahadevappa *et al* examinaron la oxidación de alanina, arginina, histidina y treonina en medio alcalino y de arginina e histidina en medio ácido; observaron variaciones en el orden de

reacción según los aminoácidos empleados (Mahadevappa *et al*, 1980, 1980b, 1982).

Son numerosos los trabajos de Gowda *et al*, quienes estudian la reacción de aminoácidos con cloramina-T en medio ácido, observando que el orden de reacción no sólo varía con respecto a los reactivos sino también con respecto a las condiciones de reacción (Gowda & Rao, 1987, 1988; Gowda & Sherigara, 1987).

También se recogen trabajos de cloramina-T oxidando a otros compuestos; por ejemplo, Srinivasan investiga la oxidación de ácido feniltioacético (Srinivasan & Pitchumani, 1982), Antelo *et al* la oxidación de la dietanolamina (Antelo *et al*, 1982, Ramaiah la oxidación de benzoil hidrazinas (Ramaiah & Rao, 1980), Mushram y Agrawal la oxidación de α -hidroxiácidos y aldosas (Mushram & Agrawal, 1972, Mushram *et al*, 1971), Balasubramanian la oxidación de cetonas (Balasubramanian & Thiagarajan, 1976), Chandra y Bansal la oxidación de monoetanolamina catalizada por iones Cu(II) (Chandra & Bansal, 1978).

Existen estudios sobre otros compuestos relacionados con la cloramina-T como son la oxidación con dicloramina-T y cloramina-B.

Antelo *et al* investigan la cloración de alcoholaminas con cloramina-B y observan que su comportamiento es análogo al de la cloramina-T (Antelo *et al*, 1982, 1983), presentando la velocidad un máximo a un pH característico para cada amina.

Gowda *et al* realizaron estudios, investigando la oxidación de aminoácidos con dicloramina-T; encontrando una dependencia de segundo orden con la concentración de dicloramina-T y que los órdenes de reacción de los aminoácidos y de los protones están influidos por la presencia de iones acetato del medio. La fuerza iónica influye en la velocidad de reacción aumentándola; calculan los parámetros de activación para la reacción con algunos aminoácidos y proponen los mecanismos de oxidación (Gowda & Sherigara, 1987b, Gowda & Jagan, 1989).

2.1.7. OTROS AGENTES HALOGENANTES

Hay otros agentes clorantes que también se utilizan con la misma función que los anteriores.

Ya se han mencionado los trabajos llevados a cabo por Higuchi *et al* sobre la transferencia de cloro entre la N-Cl-succinimida y la cloramina-T. Con esto se muestra que la N-Cl-succinimida es otro agente clorante. Existen más trabajos relacionados con ella (Higuchi & Ikeda, 1987; Higuchi & Hasegawa, 1965, 1968).

Existen trabajos realizados con N-Br-succinimida, como los de Bhargava *et al*, que siguen la oxidación de glicina, alanina, β -alanina, fenilalanina, leucina, serina, y treonina en mezclas de ácido acético y agua y en presencia de mercurio Hg^{+2} , encontrando orden global dos, uno respecto a cada reactivo (Bhargava *et al*, 1978). Otros autores estudiaron la oxidación de glicina, alanina y valina y su dependencia con el pH, encontrando para todos ellos comportamientos de acuerdo con el mecanismo de Michaelis-Menten (Gopalakrishnan & Hogg, 1985).

Otro agente clorante es la N-Cl-acetamida que fue utilizada por Hurst (Hurst & Soper, 1975) y Rosa (Rosa, 1966) para investigar la oxidación de fenoles y pirrol respectivamente. Reddy *et al* estudiaron los efectos del disolvente y la catálisis general básica para diversos aminoácidos, encontrando en todos los casos orden uno respecto al agente bromador y

dependencias complejas respecto al aminoácido y a la acidez del medio (Reddy *et al*, 1985).

También hay estudios con N-Cl-sacarina. Panchetsharam estudió la oxidación de cetonas con este compuesto, encontrando orden uno respecto a las cetonas y al protón y independencia respecto al oxidante (Panchetsharam & Sundaram, 1981).

Otros autores siguieron la oxidación de glicina, alanina, valina y fenilglicina con N-Br-sarcosina en medio ácido, encontrando orden uno respecto al oxidante y fraccionario respecto al aminoácido (Manikyamba & Sundaram, 1980).

Otro agente clorante es la N-Cl-benzamida. Lal *et al* la emplearon para oxidar aminoácidos en mezclas de etanol y agua, encontrando que la reacción es catalizada por el cloro y observando orden uno para el oxidante, el aminoácido y el cloro (Lal & Agrawal, 1984).

Ziwer utilizan el t-butil hipoclorito para sintetizar hidracina a partir de amoníaco y urea, encontrando cloramina y N-Cl-urea como especies intermedias (Ziwer & Andrietch, 1954).

2.2.- FORMACIÓN DE N-HALO-COMPUESTOS

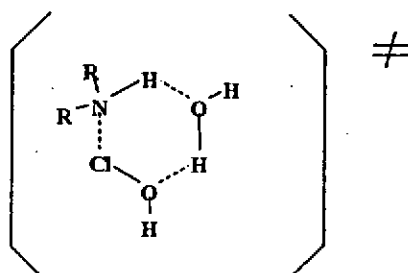
En este apartado se realiza un breve resumen de los trabajos publicados sobre las reacciones de halogenación de compuestos nitrogenados.

2.2.1. FORMACIÓN DE N-HALO-AMINAS

2.2.1.1. Cloración por ácido hipocloroso, hipoclorito y cloro

Unos de los primeras investigaciones de las reacciones de cloración fue realizado por Chapín (Chapín, 1929) sobre la reacción de cloro con amoníaco en disolución acuosa. Chapín realizó un estudio de análisis de los productos de dicha reacción y determinó que por encima de pH 4.4 se formaban dicloraminas, que por debajo de dicho pH se formaba mayoritariamente tricloruro de nitrógeno y también halló que por encima de pH 8.5 solamente se obtenía monocloramina. Estos resultados fueron comprobados por Metcalf (Metcalf, 1942) mediante el estudio de los espectros de absorción de dichas especies a diversos valores de pH en disoluciones menos concentradas que las que utilizó Chapín. Encontró que a valores de pH > 8 el espectro de absorción correspondía a una mezcla de monocloramina e hipoclorito, a valores $5 < \text{pH} < 8$ había una mezcla de mono y dicloramina, y por debajo de pH 3 se aparecía solamente tricloruro de nitrógeno. Más adelante Corbertt *et al* calcularon las constantes de hidrólisis de las cloraminas formadas por la reacción del cloro con el amoníaco (Corbertt, *et al*, 1953).

Weil y Morris ampliaron los estudios de formación de cloraminas, encontrando que la reacción es bimolecular, tanto si el agente clorante es el ácido hipocloroso o el cloro, y mostrando una marcada dependencia con el pH, dependencia que explicaban de dos maneras diferentes en función de las distintas especies presentes en el medio de reacción. Así, para valores de pH entre 4 y 6 la reacción se producía entre las especies no iónicas de los reactivos, el gran aumento de velocidad observado a partir de pH 6 se debía a una mayor concentración de amoníaco o de amina y la disminución de pH observada a partir de pH 10 la atribuían a la ionización del ácido hipocloroso. Por otra parte, la reacción podía producirse entre especies iónicas y presentaría la misma dependencia de la velocidad con el pH que la encontrada experimentalmente. Según estos eutores, no parece probable que el nitrógeno de las aminas fuera capaz de desplazar al grupo hidroxilo del ácido hipocloroso por lo que la reacción entre especies moleculares debería transcurrir a través de un estado de transición tipo cíclico concertado en el que participaría una molécula de agua (Weil & Morris, 1949) (esquema 2.3.).



Esquema 2.3.: Estado de transición de la reacción de cloración de aminas

Weil y Morris también estudiaron la basicidad de las N-Cl-dialquil-aminas y de la N-monocloramina y calcularon espectrofotométricamente algunas de las constantes de equilibrio en disoluciones ácidas (Weil & Morris, 1949b).

En el mismo año, Edmond y Soper estudiaron la reacción de cloración de dialquilaminas estableciendo que de los mecanismos posibles el más favorable era el de tipo iónico (Edmond & Soper, 1949).

En 1950 Böhme y Krause determinaron espectroscópicamente que el ion trimetilamonio era la especie que se formaba en la reacción entre el ácido hipocloroso y la trietilamina en medio acuoso (Bohme & Krause, 1951). Más adelante Ellis y Soper estudiaron la cinética de reacción de aminas terciarias, demostraron que esta reacción era dependiente de la concentración de la amina y establecieron que la etapa lenta de la reacción era la descomposición del ión trialquilamonio mediante la abstracción de un protón del carbono en la posición α del sustituyente alquílico por la amina terciaria (Ellis & Soper, 1954).

El estudio de las reacciones de estos compuestos estaba limitado por la elevada velocidad de estas reacciones. A partir de los años 70 se empezó a aplicar las técnicas de flujo detenido, y a partir de ese momento el estudio de las reacciones de formación de N-halo compuestos experimentó un gran desarrollo.

Así, Margerum estudió las reacciones de cloración con cloro y ácido hipocloroso de amoníaco, aminas y aminoácidos (Margerum *et al*, 1978). Observó que las velocidades de reacción eran muy altas, que las aminas protonadas no reaccionaban con cloro ni con ácido hipocloroso y que una vez que se originaban las monocloraminas, estas volvían a reaccionar con el agente clorante rápidamente para formar dicloraminas. El mecanismo que propusieron era idéntico al de Weil y Morris (*loc. cit.*). Margerum comprobó la dependencia de la velocidad con el pH obtenida por Weil y Morris y en contraste con el comportamiento del cloro, observó que las constantes de velocidad de cloración por HOCl crecían con la basicidad del grupo amino, lo que sugería que la etapa limitante de la reacción era un ataque nucleofílico de la amina al átomo de cloro del HOCl. En la tabla 2.5 se recogen las constantes de velocidad obtenidas

Tabla 2.5.: Constantes de velocidad de cloración de aminas obtenidas por Margerum

Compuesto	$k (Cl_2) (M^{-1} s^{-1})$	$k (HOCl) (M^{-1} s^{-1})$
Amoníaco	$4.0 \cdot 10^9$	$2.9 \cdot 10^6$
Metilamina	$2.8 \cdot 10^9$	$1.9 \cdot 10^8$
Glicina	$1.5 \cdot 10^9$	$5.1 \cdot 10^7$
Glicilglicina	$2.1 \cdot 10^9$	$5.3 \cdot 10^6$
α -Alanina	$2.1 \cdot 10^9$	$5.3 \cdot 10^7$
β -Alanina	$1.3 \cdot 10^9$	$8.9 \cdot 10^7$

Margerum amplió el estudio para el caso de otros compuestos, afirmando que las reacciones de cloración con ácido hipocloroso eran más lentas debido a la disminución de la capacidad nucleofílica de estas, como se puede observar en la tabla 2.6.:

Tabla 2.6.: Constantes de velocidad de cloración de aminas y valores de pKa

Compuesto	$\log K_H$	$k (M^{-1} s^{-1})$
Monocloramina	1.44	150
Metilcloramina	1.55	352
N-Cl- β -alanina	0.41	278
N-Cl-glicilglicina	-0.67	8.7

Abia estudió el mecanismo de cloración de aminas alifáticas secundarias (Abia, 1993) encontrando reacciones de orden dos global, orden uno respecto al agente clorante y a la amina, y que muestran dependencia compleja con el pH, pasando por un máximo. Postula un mecanismo (al igual que Weil y Morris) en el que la etapa limitante de la cloración es la transferencia del átomo de cloro desde la molécula del ácido hipocloroso al nitrógeno de la amina libre con la posible participación de una molécula de agua en el estado de transición.

Antelo *et al*, llevaron a cabo estudios de reacciones de cloración de alcoholaminas. Estudiaron la reacción de cloración de dietanolamina y etanolamina en medio básico, obteniendo para ambas los mismos resultados: la reacción era de orden dos, uno respecto al hipoclorito y uno respecto a la amina, y la velocidad mostraba una dependencia lineal inversa con la concentración de NaOH. Plantearon un mecanismo que incluía tres equilibrios previos de protonación correspondientes al ácido hipocloroso, al nitrógeno amínico y al grupo alcoholico, siendo la etapa lenta el ataque del hipoclorito sobre la alcoholamina libre (Antelo, *et al*, 1980, 1981).

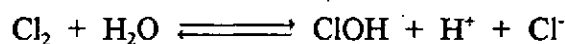
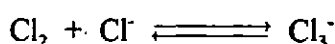
También estudiaron la cloración de aminas terciarias, la dimetiletanolamina (Antelo *et al*, 1983b), etildietanolamina (Antelo *et al*, 1984) y metildietanolamina, trietanolamina, trimetilamina, y dietiletanolamina (Antelo *et al*, 1985) también en medio básico y obteniendo el mismo resultado que para las anteriores: orden global dos y etapa determinante de la velocidad el ataque del ácido hipocloroso a la amina libre. Los valores de las k_{obs} correspondientes a la formación de las cloraminas a un valor de [NaOH] determinado, aumentaba en el orden trietanolamina < metildietanolamina < etildietanolamina < dimetiletanolamina < dietiletanolamina < trimetilamina, lo que sugería una relación entre la estructura y la reactividad. Al realizar una correlación estructura-reactividad empleando las constantes obtenidas para $pH > 11$ con estos compuestos y los parámetros de Taft σ^* se obtuvo un valor de $\rho = (-2.7 \pm 0.1)$, indicativo de que la reacción está favorecida por grupos dadores de carga sobre el nitrógeno.

Ferriol *et al*, trabajaron en reacciones de transferencia de cloro entre cloraminas y el átomo de cloro de diversas aminas: metilamina, etilamina, diisopropilamina y dietilamina, observando que a valores de $8 < pH < 13$ la reacción mostraba orden uno respecto a cada reactivo (orden total dos) y dependía del pH, alcanzando un máximo la velocidad localizado entre los valores medios del pKa del NH_4^+ y de la especie $R_1R_2NH_2^+$. Los resultados de las constantes de la transferencia de cloro se muestran en la tabla 2.7. (Ferriol *et al*, 1989):

Tabla 2.7.: Constantes de velocidad de transferencia de cloro

Compuesto	$k \cdot 10^9 (M^{-1} s^{-1})$
Metilamina	5.7
Etilamina	4.0
Isopropilamina	2.9
Dimetilamina	3.0
Dietilamina	4.1

Matté *et al* estudiaron las reacciones de cloración de aminas por ácido hipocloroso y por cloro molecular (Matté *et al*, 1989). Las aminas estudiadas fueron dimetilamina y dietilamina y la técnica de trabajo utilizada fue la de flujo detenido. Encontraron que la reacción era de orden dos; orden uno para cada reactivo, y que la velocidad de la reacción dependía fuertemente del pH observando que empezaba a aumentar a pH= 4, alcanzaba un máximo en torno a pH= 9 y a partir de este valor disminuía. También calcularon los parámetros de activación del proceso y propusieron los mismos mecanismos de reacción que Weil y Morris (*loc. cit.*). Considerando todos los equilibrios de las especies presentes en el medio (ácido hipocloroso, hipoclorito, amina libre y amina protonada) podían plantearse cuatro mecanismos diferentes (uno entre especies iónicas, entre especies moleculares, entre una especie iónica y otra molecular). Estos mecanismos conducían a cuatro expresiones de velocidad de las cuales dos, aquellas entre una especie iónica y otra molecular, se podían descartar ya que no coincidían con lo observado experimentalmente. Las otras expresiones coincidían con los resultados experimentales y concluyeron que ambos mecanismos eran indistinguibles cinéticamente, el mismo resultado al que llegaron Weil y Morris. También estudiaron la reacción en medio ácido, donde el agente clorante era el cloro, observando que la reacción era catalizada por los iones cloruro, por lo que aparte de los equilibrios previos de protonación incluyeron dos equilibrios más:



llevando a cabo experiencias a pH constante y variando la concentración de iones cloruro, verificaron que la cloración se llevaba a cabo por el cloro molecular y no por el ión tricloruro. La disminución de la constante de velocidad con el pH les llevó a pensar que la cloración se efectuaba sobre la amina libre y, por lo tanto, a valores de pH ácidos la ecuación incluía dos términos: uno correspondiente a la cloración del ácido hipocloroso y otro a la cloración por cloro molecular. Los resultados de las constantes de velocidad así obtenidos y los parámetros de activación se presentan en la tabla 2.8.

Tabla 2.8.: Constantes de velocidad y parámetros de activación de cloración de aminas

Reacción	k $M^1 s^{-1}$	E_a $kJ mol^{-1}$	ΔH^\ddagger $kJ mol^{-1}$	ΔS^\ddagger $JK^{-1} mol^{-1}$
$(CH_3)_2NH + HOCl$	$9.8 \cdot 10^7$	17.6	15.1	-41
$(CH_3)_2NH + Cl_2$	$1.6 \cdot 10^9$	7.5	5.5	-502
$(C_2H_5)_2NH + HOCl$	$5.3 \cdot 10^7$	15.0	12.5	-54
$(C_2H_5)_2NH + Cl_2$	$9.4 \cdot 10^8$	---	---	---

Si la cloración por cloro ocurre a través de la amina libre y el cloro, esto les llevó a pensar que la cloración por ácido hipocloroso ocurre análogamente. Los parámetros de activación obtenidos estaban próximos al control por difusión, por lo que procedieron al cálculo de las constantes teóricas de velocidad para esta reacción mediante la ecuación de Smoluchovski (Rice, 1985), obteniendo un valor para la reacción con el cloro que coincidía con el valor experimental, pero no para la reacción con el ácido hipocloroso. Por lo tanto aceptaron que la reacción con el cloro era controlada por difusión, pero no la del ácido hipocloroso, lo que podría ser indicativo de la participación de una molécula de agua en el estado de transición como habían propuesto Weil y Morris, (*loc cit.*) y así explicar el hecho de que las constantes fueran menores.

Más adelante, los mismos autores estudiaron la cloración por HOCl y cloro del ácido cianúrico (Matté *et al*, 1990) y succinimida (Matté *et al*, 1992) llegando a los mismos resultados que en el estudio anterior.

Poncin *et al*, estudiaron la cloración de la metilamina y N-Cl-metilamina apoyando el mecanismo de Weil y Morris (Poncin *et al*, 1984).

Wajon y Morris, estudiaron la bromación de amoníaco, dimetilamina, glicina y glutamato en disolución acuosa. La reacción era de orden dos y concluyeron que la reacción tiene lugar entre el grupo amino libre y el ácido hipobromoso e hipobromito simultáneamente. Las velocidades de bromación son mayores que las de cloración y tienden a aumentar con la basicidad del grupo amino (Wajon y Morris, 1989).

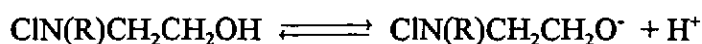
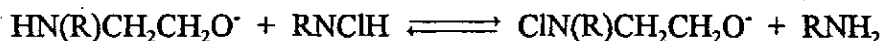
Higuchi y Hasegawa estudiaron las reacciones de cloración de aminas pero por transferencia desde un nitrógeno a otro (p. ej. entre la dimetilcloramina y la succinimida), razonando que se producía directamente la transferencia y no a través de la hidrólisis del clorocompuesto y formación del ácido hipocloroso (Higuchi y Hasegawa, 1965).

2.2.1.2. Cloración por Cloramina-T

Otro agente clorante que puede ser utilizado para la cloración de aminas es la Cloramina-T ya mencionada anteriormente. Existen pocos estudios relacionados con este tipo de cloraciones, ya que este compuesto se ha utilizado más para la cloración de otros compuestos nitrogenados, como los aminoácidos.

Antelo *et al* usaron este compuesto para estudiar la cloración de dietanolamina en disolución acuosa, para su estudio han de tenerse en cuenta todos los equilibrios de protonación de la CAT y los de a la amina. La cloramina-T (representada como RNCl) en disolución acuosa

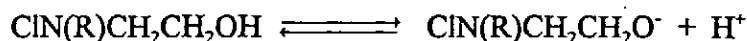
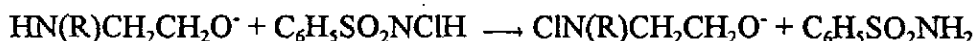
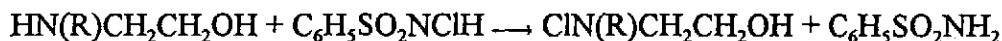
puede presentar las siguientes especies oxidantes: RNCl_2 , RNClH , HOCl , RNCl^\cdot . Los autores propusieron como especie reactiva RNClH , descartando el HOCl por su baja concentración y a que la adición de benzenosulfonamida no modificaba la mezcla de velocidad de la reacción, y las otras especies las descartaban ya que en las condiciones de trabajo se podía considerar que no estaban presentes. El mecanismo que plantearon fue el siguiente (Antelo *et al*, 1980):



Otro trabajo es el de Gupta y Agrawal que estudiaron la cloración de *s*-butilamina por CAT en medio básico. Observaron que la reacción era de orden dos y a altas concentraciones de NaOH tenía una dependencia lineal con el inverso de OH^- hasta 0.2 M y propusieron como etapa determinante de la velocidad la formación de la cloramina (Gupta y Agrawal, 1989).

2.2.1.3. Cloración por Cloramina-B

Otro agente oxidante es la cloramina-B (sal sódica de la *N*-cloro-benceno-sulfonamida). Antelo *et al* utilizaron este agente oxidante para estudiar la cloración de aminoalcoholes: etanolamina, metil-etanolamina, etil-etanolamina y di-etil-etanolamina en medio alcalino (Antelo *et al*, 1983). El mecanismo constaba de una serie de equilibrios previos de desprotonación, correspondientes a la cloramina-B, al grupo amino y al grupo alcohólico de la amina y a la formación en equilibrio de la dicloramina-B por transferencia de cloro entre dos moléculas de cloramina-B, proponiendo las siguientes reacciones para la formación de la cloramina:



2.2.1.4. Cloración por *N*-Cl-succinimida

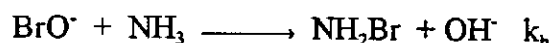
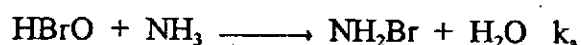
Antelo *et al* usaron otro agente clorante para la reacción de cloración de la aminas que es la *N*-cloro-succinimida. Las aminas estudiadas fueron di-etanolamina, di-metil-amina, di-etil-amina, metil-etanolamina y etil-etanolamina. El mecanismo comprendía los equilibrios de desprotonación de la *N*-Cl-succinimida, de la amina y del grupo hidroxilo y la etapa limitante era la transferencia de cloro desde la *N*-Cl-succinimida a la alcoholamina (Antelo, 1988).

2.2.1.5. Bromación por ácido hipobromoso, hipobromito y bromo

El bromo en disolución acuosa reacciona igual que lo hace el cloro con el amoníaco y muchos compuestos orgánicos nitrogenados para dar N-bromaminas. Estas reacciones fueron estudiadas por primera vez por Johannesson (Johannesson, 1958; 1958b; 1959), que observó que al reaccionar bromo con el amoníaco se originaban secuencialmente bromamina, dibromamina y tribromuro de nitrógeno (Galal-Gorchev & Morris, 1965) y sus proporciones dependían de las concentraciones iniciales de los reactivos y del pH. La monobromamina predominaba a valores de pH alcalinos o a valores bajos de la relación bromo/amoníaco (< 0.1), mientras que el tribromuro de nitrógeno predominaba a pH ácido y cuando la relación de reactivos era alta.

Las aminas primarias reaccionan con el bromo en disolución acuosa pudiendo producirse N-bromaminas o N,N-dibromaminas (Friend, 1956; Gupta & Agrawal, 1989), las aminas secundarias pueden formar N-bromaminas (Johannesson, 1958c) y las terciarias parece ser que no originan derivados N-bromados (Deno & Fruit, 1968; Lee & Srinivasan, 1973).

Wajon y Morris investigaron la reacción de formación de NH_2Br , di-metil-amina, glicina y ácido glutámico. La reacción era de orden uno respecto a cada reactivo y la dependencia con el pH era similar a la encontrada para el caso de la formación de NH_2Cl , observándose un aumento de velocidad desde $\text{pH} = 6$ hasta alcanzar un máximo a valores de pH en torno a 9 y luego disminuir hasta $\text{pH} = 13$ (Wajon & Morris, 1982). Consideraron que el mecanismo más probable para valores de $\text{pH} < 11$ era el que transcurría entre especies moleculares, pero a partir de $\text{pH} = 11$ se observaba una curvatura en el perfil k-pH, no era simétrica la gráfica, como en el caso de los N-Cl-compuestos estudiados por Weil y Morris que lo interpretaron sobre la base de la reacción entre especies iónicas. Comprobaron que la adición de iones bromuro no aceleraba la velocidad de la reacción como en un principio parecía esperarse, en el caso de la cloración se observa catálisis por iones bromuro. Los procesos planteados fueron los siguientes:

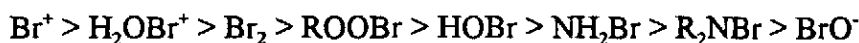


Los autores propusieron una ecuación de velocidad suma de los dos procesos anteriores, llegando a una ecuación compleja que relacionaba la constante específica de segundo orden con k_a , k_b y el pH. Los resultados obtenidos se pueden observar en la tabla 2.9.:

Tabla 2.9.: Constantes de velocidad de formación de bromaminas

Compuesto	T (°C)	k_a ($M^{-1} s^{-1}$)	k_b ($M^{-1} s^{-1}$)	k_{HClO} ($M^{-1} s^{-1}$)
NH_3	5	$5.3 \cdot 10^7$	$2.6 \cdot 10^4$	$3.5 \cdot 10^6$
NH_3	20	$7.5 \cdot 10^7$	$7.6 \cdot 10^4$	$4.7 \cdot 10^6$
$(\text{CH}_3)_2\text{NH}$	20	$3.0 \cdot 10^9$	-----	$3.3 \cdot 10^8$
Glicina	20	$3.8 \cdot 10^8$	$2.1 \cdot 10^5$	$1.3 \cdot 10^8$
Ac. glutámico	20	$3.5 \cdot 10^8$	$5.0 \cdot 10^4$	-----

Las constantes observadas para la bromación por ácido hipobromoso y el hecho de que la entropía de activación calculada para la reacción tuviera valores bajos parece indicar que las reacciones más rápidas estaban sujetas a control por difusión y las más lentas a control químico; la reacción se interpretaba como un desplazamiento electrofílico del hidrógeno del sustrato por el halógeno. Para la reacción controlada químicamente la reactividad del agente bromante estaría relacionada con la electrofilia del agente. El orden esperado de reactividad sería:



que está de acuerdo con el hecho de que el HBrO fuera 1000 veces más reactivo que el hipobromito.

Las reacciones de bromación son más rápidas que las de cloración, y esto está relacionado con la electrofilia del agente halogenante que sigue el orden: HIO > HBrO > HClO. Así se explicaba el hecho de grupos amino menos básicos que el amonio se bromaran más lentamente que el NH₃.

2.2.2. FORMACIÓN DE N-HALO-AMIDAS

Se han llevado a cabo diversos estudios sobre la cloración de amidas. Rhoda *et al*, estudiaron los mecanismos de cloración por ácido hipocloroso de amidas. Establecieron que en la reacción posiblemente se formaba un acil-hipoclorito que también actuaría como un agente clorante (Rhoda *et al*, 1946).

Thomm y Wayman, estudiaron la cloración de N-metil-acetamida estableciendo que la reacción dependía de las concentraciones de ión cloruro, ácido acético y del pH, de manera que a valores de pH entre 3 y 6 el orden creciente de reactividad era: HOCl < Cl₂ < CH₃COOCl (Wayman & Thomm, 1969). En un estudio posterior, estudiaron la influencia de los sustituyentes sobre la amida, estableciendo una correlación entre estructura y reactividad (Wayman & Thomm, 1969b).

2.2.3. FORMACIÓN DE N-HALO-AMINOÁCIDOS

2.2.3.1. Cloración por ácido hipocloroso, hipoclorito y cloro.

En el apartado 2.2.1 ya se ha hecho referencia a la cloración de N-Cl-aminoácidos por ácido hipocloroso y cloro en un estudio realizado por Margerum *et al* (*loc. cit.*), en donde llegaban a la conclusión de que la cloración tenía lugar entre el grupo amino libre del aminoácido y el cloro molecular, y en el caso de la cloración por ácido hipocloroso la reacción puede transcurrir entre las especies neutras y las moleculares. Calculan las constantes de cloración para algunos aminoácidos y también estudian la reacción de cloración de algunos N-cloro-aminoácidos por ácido hipocloroso (véase apartado 2.2.1)

Estos autores justifican la formación mayoritaria de dicloroaminoácido y dicloramina por debajo de pH 4-5, pese a tener una constante de velocidad mucho menor, como resultado de que

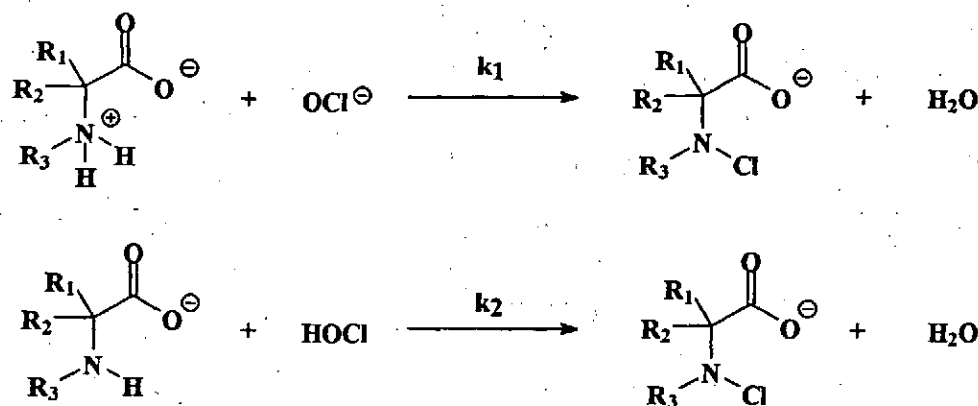
el cociente $\text{RNH}_2/\text{RNH}_3^+$ es muy pequeño, en tanto que la relación $\text{RNHCl}/\text{RNH}_2\text{Cl}^+$ es mucho mayor, debido al incremento de acidez que supone la presencia del átomo de cloro (Weil & Morris, 1949), por lo que $k \cdot [\text{RNHCl}] \gg k \cdot [\text{RNH}_2]$ (Margerum *et al*, 1978).

En este laboratorio se ha llevado a cabo la cloración de aminoácidos en un intervalo de pH comprendido entre 6 y 11 (Armesto *et al*, 1993) encontrándose que la reacción es de segundo orden, orden uno para cada reactivo (agente clorante y aminoácido) y una dependencia compleja con el pH. Considerando todos los equilibrios de las especies presentes en el medio (ácido hipocloroso, hipoclorito y las cuatro posibles especies de un aminoácido) podían plantearse ocho mecanismos diferentes, pero la participación de la especie totalmente protonada del aminoácido se rechazaba porque su concentración era baja en el medio de reacción e implicaría una constante bimolecular más alta que aquellas consideradas controladas por difusión, por lo que los posibles mecanismos que se podían plantear eran seis. Estos mecanismos conducían a seis expresiones de velocidad de las cuales, cuatro se podían descartar ya que no coincidían con lo observado experimentalmente. Las otras expresiones coincidían con los resultados experimentales y concluyeron que ambos mecanismos eran indistinguibles cinéticamente, el mismo resultado al que habían llegado Weil y Morris y Matté *et al* para el caso de las aminas (esquema 2.4).

A Partir de los mecanismos se deduce la siguiente ecuación teórica de velocidad que coincidía con lo observado experimentalmente:

$$k_{obs} = kK \frac{[H^+]}{(K_a + [H^+]) \cdot (K_c + [H^+])}$$

donde k_{obs} es la constante de velocidad de segundo orden, k la constante de velocidad para la reacción elemental (k_1 ó k_2).



Esquema 2.4.: Mecanismo de cloración de aminoácidos

K_a y K_c son las constantes de acidez del grupo amino de los aminoácidos y del HOCl respectivamente, y K puede ser K_a y K_c dependiendo si la etapa lenta sea la 1 o la 2. El perfil de k_{obs} -pH presentaba un máximo que correspondía a la media aritmética de los valores de $\text{p}K$ del

agente clorante y del grupo amino .

Aunque los pasos 1 y 2 son indistinguibles desde el punto de vista cinético, los autores se inclinaron por el segundo por comparación de este proceso con el de la nitrosación de aminoácidos (Casado *et al*, 1985) en la que participa el grupo amino libre, y por otra parte, afirman que es difícil imaginar una secuencia razonable de rupturas y formaciones de enlace para la transferencia directa del cloro desde el ion hipoclorito al nitrógeno del grupo amino cargado positivamente. Teniendo en cuenta esto, descartan el paso 1 y así obtienen las constantes bimoleculares que aparecen en la tabla 2.10:

Tabla 2.10.: Constantes bimoleculares de cloración de aminoácidos y pK_a

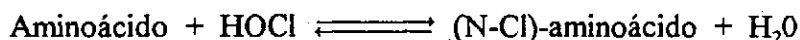
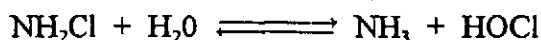
Aminoácido	$(pK_a)_2$	$k_2 \cdot 10^7 (M^{-1} s^{-1})$
Isoleucina	9.76	6.4
Glicina	9.78	11.3
Ac. 2-amino pentanoico	9.81	5.8
Ac. 2-amino butírico	9.83	8.0
Ac. 2-amino hexanoico	9.83	3.2
Alanina	9.87	3.4
Sarcosina	10.20	10.8
Ac. amino isobutírico	10.21	3.5
Prolina	10.65	2.0

Otros resultados obtenidos por los mismos autores utilizando otros aminoácidos de diferente pK_a han llegado a la conclusión de que existe una relación entre el carácter nucleófilo del grupo amino y la velocidad de la reacción, aumentando esta cuando lo hace la basicidad del grupo amino; el mismo resultado que habían encontrado Weil y Morris, 1949 y Margerum *et al*, 1978, lo cual sirve como confirmación del mecanismo propuesto anteriormente (Armesto *et al*, 1994).

Algunos autores proponen que la cloración de los aminoácidos en el átomo de oxígeno del grupo carboxilo (Gowda & Rao, 1987; Bhargava *et al*, 1978, Gopalakrishnan & Hogg, 1985; Reddy *et al*, 1985) en vez del átomo de nitrógeno, como generalmente ha sido aceptado. Con el fin de comprobar cuál de las dos posibilidades es la válida, Armesto *et al* han estudiado los procesos de cloración de glicina, sarcosina, (N,N)-di-metil-glicina y betaína, así como los ésteres metílicos de la glicina y la sarcosina, observándose en todos los casos la aparición de la banda característica del N-Cl-aminoácido y desaparición de la banda del hipoclorito, salvo para la betaína, cuyo grupo amino no tiene capacidad nucleofílica. Las constantes observadas de cloración para estos compuestos son del mismo orden que para los mencionados en la última tabla y como se ha mencionado anteriormente se observa una relación entre el pK_a del grupo amino y la velocidad de cloración. Estos autores pensaron en la posibilidad de que la cloración tuviera lugar sobre el átomo de oxígeno y posteriormente se produjera una transferencia de cloro al nitrógeno. Para descartar esta posibilidad estudiaron la cloración de los ácidos 2-piperidín carboxílico, 3-piperidín carboxílico y 4-piperidín carboxílico con el fin de comprobar si el comportamiento depende de la distancia entre el grupo carboxílico y el nitrógeno. Las constantes

bimoleculares para estos compuestos son del mismo orden que para los anteriores, lo cual les permitió descartar la posibilidad de que el proceso de cloración tenga lugar sobre el átomo de oxígeno (Armesto *et al*, 1994b).

Snyder y Margerum también estudiaron la reacción de cloración de aminoácidos pero utilizando como agente clorante la monocloramina (Snyder & Margerum, 1982). El estudio se realizó en un intervalo de pH amplio comprendido entre 1.4 y 10.4 y con exceso de aminoácido de como mínimo 50 veces más que agente clorante y como aminoácidos se utilizaron la β -Alanina, glicina, treonina, glicilglicina y ester etílico de la glicilglicina. Observan un incremento de la constante de velocidad al disminuir el pH y esto consideran que es debido a la existencia de equilibrios ácido-base previos a la transferencia del cloro. Los autores proponen que antes de la cloración la cloramina se hidroliza para formar ácido hipocloroso y es este último el que clora al aminoácido:

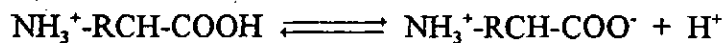


Para interpretar el comportamiento de los aminoácidos a valores de pH bajos, los autores tuvieron en cuenta que los aminoácidos pueden estar en la forma neutra o en forma zwitteriónica. La especie neutra es reactiva frente al agente clorante mientras que la otra no; al disminuir más el pH el aminoácido se protona totalmente y la constante de velocidad disminuye.

2.2.3.2. Cloración por Cloramina-T

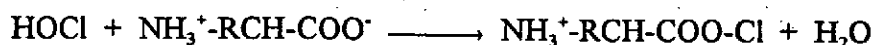
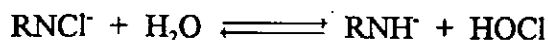
Otro agente clorante que ha sido utilizado en la cloración de aminoácidos ha sido la cloramina-T tanto en medio ácido como en medio alcalino.

Gowda *et al*, llevaron a cabo un extenso estudio en medio ácido, mostrando que al modificar las condiciones de trabajo, puede variar tanto la especie oxidante como el sustrato. Realizan varios estudios en ausencia de iones cloruro con alanina, valina y fenilalanina (Gowda & Rao, 1988), glicina y ácido aspártico (Gowda & Sherigara, 1987c), histidina (Gowda & Rao, 1988b) y arginina (Gowda *et al*, 1985), observando que la reacción es de orden uno respecto al sustrato, orden dos respecto a la concentración inicial de CAT y orden menos uno respecto a la concentración de protones. Proponen un mecanismo con las siguientes etapas: primero desprotonación inicial del aminoácido y después una etapa rápida de cloración en el oxígeno del grupo carboxilato del aminoácido:



El proceso se complica en presencia de iones cloruro, proponiendo los autores diversos mecanismos en función de la concentración de protones y del sustrato. Para concentraciones $0.001 < [\text{H}^+] < 0.01 \text{ M}$ el mecanismo propuesto para la glicina, valina, treonina, arginina, histidina, glutamina (Gowda *et al*, 1987b) implica como etapa limitante la hidrólisis de RNCl^+

para producir ácido hipocloroso, seguida de una etapa rápida de cloración en el oxígeno:



Así se explican los órdenes de velocidad encontrados: orden uno en CAT, cero en protones y ausencia de efecto catalítico del cloruro.

El otro caso, cuando $[\text{H}^+] > 0.01 \text{ M}$ suponen que la CAT está protonada y que la interacción entre CAT y cloruro para dar cloro es la etapa limitante seguida de la cloración rápida. Este mecanismo permite interpretar el efecto catalítico de los iones cloruro y los órdenes uno en CAT y cero en sustrato y en protones

También se ha estudiado la cloración de la treonina por CAT en medio ácido, observando que la reacción es de orden dos respecto a la CAT y orden uno respecto a la treonina. La p-toluen-sulfonamida y los protones inhiben la reacción y los iones cloruro la catalizan (Ramachandran *et al*, 1985). Se propone el mismo mecanismo que los autores anteriores.

La cloración por CAT en medio básico el proceso ha sido ampliamente estudiado (Mahadevappa *et al*, 1982; Gupta & Gupta, 1983, 1985). La reacción se ajusta a una ecuación de orden uno en CAT y aminoácido y orden fraccionario negativo en iones hidróxido. Existe acuerdo en considerar como etapa limitante la interacción entre el agente clorante y el anión carboxilato, pero no está tan clara la naturaleza del agente oxidante que podría ser RNHCl, RNCl o ClO^- .

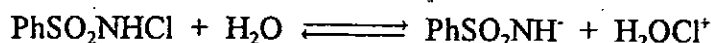
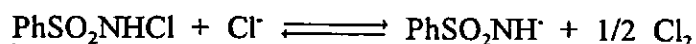
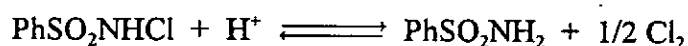
2.2.3.3. Cloración por Cloramina-B

Otro agente clorante de aminoácidos es la cloramina-B. Mahadevappa *et al* han estudiado la reacción de cloración con este agente clorante para la alanina y fenilalanina en medio ácido. Los resultados son similares a los encontrados para la cloramina-T (Mahadevappa *et al*, 1983).

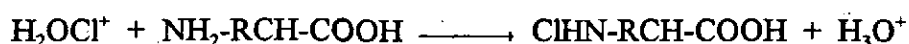
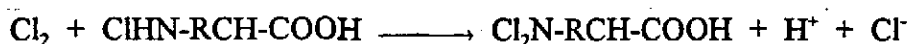
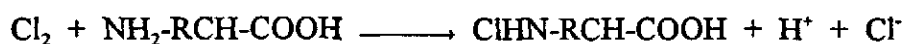
* Para $0.03 < [\text{H}^+] < 0.1 \text{ M}$ la reacción muestra una dependencia de orden uno respecto a la [CAB], los cloruros y los protones catalizan la reacción y la concentración de aminoácido no influye.

* para $[\text{H}^+] > 0.2 \text{ M}$, la cinética muestra la misma dependencia con CAB, es independiente de la concentración de protones y presenta orden fraccionario respecto al sustrato.

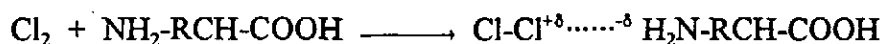
Los autores proponen dos mecanismos distintos y en ambos se forma un N,N-dicloro-aminoácido como intermedio. Para bajas concentraciones de agente clorante los autores sugieren que este será H_2OCl^+ o bien cloro molecular si en el medio de reacción hay iones cloruro, siendo la formación de estas especies la etapa limitante:



y ahora la cloración para formar el mono o el dicloro-aminoácido:



Cuando el medio es más ácido, la interpretación del proceso es la misma pero cambia la etapa lenta que ahora es la interacción entre el agente oxidante y el aminoácido:



2.2.4. FORMACIÓN DE N-HALO-DIPÉPTIDOS

Los primeros trabajos que mencionan la reacción del hipoclorito con péptidos son los de Briggs y más tarde Baker, que estudiaron esta reacción con el fin de investigar la aplicación del hipoclorito como antiséptico (Briggs, 1918; Baker, 1947). Wright observó los cambios fisicoquímicos que ocurren cuando el hipoclorito es añadido a una disolución que contiene proteínas y postula la existencia de cloraminas como productos intermedios de la oxidación de aminoácidos y péptidos (Wright, 1926; 1936). Rydon y Smith demostraron que péptidos, proteínas y aminoácidos acilados se pueden detectar visualmente en cromatogramas por cloración con cloro gaseoso y después rociar con una solución de almidón y yoduro potásico; se observa color amarillo resultado de liberación del yodo por la formación del enlace N-Cl-péptido (Rydon & Smith, 1952). Von Arx detecta la formación de enlaces N-Cl- al tratar grupos de proteínas con gas cloro (Von Arx & Neher, 1963).

Apenas existen investigaciones relativas a sobre la cloración de N-halo-dipéptidos, y los que hay son trabajos que estudian la cloración de otros compuestos orgánicos nitrogenados (aminas, amonoácidos) y entre ellos pueden estudiar algún dipéptido como ejemplo el trabajo de Margerum *et al* (*loc. cit.*), en el que estudian la formación de N-Cl-compuestos entre los que hay un dipéptido que es la glicilglicina. Encuentran que la reacción es de orden dos y que son reacciones muy rápidas que transcurren a través del grupo amino libre del dipéptido y el cloro molecular o el ácido hipocloroso. Las constantes de velocidad de cloración por cloro y por ácido hipocloroso encontrada para la glicil-glicina a 25°C son $2.1 \cdot 10^9$ y $5.3 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ respectivamente; la reacción con el cloro es mucho más rápida que con ácido hipocloroso y como se indicó en el apartado anterior las constantes de velocidad aumentaban con la basicidad del grupo amino, lo que sugiere que el mecanismo transcurre a través de un ataque nucleofílico de la amina al cloro como etapa determinante de la velocidad. También estudian la reacción de transferencia de cloro desde la cloramina al grupo amino de la glicilglicina y el etiléster de la

glicilglicina obteniendo una constante de $3.3 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ y $1.4 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a 25°C . (Snyder & Margerum, 1982), de cuyo mecanismo se hizo referencia en el apartado 2.2.3.1.

Anteriormente a estos trabajos Ayotte y Gray habían planteado la posibilidad de que la cloración de dipéptidos ocurriera en el nitrógeno del enlace peptídico (Ayyote & Gray, 1973), concluyendo que existe cloración pero que ésta es insignificante cuando la relación péptido / agente clorante es menor que uno. El compuesto modelo que utilizaron para el estudio fue la acetilglicina y observaron un pérdida de poder oxidante de la disolución cuando el hipoclorito era mezclado con la acetilglicina. Encuentran que la reacción es de pseudo-primer orden (utilizando exceso de acetilglicina) y la constante de velocidad es de 0.066 s^{-1} a 25°C . Este proceso es mucho más lento que la cloración en el grupo amino, por lo que se puede omitir en las reacciones de cloración de dipéptidos.

Algunos autores como Matsushima *et al* afirman que la cloración en el nitrógeno amídico puede ocurrir dependiendo del dipéptido y de la fuerza del agente clorante y de su concentración; como ejemplo, a altas concentraciones de tert-butil-hipoclorito observan la cloración en ese nitrógeno (Matsushima *et al*, 1972).

Por otra parte, existen trabajos como los de Pereira *et al* que analizan los productos de la reacción de dipéptidos con hipoclorito mediante espectrometría de masas, concluyendo que los resultados obtenidos confirman la cloración en el nitrógeno amínico y no en el del enlace peptídico (Pereira *et al*, 1973). Stelmaszyńska y Zgliczyński estudian la cloración de dipéptidos mediante un sistema formado por un enzima mieloperoxidasa/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Cl}^-$ y concluyen, analizando los productos de reacción, que la cloración tiene lugar en el grupo amino terminal (Stelmaszyńska & Zgliczyński, 1978; Zgliczyński *et al*, 1968). Otros autores utilizando el mismo sistema de cloración afirman la cloración en el enlace péptido y la consiguiente ruptura de éste (Selvaraj *et al*, 1974).

2.3.- DESCOMPOSICIÓN DE N-HALO-COMPUESTOS

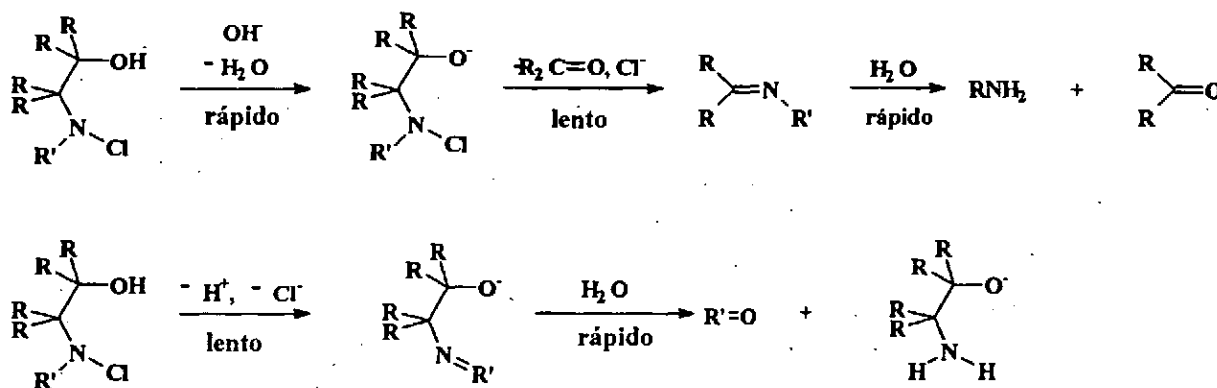
2.3.1. DESCOMPOSICIÓN DE N-HALO-AMINAS

Patton y Crouch estudiaron espectrofotométricamente a varios valores de pH la descomposición de N-cloraminas en presencia de exceso de ion hipoclorito (exceso respecto a la concentración de la N-cloramina). Indican que la velocidad de la reacción aumenta al disminuir el pH y el proceso que proponen es bastante complejo (Patton & Crouch, 1977).

Trofe *et al* investigaron la descomposición de N-monocloraminas en presencia de iones bromuro; observan que se forma la bromocloramina (NHCIBr) y que tiene una vida media menor que las N-monocloraminas y N-bromaminas (Trofe *et al*, 1980).

La estabilidad de las disoluciones acuosas de N-Cl-piperidina y N-Cl-dietilamina fue investigada por Nweke y Scully. Obtuvieron para la dietilamina un tiempo de vida media de dos días, y de una semana para la piperidina en el intervalo de pH de 3 a 9. A valores de pH menores que 3 se produce un aumento drástico de la velocidad cuando la reacción ocurre en ausencia de luz (Nweke y Scully, 1989).

Antelo *et al* estudiaron la descomposición de N-Cl-etanolaminas y N,N-di-cloro-etanolamina, en medio alcalino y en medio neutro (Antelo *et al*, 1980b; 1983; 1983b; 1984; 1984b). Los autores encontraron que las concentraciones iniciales de hipoclorito y amina no influían en la velocidad de reacción y que ésta en medio básico aumentaba con la [NaOH], encontrándose una dependencia de primer orden respecto a la N-Cl-alcoholamina y al ion hidróxido. En condiciones en las que $6 < \text{pH} < 9.5$, la velocidad de la reacción era independiente respecto a la N-Cl-amina y solo dependía del pH, de manera que $\log k_{\text{obs}}$ variaba linealmente con el mismo. Proponen mecanismos de reacción que se pueden resumir de modo siguiente:



Esquema 2.5.: Mecanismo de descomposición de etanolaminas

El radical R' debe de ser alquilo y tener hidrógenos disponibles para ser abstraídos.

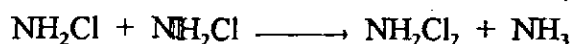
Los mismos autores, estudiaron la descomposición de la N-Cl-dietanolamina a valores de pH comprendidos entre 6.55 y 12.01. Analizaron los productos de reacción, detectando formaldehído. También estudiaron la influencia del pH, encontrando que $\log k_{\text{obs}}$ seguía una dependencia lineal de pendiente positiva próxima a la unidad: mientras que la velocidad no

dependía de la concentración de la cloramina, la influencia de la fuerza iónica y la influencia de los tampones. Calcularon los coeficientes de absorptividad molar y propusieron un mecanismo similar al de trabajos anteriores (Antelo *et al*, 1989). En otro trabajo determinan espectrofotométricamente los valores del pK_a del grupo amino de diversas cloraminas y cloro-alcoholaminas secundarias y primarias, así como las constantes de descomposición. Los resultados obtenidos mostraban que las cloraminas eran más estables que las correspondientes cloro-alcoholaminas. Encontraron una buena correlación entre la k_{obs} y los parámetros inductivos para ambos grupos de compuestos, pero las pendientes de ambas rectas eran diferentes, lo que indicaba que el mecanismo de descomposición de las cloro-alcoholaminas era diferente al de las cloraminas (Antelo *et al*, 1989b).

Abia ha estudiado los mecanismos de descomposición de N-Cl- y N-Br-aminas alifáticas secundarias (Abia, 1993) bajo distintas condiciones de acidez. Las reacciones son procesos de orden dos, uno respecto a la amina y orden uno respecto a la concentración de base existente en el medio. Analiza los productos de reacción, encontrando aminas primarias, aldehídos y cetonas. Las reacciones de descomposición de los compuestos bromados son mucho más rápidas que las de los clorados. Teniendo en cuenta esto último, los efectos de los sustituyentes y el efecto isotópico primario de deuterio, se concluye que la etapa lenta de la reacción es un proceso de eliminación a través de un mecanismo E2. Esto implica la formación de una imina que rápidamente se hidroliza, siendo los productos de esta hidrólisis los observados en el análisis.

Crujeiras ha estudiado la descomposición de N-Br-aminas secundarias a valores de pH comprendidos entre 2 y 4 (Crujeiras, 1993). Comprobó que la reacción es de orden uno respecto a la concentración de las aminas y a la concentración de bromuro. Encuentra una dependencia compleja de la velocidad con el pH, existiendo un máximo en el perfil k-pH cuando la N-Br-amina está totalmente protonada. Plantea un mecanismo por el que la reacción de hidrólisis transcurre a través de la N-Br-amina protonada con el ion bromuro o con una molécula de agua, obteniendo los valores del pK_a de las N-Br-aminas estudiadas.

Existen numerosos trabajos donde se estudia las reacciones de desproporción de las cloraminas. Estas se desproporcionan transfiriendo un átomo de cloro de una molécula de cloramina a la otra:



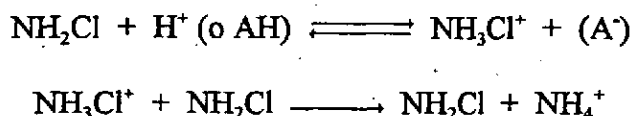
Granstrom (Granstrom, 1954) y Morris (Morris, 1967) determinaron que se trataba de una reacción de orden dos respecto a la monocloramina y que mostraba catálisis general ácida.

Gray *et al* estudiaron las reacciones de desproporción de NH_2Cl , N-Cl-metil-amina, N-Cl- β -alanina, N-Cl-glicina, y N-Cl-glicil-glicina en medio ácido. A partir de la dependencia de la constante e velocidad con el pH establecen un mecanismo en el que la etapa determinante de la velocidad consiste en un ataque nucleófilo de una molécula de cloramina neutra sobre una cloramina protonada (Gray *et al*, 1978).



Valentine *et al* publicaron un trabajo donde se estudiaban las reacciones de desproporción de la monocloramina en medio amoniacal (Valentine *et al*, 1988). Comprobaron la influencia de

la concentración de disoluciones reguladoras y la existencia de catálisis general ácida; proponen que la reacción transcurre a través del siguiente mecanismo:



A partir de este mecanismo deducen la siguiente ecuación de velocidad:

$$\frac{d[\text{NH}_2\text{Cl}]}{dt} = -2k_{\text{obs}}[\text{NH}_2\text{Cl}]^2$$

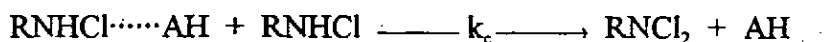
donde $k_{\text{obs}} = \sum_i k_i [\text{HA}_i]$, representando por AH_i las diferentes especies dadoras de protones y k_i las constantes catalíticas de dichas especies. A partir de los datos experimentales calculan los valores de estas constantes y establecen una correlación de Brönsted entre las constantes de velocidad y las constantes de acidez de los ácidos correspondientes a los tampones.

Leao y Selleck (Leao, 1981, Leao & Selleck, 1983) propusieron un modelo para la reacción basado en las experiencias llevadas a cabo a concentraciones de tampón fijas.

Antelo *et al* también estudiaron la desproporción de cloraminas. Su estudio se centró en las reacciones de desproporción de N-Cl-3-amino-propanol, N-Cl-n-propil-amina y N-Cl-iso-propil-amina para dar las correspondientes N,N,-di-Cl-aminas (Antelo *et al*, 1989c; 1992). Encontraron que las reacciones eran de orden dos y que no influía la concentración de amina y de hipoclorito ni la fuerza iónica. Determinaron los coeficientes de absortividad molar para las N-Cl-aminas y para las N,N-di-Cl-aminas. Observaron que en ausencia de tampón la reacción tiene lugar a través de las formas neutra y protonada de la cloramina:



pero si se utilizaban disoluciones reguladoras, se observaba un aumento de la velocidad de la reacción al aumentar la concentración del tampón. Este aumento se atribuyó a un proceso de catálisis general básica y los resultados experimentales se justifican mediante un mecanismo en el cual la cloramina forma un par de encuentro con la forma ácida de la sustancia utilizada como tampón, seguida de una etapa lenta que consiste en la transferencia de cloro de una molécula de cloramina a otra.



A partir de este mecanismo se obtiene para la constante de velocidad observada la siguiente expresión:

$$k_{obs} = \frac{k_{dis} K_H [H^+]}{(1 + K_H [H^+])^2} + \frac{k_c K_{AH} [H^+] [T_p]_T}{(1 + K_H [H^+])^2 (K_a + [H^+])}$$

donde el primer término corresponde al proceso no catalizado y el segundo al proceso catalizado, K_a es la constante de disociación de la forma ácida del tampón y $[T_p]_T$ es la concentración total del tampón.

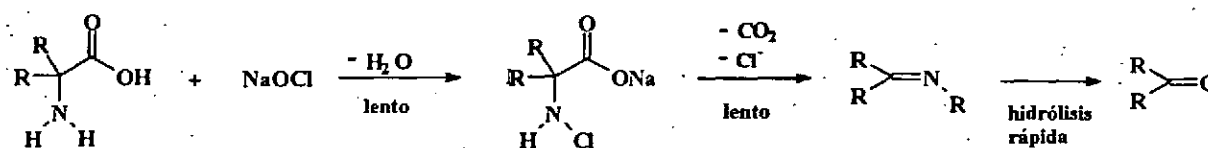
Hay otros trabajos relacionados con este tema, como son el de Dennis *et al* sobre la fragmentación concertada de aminas (Dennis *et al*, 1967) y el de Kovacic *et al* en el cual se examina la química de las N-cloraminas y N-bromaminas de forma bastante amplia (Kovacic *et al*, 1970).

En cuanto a la desproporción de la N-Br-amina, Inman y Johnson estudian esta reacción por el método de velocidades iniciales en el intervalo de pH comprendido entre 7 y 8.5 y observan una marcada influencia de la concentración de fosfatos que utilizan como tampón (Inman & Johnson, 1984). Pasquini *et al* estudian esta misma reacción, y coinciden con los autores anteriores en que existe una dependencia de la velocidad con la concentración de tampón utilizado y a partir de esta dependencia y de la variación de la velocidad con el pH establecen un mecanismo cuya etapa determinante de la velocidad puede consistir en: a) catálisis ácida general de la hidrólisis de NH_2Br , b) catálisis ácida específica de la hidrólisis de NH_2Br y c) hidrólisis de NH_2Br . La segunda etapa consiste en la reacción rápida del bromo sin combinar con NH_2Br para dar $NHBr_2$ (Pasquini *et al*, 1985).

2.3.2. DESCOMPOSICIÓN DE N-HALO-AMINOÁCIDOS

Existen numerosos estudios relacionados con la formación y descomposición de N-Cl-aminoácidos.

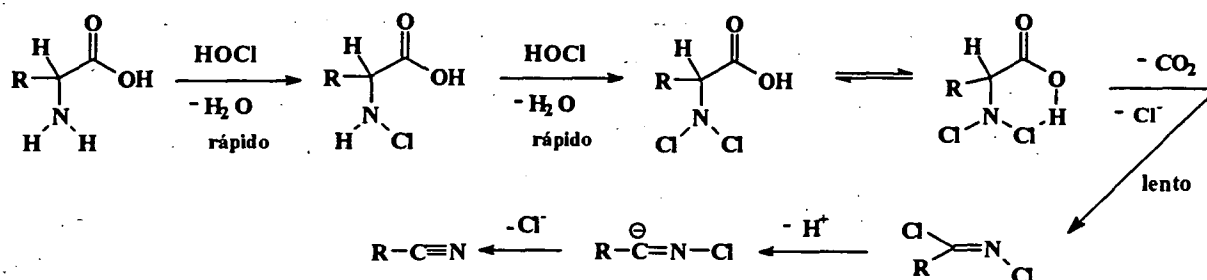
La acción del hipoclorito sobre los aminoácidos fue estudiada por primera vez por Langheld en 1909 (Langheld, 1909), quien afirmó que la reacción transcurría por la formación del N-Cl-aminoácido o el N,N-dicloro-aminoácido, que más tarde se descomponían produciendo cetonas, aldehidos, dióxido de carbono, ion cloruro y amoniaco, siempre con átomo de carbono menos que el aminoácido de partida; proceso se conoce en la actualidad como degradación de Strecker (Schönberg & Moubacher, 1952). Langheld propuso que el mecanismo transcurría a través de una imina intermedia:



Esquema 2.6.: Mecanismo de descomposición de N-Cl-aminoácidos propuesto por Langheld

Dehn estudió las mismas reacciones pero extendió la investigación utilizando los iones

hipobromito e hipiodito. Estudios posteriores de Dakin (Dakin *et al*, 1916; Dakin, 1917) y Wright (Wright, 1926; 1936) confirmaron los productos obtenidos por Langheld y corroboraron los mecanismos de Dehn, al mismo tiempo estudiaron la descomposición de los N,N-dicloro-aminoácidos indicando que en este caso se forma dióxido de carbono, ion cloruro y el nitrilo correspondiente con un átomo de carbono menos que el aminoácido de partida. El mecanismo que proponen se presenta en el esquema 2.7.



Esquema 2.7.: Mecanismo de descomposición de N,N-di-Cl-aminoácidos propuesto por Dakin

Norman estudió con detalle la acción del hipoclorito sobre la glicina; expone la duda si se produce o no la cloración y observa un paso intermedio en la oxidación de la glicina por el hipoclorito (Norman, 1936).

Pereira *et al* realizaron estudios de cloración de aminoácidos y dipéptidos encontrando que el ácido hipocloroso inducía la descarboxilación de los aminoácidos convirtiéndolos en nitrilos y aldehídos y que la unión peptídica era resistente a la acción del ácido hipocloroso (Pereira *et al*, 1973).

Fox y Bullock en 1951 formularon un nuevo mecanismo para la descomposición de N-Cl- α -aminoácidos que ampliaba el de Langheld. Ellos llevaron a cabo un estudio de síntesis orgánica en el que aparecía como intermedio el ácido N-Cl-glutámico. Proponen un mecanismo que tiene dos caminos de reacción, según el medio sea ácido o básico. En medio ácido, la reacción transcurre a través de un intermedio cíclico que se descompone, tras una redistribución electrónica, a una imina intermedia, que por posterior hidrólisis genera un aldehído (Fox & Bullock, 1951).

En medio alcalino proponen que el hidrógeno en la posición α , es abstraído por una base, formándose un carbanión, que se estabiliza perdiendo un átomo de cloro y formándose así una imina intermedia que se hidroliza dando lugar a un α -cetoácido.

Teniendo en cuenta el mecanismo propuesto en medio básico, la cantidad de α -cetoácido formado debería ser proporcional a la basicidad del medio, pero los autores encontraron que parece estar relacionada con el tiempo que pasa entre la formación y la acidificación del N-Cl-aminoácido, por eso propusieron el intermedio carbaniónico.

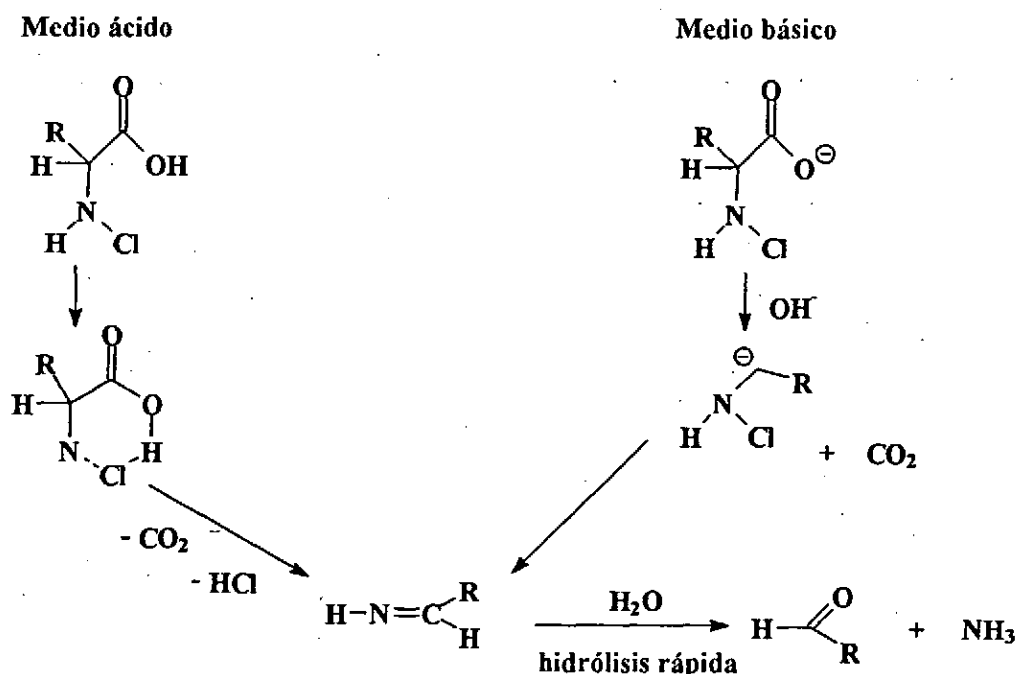
Friedman y Morgulis estudiaron la oxidación de α -aminoácidos con HOBr, observando que se obtenían los mismos productos que en la descomposición de cloroaminoácidos y proponen un mecanismo similar al de Fox y Bullock (Friedman & Morgulis, 1936).

Stankovic y Vasatko han investigado las velocidades de descomposición de N-Cl-aminoácidos. En sus trabajos no han diferenciado entre la descomposición de los derivados mono

y diclorados; tampoco han realizado una investigación de la ley cinética (Stankovic, 1960; Stankovic & Vasatko, 1960).

Zgliczyński *et al* estudiaron las reacciones de formación y descomposición de N-Cl-aminoácidos. La cloración se realizaba mediante un sistema formado por el enzima mieloperoxidasa/H₂O₂/Cl⁻. Analizando los productos de la reacción encontraron que transcurría por la formación de una cloramina de aminoácido (N-Cl-aminoácido), que como era inestable se descomponía espontáneamente formando amoníaco, CO₂, Cl⁻ y el correspondiente aldehído (Zgliczyński *et al*, 1968; 1971).

En 1979 Stambro y Smith publicaron un trabajo de sus estudios sobre la cinética y mecanismo de descomposición de la N-Cl-alanina en disolución acuosa (Stambro & Smith, 1979). La reacción mostraba una cinética de orden uno con respecto a la N-Cl-alanina, y era independiente de la concentración de alanina. Su dependencia con el pH resultó ser compleja: mostraba una dependencia lineal para valores de pH menores que 4.5 e independencia entre valores de pH comprendidos entre 5 y 9. En el mismo trabajo determinaron la influencia que ejercía el pH sobre el coeficiente de extinción molar y encontraron que en medios ácidos se producía una disminución del mismo que ellos consideran que se debe a la protonación del grupo -NHCl. El mecanismo propuesto implica la formación un intermedio carbaniónico o cíclico, según se parta de N-Cl-aminoácidos sin protonar o protonados. Determinaron como productos de la reacción acetaldehído, ácido pirúvico, amoníaco, dióxido de carbono e ion cloruro. El mecanismo que proponen se presenta en el esquema 2.8.:



Esquema 2.8.: Mecanismo de descomposición de N-Cl-aminoácidos propuesto por Stambro & Smith

Ogata *et al* en 1981 estudiaron los efectos de la radiación UV en la degradación de aminoácidos, encontrando que ésta aceleraba la reacción (Ogata *et al*, 1981). Confirmaron que

los productos de la reacción eran los mismos cuando la reacción se producía en la oscuridad y cuando se irradiaba con radiación ultravioleta, pero el porcentaje de estos no era igual (en idénticas condiciones); aparecía mayor cantidad de amoníaco y aldehído y menor cantidad de aminoácido sin consumir.

Katgeri *et al* y Mahadeppa *et al* publicaron trabajos donde se propone un mecanismo de descomposición de dicloroaminoácidos clorados por cloramina-T en medio ácido (Katgeri & Mahadevappa, 1980; Mahadevappa *et al*, 1980). Proponen como intermedio un α -cloroiminoácido que conduce a la formación de un nitrilo.

Otros estudios de Mahadevappa *et al* y Gupta *et al* contradicen lo indicado hasta ahora de la descomposición de N,N-dicloroaminoácidos en medio alcalino (Mahadevappa *et al*, 1982; Gupta & Gupta, 1985). Estudiaron la reacción de descomposición de N,N-dicloroaminoácidos que habían sido clorados con cloramina-T en medio básico y proponen como intermedio la formación de un α -cloroiminoácido que se descompone produciendo un nitrilo.

Culver y Sawamura en 1982, publicaron trabajos sobre la descomposición de N-Cl-glicina (Culver, 1955; Sawamura *et al*, 1982; 1982b; Sakurai & Sawamura, 1983). Estos trabajos atienden preferentemente al análisis de productos; según Sawamura la descomposición de N,N-dicloroaminoácidos conduce a la formación de cloruro de cianógeno, que reacciona con el ácido hipocloroso del medio, formándose nitrógeno, dióxido de carbono y ácido clorhídrico.

Ishikawa *et al* también estudiaron las reacciones con aminoácidos. Su estudio es amplio, ya que trabajaron con 24 aminoácidos e identificaron los productos por cromatografía de gases encontrando entre otras sustancias CCl_4 , tricloroetileno, aldehídos, cloroformo y nitrilos con un átomo de carbono menos que el aminoácido original (Ishikawa *et al*, 1986).

Nagawa estudió la reacción del ácido hipocloroso con proteínas encontrando como uno de los productos cloroformo, y que la concentración de éste aumentaba con el pH y dependía del tipo de los aminoácidos presentes en la proteína (Nagawa *et al*, 1984).

Burleson *et al* identificaron por cromatografía de gases y espectrometría de masas las estructuras de diversos compuestos producidos por la acción del ácido hipocloroso sobre los aminoácidos (Burleson *et al*, 1980).

Van Tamelen y colaboradores estudiaron con detalle la descarboxilación oxidativa inducida por el hipoclorito sódico en varios aminoácidos (Van Tamelen *et al*, 1968).

Otro estudio de la reacción de los aminoácidos con hipoclorito fue llevado a cabo por Kantouch y Abdel-Fattah. Realizaron el estudio con varios aminoácidos confirmando también que los productos, aldehídos o nitrilos, dependían del pH del medio y observaron que la sustitución de un átomo de hidrógeno del grupo amino por un grupo acetilo decrecía la velocidad de oxidación (Kantouch y Abdel-Fattah., 1971).

Sawamura *et al* investigaron la reacción del hipoclorito con la glicina en medios de pH neutro. Se formaba N-Cl-glicina que se descomponía dando cloruro de cianógeno, el cual, proviene de la cloración del ácido cianhídrico (Sawamura *et al*, 1982; 1982b; Sakurai & Sawamura, 1983).

En 1983, Hand, Snyder y Margerum revisan el mecanismo de descomposición de N-Cl-aminoácidos en disolución acuosa de valores de pH comprendidos entre 6 y 9 (Hand *et al*, 1983). Según estos autores la descomposición de este tipo de compuestos, transcurre por un mecanismo de fragmentación concertada y no a través de la formación de un carbanión o por la pérdida espontánea de dióxido de carbono (Stambro & Smith, 1979). Estos procesos de fragmentación

concertada, caracterizados por Grob (Grob & Schiess, 1967; Grob, 1969), precisan que se encuentren en la misma molécula un grupo dador de electrones (grupo carboxilato) y uno aceptor (cloro) y en el estado de transición tiene lugar la ruptura de los enlaces C-C y N-Cl al mismo tiempo que se forma el enlace C=N. Estos autores afirman que si el proceso se plantea a través de un intermedio carbaniónico, entonces, la N-Cl-glicina sería la forma más estable y, por lo tanto, la constante de velocidad de descomposición de este N-cloroaminoácido tendría el valor más alto, observando que está en desacuerdo con los datos experimentales. Este mecanismo concertado está apoyado por razones estéricas, que permiten a los derivados con sustituyentes más grandes disponerse preferentemente en una conformación antiperiplanar, y por los elevados valores de los parámetros de activación.

En 1984, Le Cloirec *et al* han estudiado los productos de descomposición de la N-Cl-Alanina (Le Cloirec *et al*, 1984). El cloro libre residual y las monocloraminas formadas se determinaron por el método de la N,N-dietil-p-fenilendiamina, la alanina resultante se detectó por fluorescencia después de una separación por cromatografía de líquidos de alta densidad y los productos de la reacción, acetaldehído y acetonitrilo se analizaron por cromatografía de gases.

Alouini y Seux establecen en su trabajo que los productos de la reacción dependen de la relación entre concentraciones entre el agente clorante y el aminoácido. Si el agente clorante está en defecto se forma el N-Cl-aminoácido descomponiéndose a aldehído, si por el contrario está en exceso, se forman los N,N-dicloroaminoácidos produciéndose nitrilos (Alouini & Seux, 1987).

En 1985, Stambro y Lenkevich estudian la cinética de descomposición de la N-Cl-alanina y N,N-dihalopéptidos (Stambro & Lenkevich, 1983; 1985). En el primer caso observaron que las velocidades de reacción dependen de forma compleja de la concentración inicial de la N-Cl-alanina y del pH. Se propone un mecanismo similar al de Fox y Bullock (*loc. cit.*).

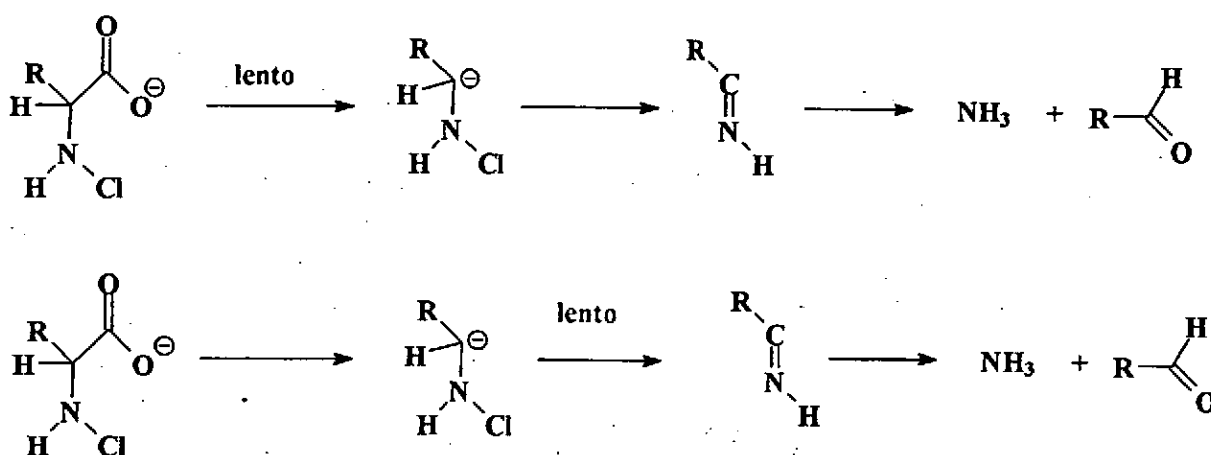
A partir de 1988, aparecen unos trabajos llevados a cabo por Antelo *et al* en donde se estudia la descomposición de la N-Cl-leucina (Antelo *et al*, 1988b), N-Cl-serina (Antelo *et al*, 1988c), N-Cl-prolina y N-Cl-hidroxi-prolina (Antelo *et al*, 1991), N-Cl-glutámico y N-Cl-treonina (Antelo *et al*, 1992b). En todos los casos se encuentra que la reacción es de orden uno y las constantes cinéticas no varían en el intervalo de pH comprendido entre 5 y 11. El mecanismo que se propone es similar al de Fox y Bullock. También, observan, al igual que Stambro y Smith (*loc. cit.*) un incremento de velocidad a partir de $\text{pH} < 4$ y un brusco descenso del coeficiente de absortividad molar. En medio básico observan un incremento de la velocidad de la reacción para $\text{pH} > 11$ y un cambio en los parámetros de activación en medio neutro y básico, lo que les induce a suponer la existencia simultánea de dos mecanismos de descomposición: la descarboxilación concertada y un proceso a través del cual se forma un carbanión que permite explicar la catálisis básica.

Estos mismos autores analizaron las reacciones de descomposición de N-Br-aminoácidos en diferentes condiciones: N-Br-leucina y N-Br-isoleucina (Antelo *et al*, 1991b) y N-Br-glutámico (Antelo *et al*, 1992c) a valores de pH comprendidos entre 9 y 11 y en medio básico. Para valores $9 < \text{pH} < 11$, la constante de velocidad no varía y proponen como etapa lenta la descarboxilación para dar la azometina que posteriormente se hidroliza a un aldehído o cetona. En medio alcalino observan una catálisis por OH^- y proponen un mecanismo con la formación de un carbanión intermedio. En un trabajo reciente (Antelo *et al*, 1993), analizan la misma

reacción para N-Br-alanina, N-Br-2-amino-butírico y N-Br-2-amino-pentanoico, encontrando de nuevo independencia de la constante de velocidad con el pH entre $9 < \text{pH} < 11$ y proponen un mecanismo concertado.

En 1990, se publicó un trabajo de Awad *et al* en donde estudian la cinética de descomposición de las cloraminas de glicina, alanina, ácido-2-amino-isobutírico, prolina, N-metil-valina, valina, isoleucina y L-tert-leucina (Awad *et al*, 1990). Las velocidades de descomposición de los N-Cl-aminocompuestos se encontraron que eran independientes de las concentraciones iniciales, fuerza iónica, concentraciones de disolución reguladora y pH en el intervalo comprendido entre 6 y 13. La descomposición fue seguida fundamentalmente espectrofotométricamente, si bien en ocasiones se utilizó el método iodométrico y en algunos casos determinando la cantidad de dióxido de carbono desprendido. Los tres métodos obtienen los mismos resultado a excepción de la glicina. Los efectos del sustituyente del carbono en α y del nitrógeno fueron investigados.

Estos autores desechan la posibilidad de que el proceso transcurra a través de la abstracción del protón en el carbono α dado que, en este caso estaría favorecida la descomposición de la N-Cl-glicina, que sin embargo resulta ser el proceso más lento. Analizan varias alternativas del mecanismo y al final proponen el mismo mecanismo concertado que había sido propuesto por Hand *et al* (*loc.cit*). Las alternativas analizadas y rechazadas son: formación de un carbanión como etapa lenta y rápida descarboxilación, seguida de la ruptura del enlace N-Cl- como etapa limitante. El primer mecanismo lo rechazan por las razones antes expuestas para la abstracción del carbono en posición α y el segundo no está de acuerdo con los resultados para la N-Cl-alanina, con la que observan la misma constante de velocidad para la descarboxilación y para la salida del ión cloruro. En el esquema se pueden ver los dos mecanismos rechazados:



Esquema 2.9.: Mecanismos de descomposición de N-Cl-aminocidos rechazados por Awad *et al*

Armesto *et al*, determinan los valores de los coeficientes de absorptividad molar a diferentes valores de pH, que como se pueden ver en la tabla 2.11 no varían con el pH, al contrario de lo que habían establecido otros autores. Estos autores exponen un método adecuado

para generar el N-Cl-aminoácido, ya que existe un importante efecto del orden de mezcla a partir de $\text{pH} < 5$ sobre el coeficiente de absorptividad molar, así como sobre la constante de velocidad (Armesto *et al*, 1993b, Losada, *et al*, 1992).

Tabla 2.11.: Coeficientes de absorptividad molar de N-Cl-aminoácidos

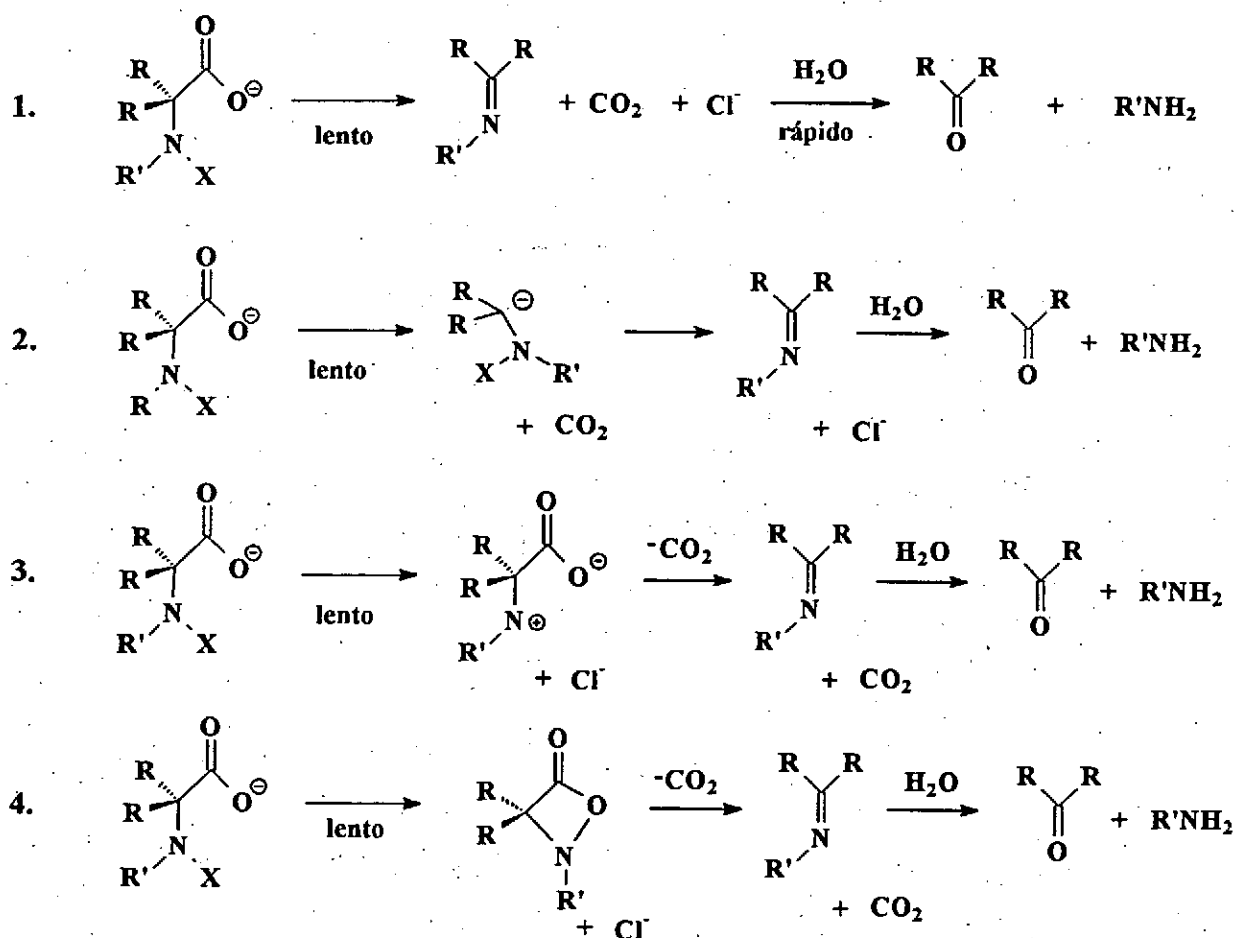
<i>N-Cl-aminoácido</i>	<i>pH</i>	ϵ ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
N-Cl-alanina	3.6	361 ± 21
	7.8	361 ± 20
Ac.2-amino-butírico	3.6	396 ± 38
	7.2	375 ± 56
N-Cl-valina	3.6	317 ± 30
	7.2	345 ± 12
N-Cl-isoleucina	3.6	333 ± 37
	4.8	349 ± 13
	7.2	356 ± 7
N-Cl-leucina	3.6	325 ± 30
	7.2	329 ± 20
N-Cl-serina	3.6	387 ± 25
	4.8	384 ± 27
	7.2	359 ± 11
N-Cl-treonina	2.4	334 ± 4
	8.3	334 ± 4

Scully *et al* llevaron a cabo el estudio de estas reacciones y analizaron por HPLC y CG/MS los productos de las reacción de cloración de isoleucina, valina y fenilalanina. Hacen el estudio con diferentes relaciones agente clorante / aminoácido, observando que cuando esta relación es pequeña, se obtiene fundamentalmente aldehído, mientras que para relaciones altas, se forma el compuesto diclorado que se descompone produciendo nitrilos con un átomo de carbono menos que el aminoácido de partida. Cuando el agente clorante se halla en exceso, encuentran entre los productos una N-Cl-aldimina, llegando a ser el producto predominante si el exceso es superior al doble (Nweke & Scully, 1989; McCormick *et al*, 1993; Conyers & Scully, 1993; Conyers *et al*, 1993).

Armesto *et al*, llevaron a cabo un amplio estudio de descomposición de N-halo-aminoácidos en medio básico. Realizan el estudio con varios aminoácidos, analizando el efecto de los sustituyentes, tanto en el carbono en α como en el nitrógeno, utilizando diferentes bases y agentes clorantes, y también estudian el efecto isotópico. Los resultados muestran la existencia de catálisis general básica. Los trabajos mencionados hasta ahora habían propuesto que es un mecanismo de de eliminación que transcurre a través de la abstracción de un protón en α y formación de un intermedio carbaniónico (Stanbro & Smith, 1979; Antelo *et al*, 1988b), pero

todavía no se ha elucidado si esta eliminación es concertada (Armesto *et al*, 1993c) o transcurre por etapas. En este trabajo, a partir de los resultados obtenidos del efecto del grupo saliente (Cl o Br) y el efecto isotópico, se propone también un mecanismo de eliminación que ocurre a través de un proceso concertado asincrónico en el que la estructura del estado de transición va cambiando en función de los sustituyentes desde un estado de transición tipo ión carbaniónico a uno tipo ión nitrenio (Armesto *et al*, 1993d; Losada, 1993).

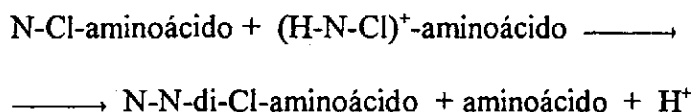
Estos mismos autores también estudiaron la descomposición de los N-halo-aminoácidos en medio neutro y ácido. En medio neutro la constante de velocidad es independiente de la concentración de agente clorante y aminoácido, del pH y de la fuerza iónica. En el intervalo de pH que realizaron el estudio y a las concentraciones de tampón utilizadas son despreciables los procesos de eliminación mencionados anteriormente. Estos autores afirman que el hecho de que no exista influencia de la acidez del medio, hace pensar en un proceso de descarboxilación y consideran tres vías por la cual esta se puede producir (dos por etapas, formación de un



Esquema 2.10.: Posibles mecanismos de descomposición de N-Cl-aminoácidos planteados por Armesto *et al*

carbanión o un ión nitrenio, y otra concertada) (véase esquema 2.10.) Descartan el proceso que implica la formación de un carbanión ya que la velocidad de reacción aumenta en sentido inverso a la estabilidad de los carbaniones que se formarían, y porque como producto de la reacción encuentran aldehidos en lugar de α -cetoácidos. El otro proceso por pasos (formación de un ión nitrenio, tampoco lo tienen en cuenta porque el efecto que obtienen al cambiar el grupo saliente es pequeño. Otro proceso que también descartan es la formación de una 2-ceto-(1,4)-oxazeticina intermedia, por los datos obtenidos sobre los efectos de los sustituyentes. Sobre la base de todo lo anterior, concluyen que el proceso ocurre a través de una fragmentación concertada asincrónica con un estado de transición de tipo carbaniónico, más próximo a los productos que a los reactivos (Armesto *et al*, 1994d; Canle, 1994).

En cuanto al mecanismo de descomposición en medio ácido, existen pocos estudios que lo planteen debido a la reacción de desproporción de los N-Cl-aminoácidos para dar N,N-di-Cl-aminoácidos en estas condiciones:



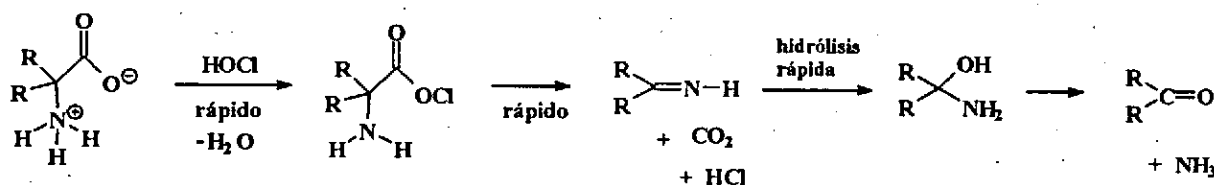
Armesto *et al* realizaron el estudio de la reacción en medio ácido utilizando aminoácidos secundarios, ya que en ellos la reacción de desproporción está impedida: (N-Cl, N-Me)-valina, N-Cl-sarcosina, (N-Cl, N-Me)-alanina, N-Cl-prolina y ácido N-Cl-2-piperidin-carboxílico. Las reacciones son de orden uno respecto al N-Cl-aminoácido y la dependencia de la constante de velocidad con el pH presenta dos perfiles diferentes. Para el caso de la N-Cl-sarcosina y de la N-Cl-prolina, la constante de velocidad decrece al incrementar la acidez, pasando por un mínimo e incrementa de nuevo. Para el resto de los cloro-aminoácidos estudiados la constante decrece al aumentar la acidez del medio y después se estabiliza. Para poder explicar esta dependencia compleja de las constantes de velocidad con el pH, los autores plantean un mecanismo en el que participan las cuatro especies posibles para un N-Cl-aminoácido (totalmente protonado, especie zwitteriónica, especie neutra y especie con el grupo carboxílico desprotonado) y llegan a una ecuación de velocidad en función de las constantes cinéticas, constantes macroscópicas de equilibrio y constante de equilibrio tautomérico para los N-Cl-aminoácidos. Esta ecuación de velocidad se ajusta a los datos experimentales, lo que les permitió estimar constantes de equilibrio ácido base y de tautomería para los N-Cl-aminoácidos estudiados (Armesto *et al*, 1994e).

Hasta el momento se ha justificado la formación de aldehidos, cetonas, nitrilos, etc. Todas estas especies se encuentran al analizar disoluciones de aminoácidos después de haber sido tratados con un agente halogenante, pero también se han hallado dicloroacetnitrilos, bromoformo, bromometanos, cloroformo, cloral, etc. El dicloroacetnitrilo se encuentra al estudiar los productos de descomposición que resultan de tratar con agente clorante el ácido aspártico, la tirosina y el triptófano (Trehy & Bieber, 1981; Bieber & Trehy, 1983). Un estudio reciente de Trehy (Trehy, *et al*, 1986) investiga los productos de descomposición de la tirosina, aspártico y triptófano a valores pH próximos a la neutralidad con exceso de agente clorante, separando y determinando los productos por cromatografía de gases y espectrofotometría de masas. Concluye estableciendo que los productos más importantes son el dicloroacetnitrilo y

el cloral y proponen un mecanismo para la formación de los mismos.

Algunos autores muestran otro mecanismo para justificar los productos de descomposición de los N-Cl-aminoácidos en la oxidación con cloraminas. Proponen que la posición en la que se clora en aminoácido no es la del nitrógeno del grupo amino sino la del oxígeno del grupo carboxilo (Gowda & Sherigara, 1987b; Gowda & Rao, 1987; Gopalakrishnan & Hogg, 1985). El mecanismo planteado varía según sea el medio fuertemente ácido o sea ligeramente ácido, neutro o básico (esquema 2.11 y 2.12).

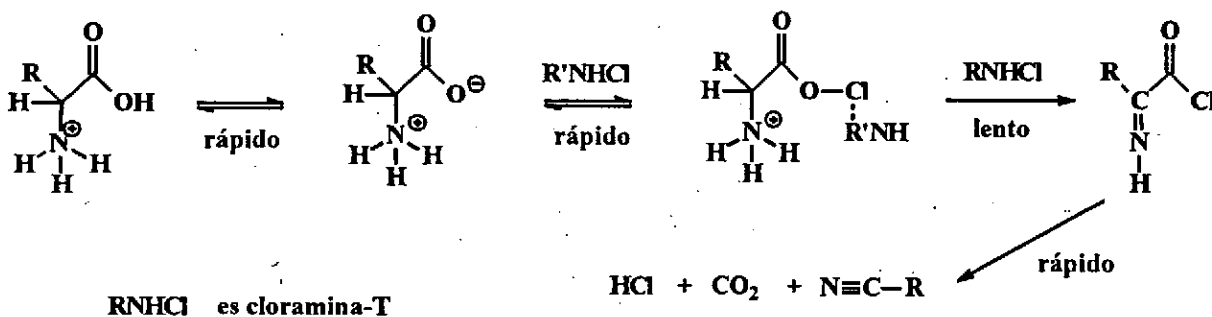
Medios ligeramente ácidos, neutros y básicos



Esquema 2.11.: Mecanismo de descomposición de N-Cl-aminoácidos propuesto por Gowda et al

En este mecanismo plantean como etapa rápida la descarboxilación, mientras que en los otros mecanismos era la etapa lenta. Para estos autores la etapa limitante es la hidrólisis de ácido hipocloroso.

Medios fuertemente ácidos



Esquema 2.12.: Mecanismo de descomposición de N-Cl-aminoácidos propuesto por Gowda et al

En este caso la etapa limitante de la velocidad de reacción sería la desaminación y la descarboxilación sigue siendo etapa rápida.

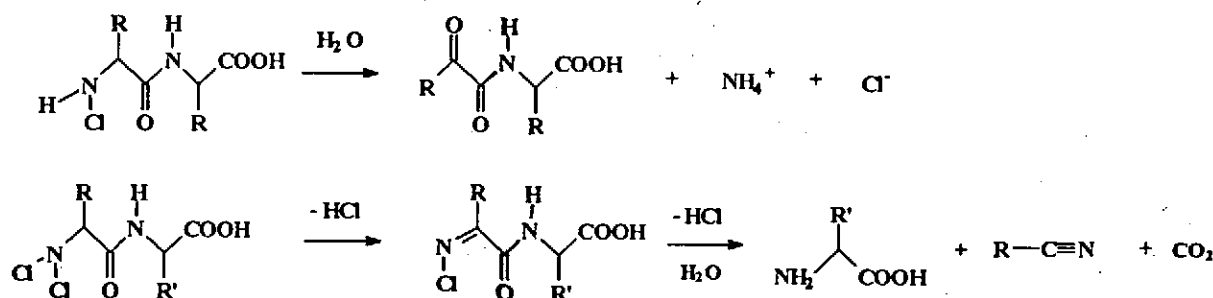
En trabajos de Gowda *et al.* plantean los dos mecanismos, menos para el caso de la valina en la que ambos coinciden (Gowda & Sherigara, 1987b; Gowda & Rao, 1987, Gowda & Rao, 1988).

2.3.3. DESCOMPOSICIÓN DE N-Cl-PÉPTIDOS.

En contraste con la gran cantidad de trabajos sobre la descomposición de N-Cl-aminas y N-Cl-aminoácidos, existen pocos estudios sobre la descomposición de N-Cl-péptidos. Algunos de los mencionados en el apartado de formación de N-Cl-péptidos también tienen cabida este apartado.

Pereira *et al* estudiaron los productos entre el hipoclorito y algunos dipéptidos; utilizaron exceso de hipoclorito y detectaron mediante espectrometría de masa el N,N-dicloro-dipéptido que posteriormente forma una N-cloroimina.

Stelmaszyńska y Zgliczyński detectaron como productos finales de descomposición de N-Cl y N,N-dicloro-dipéptidos N-2-oxo-acil-aminoácidos y nitrilos. Estos autores estudiaron la cloración de péptidos con el sistema formado por el enzima mieloperoxidasa/H₂O₂/Cl⁻. Comprobaron que cuando la reacción de cloración se realizaba en presencia de exceso de agente clorante se forma el compuesto diclorado y también era el compuesto mayoritario a valores bajos de pH. Siguieron las reacciones de descomposición de N-Cl-dipéptidos por valoración iodométrica, siendo reacciones de orden uno; para los N,N-di-Cl-péptidos las reacciones de descomposición eran más rápidas. Identificaron los productos de la reacción por cromatografía de gases. Los mecanismos de reacción que propusieron se presentan en el esquema 2.13.:

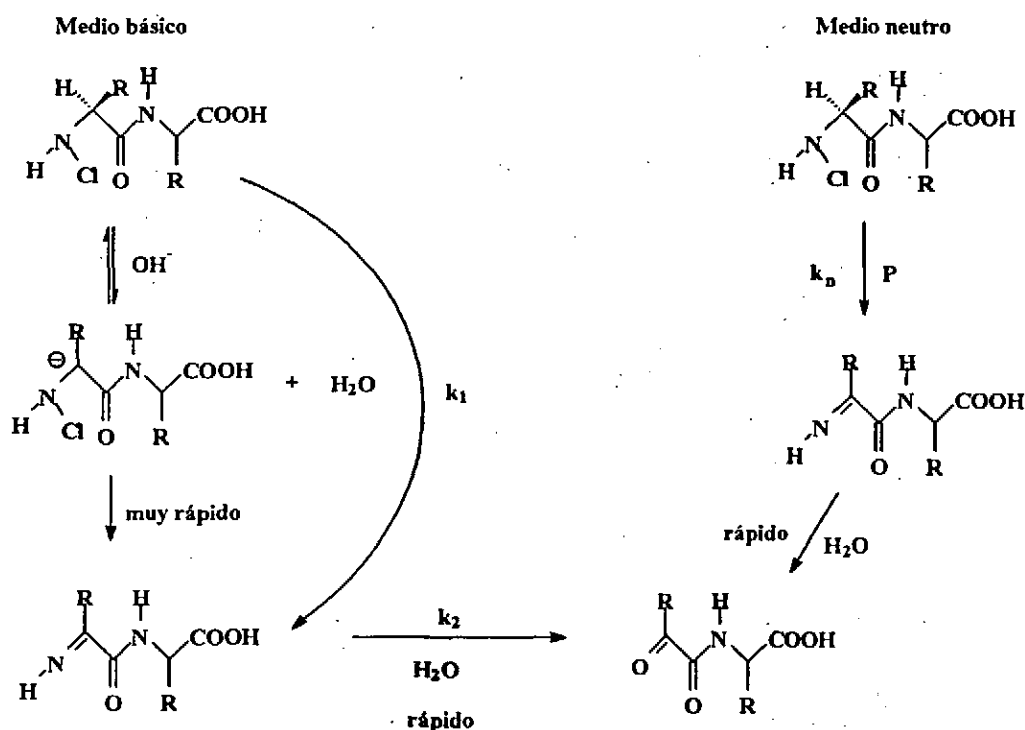


Esquema 2.13.: Mecanismo de descomposición de N-Cl-dipéptidos propuesto por Stelmaszyńska y Zgliczyński

Snyder estudió las reacciones de descomposición de dipéptidos en medio básico y neutro. Los dipéptidos que utilizó fueron la glicil-glicina, alanil-glicina, seril-serina y ácido aminoisobutiril-aminoisobutírico. La reacción de descomposición de los N-Cl-dipéptidos en medio básico se produce mediante dos procesos consecutivos de primer orden y forma como productos finales amoníaco y un compuesto dicarbonílico. El paso determinante de la velocidad es la abstracción del protón en posición alfa al nitrógeno amínico, seguido de un reordenamiento del carbanión para formar una imina. El segundo paso es la hidrólisis de esta imina para dar los productos finales. El ácido aminoisobutiril-aminoisobutírico no se declora en un periodo de 1 hora. Snyder llevó a cabo un análisis de los productos de la reacción (amoníaco y compuestos carbonílicos). En medio neutro encuentra que los N-Cl-dipéptidos son mucho más estables que los N-Cl-aminoácidos y que un aumento en la concentración del tampón utilizado (hidrógeno

fosfato / di-hidrógeno fosfato) acelera la velocidad de la reacción lo que explica a través de un mecanismo de catálisis general básica, en la que el paso determinante de la velocidad es la pérdida del protón en posición alfa al nitrógeno amínico (esquema 2.14.).

En el esquema 2.13, P es la forma básica del tampón, k_1 y k_2 son las constantes de las dos reacciones consecutivas en medio básico y k_D es la constante de descomposición en medio neutro.



Esquema 2.13.: Mecanismo de descomposición de N-Cl-dipéptidos propuesto por Snyder

Los valores de las constantes de descomposición se recogen en la tabla 2.12. (medio básico) y 2.13 (medio neutro).

Stanbro y Lenkevich estudiaron la reacción de descomposición de N,N-di-halo-péptidos (Stanbro & Lenkevich, 1985). La reacción de descomposición es de orden uno y es independiente de la concentración inicial de N,N-di-halo-péptido pero tiene una marcada dependencia con el pH. Los productos de la reacción fueron identificados como N-halo, N- α -iminoceto-péptido que a su vez se descomponen lentamente dando amoníaco, ion haluro y N- α -acilceto-péptido o bien nitrilo, isociano-péptido e ion haluro.

Tabla 2.12.: Constantes de velocidad de descomposición de N-Cl-dipéptidos

N-Cl-dipéptido	[NaOH] (M)	k_1 (s^{-1})	k_2 (s^{-1})
N-Cl-seril-serina	0.1	0.104	$3.15 \cdot 10^{-3}$
	0.2	0.213	$3.94 \cdot 10^{-3}$
	0.25	0.259	$4.42 \cdot 10^{-3}$
N-Cl-glicil-glicina	0.1	0.924	$7.10 \cdot 10^{-3}$
	0.2	1.92	$10.1 \cdot 10^{-3}$
	0.25	2.36	$12.0 \cdot 10^{-3}$
N-Cl-alanil-glicina	0.1	0.175	$2.15 \cdot 10^{-3}$
	0.2	0.317	$2.82 \cdot 10^{-3}$
	0.25	0.423	$3.11 \cdot 10^{-3}$

Tabla 2.13.: Constantes de velocidad de la descomposición de N-Cl-dipéptidos

N-Cl-dipéptido	[Fosfato] _T (M)	$k_D \cdot 10^5$ (s^{-1})
N-Cl-alanilglicina	0.01	0.25
	0.10	1.2
	0.20	2.5
N-Cl-glicilglicina	0.01	0.42
	0.10	2.1
	0.20	3.4
N-Cl-serilserina	0.01	2.6
	0.10	15
	0.20	27

McGregor y Carpenter (McGregor & Carpenter, 1962) investigaron los productos finales de la reacción de oxidación con hipobromito de péptidos, encontrando que en medio fuertemente básico, el dipéptido consumía dos moles de hipobromito para formar un nitrilo de un átomo de carbono menos que el aminoácido terminal del péptido y un carbaaminoácido que al adificar el medio liberaba el aminoácido; en medio neutro, el péptido consumía 2.5 moles de hipobromito el cual deaminaba el grupo amino del aminoácido terminal para formar un N-(α -cetoacil)-aminoácido; son los mismos productos obtenidos por Stelmaszyńska y Zgliczyński pero estos autores no identificaron estos productos según el medio fuera básico o neutro, sino en función del exceso de agente halogenante, formándose compuestos monoclorados o diclorados. Sobre la base de estos resultados Goldschmidt *et al* sugirieron que la oxidación alcalina con hipobromito podría ser aplicada para conocer la secuencia de aminoácidos en las proteínas (Goldschmidt *et al*, 1927).

Capítulo 3

Procedimiento experimental

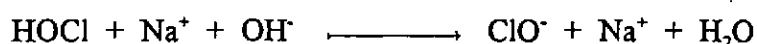
Capítulo 3

Procedimiento experimental

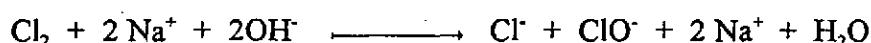
3.1.- REACTIVOS Y PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES.

3.1.1. DISOLUCIONES DE HIPOCLORITO SÓDICO:

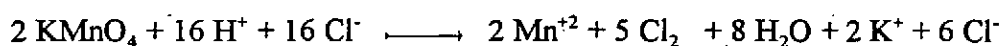
La disolución de hipoclorito se obtiene haciendo pasar gas cloro por una disolución de hidróxido sódico. Las siguientes reacciones tienen lugar:



De modo global:



El gas cloro se obtiene por la siguiente reacción:



En una vitrina de gases se añade gota a gota y lentamente ácido clorhídrico concentrado desde un embudo de presión compensada hasta un balón de dos bocas de fondo redondo donde se encuentra el permanganato potásico. Este frasco va conectado a un frasco lavador en el que se encuentra la disolución de hidróxido sódico. El cloro que no reacciona se conduce por medio de una goma a un desagüe. Todo este proceso se lleva a cabo en vitrina de gases.

Una vez preparado el hipoclorito, se almacena en frascos oscuros y en la nevera, para evitar en todo lo posible su descomposición.

Los reactivos empleados fueron:

- * KMnO_4 Panreac calidad p.r.
- * HCl Probus, calidad p.r.
- * NaOH Merck, calidad *pro analysi*.

Antes de cada serie de experiencias se determinaba la concentración del hipoclorito espectrofotométricamente según el método propuesto por Hussain *et al* (Hussain *et al*, 1970) coeficiente de absortividad molar $\epsilon_{292} = 347 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a valores de pH > 12. La determinación de

este coeficiente se realizó valorando el HOCl con una disolución patrón de tiosulfato sódico (Bermejo, F., 1974) y de esta forma se obtenía la concentración analítica de hipoclorito. La curva de calibrado obtenida se recoge en la figura 3.1:

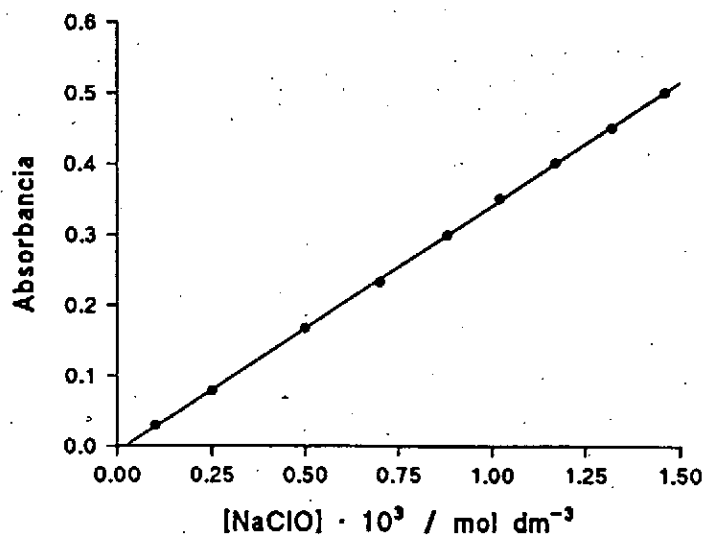


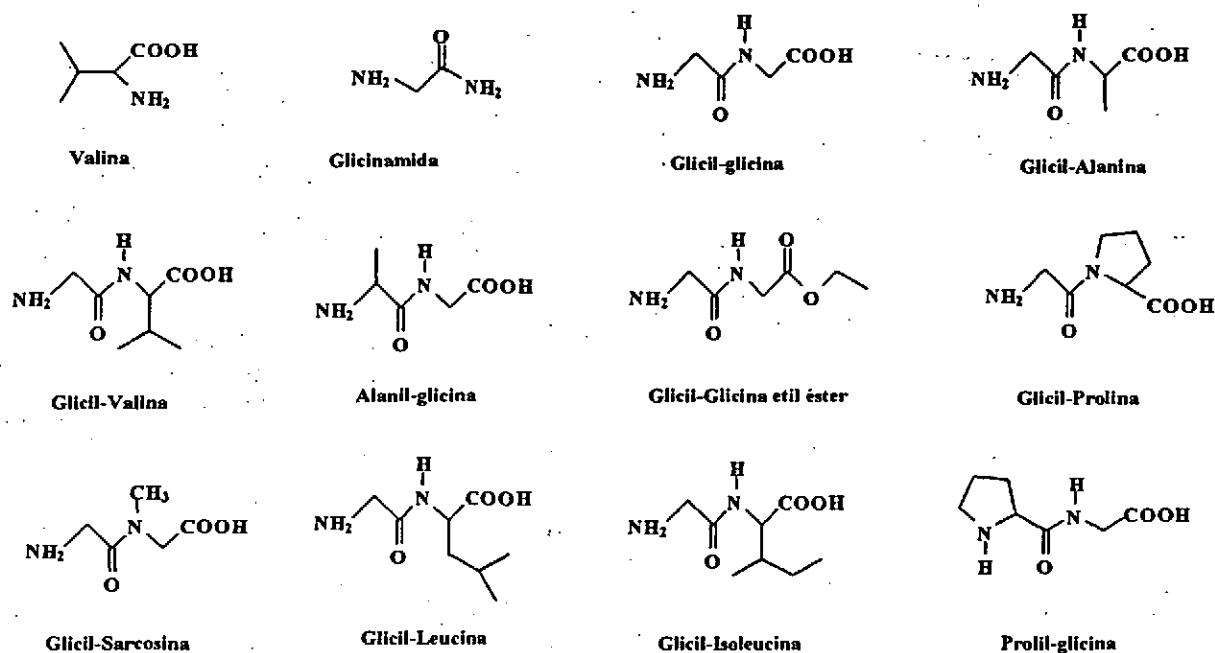
Figura 3.1: Ley de Lambert-Beer para el hipoclorito sódico

3.1.2. DISOLUCIONES DE HIPOBROMITO SÓDICO:

El hipobromito sódico se preparaba directamente diluyendo una porción de bromo reactivo MERCK calidad *pro analysi* en una disolución de hidróxido sódico. La disolución así obtenida se guardaba en la nevera en un frasco de color topacio y se renovaba cada dos días. Cada vez que se realizaban experiencias se valoraba espectrofotométricamente midiendo la absorbancia a 330 nm. La concentración se determinaba a partir del coeficiente de extinción molar $\epsilon_{330} = 324 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Antelo *et al*, 1990).

3.1.3. DISOLUCIONES DE N-COMPUESTOS:

Los N-compuestos estudiados fueron dipéptidos. Las disoluciones se preparaban, por pesada directa del producto comercial de la marca MERCK o SIGMA diariamente, pues se observaba una turbidez en la disolución al día siguiente de su elaboración, apareciendo, incluso en algunos casos, un precipitado. En este trabajo se han usado los N-compuestos que se muestran en esquema 3.1:



Esquema 3.1.: N-Compuestos estudiados

3.1.4. DISOLUCIONES PARA EL AJUSTE DE LA FUERZA IÓNICA:

Los productos utilizados fueron cloruro sódico, cloruro potásico y perclorato potásico que se preparaban por pesada directa del producto comercial seco MERCK, calidad *pro analysi*.

3.1.5. DISOLUCIONES REGULADORAS:

Para cubrir el intervalo de pH en el que se trabajó (valores de pH entre 4 y 14) se hizo necesaria la utilización de diferentes disoluciones reguladoras.

Los reactivos empleados fueron los siguientes:

- * Acetato sódico.
- * Hidrógeno fosfato potásico.
- * Acido bórico.
- * Carbonato sódico.
- * Hidrógeno carbonato sódico.
- * 2,2,2-Trifluoretanol.
- * 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol
- * Hidróxido sódico.
- * Hidróxido potásico.

En todos los casos reactivos MERCK, calidad *pro analysi*.

Las disoluciones habitualmente se preparaban por pesada directa de los reactivos anteriores.

Las disoluciones de ácido clorhídrico se obtenían a partir de producto comercial MERCK, calidad *pro analysi*, con una riqueza del 37%.

Las disoluciones de hidróxido sódico se preparaban por pesada directa del producto comercial MERCK, calidad *pro analysi*.

3.1.6. OTROS REACTIVOS

Para los análisis de productos realizados se utilizaron los siguientes reactivos:

* Para el análisis de amoníaco se utilizó cloruro de amonio e hidróxido sódico MERCK *pro analysi*.

* Para el análisis de aldehídos se utilizó 2,4-di-nitro-fenil-hidrazona, hexano y el aldehído correspondiente al N-compuesto estudiado; para el caso de la L-Valina es el 2-metil-butiraldehído, ambos MERCK *pro analysi*

* Para el análisis del cloro activo se utilizó ioduro potásico y ácido acético ambos Merck *pro analysi*

El agua empleada en todas las experiencias se obtuvo de dos sistemas de purificación diferentes: Millipore-Milli Q y un bidestilador Aquatron A4D.

El agua deuterada (99,77 %) fue proporcionada por el Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, CIEMAT.

3.2.- INSTRUMENTAL UTILIZADO.

3.2.1. DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA

El seguimiento espectrofotométrico de las reacciones de descomposición se realizó utilizando tres espectrofotómetros UV-VIS. Uno de ellos es un equipo Beckman (modelo DU-70) monohaz estable, equipado con carro portacubetas termostatado con capacidad para seis cubetas. Normalmente se utilizaban 5 cubetas y se dejaba libre una posición para registrar la línea de base, que en el análisis posterior se sustraía con el fin de eliminar su posible deriva. Otros espectrofotómetros fueron un Diode Array Milton Roy 3000 equipado con un carro portacubetas y un espectrofotómetro doble haz Varian (modelo Cary 1E). Los espectrofotómetros estaban conectados a termostatos que permitan la regulación de la temperatura de $\pm 0.1^\circ\text{C}$ y disponían de software para la transformación de los datos obtenidos en ficheros compatibles con los distintos programas utilizados para los ajustes.

Las cubetas utilizadas eran prismáticas de cuarzo de 1 cm de camino óptico, 3,5 ml de capacidad y con tapón.

Las reacciones de formación se siguieron utilizando un espectrofotómetro de flujo retenido marca Hi-Tech Scientific modelo SF-61 y un modelo de mezclado múltiple SF-61MX equipados con un sistema de termostatación.

3.2.2. DETERMINACIÓN POTENCIOMÉTRICA

Para la medida del pH se utilizó un pH-metro Crison, modelo 506 y un electrodo combinado de vidrio, también Crison que permitía ± 0.02 unidades de exactitud. Para calibrar el electrodo se utilizaron disoluciones reguladoras Beckman: una de $\text{pH} = 7.0 \pm 0.01$ a 25°C (tampón fosfato) y otra de $\text{pH} = 4.0 \pm 0.01$ a 25°C (tampón ftalato). Dado que uno de los electrolitos de fondo utilizados fue el NaClO_4 , se utilizó NaCl en lugar de KCl como electrolito en el electrodo de referencia, con el fin de evitar la precipitación del KClO_4 sobre el punto de unión líquida.

Para el cálculo de los pK_a de los dipéptidos se utilizó un electrodo combinado de vidrio Radiometer GK2401 C.

Para determinar la concentración de amoníaco se empleó un electrodo selectivo de amonio Ingold conectado a un pH-metro Crison, modelo 506.

3.3.- ESTUDIO ESPECTROGRÁFICO.

En la siguiente figura 3.2 se pueden observar los espectros de absorción UV de los reactivos: disoluciones de hipoclorito sódico, hipobromito sódico y aminoácido:

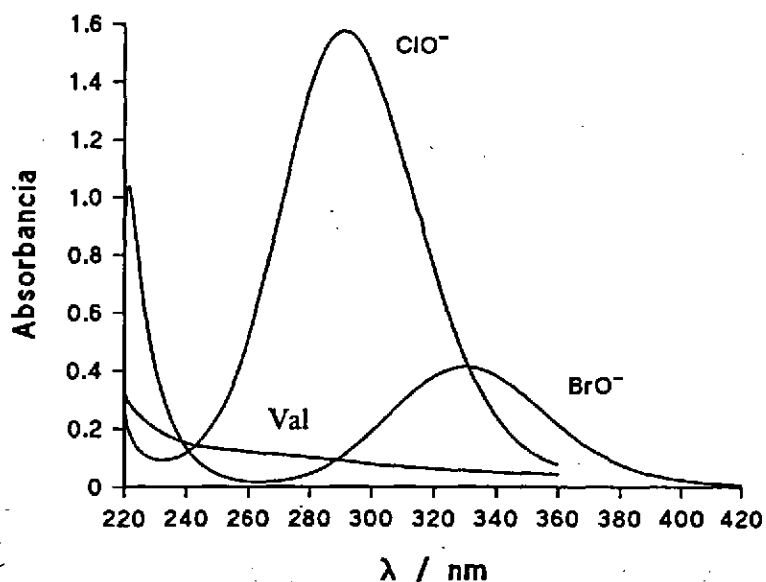


Figura 3.2: Espectros de absorción Vis/UV de ClO^- , BrO^- y Val.

Como puede observarse el máximo de absorbancia del hipoclorito está a 292 nm y el del hipobromito en torno a 330 nm . Los espectros de absorción de los N-compuestos estudiados son similares al presentado para la L-Valina en la figura anterior y no presentan absorción significativa por encima de 240 nm .

El máximo de absorción de N-Cl-aminoácidos y N-Cl-dipéptidos aparece a 255 nm como

se puede observar en la siguiente figura 3.3 (el espectro de la N-Cl-Valina se puede considerar representativo para todos los N-Cl-aminoácidos y N-Cl-dipéptidos no sustituidos en el nitrógeno amínico). Se comprobó que este máximo era independiente de pH y permitía registros de variaciones de absorbancia apreciables.

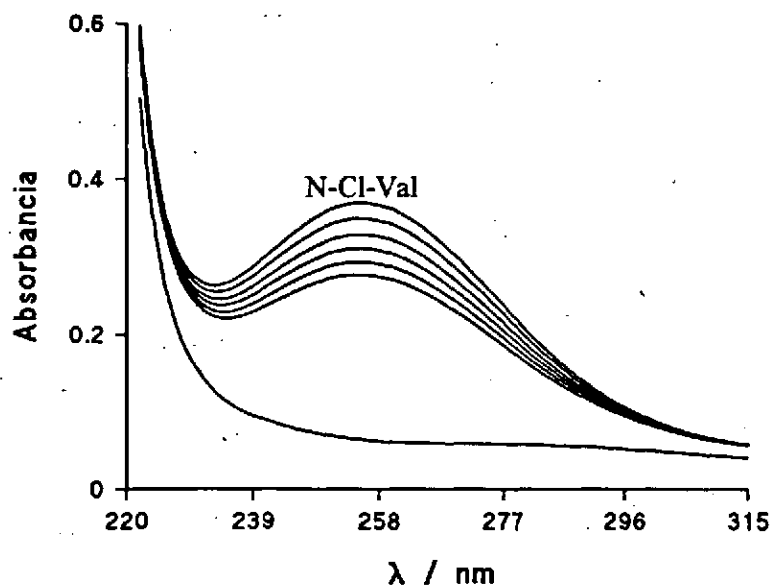


Figura 3.3: Espectros de N-Cl-Val a distintos tiempos.

Sin embargo, el máximo de absorción para los (N-Cl, N-alkil)-compuestos aparece desplazado a 263 nm (caso de la N-Cl-Pro-Gly) al igual que ocurría para los aminoácidos (Losada, 1993).

Se puede observar en la figura 3.3 que la absorbancia va disminuyendo con el tiempo a medida que desaparece el N-Cl-aminoácido. Para todos los N-Cl-aminoácidos estudiados ocurre lo mismo y se puede seguir su reacción de descomposición midiendo el cambio de absorbancia. Para el caso de los N-Cl-dipéptidos no ocurre lo mismo. Una vez formado el N-Cl-dipéptido se observa el máximo a 255 nm pero no se observa ningún cambio en la absorbancia. Los N-Cl-dipéptidos son estables en medio neutro, sólo se observa una lenta descomposición en el caso de la adición de una base en el medio de reacción.

Los espectros de absorción para los N-Cl-dipéptidos en medio básico eran diferentes a los anteriores. La banda de absorción a 255 nm quedaba enmascarada por la aparición de otra banda a 237 nm que crece rápidamente hasta valores de absorbancia elevados y más tarde comienza a disminuir de forma más lenta lo que se muestra en la figura 3.4.

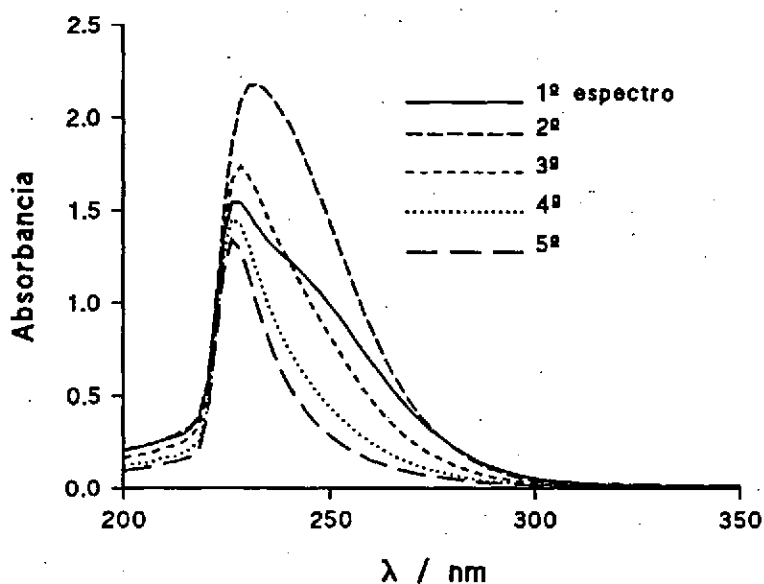


Figura 3.4.: Espectros de Gly-Gly en medio básico. $[NaOH] = 0.03 M$ (espectros cada 2,5 minutos).

En medio básico, para los N-Cl-dipéptidos en los que el nitrógeno del enlace péptido tiene un sustituyente (tales como la Gly-Sar y la Gly-Pro) el máximo de absorción no aparece a 237 nm, sino a 255 (como el espectro de absorción de un aminoácido figura 3.3).

En la figura 3.5 se puede ver que el máximo de absorción para los N-Br-compuestos aparece en las proximidades de 300 nm.

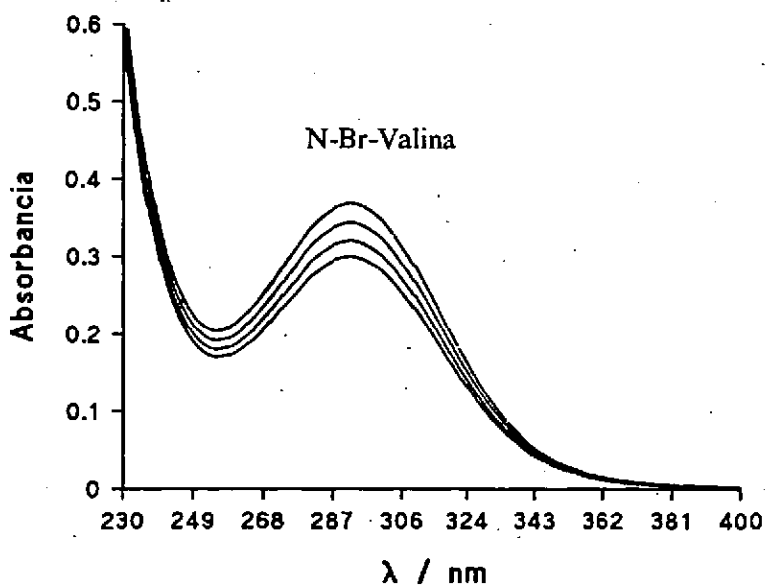


Figura 3.5. Espectro de absorción de N-Br-Val a distintos tiempos.

3.4.- PREPARACIÓN DE LAS MEZCLAS DE REACCIÓN

3.4.1. REACCIONES DE FORMACIÓN DE N-CL-COMPUESTOS

Las reacciones de formación de N-Cl-dipéptidos se llevaron a cabo mediante la técnica de flujo detenido, mezclando simultáneamente volúmenes iguales de las disoluciones de igual concentración de agente clorante y N-compuesto. Ambas disoluciones tenían cantidades iguales de disolución reguladora, por lo tanto el mismo pH, y de electrolito de fondo. Una vez completada la reacción se procedía a la medida del pH de la mezcla de reacción.

3.4.2. REACCIONES DE DESCOMPOSICIÓN DE N-CL-COMPUESTOS

Para preparar la muestra de reacción hay que tener en cuenta la velocidad de reacción del N-Cl-compuesto. Esta reacción no siempre tiene lugar a la misma velocidad y depende marcadamente del pH del medio (Armesto *et al*, 1993, Armesto *et al*, 1994). Las condiciones elegidas para generar el N-Cl-compuesto fueron aquellas que más favorecieran la reacción entre el agente clorante y N-Compuesto. En otros estudios realizados se comprobó que estas condiciones eran a un valor de pH próximo a 9, para el caso de la formación de N-Cl-compuestos y cercano a 11 para la formación de N-Br-compuestos.

Con el fin de conseguir este pH, el hipoclorito generado según el procedimiento expuesto en el apartado 1 se llevaba hasta un valor de pH igual a 9, mediante la adición de ácido perclórico. En estas condiciones se garantiza que la cloración se efectuará rápidamente.

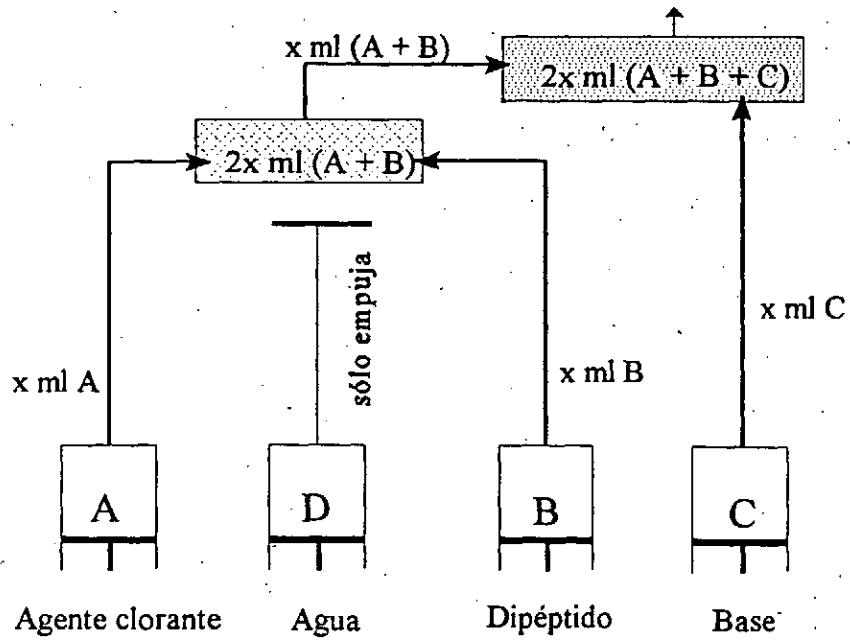
Según esto, en las cubetas del espectrofotómetro se añadía en un principio el N-compuesto, el electrolito de fondo y el agua necesaria, se homogeneizaba y se introducía en el interior del espectrofotómetro para termostatar la mezcla. En el interior del baño termostático se introducían el agente clorante o halogenante y la disolución reguladora o el hidróxido sódico (según la descomposición fuera en medio neutro o básico). Una vez las disoluciones alcanzaran la temperatura deseada se añadía primero el agente halogenante, rápidamente se homogeneizaba con el fin de evitar un exceso local de agente halogenante y así evitar la formación de N,N-Cl-compuesto.

En cuanto al seguimiento de las reacciones descomposición de N-Cl-dipéptidos en medio básico, estas se realizaron con la técnica de flujo detenido, excepto aquellas que eran lo suficientemente lentas como para poderlas seguir en un espectrofotómetro convencional UV-Vis.

Esto se realizó así hasta que se pudo utilizar un mezclador múltiple con 4 jeringas. En una de las jeringas se colocaba una disolución de agente clorante, en otra la disolución de dipéptido, en otra la disolución de hidróxido sódico (todas las disoluciones con la misma fuerza iónica) y en la última agua (Esquema 3.2). El sistema funciona de forma que primero se mezclan las dos primeras jeringas (A y B) en una cámara de premezclado (así se formaba en N-Cl-dipéptido) y después de un tiempo (que se podía cambiar) esta mezcla se juntaba con idéntica cantidad de la disolución de la tercera jeringa C (el hidróxido sódico). El agua de la cuarta jeringa nunca se mezclaba con las anteriores disoluciones, su única finalidad es empujar la mezcla final a la célula de medida. No se observó ningún cambio en los resultados de las reacciones realizadas con el mezclado múltiple y el mezclado sencillo.

Las reacciones de descomposición de N-Cl-dipéptidos en medio neutro y aquellas de

medio básico seguidas con espectrofotómetros convencionales se realizaron de la misma forma que para la valina.



Esquema 3.2.: Modo de mezclado del SF-61MX de Hi-Tech Scientific

3.5.- MÉTODOS CINÉTICOS

Tal como se indicó, el registro cinético de las reacciones, tanto para la formación como para la descomposición, se ha efectuado espectrofotométricamente con el tiempo. La determinación de las constantes de velocidad se realizó por el método de integración.

Como se ha indicado anteriormente para el estudio de las reacciones de descomposición se ha utilizado el método de aislamiento, independientemente del orden real de la reacción, el pseudoorden con respecto al N-Cl-compuesto era uno. Teniendo en cuenta esta condición y la estequiometría de la reacción se cumplirá que:



$$v = \frac{-d[\text{N-X-Compuesto}]}{dt} = k_{\text{exp}} \cdot [\text{N-X-Compuesto}]$$

Una vez integrada la ecuación y sobre la base del cumplimiento de la ley de Lambert-Beer, se obtiene:

$$\ln(A_t - A_\infty) = \ln(A_0 - A_\infty) - k \cdot t$$

ecuación que corresponde a la ecuación de una recta de pendiente k y de ordenada en el origen $\ln(A_0 - A_\infty)$.

En el momento de aplicar la ecuación anterior surge el inconveniente del desconocimiento de A_∞ , este parámetro se puede conocer o bien por medida directa de la absorbancia transcurrido un tiempo suficientemente grande respecto a la vida media de la reacción o bien utilizando un método matemático de estimación.

Para el estudio de las reacciones de orden dos se trabajó en condiciones en las cuales las concentraciones de los reactivos eran iguales, por lo tanto según esto para una reacción del tipo que se estudió:



y teniendo en cuenta que $[\text{agente clorante}]_0 = [\text{N-Compuesto}]_0 = [A]_0$ puede demostrarse que la ecuación integrada a la que se llega:

$$\frac{1}{[A]_t} - \frac{1}{[A]_0} = k \cdot t$$

Teniendo en cuenta el cumplimiento de la ley de Lambert-Beer se puede expresar la concentración de N-Cl-Compuesto a tiempo t en función de las absorbancias a tiempo infinito A_∞ y a tiempo t A_t , así como de la diferencia entre los coeficientes de absortividad molar entre reactivos y productos:

$$[A]_t = \frac{A_t - A_\infty}{\Delta \epsilon}$$

Sustituyendo la expresión anterior en la ecuación integrada de orden dos en función de las concentraciones, se obtiene la ecuación integrada de orden dos en función de las absorbancias:

$$\frac{1}{A_\infty - A_t} = \frac{1}{A_\infty - A_0} + \frac{k \cdot t}{\Delta \epsilon}$$

A partir del registro experimental de los valores de absorbancia/tiempo, el ajuste matemático de los datos experimentales y, por consiguiente la estimación de la constante de velocidad, se efectuó mediante programas de optimización no lineal que se describen en el apartado siguiente.

El porcentaje de reacción que se ajustaba, era en todos los casos lo suficientemente amplio como para poder obtener buenos datos (en todas las experiencias se dejaba transcurrir por lo menos 2,5 veces el tiempo de vida media). Los ajustes que no presentaban buenos residuos se desechaban; si bien en algunos casos se descartaban algunos datos hasta conseguir un ajuste aceptable. En las reacciones de descomposición en algunas ocasiones hubo que desechar los datos iniciales ya que con ellos los residuos no eran aleatorios, esto puede atribuirse a la formación de N,N-dicloro-compuesto que interfiere en la reacción de descomposición del N-Cl-compuesto.

3.6.- MÉTODOS NUMÉRICOS

3.6.1. OPTIMIZACIÓN LINEAL

La regresión lineal por mínimos cuadrados ha sido el método utilizado para el ajuste a los datos experimentales de las distintas ecuaciones de velocidad, así como la estimación de los parámetros que intervienen en diversas regresiones lineales, tales como: coeficientes de absorptividad molar, parámetros de activación, constantes catalíticas, etc. Según la metodología de los mínimos cuadrados, los mejores estimadores de los parámetros α y β para una dependencia lineal del tipo

$$f(x,y) = \alpha + \beta \cdot g(x,y)$$

son los valores A y B que minimizan la suma de cuadrados definida como:

$$Q = \sum_{i=1}^n [f(x_i, y_i) - A - B \cdot g(x_i, y_i)]^2 \cdot w_i$$

donde x e y son magnitudes empíricas y w_i es un factor de ponderación (Draper & Smith, 1984).

A partir de esta expresión pueden obtenerse las expresiones conocidas de mínimos cuadrados ponderados que permiten calcular A y B y sus desviaciones típicas correspondientes. Los cálculos se realizaron mediante los programas "FIG-P" y "ENZFITTER" ambos distribuidos por Biosoft-Elsevier, que proporcionan directamente los valores A y B , sus desviaciones típicas, permitiendo realizar análisis estadísticos de regresión muy completos.

3.6.2. OPTIMIZACIÓN NO LINEAL

En el caso de que la función anterior $f(x,y)$ correspondiente a los datos experimentales contenga, en forma no lineal, un parámetro no conocido Φ , es necesario recurrir a métodos de optimización no lineal. En este trabajo se han utilizado dos métodos, el monodimensional de Davies, Swann y Campey (DSC) (Davies *et al*, 1927) y el de Marquardt (Marquardt, 1963).

El método DSC se aplica cuando dada una ecuación lineal con dos parámetros A y B interviene un tercero valor desconocido Φ (en el caso que nos ocupa es la absorbancia a tiempo infinito):

$$f(x,y,\Phi) = A + B \cdot g(x,y,\Phi)$$

de acuerdo con el principio de mínimos cuadrados, los valores óptimos de A y B y Φ han de hallarse minimizando el valor de la función Q definida como:

$$Q = \sum_{i=1}^n [f(x_i, y_i, \Phi) - A - B \cdot g(x_i, y_i, \Phi)]^2 \cdot w_i$$

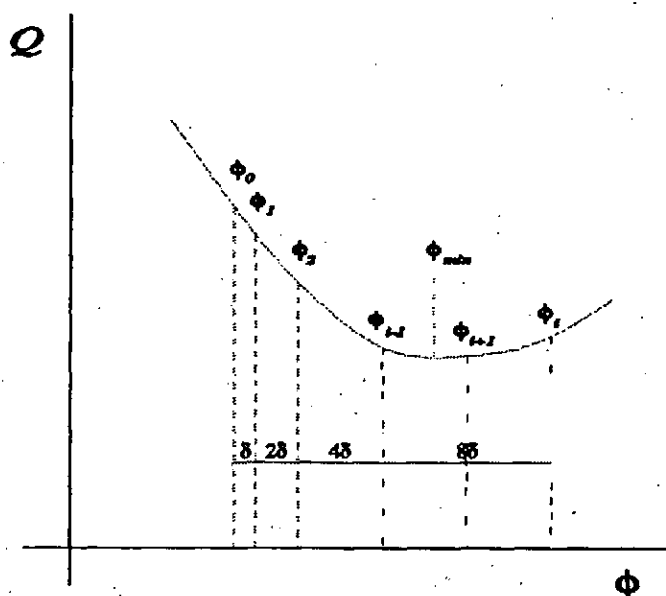


Figura 3.6: Optimización del valor mínimo de la suma de cuadrados Q mediante el algoritmo DSC.

La figura 3.6 muestra el modo de operación del DSC. A partir de un valor inicial Φ_0 para Φ se determinan los valores A y B que minimizan la suma de cuadrados Q obteniéndose el valor Q_0 . A continuación se repite la estimación de A y B con un nuevo valor $\Phi_1 = \Phi_0 + \delta$ para Φ (donde δ se denomina "tamaño de paso"). Este proceso se repite iterativamente con $\Phi_i = \Phi_0 + (2^i - 1) \cdot \delta$ hasta obtener un valor $Q_i > Q_{i-1}$. Una vez alcanzada esta situación (se dice que se ha alcanzado la convergencia) se calcula el valor Q_{i+1} en el punto $\Phi_{i+1} = (\Phi_{i-1} + \Phi_i) / 2$.

Los puntos Q_{i-1} , Q_i , Q_{i+1} se ajustan a una parábola cuyo mínimo se considera la mejor aproximación al valor mínimo de Q (Q_{\min}). Este proceso puede repetirse partiendo de los valores obtenidos y reduciendo el valor absoluto de δ hasta satisfacer un criterio de convergencia preestablecido.

Los valores A, B, Φ correspondientes al Q_{\min} finalmente obtenido se consideran los mejores estimadores de A, B y Φ .

Un listado del programa empleado, escrito en lenguaje BASIC (Casado *et al*, 1983), se recoge en el Apéndice. En él se incluye una mejora consistente en el cálculo de la desviación típica de la absorbancia a tiempo infinito.

El algoritmo de optimización no lineal de Marquardt es de uso muy extendido y es generalmente empleado en los programas informáticos comerciales, siendo los ajustes obtenidos perfectamente compatibles con los obtenidos mediante el algoritmo DSC.

La Figura 3.7 muestra un ejemplo típico de ajuste de la ecuación integrada de orden uno a los datos experimentales A / t para la fragmentación de (N-X)- α -aminoácidos.

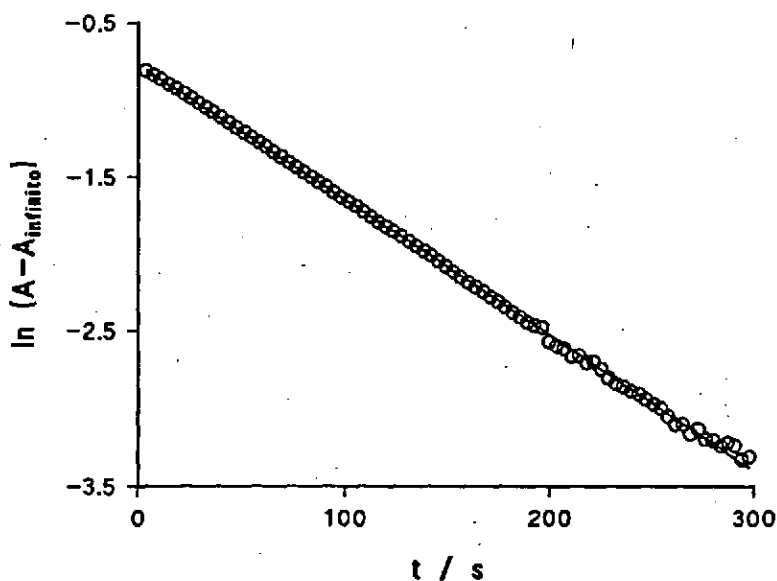


Figura 3.7: Ajuste de la ecuación integrada de orden uno a los datos Absorbancia-tiempo.

Como se dijo anteriormente, en todos los casos se analizó la distribución de los residuos del ajuste (un ejemplo se muestra en la Figura 3.8), no aceptando aquellos ajustes en que no fuese aleatoria; ello permite en ocasiones detectar la presencia de vías de reacción espúreas o de alteraciones en el experimento. Ocasionalmente se han empleado tests cuantitativos para el análisis de los residuos, como los Durbin-Watson (Draper & Smith, 1984).

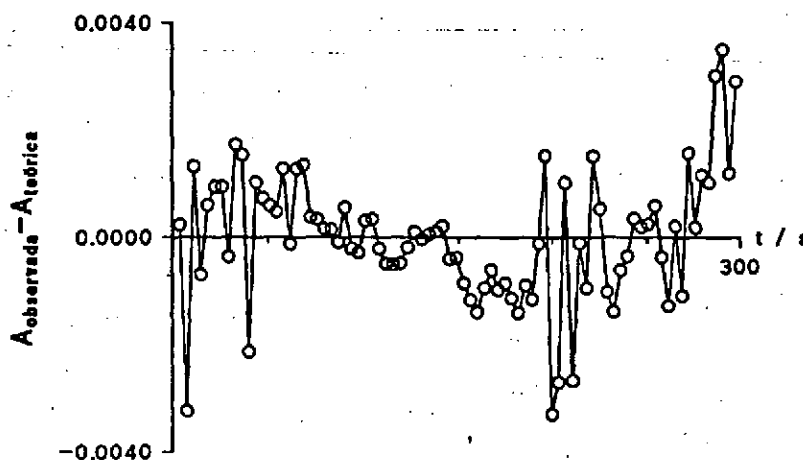


Figura 3.8: Residuos para un ajuste de una cinética de orden uno.

3.7.- ANÁLISIS DE PRODUCTOS

3.7.1. DETERMINACIÓN DE AMONIACO

En la reacción de descomposición de los N-Cl-compuestos se obtiene amoníaco como producto (menos para aquellos N-alquil,N-compuestos).

Los análisis de amoníaco se llevaron a cabo mediante un electrodo selectivo de amoníaco Ingold, para lo cual se elaboraron curvas de calibrado con cloruro de amonio MERCK *pro analysi*, tal como muestra la figura 3.9. Las determinaciones de amoníaco se hubieron de realizarse a una concentración de 0,2 M de hidróxido sódico, ya que la respuesta del electrodo es óptima en dicha fuerza iónica.

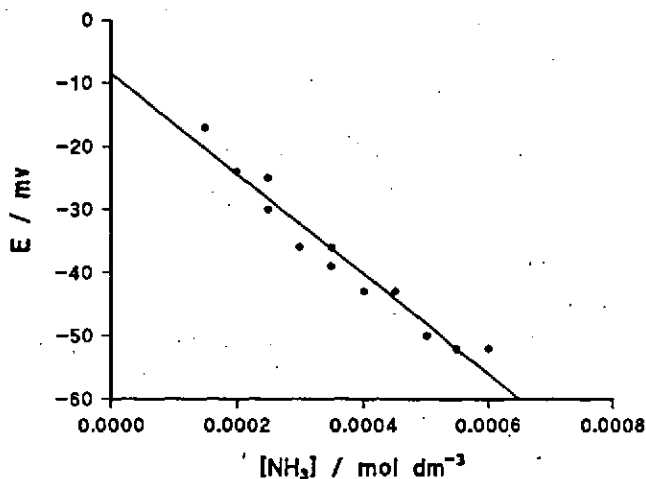


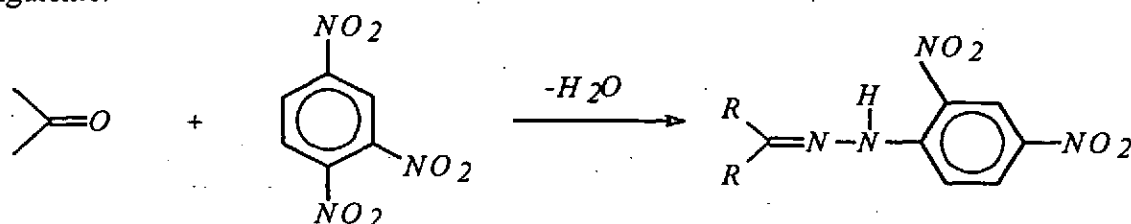
Figura 3.9: Calibrado realizado con NH_4Cl para la determinación de amoníaco

3.7.2. DETERMINACIÓN DEL CLORO ACTIVO

La inexistencia de cloro activo al final de las reacciones se comprobó por la ausencia de color al tratar la muestra con disolución de ioduro potásico tamponado con disolución de ácido acético/acetato (Bermejo, 1974).

3.7.3. DETERMINACIÓN DE ALDEHÍDOS Y CETONAS

Los análisis de aldehídos y cetonas se llevaron a cabo generando las correspondientes (2,4)-dinitrofenilhidrazonas, que se extrajeron con hexano, midiendo posteriormente la absorbancia de la solución resultante a 430 nm (Lohman, 1958). El proceso que tiene lugar es el siguiente:



Los coeficientes de absortividad de las (2,4)-dinitrofenilhidrazonas se obtuvieron haciendo reaccionar el aldehído correspondiente con (2,4)-dinitrofenilhidrazina y realizando curvas de calibrado con el producto generado. Un ejemplo de este tipo de calibrado se puede ver en la figura 3.10 (calibrado para la (2,4)-dinitrofenilhidrazona del 2-metilpropanal, aldehído que resulta de la fragmentación de la N-Cl-Valina).

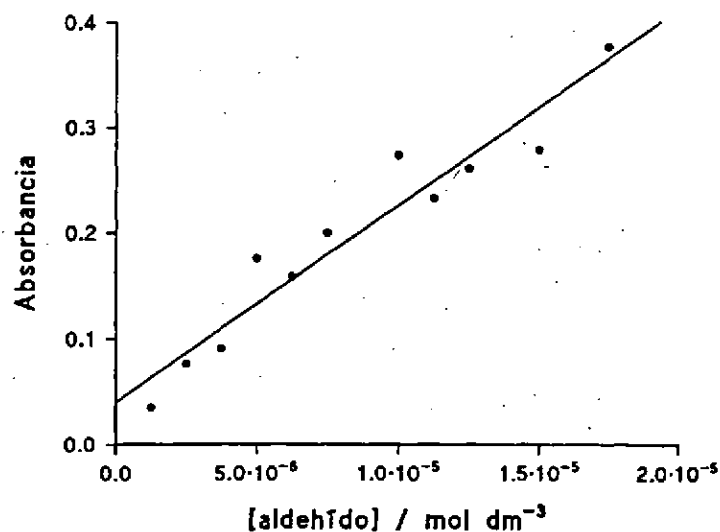


Figura 3.10: Curva de calibrado para la (2,4)-dinitrofenil-hidrazona del 2-metil-propanal

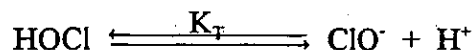
3.8.- DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE EQUILIBRIO DE IONIZACIÓN ÁCIDO-BASE

Para el estudio de las reacciones de formación de N-Cl-compuestos resultó necesario conocer algunas constantes de equilibrio de ionización de los reactivos que intervenían en el proceso (el ácido hipocloroso y los N-compuestos) en las condiciones en las que se llevaron a cabo las reacciones. Los métodos empleados para la determinación de estas constantes fueron dos: el método espectrofotométrico (para el ácido hipocloroso) y el método potenciométrico (para los N-Compuestos).

3.8.1. DETERMINACIÓN DEL pK_a DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO

El pK_a del ácido hipocloroso se determinó por espectrofotometría UV-VIS, teniendo en cuenta que el ácido hipocloroso y su anión correspondiente ClO^- presentan su máximo de absorbancia a una longitud de onda diferente. Las experiencias se realizaron midiendo la absorbancia a 292 nm donde se presenta el máximo de absorción el ion hipoclorito.

Las experiencias se llevaron a cabo en las mismas condiciones de fuerza iónica en las que se realizaron las reacciones de formación de los N-Cl-compuestos. El pH se mantuvo con ácido clorhídrico e hidróxido sódico MERCK. Hay que tener en cuenta la relación entre las absorbancias de las distintas especies que intervienen en el equilibrio, el pK_a , y el pH para poder determinar el valor del pK_a . Teniendo en cuenta el equilibrio la constante termodinámica K_T es:



la constante de equilibrio se puede expresar:

$$K_T = \frac{(ClO^-) \cdot (H^+)}{(HOCl)}$$

$$K_T = \frac{[ClO^-] \cdot (H^+) \cdot \gamma_{ClO^-}}{[HOCl] \cdot \gamma_{HOCl}}$$

tomando logaritmos y reordenando:

$$pK_{obs} = \log \frac{[HOCl]}{[ClO^-]} + pH = pK_T + \log \frac{\gamma_{ClO^-}}{\gamma_{HOCl}}$$

el cociente $[HOCl]/[ClO^-]$ se puede determinar por espectrofotometría teniendo en cuenta la Ley de Beer-Lambert:

$$A = \epsilon_{HOCl} [HOCl] + \epsilon_{ClO^-} [ClO^-] + A_{residual}$$

$$A_{HOCl} = \epsilon_{HOCl} [HOCl] + A_{residual}$$

$$A_{ClO^-} = \epsilon_{ClO^-} [ClO^-] + A_{residual}$$

Así el cociente se puede poner como:

$$\frac{[HOCl]}{[ClO^-]} = \frac{A - A_{ClO^-}}{A_{HOCl} - A}$$

Combinando las expresiones anteriores llegamos a una expresión que relaciona el pK_a con las absorbancias de las especies en equilibrio y el pH:

$$\log \left(\frac{A - A_{ClO^-}}{A_{HOCl} - A} \right) = pK_{obs} - pH$$

Según esta expresión es necesario conocer los valores de A_{ClO^-} , A_{HOCl} y A a diferentes valores de pH, para lo cual en la bibliografía (Albert & Serjeant, 1971) se recomienda medir valores de absorbancia a diferentes valores de pH comprendidos una unidad en torno al valor aproximado del pK_a a determinar. Los valores de A_{ClO^-} y A_{HOCl} se obtenían midiendo la absorbancia (a 292 nm) a valores de pH en los cuales las especies dominantes fueran el ion hipoclorito y el ácido hipocloroso respectivamente. Representando la absorbancia frente al pH se obtiene una gráfica como la de la figura 3.11. De este modo se obtuvieron las constantes de equilibrio mixtas o de Brønsted.

En la tabla 3.1. se muestran los resultados obtenidos para el pK_a del ácido hipocloroso a diferentes temperaturas y a las condiciones de fuerza iónica en las que se realizaron las experiencias de formación de los N-Cl-compuestos I ($NaCl$) = 0,7 M (Armesto *et al*, 1994).

Tabla 3.1 : Constantes de equilibrio ácido-base para el ácido hipocloroso

T (°K)	pK_{obs}
288	7.33
293	7.29
298	7.26 (1.16)*
303	7.21
308	7.19
313	7.15

* I ($NaClO_4$) = 0,7 M

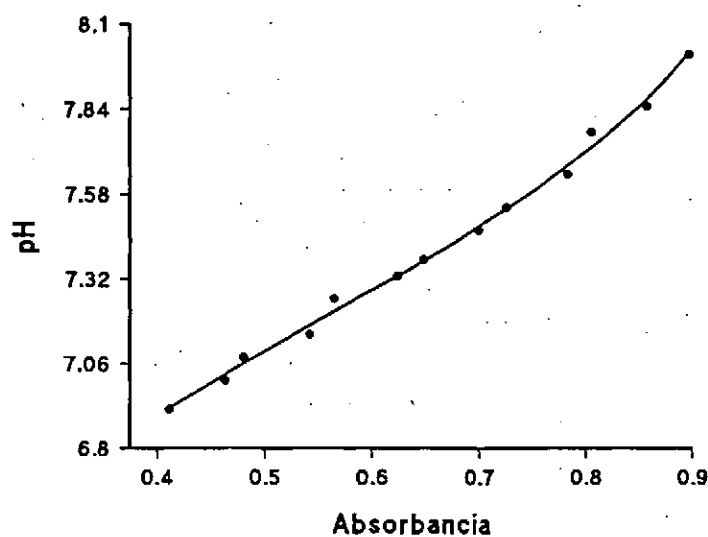
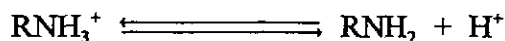


Figura 3.11: Determinación del pK_a del hipoclorito.
 $I(\text{NaCl}) = 0,7 \text{ M}$, $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.8.2. DETERMINACIÓN DEL pK_a DE LOS N-COMPUESTOS

Los valores del pK_a del grupo amino de algunos dipéptidos, se determinaron potenciométricamente. La constante de ionización que se calculó corresponde al equilibrio:



cuya expresión para la constante de equilibrio es:

$$K = \frac{(\text{RNH}_2) \cdot (\text{H}^+)}{(\text{RNH}_3^+)}$$

Para deducir la expresión final hay que tener en cuenta el balance de materia respecto al aminoácido, el principio de electroneutralidad de la disolución y el producto iónico del agua:

$$[\text{Aminoácido}]_0 = [\text{RNH}_2] + [\text{RNH}_3^+]$$

$$[\text{ClO}_4^-] + [\text{OH}^-] = [\text{RNH}_3^+] + [\text{B}^+]$$

$$K_w = [\text{H}^+] \cdot [\text{OH}^-]$$

donde $[\text{ClO}_4^-]$ representa la cantidad de anión perclorato que proviene del ácido perclórico que se ha añadido para realizar la valoración. Tomando logaritmo en la ecuación de la constante y combinando las cuatro expresiones, se llega a:

$$pK_{obs} = pH - \log \left[\frac{[\text{Aminoácido}]_0}{[C_0 + (K_w \cdot 10^{-pH} - 10^{-pH})] \cdot (V_0 + v)} - 1 \right]$$

donde:

- C_0 es la concentración del ácido valorante,
- v es el volumen de ácido añadido en cada punto de la valoración,
- V_0 es el volumen inicial de la disolución,
- $[\text{aminoácido}]_0$ se refiere a los moles iniciales de aminoácido,
- K_w es el producto iónico del agua,
- pK_{obs} es la constante mixta definida por:

$$K_{obs} = \frac{[\text{RNH}_2]}{[\text{RNH}_3^+]} \cdot (H^+)$$

La ecuación se ajustó a los datos experimentales de volumen de base añadida y pH empleando el programa MINQUAD (Vacca & Sabatini, 1985).

La siguiente tabla se pueden ver los resultados obtenidos por este método para diferentes dipéptidos a diferentes temperaturas:

Tabla 3.2.: Valores de pK_{a2} de dipéptidos

T ($^{\circ}\text{K}$)	pK_{obs} Gly-Gly	pK_{obs} Gly-GlyOEt
288	8.49	8.44
293	8.37	8.24
298	8.25	8.07
303	8.13	7.90
308	8.02	7.74
313	7.89	----

Capítulo 4

Descomposición de la N-Cl-valina

Capítulo 4

Descomposición de N-Cl-valina

En este capítulo se discutirá el mecanismo de la reacción de descomposición de la N-Cl-valina en medio neutro y básico.

4.1.- RESULTADOS EXPERIMENTALES.

Como ya se indicó en el capítulo 3, la reacción de descomposición de la N-Cl-valina se ha seguido midiendo la absorbancia a 255 nm utilizando espectrofotometría UV-Vis.

4.1.1. COMPROBACIÓN DEL ORDEN DE REACCIÓN

Al consultar la bibliografía se observa que los procesos de descomposición de N-cloroaminoácidos que se han estudiado son de orden uno, por lo que cabe esperar que la descomposición de la N-Cl-Valina sea también de orden uno.

$$v = -\frac{\partial [N-Cl-val]}{\partial t} = k_{obs}[N-Cl-val]$$

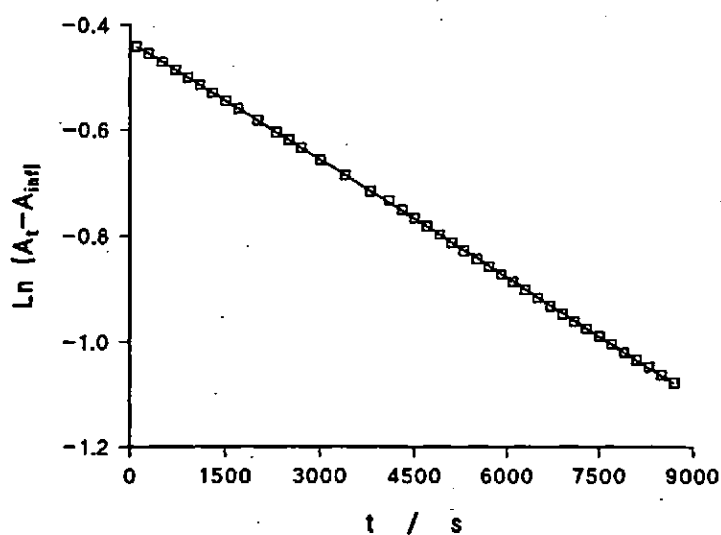


Figura 4.1 Comprobación del orden de reacción para la descomposición N-Cl-Val

Se comprobó que los datos obtenidos de absorbancia tiempo se ajustaban a la ecuación integrada de orden uno como se refleja en la figura 4.1. Este comportamiento se ha observado en la zona de pH estudiada $4 < \text{pH} < 14$.

4.1.2. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS REACTIVOS

La constante de velocidad es independiente de las concentraciones iniciales de agente clorante y aminoácido tal como se puede observar en las tablas 4.1 y 4.2.

Tabla 4.1. Influencia de la concentración de hipoclorito. $[Val] = 1.16 \cdot 10^{-2} M$

pH= 4.3	$[ClO] \cdot 10^4 (M)$	2.58	2.13	1.48	1.24	0.79
	$k \cdot 10^3 (s^{-1})$	1.97	1.95	1.92	1.91	1.89
pH= 5.2	$[ClO] \cdot 10^4 (M)$	248	173	107		
	$k \cdot 10^3 (s^{-1})$	178	1.71	1.85		
pH= 6.2	$[ClO] \cdot 10^4 (M)$	248	2.13	1.78	142	1.07
	$k \cdot 10^3 (s^{-1})$	1.86	1.78	1.81	1.83	1.84
pH= 7.2	$[ClO] \cdot 10^4 (M)$	2.55	185	1.36	0.95	0.60
	$k \cdot 10^3 (s^{-1})$	1.92	1.94	1.94	1.97	1.88
pH= 8.5	$[ClO] \cdot 10^4 (M)$	255	2.19	1.85	1.46	1.09
	$k \cdot 10^3 (s^{-1})$	1.95	1.87	1.95	1.91	1.93
pH= 9.3	$[ClO] \cdot 10^4 (M)$	2.60	213	1.76	1.28	0.91
	$k \cdot 10^3 (s^{-1})$	175	174	174	172	172
pH= 10.4	$[ClO] \cdot 10^4 (M)$	265	199	155	126	0.85
	$k \cdot 10^3 (s^{-1})$	1.89	1.95	1.99	1.99	2.01
pH= 13.5	$[ClO] \cdot 10^4 (M)$	246	201	155	111	0.86
	$k \cdot 10^3 (s^{-1})$	3.32	3.62	6.29	3.29	3.20

Hay que tener presente en estas experiencias que la concentración de hipoclorito debe de estar siempre en defecto con respecto al aminoácido. Por ello ha de cuidarse que al cambiar la concentración, siga en defecto el hipoclorito, con el fin de evitar la formación del N,N-dicloroaminoácido.

A los valores de pH en los que se estudió la influencia del hipoclorito, también se comprobó la ley de Beer para la N-Cl-valina, empleando para ello las absorbancias iniciales obtenidas de los ajustes de las curvas experimentales. Los resultados están reflejados en la figura 4.2.

Tabla 4.2 Influencia de la concentración de Val. $2 \cdot 10^{-3} M < [ClO] < 2.5 \cdot 10^{-3}$

$[Val] \cdot 10^3 (M)$	8.67	8.00	7.33	6.67	6.00
pH=4.1	1.82	1.82	1.88	2.04	1.84
pH=5.0	1.71	1.71	1.72	1.71	1.72
pH=7.0	2.00	1.97	2.03	2.03	2.09
pH=8.9	1.91	1.89	1.92	1.91	---
pH=10.7	1.99	1.95	1.97	1.96	1.98
[NaOH]=0.3 M	3.10	3.06	2.99	2.96	3.50

En contraste con lo expuesto por diversos autores, se ha comprobado que el coeficiente de absorptividad molar no varía con el pH y depende del procedimiento de mezclado (Armesto *et al*, 1993b). Como se puede observar en la tabla 4.3 coeficiente de absorptividad molar es independiente del pH, obteniéndose un valor promedio de $\epsilon = 345 \pm 12 M^{-1} cm^{-1}$ ($\lambda = 255 nm$ y $4 < pH < 14$).

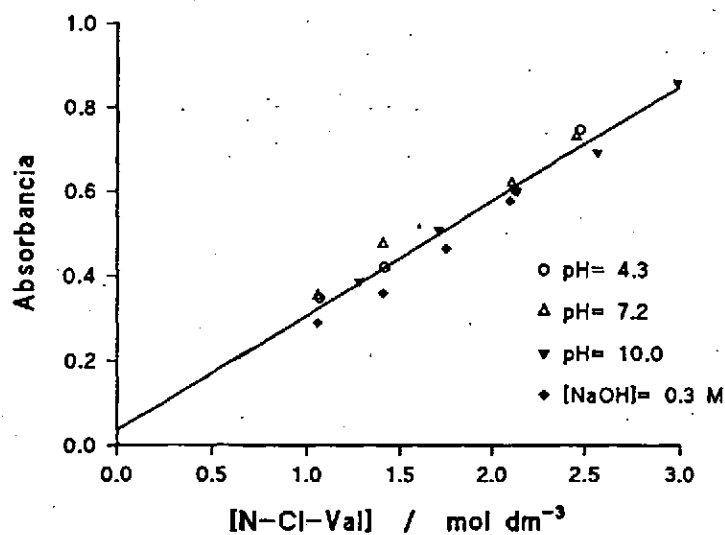


Figura 4.2.: Cumplimiento de la ley de Lambert-Beer.
 $I = 0.5 M (NaCl)$, $T = 298 K$

La constancia del coeficiente de absorptividad molar con el pH permite concluir que el grupo amino no se protona de modo significativo cuando el $pH > 4$, lo que implica que el pK_a del

grupo N-Cl-amino debe de ser menor que 4. Esto muestra claramente el poder acidificante del átomo de cloro al pasar del grupo amino al N-Cl-amino y concuerda con el hecho de que el pK_a de las N-Cl-aminas es alrededor de 10 unidades menor que el de las aminas (Weil & Morris, 1949b).

4.1.3. INFLUENCIA DEL PH

Como se puede observar en la figura 4.3 la constante de velocidad es independiente de la acidez en el intervalo de pH entre 4 y 13 encontrándose un valor para la $k_{obs} = (1.8 \pm 0.1) \cdot 10^{-4} s^{-1}$ a 298°K

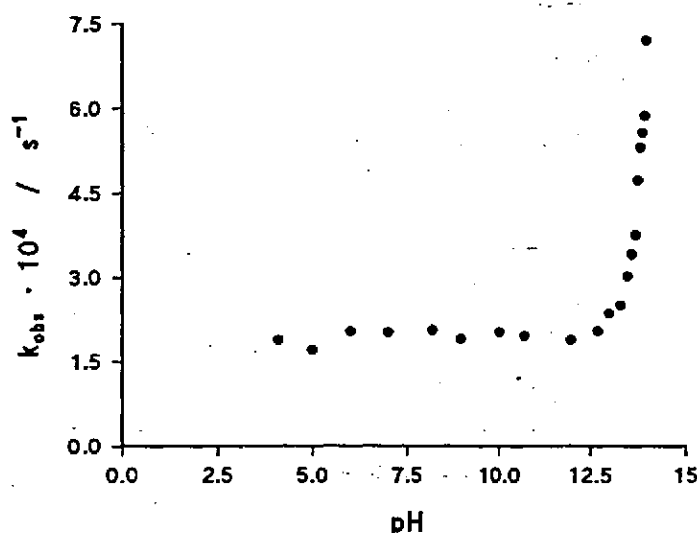


Figura 4.3.: Influencia del pH.
 $2 \cdot 10^{-3} < [ClO^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} M$, $I=0.5 M (NaCl)$, $T=298 K$

Cuando el $pH > 13$, la velocidad de la reacción incrementa con el pH del medio y del análisis de los datos cinéticos se concluye que la velocidad de reacción muestra una dependencia de orden uno con la concentración de iones hidróxido, por lo que puede establecerse la siguiente ecuación de velocidad:

$$v = v_0 + v_{OH} = k_{obs}[N-Cl-Val] = (k_0 + k_{OH}[OH^-])[N-Cl-Val]$$

donde v_0 representa la velocidad de la reacción independiente del pH, v_{OH} tiene en cuenta la dependencia con la concentración de hidróxido sódico, k_0 es la constante de velocidad de la reacción unimolecular y coincide con el valor de k_{obs} a $pH < 13$ y k_{OH} es la constante catalítica de los iones hidróxido.

Estas experiencias se llevaron a cabo a diferentes fuerzas iónicas y diferentes temperaturas. En la figura 4.4 se puede observar la dependencia de la velocidad con la concentración de hidróxido sódico a diferentes temperaturas.

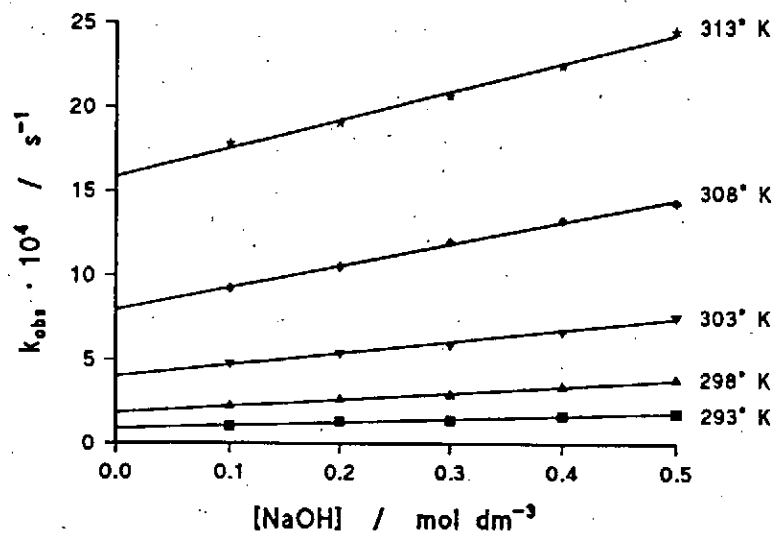


Figura 4.4.: Influencia de $[NaOH]$ a diferentes temperaturas.
 $I = 0.5 M (NaCl)$

De los valores de las pendientes de la gráfica de k_{obs} -OH se pueden obtener el valor de la constante catalítica de los iones hidróxido a $I = 1 M (NaCl)$

$$k_{OH} = (7.7 \pm 0.45) \cdot 10^4 M^{-1} s^{-1}$$

4.1.4. INFLUENCIA DE LA FUERZA IÓNICA

Los resultados muestran que la fuerza iónica no ejerce ninguna influencia en la reacción en intervalo de pH comprendido entre 4 y 13. En la tabla 4.3 se reflejan estos resultados.

A valores de pH > 13 la fuerza iónica influye notablemente en la velocidad. De hecho, si el ion hidróxido es el único electrolito presente en el medio de reacción, la representación de k_{obs} frente a [NaOH] muestra curvatura, la cual podría ser interpretada equívocamente como una dependencia compleja con respecto a la [NaOH] (figura 4.5).

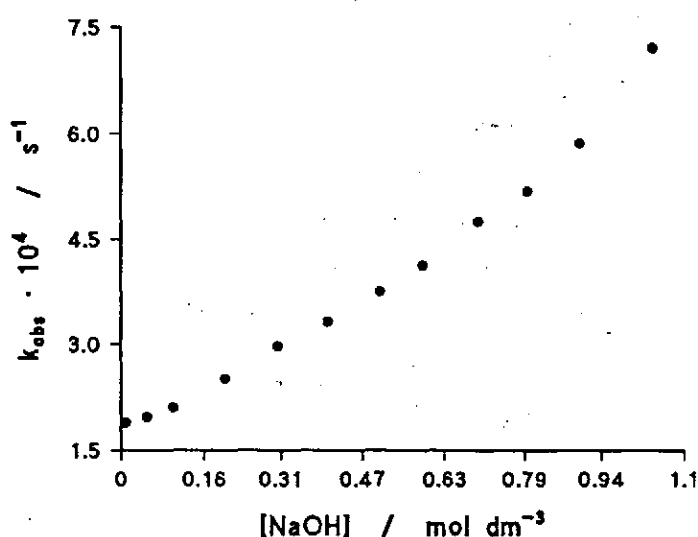


Figura 4.5.: Influencia de los iones hidróxido a fuerza iónica variable, T = 298 °K

Tabla 4.3.: Influencia de la fuerza iónica (NaCl) en el intervalo 4 < pH < 13

5.9 < pH < 4.3	I (M)	0.280	0.580	0.880	1.080	1.280
	k · 10 ³ (s ⁻¹)	2.06	2.07	2.08	2.09	2.09
8.0 < pH < 5.2	I (M)	0.076	0.376	0.676	0.876	1.076
	k · 10 ³ (s ⁻¹)	1.76	1.77	1.79	1.84	1.81
9.9 < pH < 6.2	I (M)	0.119	0.419	0.719	0.919	1.119
	k · 10 ³ (s ⁻¹)	1.83	1.85	1.84	1.91	1.85

Dicha curvatura desaparece cuando las experiencias se llevan a cabo a fuerza iónica constante como ha quedado de manifiesto en la figura 4.6.

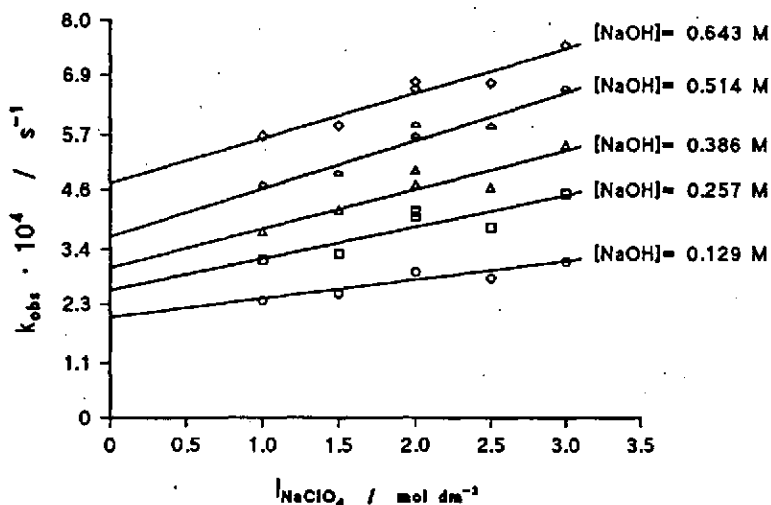


Figura 4.6.: Influencia de la fuerza iónica (NaClO_4) a diferentes concentraciones de NaOH , $T=298 \text{ }^\circ\text{K}$

Se llevó a cabo un estudio de la fuerza iónica en medio básico con diferentes electrolitos y a diferentes concentraciones de hidróxido sódico encontrándose, como ya se ha indicado antes, una marcada influencia. Lo que se muestra en las figuras 4.6 y 4.7

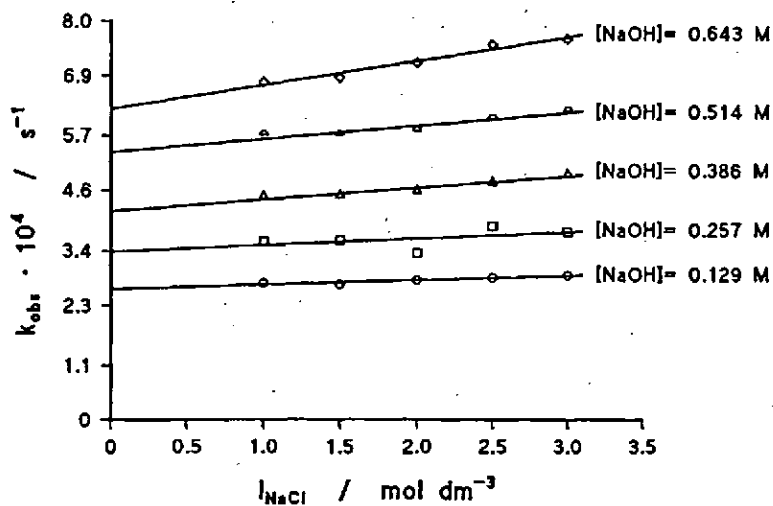


Figura 4.7.: Influencia de la fuerza iónica (NaCl) a diferentes concentraciones de NaOH , $T=298 \text{ }^\circ\text{K}$

En la siguiente gráfica (figura 4.8.), en la cual se representa la fuerza iónica frente a las constantes catalíticas del ion hidróxido, se puede observar que los electrolitos empleados influyen de forma diferente en la constante de velocidad. Las constantes catalíticas del ion hidróxido son obtenidas de las ordenadas en el origen de la representación de la constante de velocidad frente a la $[OH^-]$ a diferentes fuerzas iónicas y diferente electrolito.

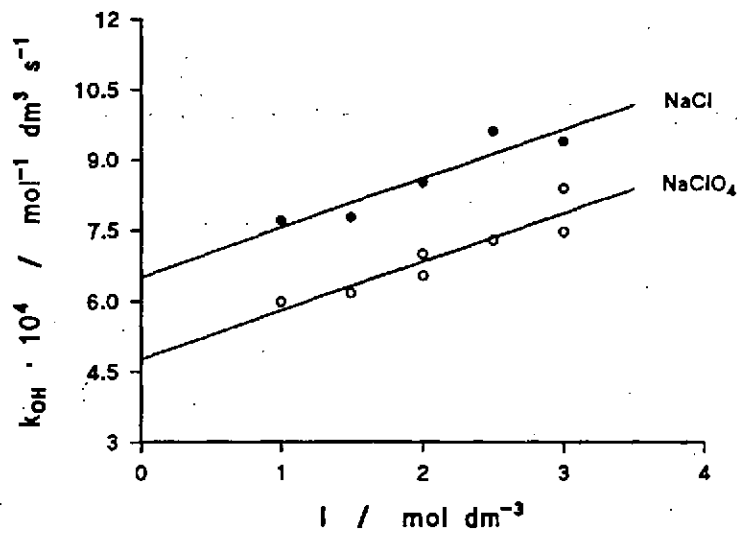


Figura 4.8.: Influencia de la fuerza iónica y del electrolito en la constante catalítica del ion hidróxido, $T = 298 \text{ }^\circ\text{K}$

4.1.5. INFLUENCIA DE LAS DISOLUCIONES REGULADORAS

Se llevó a cabo el estudio de la influencia de las disoluciones reguladoras en la constante de velocidad. Para ello se han utilizado como disoluciones reguladoras hidrógeno fosfato / dihidrógeno fosfato y (2,2,2)-trifluoretanol / (2,2,2)-trifluoretóxido y el resultado obtenido en ambos casos es un aumento de la constante de velocidad a medida que aumenta la concentración de la disolución reguladora.

4.1.5.1. Influencia de la disolución reguladora trifluoretanol / trifluoretóxido

El sistema de esta disolución reguladora corresponde al siguiente equilibrio:



en donde la especie aceptora de protones es el anión trifluoretóxido, cuyo valor depende del pH del medio y está relacionada con el pK_a del anterior equilibrio, que tiene un valor de $\text{pK}_a=12.43$ (Page & Webster, 1990).

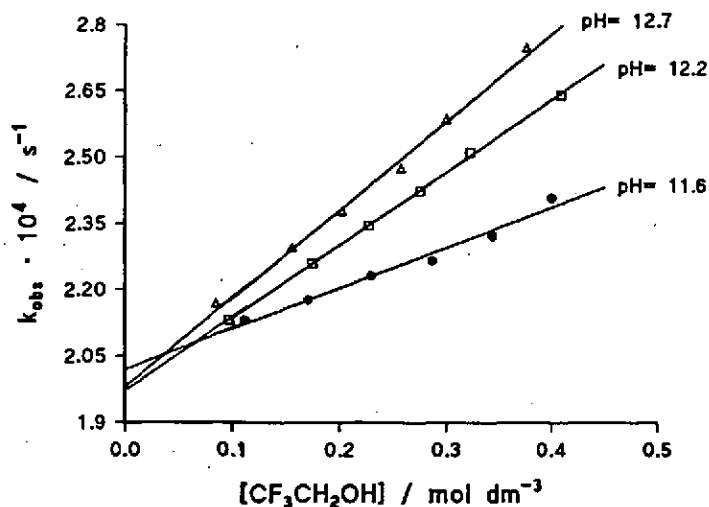


Figura 4.9.: Influencia del tampón trifluoretanol

Se determinó la influencia de trifluoretanol en la constante de velocidad a diferentes valores de pH, encontrándose una influencia de primer orden (figura 4.9).

Teniendo en cuenta esta dependencia se cumple:

$$k_{obs} = k_0 + k_b[\text{CF}_3\text{CH}_2\text{O}^-] + k_{OH}[\text{OH}^-]$$

Las pendientes varían con el pH, pero dado que el valor del pH de trabajo es alto, habrá que tener en cuenta el término catalítico de los iones hidróxido. Si a las k_{obs} se les resta el término $k_{OH} \cdot [OH^-]$ se llega a la siguiente representación en la que se observa que solo hay una especie catalítica que es el ion trifluoretóxido (figura 4.10).

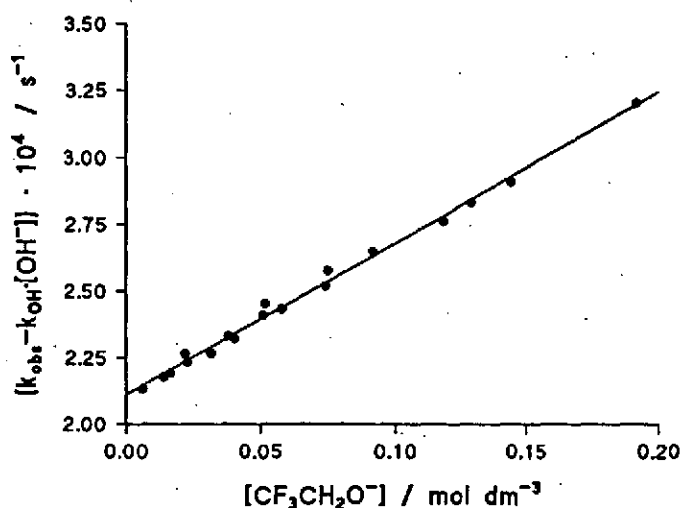


Figura 4.10.: Influencia del ion trifluoretóxido.

A partir de la pendiente de la representación anterior se calcula la constante catalítica del trifluoretóxido.

$$k_{TFE} = (3.64 \pm 0.25) \cdot 10^{-4} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

4.1.5.2. Influencia de la disolución reguladora H₂PO₄⁻/HPO₄⁻²

Siguiendo el mismo procedimiento para la disolución reguladora anterior se realizó el estudio de la influencia de la disolución reguladora dihidrógeno / monohidrógeno fosfato a diferentes valores de pH, obteniéndose como para la anterior una dependencia de orden uno (figura 4.11).

Pero se observa que al variar el pH las pendientes varían, lo que indica la presencia de dos especies catalizadoras distintas.

$$k_{obs} - k_0[OH^-] = k_0 + k_A[H_2PO_4^-] + k_B[HPO_4^{-2}]$$

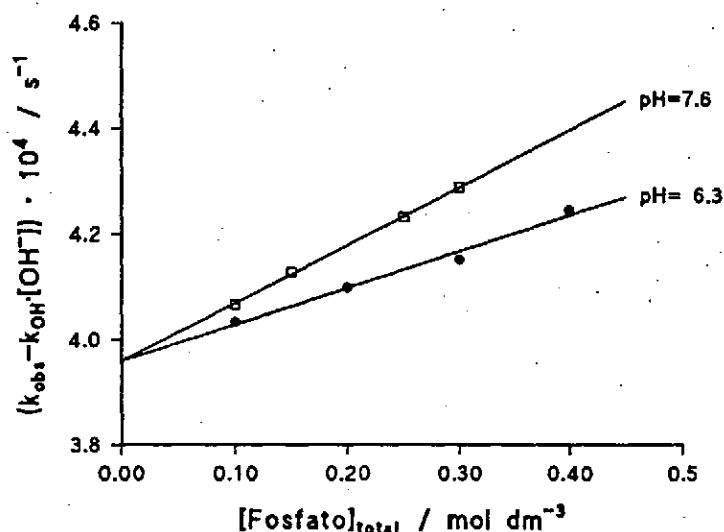


Figura 4.11.: Influencia de la disolución reguladora de fosfato, $I=1\text{ M (NaCl)}$, $T=303\text{ K}$

Para calcular la constante catalítica de cada una de las especies catalizadoras (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}) se representó la constante de velocidad frente a la concentración de una de las especies [HPO_4^{2-}] a diferentes valores de pH, obteniéndose dos pendientes diferentes (una para cada valor de pH) (figura 4.12).

Si los valores de las pendientes obtenidas de la gráfica anterior se representan frente a $1/[\text{H}^+]$ se obtiene una recta cuya ordenada y pendiente corresponden a las constantes catalíticas de cada una de las especies. Los valores obtenidos de esta forma a $I=1\text{ M (NaCl)}$ son:

$$k(\text{H}_2\text{PO}_4^-) = 0.12 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k(\text{HPO}_4^{2-}) = 1.3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

Teniendo en cuenta la influencia de las disoluciones reguladoras anteriores, puede establecerse la existencia de una catálisis general básica, por lo que se cumple que:

$$k_{obs} = k_0 + k_1 [\text{Base}]$$

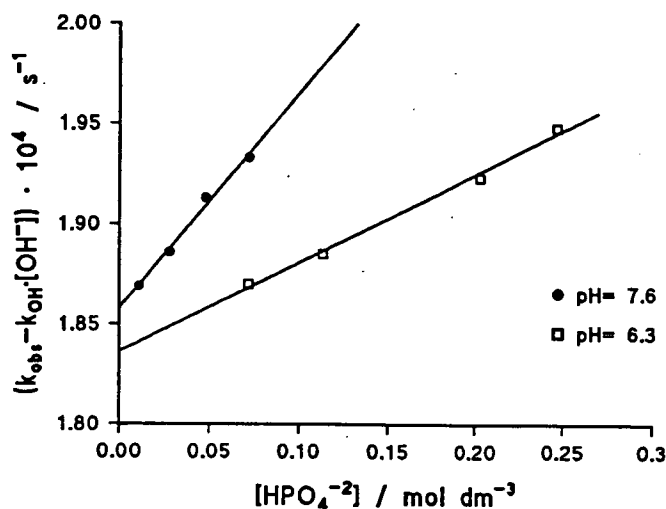


Figura 4.12.: Influencia de la [HPO₄²⁻]. I= 1 M (NaCl), T= 298 °K

4.1.6. INFLUENCIA DEL DISOLVENTE

La disminución de la polaridad del disolvente produce un incremento en la constante de velocidad, lo que se ha comprobado utilizando mezclas etanol - agua. Este comportamiento se puede observar en la figura 4.13.

El efecto del disolvente sobre la constante de velocidad responde a un expresión del tipo (Reichardt, 1990):

$$\ln k = \ln k_0 + \frac{e^2 \cdot N}{2 \cdot R \cdot T} \cdot \left(\frac{1}{r} - 1 \right) \cdot \left(\frac{z_R^2}{r_R} - \frac{z_\ddagger^2}{r_\ddagger} \right)$$

donde k es la constante de velocidad del sustrato considerado, k₀ es la de un sustrato de referencia, e es la carga del electrón, N es el número de Avogadro, R es la constante universal de los gases, T es la temperatura, ε_r es la constante dieléctrica relativa del disolvente, z_R es la carga del reactivo, z_‡ es la carga del estado de transición, r_R es el radio esférico de los reactivos y r_‡ es el radio esférico del estado de transición.

La influencia observada del disolvente se ajusta perfectamente a este modelo, lo que ha permitido estimar la diferencia entre los inversos del tamaño de los reactivos y del estado de transición para la N-Cl-valina, obteniéndose un valor de:

$$(1/r_R) - (1/r_\ddagger) = 3.57 \cdot 10^{19}$$

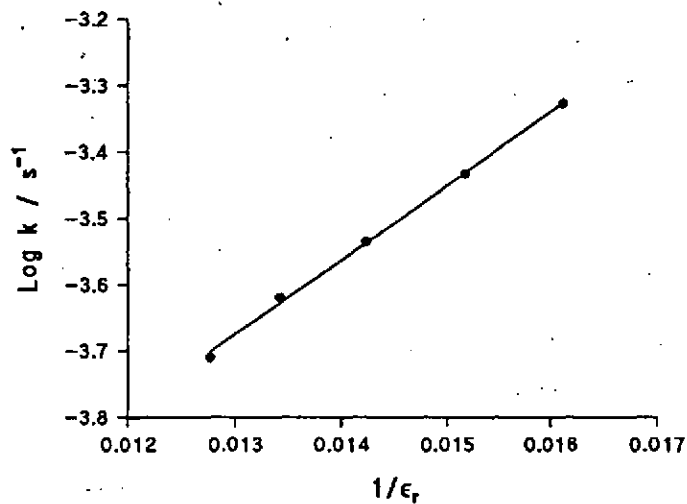


Figura 4.13.: Influencia de la polaridad del disolvente, pH= 7.5, T= 298 °K

4.1.7. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

En estudio de la influencia de la temperatura se llevó a cabo en medio neutro y alcalino. Así se comprobó que se cumplía la ecuación de Arrhenius en el intervalo de temperaturas

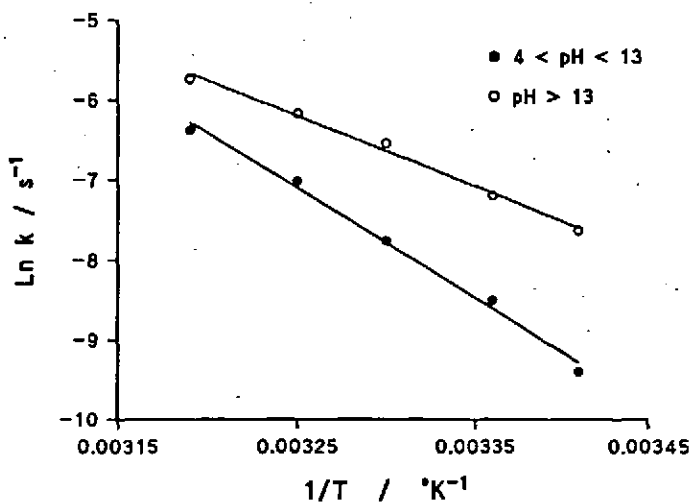


Figura 4.14.: Comprobación de la ley de Arrhenius

estudiado (Figura 4.14).

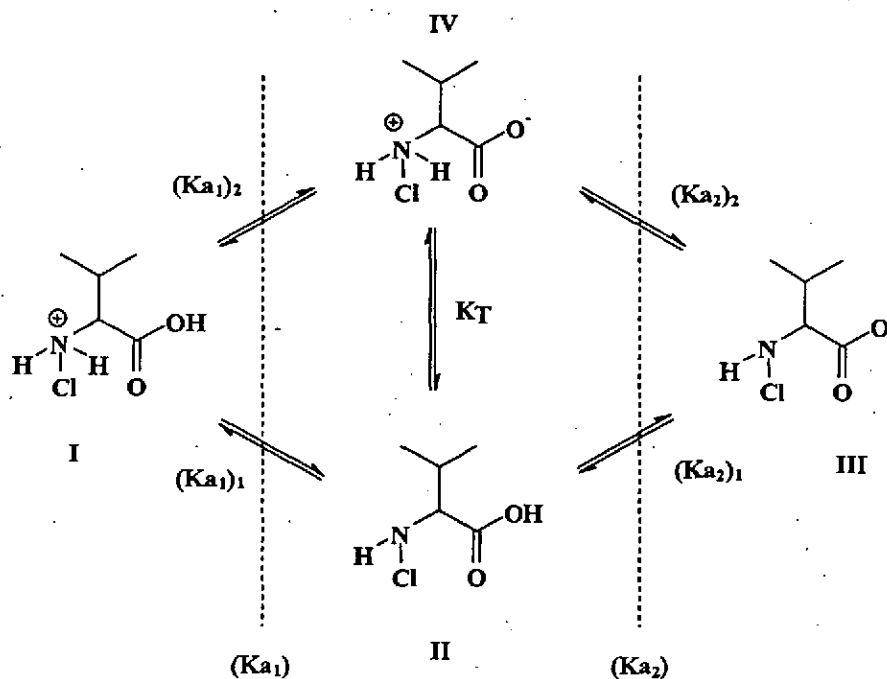
El estudio de la influencia de la temperatura se llevó a cabo a tres valores de pH entre 4 y 13 y en medio básico a diferentes concentraciones de hidróxido sódico, obteniéndose como valores medios para cada intervalo los presentados en la tabla 4.5.

4.2.- DISCUSIÓN DEL MECANISMO

Como ya se ha expuesto en el informe bibliográfico, la reacción de cloración de los N-Cl-aminoácidos tienen lugar de modo prácticamente instantáneo, cuando se ponen en contacto el agente clorante y el aminoácido (Canle L., 1994).

Una vez formado el N-Cl-aminoácido comienza a descomponerse, sobre la base de los resultados mostrados en el apartado anterior, se presentará ahora el mecanismo de descomposición de la N-Cl-valina, que se dividirá en dos partes: una para el intervalo de pH comprendido entre 4 y 13 y otra para el intervalo de pH > 13.

Como paso previo a la discusión del mecanismo de reacción es preciso aclarar cuál o cuáles de las posibles especies de N-Cl-aminoácido participan en el proceso. Para ello hay que considerar todos los equilibrios correspondientes que se muestran en el siguiente esquema (esquema 4.1.):



Esquema 4.1.: Posibles equilibrios de ionización para N-Cl-Val.

donde K_{a1} y K_{a2} son la primera y segunda constantes de ionización macroscópicas, $(K_{a1})_1$, $(K_{a1})_2$, $(K_{a2})_1$ y $(K_{a2})_2$ corresponden a los cuatro equilibrios de ionización microscópicos existentes (dos para cada equilibrio macroscópico) y K_T es la constante de equilibrio de tautomería.

Las concentraciones de las especies I, II, III, IV pueden expresarse en función de la acidez del medio, de las constantes de equilibrio K_{a1} , K_{a2} y K_T y la concentración analítica de

N-Cl-aminoácido:

$$[I] = \frac{[N-Cl-Val]_0}{1 + \frac{K_{a1}}{[H^+]} + \frac{K_{a1} \cdot K_{a2}}{[H^+]^2}}$$

$$[II] = \frac{[N-Cl-Val]_0}{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{a2}}{[H^+]}\right) \cdot (1 + K_T)}$$

$$[III] = \frac{[N-Cl-Val]_0}{1 + \frac{[H^+]}{K_{a2}} + \frac{[H^+]^2}{K_{a1} \cdot K_{a2}}}$$

$$[IV] = \frac{K_T \cdot [N-Cl-Val]_0}{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{a2}}{[H^+]}\right) \cdot (1 + K_T)}$$

$$[II] + [IV] = \frac{[N-Cl-Val]_0}{1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{a2}}{[H^+]}}$$

Los valores de las constantes que aparecen en las ecuaciones no se conocen para los N-Cl-aminoácidos, sin embargo cabe esperar que en las condiciones de trabajo, la especie I y II no se hallen en proporción significativa, dado que la sustitución de un hidrógeno por un cloro en compuestos similares (Weil & Morris, 1949b, Antelo *et al*, 1989), supone un fuerte aumento de la acidez del compuesto en cuestión, disminuyendo de esta manera los valores del pK_a correspondientes a la desprotonación del grupo amino, y por otra parte, Armesto *et al* estimaron los valores de estas constantes para N-Cl-aminoácidos obteniendo una disminución del pK_a del grupo amino hasta de 10 unidades en algunos casos (Armesto *et al*, 1994e). Si se considera que el pK_a del grupo amino del N-Cl-aminoácido desciende 8 unidades, y que de acuerdo con los resultados experimentales, el coeficiente de extinción molar no varía con el pH, la especie IV debe de hallarse en concentración despreciable en las condiciones de trabajo. De este modo, la especie que debe considerarse implicada en la reacción es la III. Por otra parte si las otras especies estuviesen implicadas en el proceso, se obtendría una dependencia compleja con el pH, contrariamente a lo observado en las condiciones de trabajo. De esta forma la ecuación de velocidad resulta:

$$v = v_0 + v_b + v_{OH} = k_{obs} \cdot [III] = (k_0 + \sum k_i \cdot [Base]) \cdot [III]$$

Sustituyendo el valor de la concentración de la especie III:

$$v = k_{obs} \cdot \frac{[N-Cl-Val]_0}{1 + \frac{[H^+]}{K_{a_2}} + \frac{[H^+]^2}{K_{a_1} \cdot K_{a_2}}}$$

Dado que las condiciones de trabajo $[H^+] \ll K_{a_1}$ y $[H^+] \ll K_{a_2}$, la expresión anterior se simplifica, obteniéndose:

$$v = k_{obs} \cdot [N-Cl-Val]_0$$

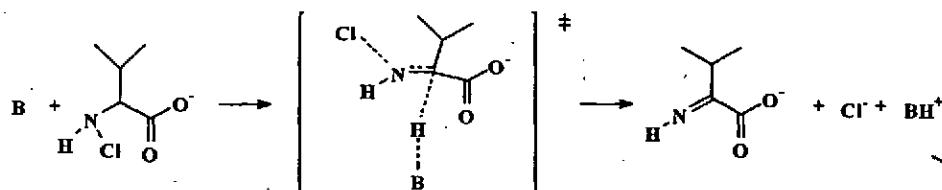
donde $k_{obs} = k_0 + \sum k_i \cdot [Base]$

Todos resultados sugieren la existencia de dos procesos simultáneos cuyo peso depende del pH del medio, a valores de pH comprendidos entre 4 y 13 predomina un mecanismo de fragmentación unimolecular (k_0) y a valores de pH > 13 un mecanismo catalizado por bases (k_i)

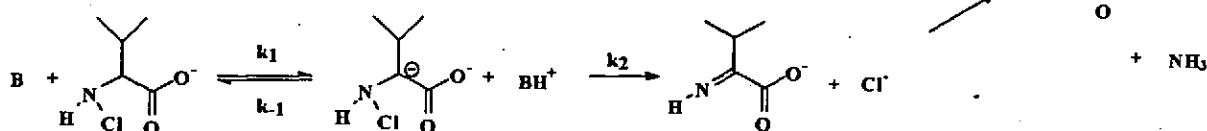
4.2.1. MECANISMO CATALIZADO POR BASES

El mecanismo propuesto para estas condiciones de trabajo, tiene lugar a través de un proceso de eliminación. En el capítulo 2 se presentó una breve descripción de estos procesos y las dos posibles alternativas son el mecanismo E2 o un mecanismo E1cB, que aparecen representados en el esquema 4.2:

Mecanismo E2



Mecanismo E1cB



Esquema 4.2.: Mecanismos posibles en medio básico

Como indicó en el capítulo 2, dependiendo de las constantes de velocidad k_1 , k_{-1} y k_2 , se pueden distinguir tres mecanismos: $(E1cB)_i$, $(E1cB)_R$, y $(E1)_{anión}$.

Teniendo en cuenta la ecuación de velocidad obtenida para el proceso, el mecanismo $(E1)_{anión}$ puede descartarse, ya que este mecanismo presenta dependencia de orden uno con

respecto al sustrato y orden cero con respecto a la base.

Ahora hay que recordar las características de los otros mecanismos de eliminación propuestos que se trataron en el capítulo 2.

En el mecanismo E1cB el enlace C-H se rompe antes que el enlace N-Cl (esquema 4.2.), para formar el intermedio carbaniónico. Si $k_1 [BH^+] \gg k_2$, hay un rápido equilibrio, en el que se forma el carbanión, seguido de una eliminación lenta; este es el mecanismo (E1cB)_R. Por el contrario, si $k_{-1} [BH^+] \ll k_2$ el paso determinante de la velocidad es la formación del carbanión, el cual, rápidamente se descompone; este mecanismo es el (E1cB)_I. La siguiente ecuación de velocidad es válida para ambos mecanismos (ya vista en el capítulo 2):

$$v_{OH} = \frac{k_1 \cdot k_2}{k_2 + k_{-1} \cdot [BH^+]} \cdot [OH^-] \cdot [N-Cl-Val]$$

Por otra parte, en el mecanismo E2 los enlaces N-Cl- y N-H se rompen simultáneamente, formándose un estado de transición que conduce a la formación de una imina. La ecuación teórica a la que conduce este mecanismo es una ecuación de orden dos: orden uno en hidróxido sódico y orden uno en la concentración de N-Cl-aminoácido.

Según lo anterior, los mecanismos (E1cB)_I, (E1cB)_R y E2 presentan una ecuación de velocidad similar a la obtenida experimentalmente, pero la existencia de otros datos experimentales permite inclinarnos por el mecanismo E2.

Como se observó en los resultados experimentales, existe catálisis general básica, lo cual permite rechazar el mecanismo (E1cB)_R (Bartsch & Závada, 1980).

Inclinarse por el E2 o el (E1cB)_I no es sencillo. Considerando las constantes catalíticas de las bases utilizadas se observa que hay un aumento de la constante catalítica con el pK_a de la base (Tabla 4.4.), que es lo esperado para ambos mecanismos:

Tabla 4.4.: Constantes catalíticas de las bases utilizadas

Base	pK _a	k _B · 10 ⁴ (M ⁻¹ s ⁻¹)
H ₂ PO ₄ ⁻	7.21	0.12
HPO ₄ ⁻²	12.74	1.3
CF ₃ CH ₂ O ⁻	12.43	3.6
OH ⁻	15.74	7.7

Los parámetros de activación se calcularon a partir de la teoría del estado de transición para reacciones elementales:

$$k = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot e^{\frac{\Delta S^\ddagger}{R}} \cdot e^{\frac{-\Delta H^\ddagger}{R \cdot T}}$$

Tabla 4.5: Parámetros de activación

$4 < \text{pH} < 13$	$\text{pH} > 13$
$E_a = (115 \pm 2) \text{ kJ mol}^{-1}$	$E_a = (74 \pm 2) \text{ kJ mol}^{-1}$
$\Delta H^\ddagger = (112 \pm 4) \text{ kJ mol}^{-1}$	$\Delta H^\ddagger = (71 \pm 2) \text{ kJ mol}^{-1}$
$\Delta S^\ddagger = (62 \pm 6) \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$	$\Delta S^\ddagger = (-65 \pm 6) \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$

Si tenemos en cuenta los parámetros termodinámicos de la tabla 4.5, el valor alto y negativo de la entropía de activación es característico de un proceso bimolecular que involucre especies iónicas. En este mismo sentido apuntan los resultados de la influencia de la fuerza iónica. Estos resultados tampoco nos permiten diferenciar entre uno u otro mecanismo, ya que ambos presentan estas características.

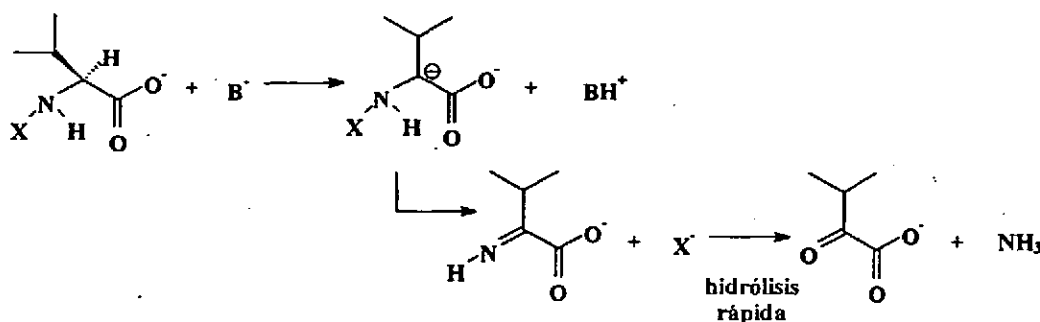
Por otra parte hay que tener en cuenta el efecto del grupo saliente. Se llevaron a cabo experiencias utilizando como agente halogenante HOBr y el valor de la constante obtenida para la descomposición de N-Br-Val en medio básico fue $k_{\text{Br}} = 7.56 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, por lo que la relación $k_{\text{Br}}/k_{\text{Cl}} \approx 4$. Este efecto es menor que el observado para otros procesos y parecido al encontrado para otros aminoácidos y compuestos similares (Armesto *et al*, 1993c; Antelo *et al*, 1991c) pero muy difícil explicar en el marco de un mecanismo (E1cB)_i. A pesar de esto en la bibliografía existen trabajos a los cuales se les atribuye un mecanismo (E1cB)_i y que muestran un efecto del grupo saliente con valor de 2. Sin embargo un proceso por etapas implica la existencia real del intermedio carbaniónico, al menos durante un periodo de tiempo superior a una vibración molecular, por lo que resulta difícil de aceptar que el Br, menos electronegativo que el Cl, produzca una estabilización del carbanión.

Con todo esto, puede concluirse que la N-Cl-Val sufre un proceso de descomposición catalizado por bases a través de un mecanismo E2.

4.2.2. MECANISMO DE FRAGMENTACIÓN UNIMOLECULAR

En el capítulo dos, ya se han revisado mecanismos por los cuales podría transcurrir la fragmentación de los N-Cl-aminoácidos. En este apartado se irán discutiendo cada uno de ellos.

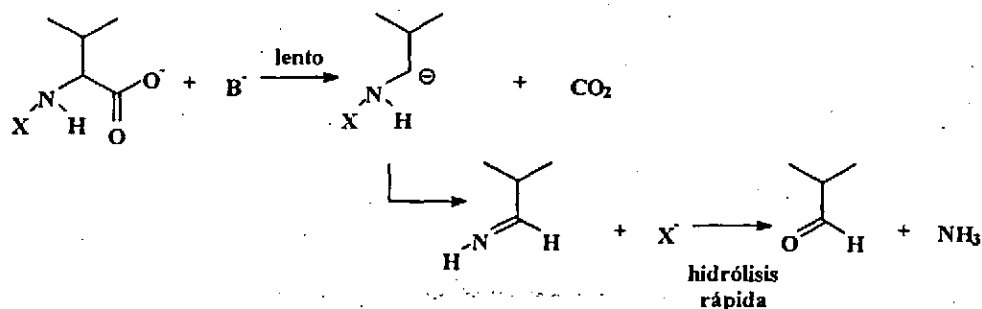
Fox y Bullock propusieron un mecanismo vía abstracción de un protón del C α con formación de un carbanión (esquema 4.3) (Fox & Bullock, 1951).


 Esquema 4.3: Mecanismo vía abstracción de un protón en el C α

Este mecanismo puede ser descartado teniendo en cuenta el análisis de los productos de reacción obtenidos (valeraldehído en vez del correspondiente cetoácido que correspondería a este proceso de desprotonación) y también la no influencia del pH sobre la constante de velocidad en el intervalo entre 4 y 13, que implica la ausencia de catálisis específica en estas condiciones.

Aunque se ha visto que las disoluciones reguladoras utilizadas para este intervalo de pH influyen ligeramente, esto es debido, como ya se ha mencionado antes, a la existencia simultánea del mecanismo catalizado por bases.

Awad *et al* encontraron que la velocidad de descomposición de N-Cl-aminoácidos seguía este orden: N-Cl-glicina < N-Cl-Alanina < ácido N-Cl-amino-iso-butírico (Awad *et al*, 1990). Si el mecanismo fuera como el anterior, el orden sería el inverso. Si la formación del carbanión fuera el paso determinante de la velocidad, el carbanión de N-Cl-glicina sería el más estable, y por lo tanto la velocidad de descomposición sería mayor, lo cual contradice las observaciones experimentales. Estos autores establecieron que la formación de un carbanión es posible si primero tiene lugar una descarboxilación, como habían propuesto Hand *et al* (Hand *et al*, 1983) (Esquema 4.4.).

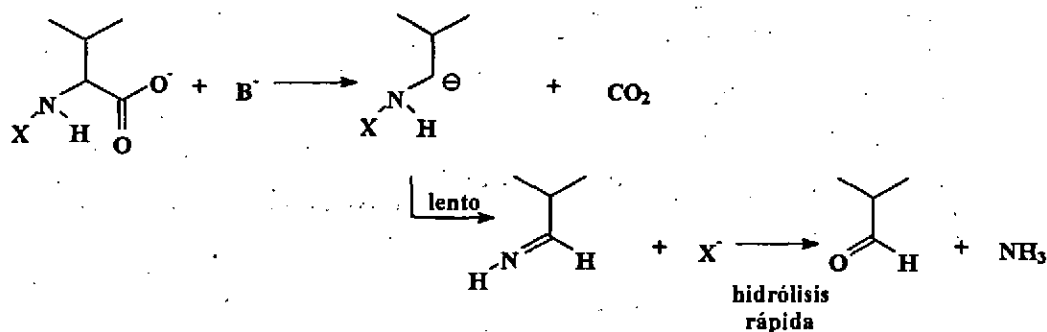


Esquema 4.4.: Mecanismo via descarboxilación lenta con formación de un carbanión

Este mecanismo puede rechazarse por las mismas razones que el anterior. Estos autores también propusieron la formación de las imina como paso determinante de la velocidad (Esquema 4.5.) pero puede también rechazarse, dado que la constante de velocidad que se obtenía para la descarboxilación y dechloración eran diferentes (Tabla 4.6.):

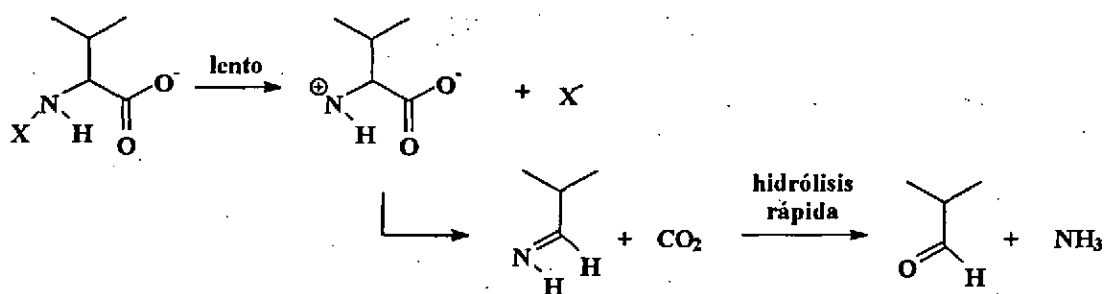
Tabla 4.6.: Constantes de dechloración y descarboxilación

<i>N</i> -Cl-aminoácido	$k_{\text{descarboxilación}} / \text{s}^{-1}$	$k_{\text{dechloración}} / \text{s}^{-1}$
N-Cl-Sarcosina	$8.33 \cdot 10^{-5}$	$8.33 \cdot 10^{-5}$
N-Cl-Alanina	$2.5 \cdot 10^{-4}$	$2.33 \cdot 10^{-4}$



Esquema 4.5.: Mecanismo vía descarboxilación con formación de un carbanión y deshalogenación lenta

Otro posible mecanismo sería vía formación de un ión nitrenio intermedio (Esquema 4.6.) propuesto por Armesto *et al* (Armesto *et al*, 1993d)



Esquema 4.6.: Mecanismo vía formación de un ion nitrenio intermedio

Este mecanismo ha sido propuesto por Armesto *et al* debido a la existencia de ciertos resultados paradójicos existentes en la bibliografía:

1) Datos contradictorios de las constantes de velocidad de descomposición para algunos N-Cl-aminoácidos, sobre todo hay que tener en cuenta la N-Cl-glicina, se pueden ver en la tabla 4.7., ya que este compuesto ha sido tomado como referencia para estudiar el mecanismo de la reacción. Debido a la diversidad de valores en su constante de velocidad no debería ser usado en orden a establecer comparaciones para determinar el mecanismo.

2) La influencia de los sustituyentes en el C_α no parece estar muy clara (Armesto *et al*, 1993d).

3) Los resultados disponibles de los productos de reacción muestran resultados no cuantitativos (Nweke & Scully, 1989; Tan *et al*, 1987)

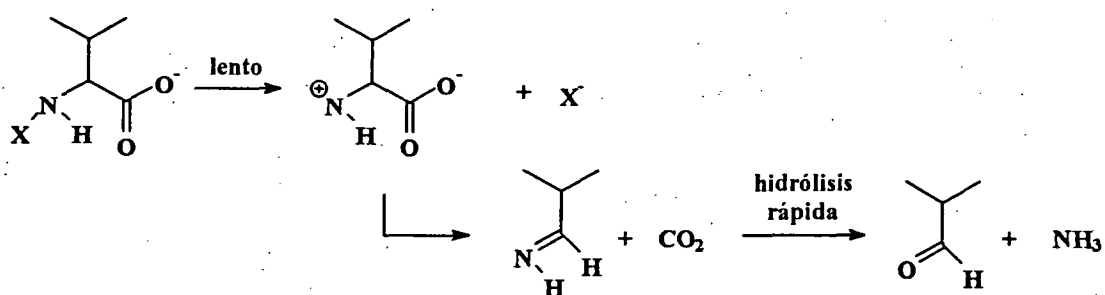
4) Ogata *et al* observaron que la reacción de descomposición de los N-Cl-aminoácidos se acelera cuando son irradiados con radiación UV (Ogata *et al*, 1981).

Tabla 4.7.: Constantes de velocidad de descomposición de N-Cl-glicina

Referencia	k_0 / s^{-1}	Método
Antelo <i>et al</i> , 1991c	$1.67 \cdot 10^{-4}$	velocidades iniciales
Nweke & Scully, 1989	$0.5 \cdot 10^{-4}$	espectrofotométrico
Nweke & Scully, 1989	$0.33 \cdot 10^{-4}$	espectrofotométrico
Hand <i>et al</i> , 1983	$0.07 \cdot 10^{-4}$	espectrofotométrico
Awad <i>et al</i> , 1990	$0.042 \cdot 10^{-4}$	espectrofotométrico
Canle, 1994	$3.4 \cdot 10^{-3}$	velocidades iniciales
Canle, 1994	$4.3 \cdot 10^{-6}$	espectrofotométrico

Este último resultado junto con los anteriores parece sugerir la existencia de un intermedio no muy estable (ion nitrenio), que hace que la reacción pueda producirse por varios caminos y también explica que al radiación UV acelere la reacción. Los iones nitrenio han sido propuestos como intermedios de reacción en procesos similares (Gassman, 1970). Los iones nitrenio poseen un par de electrones no enlazantes que tienen sus espines apareados. Si el tiempo de vida media del ion nitrenio es lo suficientemente grande, se puede producir una transición singlete-triplete, que daría lugar a otra forma de ion nitrenio con espines desapareados. Esta forma triplete, que es más estable que la singlete (Gassman, 1970), puede abstraer nitrógenos, dando lugar a diversas sustancias, lo que sería una posible explicación de la aparición de productos con bajos rendimientos y también de la aceleración de la reacción por la radiación UV. El efecto obtenido al cambiar el cloro por el bromo nos permite rechazar la formación del ion nitrenio.

Otro mecanismo que se podía considerar es la formación de una (1,2)-oxacetidin-4-ona intermedia (Armesto *et al*, 1994d) (Esquema 4.7),

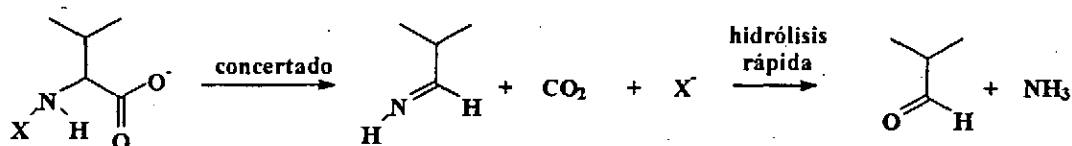


Esquema 4.7.: Mecanismo vía formación de una (1,2)-oxacetidin-4-ona intermedia

pero si tienen en cuenta los efectos de los sustituyentes, estos no siguen la secuencia esperada, dado que el nitrógeno debería estar más afectado por la cesión de carga en el C_{α} . Este proceso

sería un proceso 4-exo-tet de cierre de anillo que estaría favorecido por las reglas de Baldwin para este tipo de procesos (Baldwin, 1976), por lo que el camino intramolecular debe de estar desfavorecido, lo que puede ser debido a una distorsión de los ángulos y distancias de enlace, (especialmente aquellas en las que están implicados los átomos N, el carbono del grupo carboxilo y el C α) que se necesita para alcanzar la configuración estereoquímica conveniente para el cierre de anillo y a la alta tensión que existiría en el estado de transición.

Teniendo en cuenta todos los resultados experimentales y la discusión anterior, puede concluirse que el mecanismo de reacción es un proceso de fragmentación concertada (Esquema 4.8.)



Esquema 4.11.: Mecanismo de fragmentación concertada

Las constantes de fragmentación observadas (k_0) corresponden a la etapa elemental de la reacción del mecanismo observado.

Los parámetros de activación (Tabla 4.5.) ΔH^\ddagger y ΔS^\ddagger son valores elevados y positivos, indicativos de un estado de transición más ordenado que los reactivos, lo que está de acuerdo con un mecanismo de fragmentación unimolecular.

La influencia observada con el disolvente es acorde con el mecanismo propuesto.

Capítulo 5

Formación de N-Cl-dipéptidos

Capítulo 5

Formación de N-Cl-dipéptidos

En este capítulo se discutirá el mecanismo de la reacción de formación de N-Cl-dipéptidos.

5.1.- RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tal como se indicó en el capítulo 3, las reacciones de formación de N-Cl-dipéptidos se estudiaron por la técnica de flujo detenido, siguiendo la variación de la banda de absorción correspondiente a la aparición del N-Cl-dipéptido a 255 nm. El intervalo de pH en el que se trabajó fue el comprendido entre 6 y 11.

5.1.1. COMPROBACIÓN DEL ORDEN DE REACCIÓN

El proceso que ocurre cuando los dipéptidos están en presencia de agente clorante, es similar al de los aminoácidos (Canle, 1993). La reacción puede plantearse como sigue:



Se comprobó que los datos obtenidos absorbancia-tiempo se ajustaban a la ecuación

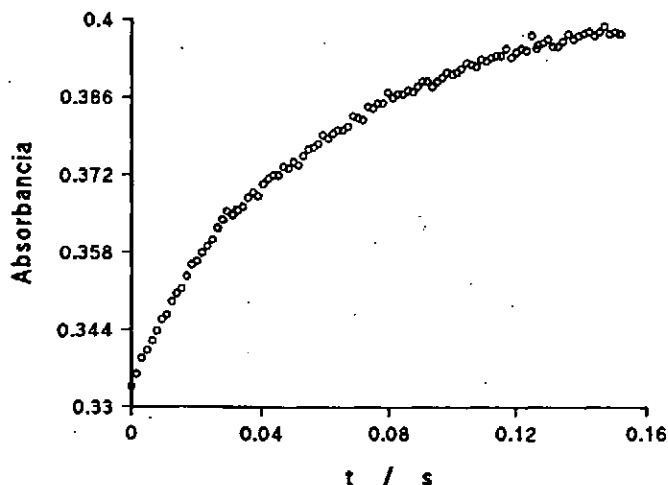


Figura 5.1.: Perfil de reacción de orden dos para la formación de N-Cl-Gly-Gly

integrada de orden dos (figura 5.1): uno respecto a la concentración de agente oxidante y otro respecto a la concentración de dipéptido; esto es:

La constante de velocidad observada corresponde al promedio de por lo menos tres experiencias.

5.1.2. INFLUENCIA DEL PH

En todos los casos se puso en evidencia una marcada dependencia con el pH, como muestra la figura 5.2.

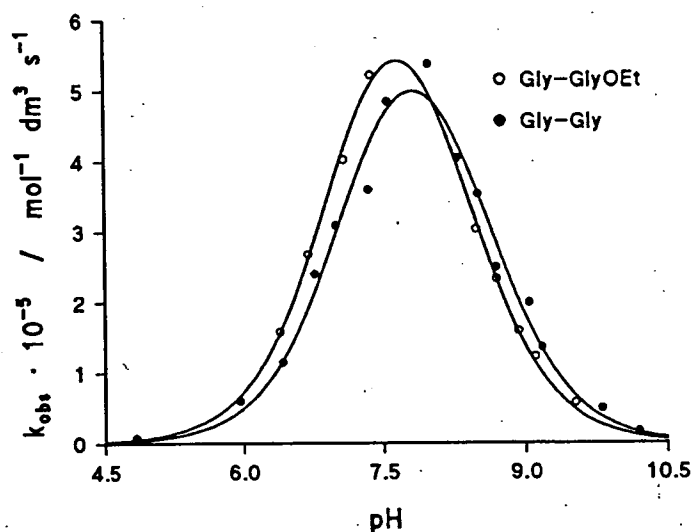


Figura 5.2.: Influencia del pH en la cloración de los dipéptidos.

En el intervalo de pH en el que se trabajó se ha encontrado que la experimental mostrada en la figura 5.2. responde a la siguiente expresión:

$$k_{obs} = a \cdot \frac{[H^+]}{(b + [H^+]) \cdot (c + [H^+])} \quad (2)$$

donde a, b y c son parámetros empíricos.

5.1.3. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Se llevó a cabo el estudio de la influencia de la temperatura en un intervalo

entre 15 y 40 °C y en las condiciones de pH estudiadas., comprobándose en todos los casos el cumplimiento de la ley de Arrhenius, como se puede observar en la figura 5.3

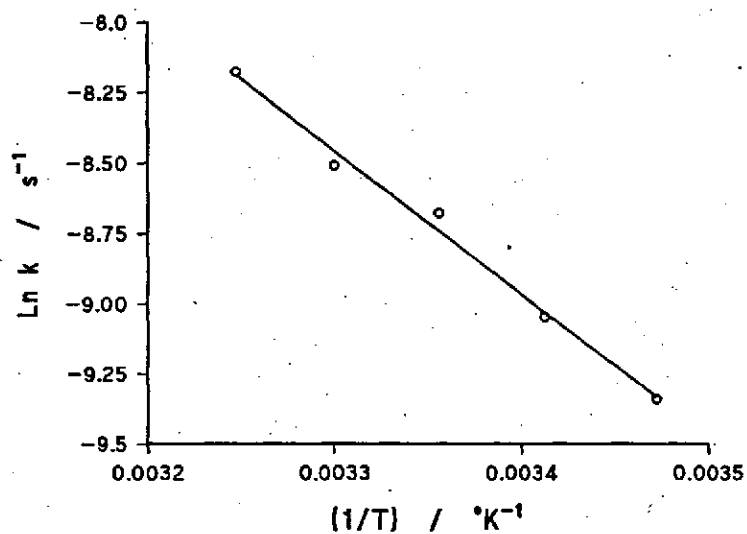
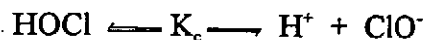


Figura 5.3.: Comprobación de la ley de Arrhenius para la reacción de formación de N-Cl-Gly-Gly

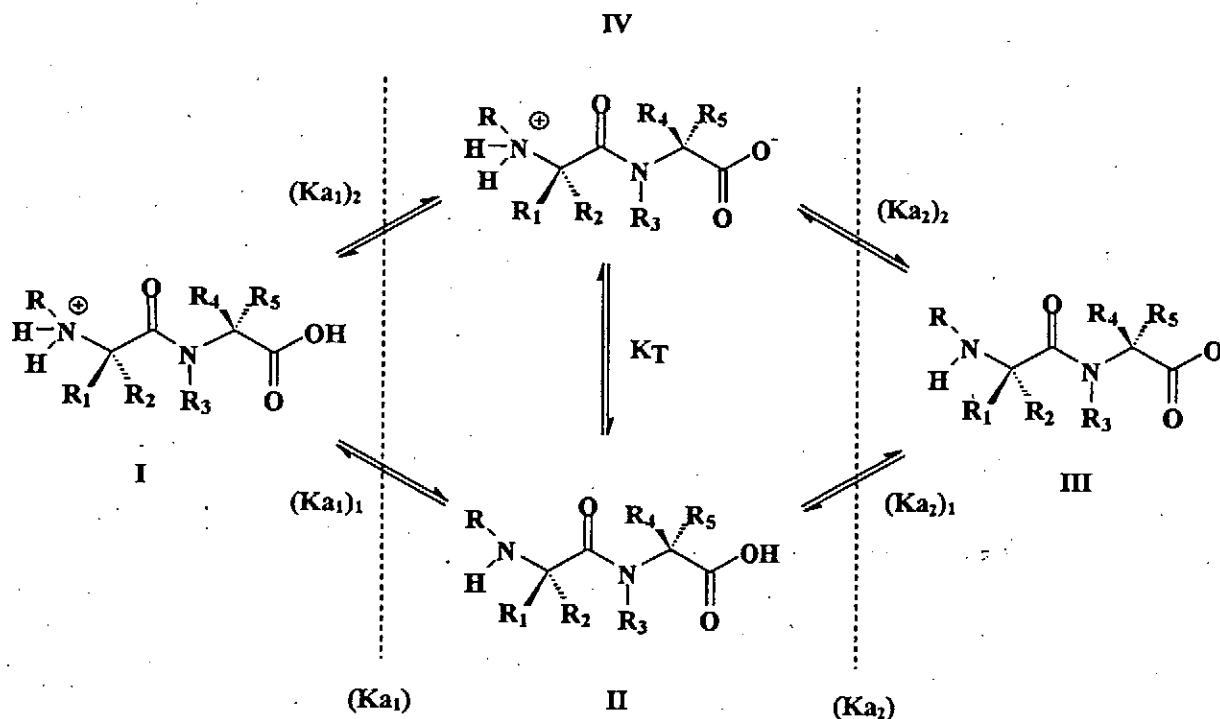
5.2.- DISCUSIÓN DEL MECANISMO

Como se indicó en el informe bibliográfico, en medio neutro y básico, una disolución de cloro contiene como especies predominantes el ácido hipocloroso y el anión hipoclorito:



para el que como se indicó en el capítulo 3 el $\text{p}K_c = 7.26$ a 298°K y $I=0.7\text{ M}$ (NaCl).

Por su parte los dipéptidos en disolución acuosa pueden existir en forma de cuatro especies, entre las que se establecen dos equilibrios ácido-base macroscópicos, que son reflejo de cuatro microscópicos, como se refleja en el esquema 5.1.



Esquema 5.1.: Equilibrios de ionización para los dipéptidos

donde K_{a1} y K_{a2} son la primera y segunda constantes de ionización macroscópicas, $(K_{a1})_1$, $(K_{a1})_2$, $(K_{a2})_1$ y $(K_{a2})_2$ corresponden a los cuatro equilibrios de ionización microscópicos existentes (dos para cada equilibrio macroscópico) y K_T es la constante de equilibrio de tautomería. Para el éster etílico de la Gly-Gly las especies III y IV (grupo carboxílico desprotonado) no existen.

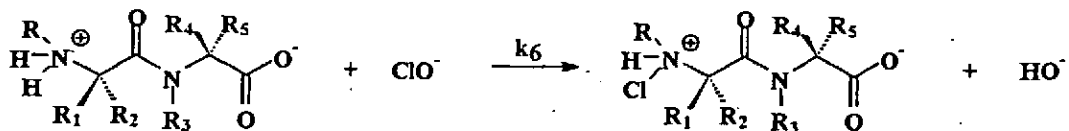
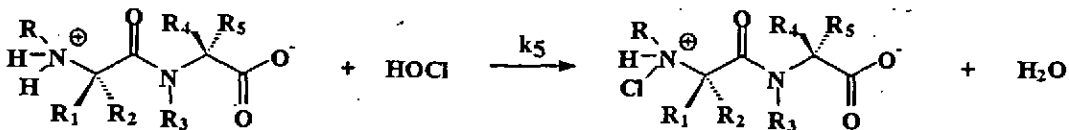
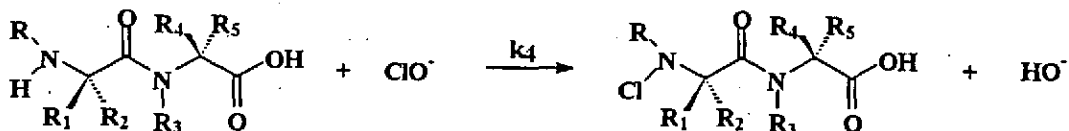
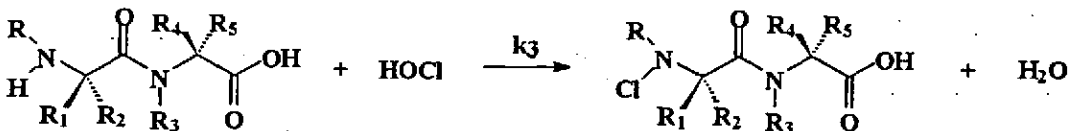
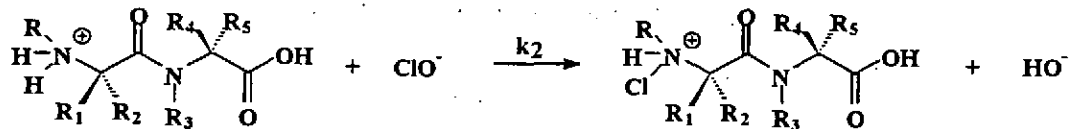
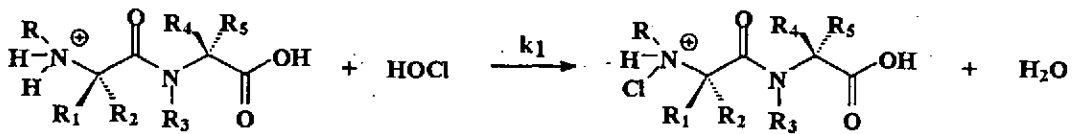
Las constantes macroscópicas y microscópicas se relacionan entre sí por medio de las

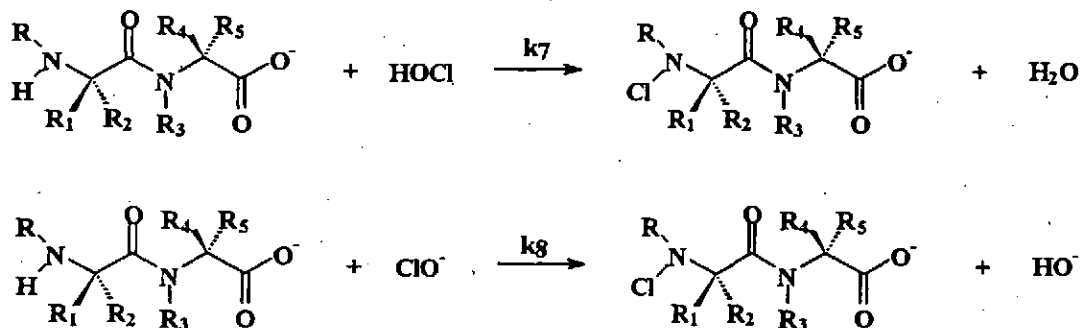
siguientes ecuaciones (Stewart, 1985):

$$(Ka_1)_1 = Ka_1 - (Ka_1)_2 \quad (3) \quad (Ka_2)_2 = Ka_2 \left(1 + \frac{(Ka_1)_1}{(Ka_1)_2} \right) \quad (4)$$

$$(Ka_2)_1 = \frac{(Ka_1)_2 \cdot (Ka_2)_2}{(Ka_1)_1} \quad (5) \quad K_T = \frac{(Ka_1)_1}{(Ka_1)_2} = \frac{(Ka_2)_2}{(Ka_2)_1} \quad (6)$$

Teniendo en cuenta todas las especies que pueden estar en disolución se pueden plantear los siguientes ocho procesos elementales diferentes para la reacción de cloración:





Las ecuaciones de velocidad correspondientes a estos procesos elementales son las siguientes:

$$v = k_1 \cdot [ClOH] \cdot [especie I]$$

$$v = k_2 \cdot [ClO^-] \cdot [especie I]$$

$$v = k_3 \cdot [ClOH] \cdot [especie II]$$

$$v = k_4 \cdot [ClO^-] \cdot [especie II]$$

$$v = k_5 \cdot [ClOH] \cdot [especie VI]$$

$$v = k_6 \cdot [ClO^-] \cdot [especie VI]$$

$$v = k_7 \cdot [ClOH] \cdot [especie III]$$

$$v = k_8 \cdot [ClO^-] \cdot [especie III]$$

La participación de la especie I (totalmente protonada) puede ser descartada considerando su baja concentración en las condiciones de trabajo, puesto que para alcanzar las constantes de velocidad observadas, su correspondiente constante bimolecular debería estar por encima del límite del control por difusión. Con esto los procesos 1 y 2 quedan rechazados.

Los resultados obtenidos con el programa MINQUAD al calcular las constantes de ionización de los dipéptidos, muestran que las especies (II + IV) y III están presentes en el medio de reacción y su concentración depende del pH del medio. Si tenemos en cuenta los valores de la K para aminoácidos alifáticos (Stewart, 1985) y el perfil de la figura 5.2 (influencia del pH) que es similar tanto para la Gly-Gly como para su éster etílico, podemos concluir que la especie II está en muy bajas concentraciones, por lo que los procesos 3 y 4 pueden ser rechazados.

Considerando la dependencia observada de la constante de velocidad con el pH, son coherentes dos etapas elementales: una entre especies iónicas (k) -que llamamos etapa iónica- y otra entre especies moleculares (k_7) -que designamos etapa molecular.

Teniendo esto en cuenta, la ecuación teórica que da cuenta de la dependencia de k con el pH se convierte en una de las dos expresiones siguientes, dependiendo si el mecanismo transcurre a través de la etapa iónica o de la etapa molecular:

$$k_{obs} = k_6 \cdot K_c \cdot \frac{[H_+]}{(K\alpha_2 + [H^+]) \cdot (K_c + [H^+])} \quad (7)$$

$$k_{obs} = k_7 \cdot K\alpha_2 \cdot \frac{[H_+]}{(K\alpha_2 + [H^+]) \cdot (K_c + [H^+])} \quad (8)$$

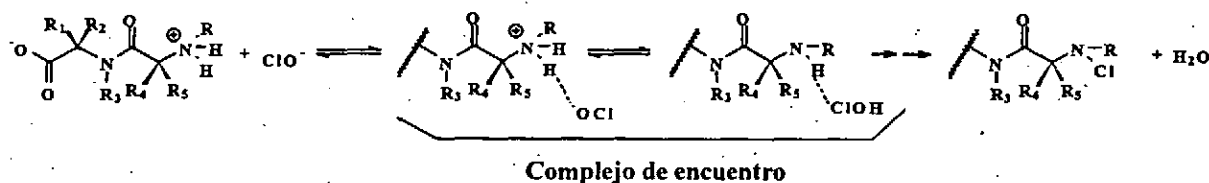
donde k_{obs} es la constante de segundo orden, k_6 y k_7 son las constantes bimoleculares de la etapa iónica y molecular respectivamente, K_c es la constante de ionización del ácido hipocloroso y $K\alpha_2$ es la constante de ionización del grupo amino de los dipéptidos.

De la ecuación anterior se puede deducir que el valor del máximo de la figura 5.2 corresponde a la media aritmética de los valores de ambos pK, es decir:

$$pH_{m\acute{a}ximo} = \frac{pK_c + pK\alpha_2}{2} \quad (9)$$

Si bien ambas etapas (iónica y molecular) son indistinguibles desde el punto de vista cinético, existen razones para inclinarse por la molecular. Un proceso similar a esta cloración, es la nitrosación de aminoácidos, y en este caso se ha propuesto la participación del amino libre (Casado *et al*, 1985). Por otra parte es difícil imaginarse una secuencia de ruptura y formación de enlaces para la transferencia directa del cloro desde el ion hipoclorito hasta el grupo amino cargado positivamente.

Puede plantearse, también, que ocurra la reacción iónica, mediante una transferencia protónica dentro del par de encuentro desde el grupo amino a ion hipoclorito (proceso termodinámicamente desfavorable dado que el $pK < pK_a$) y luego que tenga lugar un ataque nucleófilo de la amina sobre el átomo de cloro, lo que equivaldría al proceso molecular (esquema 5.2.).



Esquema 5.2.: Proceso de transferencia protónica dentro del par de encuentro

Teniendo en cuenta que las reacciones de transferencia protónica entre un átomo de nitrógeno y uno de oxígeno suelen ser muy rápidas (Stewart, 1985), y considerando que las constantes de cloración por cloro molecular, para aminas y amidas, son más rápidas que la de cloración por ácido hipocloroso y que por otra parte la cloración por ácido hipocloroso de aminas aumenta cuando lo hace la basicidad el grupo amino (Margerum *et al*, 1978; Thomm & Wayman, 1969; Matte, 1986), podemos concluir que la etapa determinante de la velocidad es un ataque electrofílico del cloro positivo (Cl^+) del ácido hipocloroso al nitrógeno aminico libre, esto es el proceso tiene lugar a través de la etapa molecular, que es el proceso 7. Por lo tanto la ecuación

de velocidad será:

$$v = k_7 \cdot Ka_2 \cdot \frac{[H^+]}{(Ka_2 + [H^+]) \cdot (K_c + [H^+])} \cdot [HOCl] \cdot [especie IV] \quad (10)$$

A partir de los datos experimentales es posible calcular, mediante la ecuación anterior, los valores de la constante bimolecular k_7 y los valores de Ka_2 y K_c . Los resultados obtenidos para los dipéptidos estudiados se encuentran en la tabla 5.1

Tabla 5.1.: Constantes bimoleculares y pKa_2 para dipéptidos a 298 °K

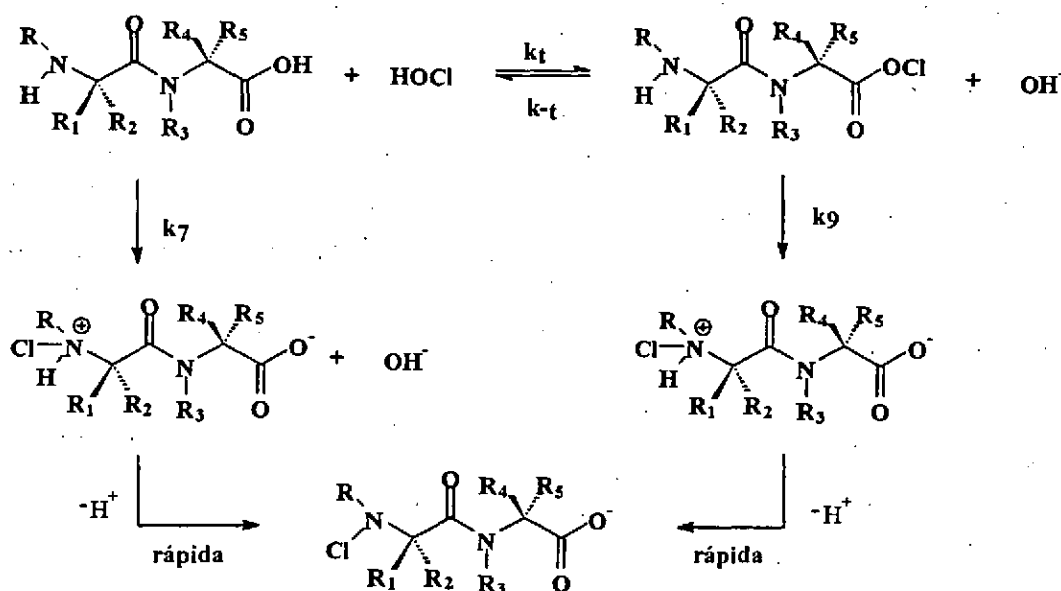
Dipéptido	$k_7 \cdot 10^6$ $M^{-1} s^{-1}$	pKa_2 experimental	pKa_2 optimizado	pKa_2 bibliografía
Glicinamida	4.33	----	7.90	7.96 (a)
Gly-GlyOEt	7.53	8.25	----	----
Gly-Gly	9.01	8.07	----	8.10 (b)
Gly-Sar	12.58	----	8.56	8.55 (c)
Gly-Ala	8.76	8.31	----	8.29 (d)
Gly-Val	9.47	----	8.34	8.33 (e)
Gly-Ile	6.43	----	8.15	8.15 (f)
Gly-Leu	6.41	----	8.13	8.14 (a)
Gly-Pro	15.01	----	8.91	8.41 (g)
Ala-Gly	8.47	8.27	----	8.27 (h)
Val-Gly	5.97	----	7.94	7.89 (i)
Leu-Ala	8.04	----	7.96	8.10 (j)
Pro-Gly	5.88	----	9.08	8.97 (f)

(a) (Yamanchi *et al*, 1971); (b) (King, 1975); (c) (Brunetti *et al*, 1972); (d) (Petrov *et al*, 1970); (e) (Borisova *et al*, 1972); (f) (Sigel, 1975); (g) (Brookes & Pettit, 1975); (h) (Feige *et al*, 1973); (i) (Koltun *et al*, 1960); (j) (Pasternack *et al*, 1972).

Podría considerarse que la cloración tuviera lugar en el nitrógeno del enlace peptídico o en el oxígeno del grupo carboxílico.

Si tenemos en cuenta la constante de velocidad obtenida para la glicinamida, podemos decir que es del mismo orden de magnitud que las de los otros compuestos, por lo que si la cloración tuviera lugar en el nitrógeno amídico sería una constante mucho menor, ya que pKa del grupo amido es bastante menor que el del amino (la mayoría de los valores de pKa del grupo amido son negativos y en torno a -1). Lo mismo ocurre para el caso de los dipéptidos con el nitrógeno del enlace péptido sustituido (Gly-Sar y Gly-Pro) cuyas velocidades son del orden de magnitud de otros dipéptidos y aminoácidos.

Por otra parte, existen algunos estudios previos de cloración de dipéptidos, en los que se establece que la cloración en el nitrógeno del enlace péptido es insignificante, cuando el nitrógeno del grupo amino no esté totalmente sustituido y la relación entre agente clorante y dipéptido sea uno o menor (Ayotte & Gray, 1973). Estos autores han extrapolado un valor para la cloración de N-acetil-Glicina, estableciendo que sería del orden de mil veces más lenta que la cloración en el nitrógeno amínico. Otros estudios (Pereira *et al*, 1973) analizando los productos de reacción mediante espectrometría de masas y cromatografía de gases establecen que no se observa cloración en el nitrógeno amídico de N-acetil-L-alanina; al mismo resultado han llegado otros autores utilizando un agente clorante diferente (sistema formado por el enzima mieloperoxidasa/H₂O₂/Cl) (Stemaszyńska & Zgliczynski, 1978). Por todo esto la cloración en el nitrógeno amídico no ha sido considerada.



Esquema 5.3.: Mecanismo alternativo vía cloración en el oxígeno del carboxilato

Se puede tener en cuenta la otra posibilidad de cloración en el oxígeno del carboxilato, con posterior transferencia de cloro desde el oxígeno al nitrógeno del grupo amínico (Esquema 5.3.) como mecanismo alternativo.

La expresión de la constante de velocidad para este mecanismo es:

$$k = k' \cdot Ka_2 \cdot \frac{[H^+]}{(Ka_2 + [H^+]) \cdot (Ka_2 + [H^+])} \quad (11)$$

donde:

$$k' = \frac{k_1}{1 + \frac{k_{-1}}{k_2} \cdot [OH^-]} \quad (12)$$

k_1 y k_{-1} son las constantes bimoleculares directa e inversa para la transferencia de cloro entre al átomo de oxígeno del ácido hipocloroso y el del carboxilato y k_2 es la constante de velocidad unimolecular para el reordenamiento del dipéptidoOCl al N-Cl-dipéptido.

Dependiendo de los valores de las constantes bimoleculares de transferencia de oxígeno se pueden plantear dos situaciones:

* $k_{-1} \cdot [OH^-] > k_2$, en este caso la dependencia de la constante de velocidad con el pH no coincidiría con la ecuación teórica

* $k_{-1} \cdot [OH^-] < k_2$, en este caso la ecuación coincidiría con la ecuación teórica y estaría de acuerdo con los resultados experimentales.

Este proceso puede ser descartado por lo siguiente:

- Las constantes de velocidad de cloración para los dipéptidos son del mismo orden de magnitud que las observadas para aminoácidos, para aminas (y estas últimas no contienen oxígeno) y para ésteres de dipéptidos y aminoácidos (el oxígeno esta sustituido) (Abia, 1993; Canle, 1994).

- En el caso de los dipéptidos el oxígeno está más lejano del nitrógeno amínico que en los aminoácidos, al igual que los estudios llevados a cabo por Canle (*loc. cit.*) con los ácidos 2-, 3- y 4-carbóxicos, y las constantes de velocidad son del mismo orden. Si la cloración tuviera lugar en el oxígeno y después hubiera una transferencia protónica, la velocidad de reacción para estos compuestos debiera ser más lenta a medida que se alejan los centros reactivos.

- En compuestos con el nitrógeno amínico totalmente sustituido (caso de la betaína) no se observa reacción de cloración (en la escala de tiempo observada), lo que permite excluir la reacción de cloración en el oxígeno como mecanismo alternativo a la cloración en el nitrógeno (Armesto *et al*, 1994b).

- Para otros compuestos nitrogenados (aminoácidos y aminas) se ha encontrado una correlación entre la constante bimolecular y el pKa del grupo amino como se puede ver en la figura 5.4. en la que también se incluyen los dipéptidos aquí estudiados. Las pequeñas diferencias entre las constantes de velocidad entre el éster de la Gly-Gly y los dipéptidos con el nitrógeno peptídico sustituido se pueden explicar de esta forma.

Como se puede ver en la figura 5.4. a menor basicidad del grupo amino menor es la reactividad del compuesto. Si consideramos que se pueden comparar las escalas de nucleofilia con las de reactividad (March, 1984) podemos decir que los compuestos nitrogenados con menor pKa son menos nucleófilos y por lo tanto es de esperar que muestren menor reactividad hacia el cloro, lo que coincide con lo observado experimentalmente y es lo que cabía esperar para el mecanismo planteado.

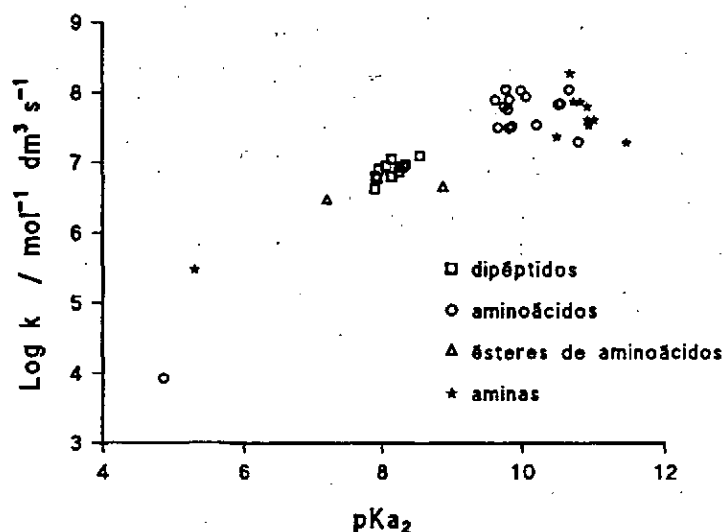


Figura 5.4.: Correlación reactividad-nucleofilia

Fijándonos en la figura 5.4, se podría considerar que la reacción de cloración muestra una conducta tipo Eigen (Eigen, 1964) cuando el pKa del grupo amino es mayor que 9, cumpliéndose por lo tanto:

$$\frac{\partial \log k}{\partial pK_a_2} = 0 \quad (13)$$

y por lo tanto cuando esta ecuación se cumpla las reacciones estarían controladas por difusión. No obstante existen evidencias para descartar el control por difusión.

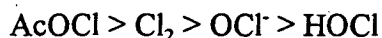
Observando los valores de las constantes bimoleculares (Tabla 5.1.) parece que la reacción podría estar controlada por la difusión de los reactivos, pero los valores de las constantes están por debajo del límite aceptado para reacciones controladas por difusión, que para reacciones bimoleculares en disolución acuosa a 25 °C el límite que se acepta es un valor aproximado de $5 \cdot 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$, dependiendo su valor exacto del tamaño de los reactivos y más marcadamente de la viscosidad del disolvente. Por otra parte, han de considerarse las constantes bimoleculares obtenidas para otros compuestos nitrogenados (amidas y aminas) y utilizando otros agentes clorantes. (Tabla 5.2.)

Tabla 5.2.: Constantes de cloración a 298 °K

Compuesto	k_{HOCl} $M^{-1} s^{-1}$	k_{ClO} $M^{-1} s^{-1}$	k_{Cl} $M^{-1} s^{-1}$	k_{AcOCl} $M^{-1} s^{-1}$
MeCONHMe (a)	0.1	$5 \cdot 10^3$	---	$5.8 \cdot 10^5$
Succinimida (b)	$2.2 \cdot 10^7$	$1.6 \cdot 10^5$	---	---
(MeHN)CO(NHMe) (a)	0.82	---	$4.5 \cdot 10^5$	$8.58 \cdot 10^7$
(MeCIN)CO(NHMe) (a)	0.075	---	784	$1.13 \cdot 10^5$
EtCO(NHMe) (a)	0.017	---	147	$1.45 \cdot 10^4$
MeCO(NHEt) (a)	0.05	---	105	$1.03 \cdot 10^4$
MeCO(NHMe) (a)	0.0017	---	83.3	10^4
MeCO(NH(CH ₂) ₂ OH) (a)	---	---	43.6	$3.25 \cdot 10^3$
HCO(NHEt) (a)	0.0017	---	2.96	337
HCO(NHMe) (a)	0.0017	---	1.95	256
MeCO(NHPh)(a)	---	---	0.916	---
NH ₃	$3.7 \cdot 10^8$ (e)	$3.4 \cdot 10^7$ (f)	---	---
MeNH ₂ (b)	$3 \cdot 10^{10}$	$1.93 \cdot 10^7$	---	---
Me ₂ NH ₂ (b)	$3 \cdot 10^{10}$	$1.37 \cdot 10^7$	---	---
Et ₂ NH (c)	$5.3 \cdot 10^7$	---	$9.4 \cdot 10^8$	---
MeNH ₂ (d)	$4.4 \cdot 10^9$	---	---	---
MeNHCl (e)	$1.73 \cdot 10^4$	---	---	---

(a) (Thomm & Wayman 1969); (b) (Matté *et al*, 1992); (c) (Wajon & Morris, 1982); (d) (Poncin *et al*, 1984); (e) (Weil & Morris, 1949); (f) (Santaballa *et al*, 1995).

Como se deduce de la tabla 5.2 la reactividad de los agentes clorantes sigue la secuencia:



Si la reacción estuviera controlada por difusión, esta secuencia estaría ordenada en función del tamaño de los agentes clorantes, y como se puede observar esto no sucede. Lo mismo obtuvieron Santaballa *et al* para reacción de cloración de di-Me-amina (tabla 5.3)

Tabla 5.3.: Cloración di-Me-amina con diferentes agentes clorantes

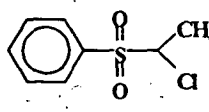
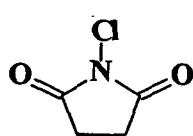

Agente clorante	k ($M^{-1} s^{-1}$)	Agente clorante	k ($M^{-1} s^{-1}$)
HOCl NH ₂ Cl Cl ₂	$7.501 \cdot 10^7$ $80 \cdot 10^7$ $160 \cdot 10^7$		$0.0245 \cdot 10^7$
	$1.53 \cdot 10^7$		$2.019 \cdot 10^7$

Tabla 5.4.: Valores de las constantes bimoleculares para aminas y los correspondientes valores de los parámetros de Charton (Abia, 1993)

Amina	$k \cdot 10^7 / M^1 s^{-1}$	$\Sigma \sigma'$
META	7.51	0.70
MEETA	6.45	0.73
DETA	4.14	0.76
DIPRO	3.47	0.84
DISOPRO	1.92	1.24
DIISOBUT	2.35	1.10

Por otra parte, de la tabla 5.2 se desprende que la reactividad de las amidas presenta una tendencia, su reactividad aumenta cuando lo hace la densidad electrónica del nitrógeno amidico. También, en el caso de aminas alifáticas (Abia, 1993) y aminoácidos (Canle, 1994) se observa que la reactividad del compuesto disminuye a medida que aumenta el impedimento estérico, como se puede ver en la tabla 5.4. para el caso de las aminas. Estas reacciones tienen constantes bimoleculares del mismo orden de magnitud que los dipéptidos (o incluso un poco mayores); si estuvieran controladas por difusión dicha secuencia de reactividad no se observaría. Estos comportamientos están de acuerdo con que la reacción está controlada químicamente y no por la difusión de los reactivos.

Con lo comentado anteriormente, se puede decir que no solo el pK_a o los impedimentos estéricos influyen en la reactividad (nucleoficidad) de las aminas, sino que se puede considerar que existen otros parámetros físicos para poder entender mejor el comportamiento observado.

Considerando que la reacción como una combinación electrófilo-nucleófilo (anión-cación) se puede aplicar el modelo SCD ("state correlation diagram") para investigar que parámetros físicos pueden influir en la reacción. Con este modelo se pueden obtener correlaciones reactividad-nucleofilia teniendo en cuenta todas las cantidades energéticas que intervienen en las reacciones de este tipo (Shaik, 1981; 1985; Pross, 1985). Este modelo esta desarrollado en el apéndice. En la figura 5.5 se puede observar la aplicación de este modelo para la reacción de cloración de un grupo amino por ácido hipocloroso.

De acuerdo con este modelo la barrera energética de una reacción química es función de una fracción intervalo de energía de transferencia electrónica g_R y de la energía de interacción asociada con la deslocalización de la carga en el estado de transición (B):

$$\Delta G^\ddagger = f \cdot g_R - B \quad (f < 1) \quad (14)$$

Ya que g_R es la energía de transferencia electrónica vertical de un electrón desde el nucleófilo al electrófilo la ecuación anterior se puede escribir en función de las energías puestas en juego, que son el potencial de ionización vertical del nucleófilo y la afinidad electrónica vertical del electrófilo

$$\Delta G^\ddagger = f (IP[X:(s)]^* - A [R^+(s)]^*) - B \quad (15)$$

donde el asterisco indica que los procesos verticales no afectan a la geometría o solvatación (y por lo tanto conducen a un estado de solvatación de no equilibrio).

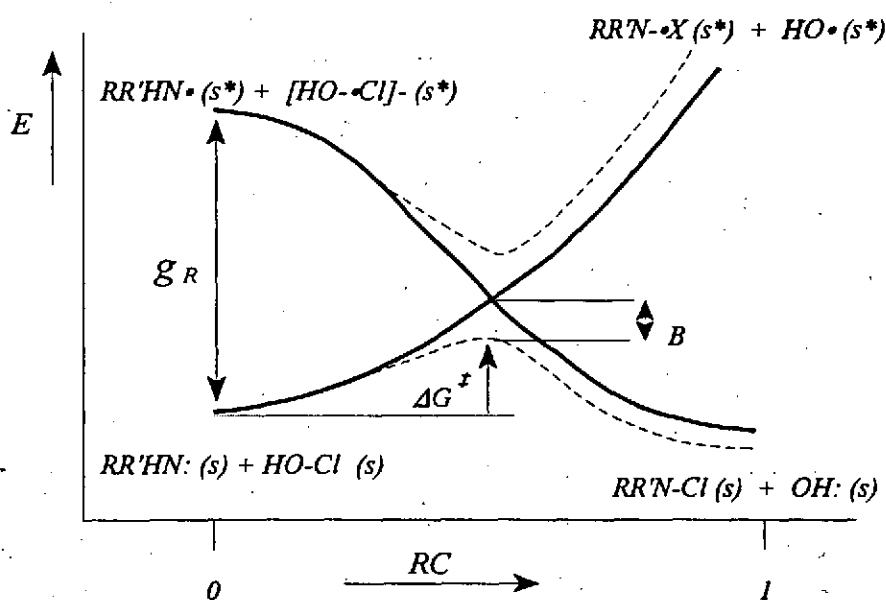


Figura 5.5.: Diagrama del cruce prohibido (Avoided crossing diagram) para reacciones de cloración de un grupo amino

De esta forma se desprende que la cantidad energética que determina la reactividades relativas de una serie de nucleófilos con el mismo electrófilo es el potencial de ionización vertical.

Para algunos nucleófilos los potenciales de ionización en disolución han sido determinados experimentalmente pero para la mayoría los que se disponen son en fase gas (Aue *et al*, 1976). A partir de estos valores en fase gas se pueden determinar los valores en disolución mediante un ciclo termodinámico tal como se muestra en el apéndice 1.

Las magnitudes energéticas que entran en juego en el ciclo termodinámico se pueden obtener de la bibliografía (energías de solvatación y potenciales de ionización (Aue *et al*, 1976; 1976b)). Las energías de solvatación de especies B^+ , según Ritchie (Ritchie, 1983), son iguales a las energías libres en disolución de la especie BH^+ , es decir las energías libres en disolución de los grupos aminos protonados, pueden ser calculados por estimación de la energía de reorganización del disolvente mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta G_{SR}^{\circ} = -\rho \Delta G_s^{\circ} (X^*) \quad (16)$$

$$\Delta G_{SR}^{\circ} = -\rho \Delta G_s^{\circ} (X^*) \quad (17)$$

donde $\rho = 0.56$ para el agua a 25°C (véase apéndice 1).

En la tabla 5.5 aparecen los potenciales de ionización vertical para varios nucleófilos:

Tabla 5.5.: Potenciales de ionización de algunos nucleófilos

Nucleófilo	IP* (gas) (kcal mol ⁻¹)	IP* (agua) (kcal mol ⁻¹)
Metil-amina	222.8 (a)	196 (c)
Etil-amina	218.4 (a)	193 (c)
Propil-amina	216. (a)	192 (c)
Butil-amina	214 (b)	189 (c)
Di-metil-amina	205.9 (a)	181 (c)
Di-etil-amina	199 (a)	179 (c)
Di-propil-amina	196.9 (a)	175 (c)
Piperidina	199.7 (a)	176 (c)
Amoniaco	250.2 (a)	218 (c)
N-metil-piperidina	198.2 (a)	176.5 (c)

(a) (Aue *et al.*, 1976; 1976b); (b) (García-Río *et al.*, 1993); (c) Calculados a partir del ciclo termodinámico anterior (Aue *et al.*, 1976; 1976b)

Las correlaciones estructura-reactividad obtenidas con los potenciales de ionización vertical son similares a las obtenidas por Ritchie (Ritchie, 1972; 1975, 1978; 1986). Si consideramos una familia de reacciones que obedece a la ecuación 15 y definimos una reacción con un cierto nucleófilo como una reacción estándar, que tiene una energía de reacción ΔG_0^{\ddagger} , la reactividad con cualquier otro nucleófilo, relativa a la del estándar, se puede escribir como:

$$\Delta G^{\ddagger} - \Delta G_0^{\ddagger} = f (IP[X:(s)]^* - IP[X:(s)]_0^*) = f [\Delta IP^*] \quad (18)$$

y expresada en términos de constantes de velocidad en forma logarítmica:

$$\log \frac{k}{k_0} = -\frac{f \Delta [IP^*]}{2.303 \cdot R \cdot T} \quad (19)$$

De la ecuación 19 se deduce que las reactividades relativas de los nucleófilos dependen únicamente de las diferencias entre sus potenciales de ionización vertical. k_0 es la constante de velocidad de la reacción tomada como referencia y depende de la reactividad del catión. Para una

familia de reacciones se observará una relación lineal entre $\log k$ y el PI^* , con una pendiente cuyo valor será f (f es el índice de retraso de enlace, véase apéndice 1). Dentro de una familia de reacciones este valor de f es constante.

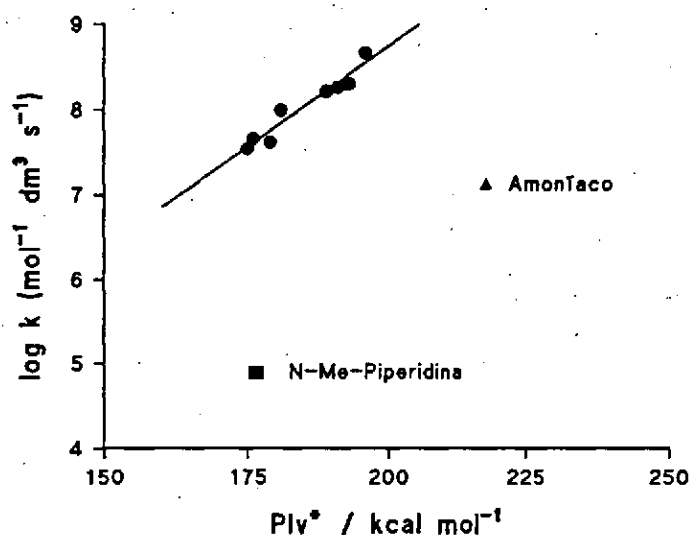


Figura 5.6.: Correlación reactividad- PI^*

A partir de los valores de las constantes de velocidad de cloración existentes en la bibliografía y los potenciales de ionización vertical de la tabla 5.5 se puede obtener una gráfica $\log k$ frente a IP^* (figura 5.6). En la gráfica obtenida se puede observar que el amoníaco y la N-Me-piperidina no presentan una reactividad similar al resto de las aminas, su valor no es igual al del resto de las aminas. Descartando estos dos valores, la ecuación 11 se ajusta a los valores experimentales, obteniéndose un valor para f de -0,052.

Este tipo de correlación es similar a las obtenidas por Ritchie para las reacciones de recombinación catión-anión, y se puede observar que la ecuación 19 es isomorfa con la ecuación de Ritchie:

$$\log k = \log k_0 + N^* \quad (20)$$

Esta ecuación correlaciona las constantes de velocidad de reacciones de combinación catión-anión. N es un parámetro que depende de la reactividad del nucleófilo y del disolvente (Ritchie *et al*, 1967) y k_0 es un parámetro característico del electrófilo. La ecuación 20 establece que las reactividades relativas de electrófilos son independientes de los nucleófilos y viceversa.

Teniendo en cuenta el isomorfismo existente entre las ecuaciones 19 y 20 se obtienen:

$$N^+ = -\frac{f\Delta[IP^*]}{2.303 \cdot R \cdot T} \quad (21)$$

Teniendo en cuenta los valores de los parámetros de Ritchie de la bibliografía (tabla 5.6) y las constantes de velocidad de cloración se obtiene otra correlación reactividad-nucleofilia (Figura 5.7).

Tabla 5.6.: Valores de los parámetros de Ritchie de algunas aminas

Nucleófilo	N^+ (a)	$\log k$ ($M^{-1} s^{-1}$)
Amoniaco	3.89	6.46
Etilamina	6.11	8.29
Propilamina	5.55	8.26
Butilamina	6.16	8.21
Piperidina	6.11	7.65
Hidroxilamina	5.05	7.45
Glicina	5.22	8.05
Glicil-glicina	4.89	6.95

(a) (Ritchie, 1975; 1976)

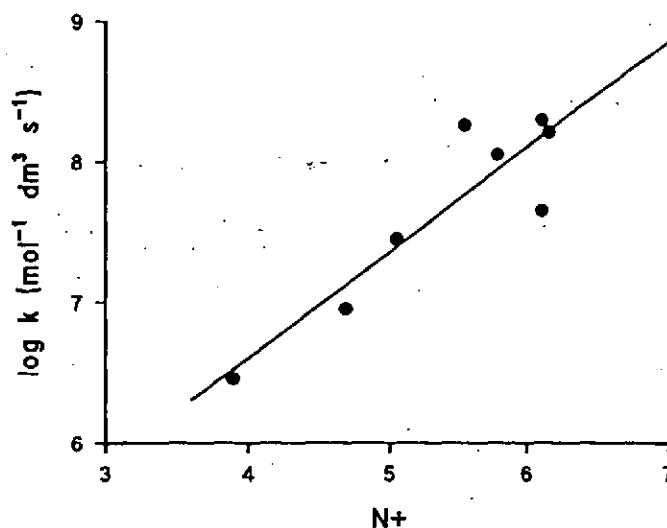


Figura 5.7.: Correlación reactividad-nucleofilia (N^+ de Ritchie)

Ahora todos los nucleófilos están dentro de la misma línea. Según la ecuación 20, la pendiente obtenida en el ajuste debería tener un valor de 1, y el valor obtenido en el ajuste es de

0,7 ± 0,1.

El hecho de que las reactividades en este trabajo se correlacionen mejor con el parámetro de Ritchie que con el PI*, puede sugerir que N⁺ no sólo depende del IP* (ecuación 13) como ha sido sugerido por Shaik (Shaik, 1987) (véase apéndice 1).

La existencia de estas correlaciones reactividad-nucleofilia es otra evidencia para afirmar que la reacción de cloración no está controlada por la difusión de los reactivos.

Volviendo a considerar la figura 5.4., se puede decir que una ecuación de segundo grado sería la que se ajustaría mejor a los datos experimentales. Santaballa *et al* han aplicado la teoría de Marcus (Marcus, 1956; 1957; 1959; 1960; 1963, 1964, 1965; 1968; Murdoch, 1972; Alberty, 1980; Cohen & Marcus, 1968) para explicar este comportamiento (Santaballa *et al*, 1995).

La teoría de Marcus ha sido desarrollada para reacciones de transferencia electrónica pero ya ha sido extendida para el estudio de procesos de transferencia protónica y de grupos metilo. Considera que las reacciones pueden ser entendidas en términos de balance energético entre lo que Marcus llama "barrera intrínseca" y "fuerza termodinámica" para el caso de reacciones no idénticas (exergónicas o endoergónicas). Estos parámetros energéticos están relacionados por la siguiente ecuación:

$$\Delta G^\ddagger = \gamma + \frac{\Delta G^\circ}{2} + \frac{(\Delta G^\circ)^2}{16\gamma} \quad (22)$$

donde γ es la "barrera cinética intrínseca" (en algunos trabajos aparece representada por ΔG_o^\ddagger) y ΔG° es la "fuerza termodinámica". Esta ecuación se hace más compleja cuando las reacciones son en disolución:

$$\Delta G^\ddagger = (\gamma + w_R) + \frac{\Delta G^\circ + w_R - w_P}{2} + \frac{(\Delta G^\circ + w_R - w_P)^2}{16\gamma} \quad (23)$$

donde w_R y w_P se llaman términos de trabajo y representan la energía necesaria para unir los reactivos o separar los productos desde su posición inicial a distancia infinita hasta las posiciones que ocupan en el complejo de encuentro, frecuentemente el término $(\gamma + w_R)$ se representa por ΔG_o^\ddagger y $(\Delta G^\circ + w_R - w_P)$ por ΔG° (ver apéndice 1).

Esta ecuación puede ser escrita:

$$\log k = a - b \cdot pKa_2 - c \cdot pKa_2^2 \quad (24)$$

y es esta ecuación cuadrática la que se ajusta a los datos experimentales de la figura 5.4. Aceptando que la reacción de cloración tiene un comportamiento tipo Marcus, Santaballa *et al* han optimizado los valores de los parámetros a, b y c y a partir de ellos calcularon los valores de los términos de trabajo y la diferencia entre las energías libres de reactivos y productos obteniendo los siguientes valores:

$$\begin{aligned}\gamma &= 7.4 \pm 0.9 \text{ kJ/mol} \\ w_R &= 26.2 \pm 0.1 \text{ kJ/mol} \\ w_P &= -79.0 \pm 6.5 \text{ kJ/mol}\end{aligned}$$

Estos términos han sido calculados para otras reacciones en la bibliografía (Kresge, 1973), y al igual que lo obtenido por Santaballa *et al*, los valores de los términos de trabajo presentan unos valores demasiado grandes para representar un simple encuentro entre los reactivos, por lo que se puede sugerir que estos términos de trabajo incluyen otra energía que oriente los reactivos adecuadamente dentro del complejo de encuentro, para que la transferencia electrónica pueda tener lugar (Kreevoy & Konasewich, 1971; Kreevoy & Oh, 1973). La reorganización del disolvente será una parte de esta orientación, en particular, para reacciones en disolución acuosa entre un sustrato de carbono y catalizadores de oxígeno y nitrógeno, en la que es probable que el disolvente no participe, está claro que los reactivos deben de desolvatarse previamente.

Con todo esto se puede concluir que en la reacción de cloración tiene un peso importante los procesos de solvatación y desolvatación, mientras que el proceso de transferencia del átomo de cloro no presenta grandes requerimiento energéticos ya que el valor obtenido para la barrera intrínseca es bajo en comparación con los valores de los términos de trabajo.

El estudio de la cloración de dipéptidos se completó con la dependencia de la velocidad con la temperatura (ya se vio en el apartado anterior 5.1.3. que la reacción tenía una dependencia tipo Arrhenius) para la Gly-Gly y para su éster etílico y una vez establecida la naturaleza de la etapa limitante de la reacción, se estimaron las entropías y entalpías de activación. A partir de los valores de los pK_{a2} del grupo amino a diferentes temperaturas se han calculado los parámetros termodinámicos del equilibrio de protonación del grupo amino teniendo en cuenta las siguientes ecuaciones:

$$\Delta G = -R \cdot T \cdot \ln K_p \quad (25) \quad \Delta G = \Delta H + T \cdot \Delta S \quad (26)$$

que dan lugar a la ecuación de Van't Hoff:

$$\ln K_p = -\frac{\Delta H}{R \cdot T} + \frac{\Delta S}{R} \quad (27)$$

Los parámetros de activación de la reacción total (suma del equilibrio de protonación y de la etapa de cloración) se calcularon a partir de la teoría del estado de transición para reacciones elementales:

$$k = \frac{k_B \cdot T}{h} \cdot e^{\frac{\Delta S^\ddagger}{R}} \cdot e^{\frac{-\Delta H^\ddagger}{R \cdot T}} \quad (28)$$

obteniéndose los resultados de la tabla 5.7.

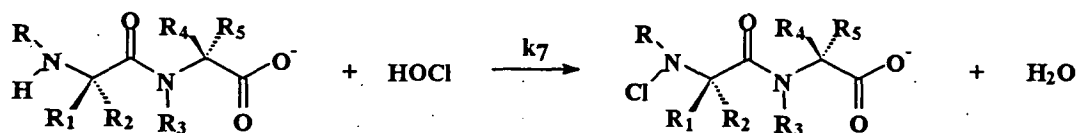
Tal como puede observarse, los valores obtenidos para los parámetros termodinámicos coinciden con el orden de magnitud establecido para el control por difusión, las entalpías son nulas y las entropías son muy altas y negativas. Estos valores podrían considerarse como un apoyo a la hipótesis de que la reacción está controlada por difusión, si bien admite interpretaciones alternativas, como la participación de una molécula de disolvente en el estado de transición (se verá más adelante) o que los parámetros de activación están afectados por la solvatación de los reactivos (los dipéptidos son moléculas muy grandes con carga negativa debida al grupo carboxílico por lo que pueden presentar una importante solvatación). Valores similares a estos se han obtenido para la cloración de aminas secundarias por ácido hipocloroso (Ridd, 1978; Abia, 1993).

Tabla 5.7.: Parámetros termodinámicos para la cloración de dipéptidos

Parámetros	Gly-Gly	Gly-Gly-OEt
$\Delta H_{\text{total}} / \text{kJ mol}^{-1}$	36 ± 4	54 ± 2
$\Delta H_{\text{protonación}} / \text{kJ mol}^{-1}$	41 ± 2	59 ± 3
$\Delta H_{\text{cloración}} / \text{kJ mol}^{-1}$	0	0
$\Delta S_{\text{total}} / \text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	-150 ± 42	-88 ± 5
$\Delta S_{\text{protonación}} / \text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	-20 ± 5	43 ± 9
$\Delta S_{\text{cloración}} / \text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$	-130	-131

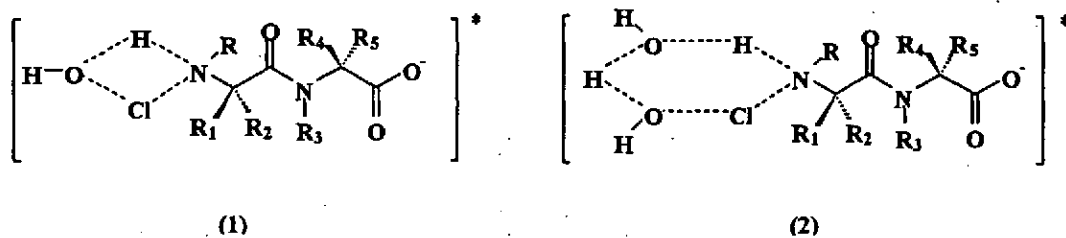
$\Delta H_{\text{total}} = \Delta H_{\text{protonación}} + \Delta H_{\text{cloración}} ; \Delta S_{\text{total}} = \Delta S_{\text{protonación}} + \Delta S_{\text{cloración}}$

De acuerdo con todo lo discutido, se puede concluir que la etapa lenta de cloración es la transferencia de cloro desde el oxígeno del ácido hipocloroso al grupo amino libre del dipéptido y la reacción está controlada químicamente (esquema 5.4)



Esquema 5.4.: Etapa lenta del mecanismo de formación

Como se dijo antes los procesos de solvatación y desolvatación tienen un gran peso y los bajos valores hallados para la entalpía de activación pueden justificar este hecho, por lo que en función de estos resultados, se pueden plantear diversas estructuras del estado de transición en las que la molécula de disolvente tiene un papel importante. Los valores altos y negativos obtenidos para la entropía que hacen suponer que el estado de transición está altamente ordenado, que podría explicarse con la participación de una o dos moléculas de agua en el mismo (Esquema 5.5.)



Esquema 5.5.: Diferentes alternativas para el estado de transición

Ambas alternativas suponen una disminución de la entropía del estado de transición, pero la segunda debe estar más favorecida termodinámicamente por la mayor estabilidad del ciclo de seis miembros y supone una mayor disminución de la entropía.

Capítulo 6

Descomposición de N-Cl-dipéptidos

Capítulo 6

Descomposición de N-Cl-dipéptidos

En este capítulo se discutirá el mecanismo de descomposición de N-Cl-dipéptidos en medio neutro y básico

6.1.- RESULTADOS EXPERIMENTALES

6.1.1. ESPECTROS DE REACCIÓN

6.1.1.1. Medio básico

La reacción de descomposición en medio básico se llevó a cabo utilizando como base el hidróxido sódico. Las reacciones son muy rápidas y los espectros de reacción varían dependiendo de la concentración de la base.

Para dipéptidos no sustituidos en el nitrógeno péptidico aparece una banda de absorción a 255 nm (a 263 nm para la Pro-Gly) la cual queda enmascarada por la aparición de otra banda a 235-237 nm que crece rápidamente hasta valores de absorbancia elevados y más tarde comienza a disminuir de forma más lenta. En las siguientes gráficas se muestra que la banda a 255 nm va desapareciendo, desplazándose hasta 235-237 nm.

En la figura 6.1.A se puede observar la N-Cl-Gly-Val con un máximo de absorción a 255 nm y a medida que se descompone va desplazándose el máximo a valores en torno a 230 nm al mismo tiempo que aumenta la absorbancia. En las siguientes figuras B, C y D, se utilizó NaOH, en este caso la banda a 255 nm desaparece más rápidamente y se va formando una banda a 235 nm; la absorbancia y el ancho de esta banda es mayor a medida que aumenta la concentración de NaOH (figuras 6.1.B, C y D).

Según la figura 6.1.A, la desaparición de la banda a 255 nm la descomposición de la N-Cl-Gly-Val, coincide con la aparición de una banda con un máximo a 235-237 nm, aparición de un intermedio de reacción; por lo que en medio básico se siguió la aparición de la banda cuyo máximo se halla a 235-237 nm. Según estos espectros, hay dos procesos diferenciados y la aparición de un intermedio de reacción de elevada absorbancia cuya concentración es función del pH en el medio de reacción.

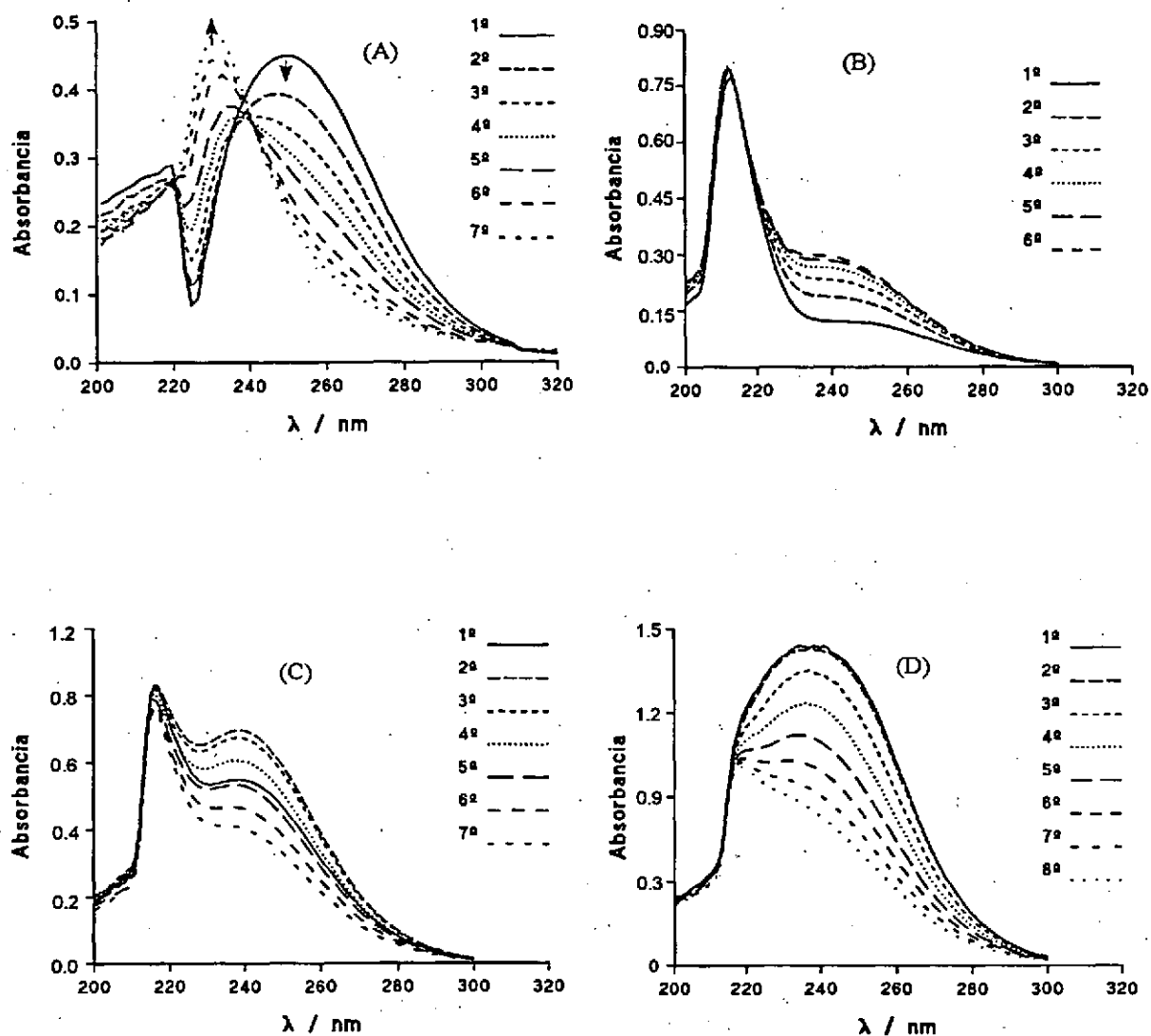


Figura 6.1: Espectros de absorción del N-Cl-glicil-valina a diferentes valores de pH.
 $[ClO] = 5 \cdot 10^{-4} M$, $[Gly-Val] = 1.5 \cdot 10^{-3} M$, $I (NaClO_2) = 1 M$
 (A) $pH=10,2$, con tampón CO_3^{2-}/HCO_3^- ; 3 horas; (B) $[NaOH]=0.01 M$, espectros cada 0,5 min,
 (C) $[NaOH]=0.06 M$, espectros cada 0,5 min, (D) $[NaOH]=0.1 M$, espectros cada 30 s.

El perfil de la reacción se puede ver en la figura 6.2

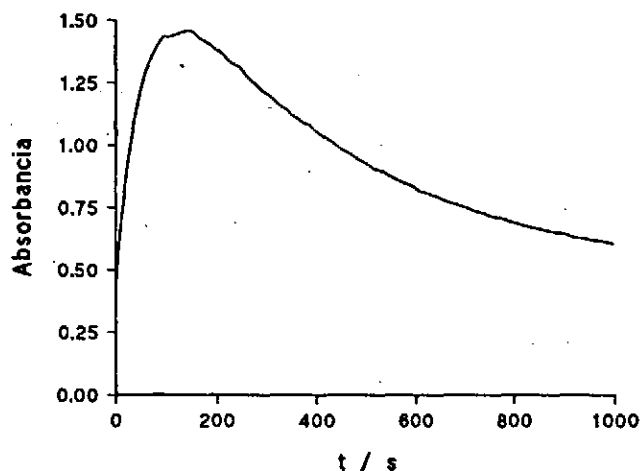


Figura 6.2.: Perfil de reacción de la descomposición de la Ala-Gly en medio básico. $[NaOH] = 0.5 M$, $I = 1 M (NaClO_4)$, $[ClO^-] = 5 \cdot 10^{-4} M$, $[Ala-Gly] = 1 \cdot 10^{-3} M$

Con el fin de comprobar si este comportamiento era específico de los dipéptidos o bien venía determinado por la presencia del enlace peptídico se efectuaron espectros con glicinamida, obteniéndose el mismo comportamiento.

6.1.1.2. Medio neutro

La reacción de descomposición en medio neutro se llevó a cabo utilizando como disolución reguladora $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ y a un pH entre 6 y 8. La razón de reducir el estudio a este intervalo de pH y no ampliarlo a valores mayores se explicará más adelante. Las reacciones de descomposición son mucho más lentas que en medio básico y los espectros de reacción son diferentes.

Tal como se indicó previamente los N-Cl-dipéptidos presentan un máximo de absorción a 255 nm, que no presenta ningún cambio si no se adiciona una base al medio de reacción. En medio neutro la reacción es tan lenta que sólo se registran cambios en el máximo de absorción para el caso de la Gly-Sar y la glicinamida (figura 6.3). Este cambio consiste en una disminución de la absorbancia con el tiempo, no se desplaza el máximo como ocurría en medio básico. Para el resto de los dipéptidos la reacción es tan lenta que no se observan cambios apreciables en el espectro durante por lo menos 1 hora.

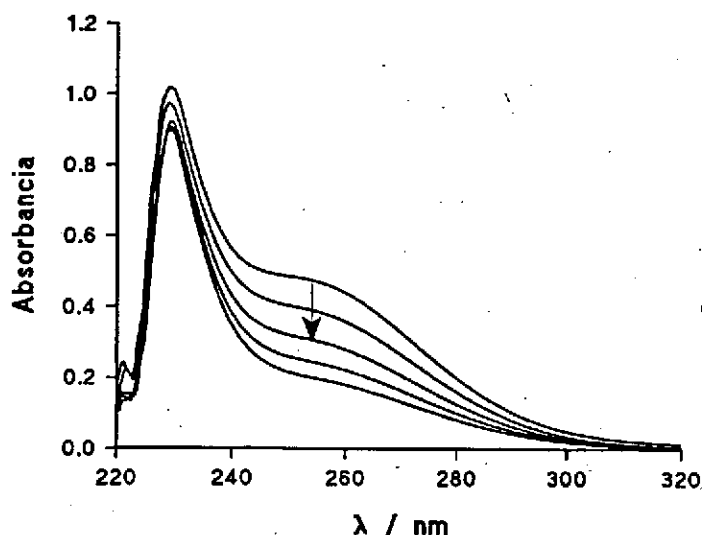


Figura 6.3.: Espectro de Gly-Sar en medio neutro. $pH=6.73$
 [tampón fosfato] = $0.15 M$, $[ClO^-] = 1 \cdot 10^{-3} M$, $[Gly-Sar] = 1.2 \cdot 10^{-3} M$
 (espectros cada 6 min.)

En los espectros difícilmente se apreciaba la existencia de uno o dos procesos, por lo que se hizo un seguimiento cinético a 255 nm. El perfil de la reacción que se obtuvo variaba dependiendo del pH y concentraciones de los reactivos.

6.1.2. PERFILES DE REACCIÓN

En medio básico siempre se observaban dos procesos de descomposición como quedó se en la figura 6.2. El único cambio que se observaba en este perfil era que el salto de absorbancia de las reacciones era más acusado a medida que aumentaba la concentración de NaOH (figuras 6.1.A, B y C).

En medio neutro el perfil de la reacción cambiaba no sólo con la concentración de los reactivos, sino también con el pH. En algunos casos se observaban bien dos procesos consecutivos, como en medio básico, pero si se cambiaban las condiciones sólo se advertía la presencia del segundo proceso.

La influencia de la concentración de hipoclorito en el perfil de reacción se puede ver en la figura 6.4. Cuando la relación ClO^- /dipéptido es grande el primer proceso no se observa y cuando esta relación va disminuyendo el primer proceso aparece y el salto de absorbancia de este es mayor a medida que la relación anterior disminuye. La influencia de concentraciones incluso puede llegar a cambiar el orden de reacción del segundo proceso (pasar de orden uno a dos).

Lo mismo ocurría al variar las concentraciones de tampón y el pH, manteniendo el resto de las condiciones constantes (figura 6.5.).

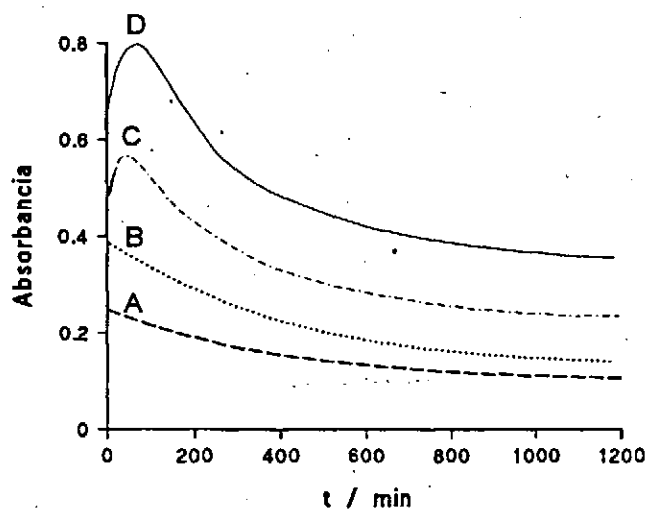


Figura 6.4: Influencia de la $[ClO^-]$ en el perfil de reacción de la descomposición de la N-Cl-Gly-Gly. $pH=6$, $I=1\text{ M}$ (NaCl), $[Gly-Gly]=1.5 \cdot 10^{-2}$, $[ClO^-]=$ (A) $5 \cdot 10^{-4}\text{ M}$, (B) $1 \cdot 10^{-3}\text{ M}$, (C) $1.25 \cdot 10^{-3}\text{ M}$, (D) $1.6 \cdot 10^{-3}\text{ M}$

En la figura 6.5 se aprecia que a medida que aumenta la concentración de tampón el primer proceso se hace más visible y el salto de absorbancia es mayor, pero también ocurre que el pH cambia unas décimas, por lo que es difícil de predecir si el cambio es debido al pH o al cambio en la concentración de regulador.

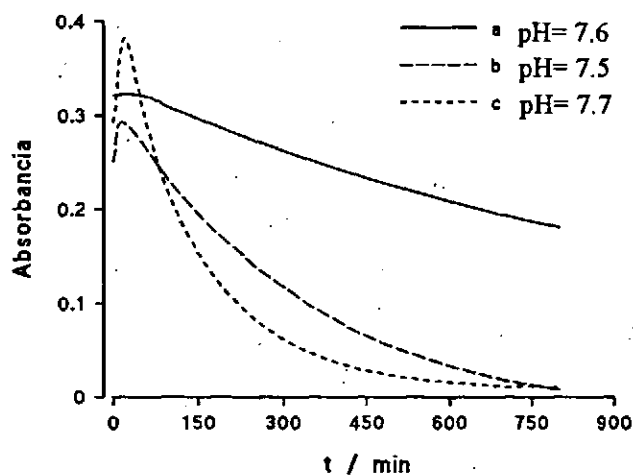


Figura 6.5: Influencia de la [tampón fosfato] en la reacción de descomposición de Gly-Leu. $[ClO^-]=1 \cdot 10^{-3}\text{ M}$, $[Gly-Leu]=1.2 \cdot 10^{-3}$, $I=1\text{ M}$, (NaCl) [tampón]= (a) 0.05 M , (b) 0.15 M , (c) 0.38 M ,

A diferentes valores de pH, el estudio de la reacción se hace más complicado, ya que a valores de pH más altos de 8 la banda en torno a 235-237 nm comienza a ser notable, y las ecuaciones de velocidad conocidas no se ajustan a los datos absorbancia tiempo obtenidos a 255 nm y por otra parte el salto de absorbancia a 237 nm no es suficientemente grande como para poder seguir la reacción a esa longitud de onda. Por esta razón sólo se ha realizado el estudio a valores de pH en los que se ha podido seguir la reacción limpiamente a 255 nm ($6 < \text{pH} < 8$).

En estas condiciones de pH, para la mayoría de los dipéptidos, el salto de absorbancia del primer proceso es tan pequeño que resulta imposible seguir la primera reacción y obtener un valor de la constante de velocidad reproducible.

Para los dipéptidos en los que el primer aminoácido no es la glicina (Ala-Gly, Leu-Ala, Pro-Gly, Val-Gly), este primer proceso es muy lento y el salto de absorbancia es grande por lo que se ha podido seguir esta parte de la reacción y calcular un valor de la constante de velocidad. En este caso el primer proceso es tan lento que se hace muy difícil llevar a cabo un seguimiento cinético del segundo proceso. Sólo para el caso de la Ala-Gly apreciamos indicios del segundo proceso (Figura 6.6)

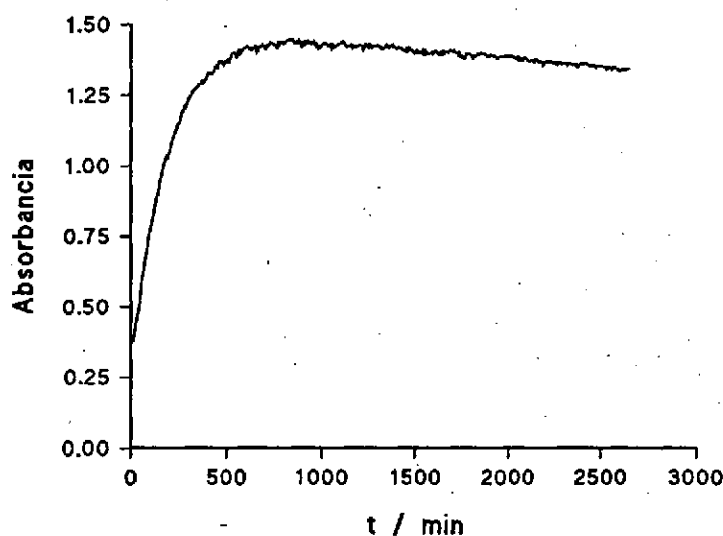


Figura 6.6: Perfil de reacción de la reacción de descomposición de la Ala-Gly en medio neutro. $\text{pH} = 7.8$, $[\text{Tampón fosfato}] = 0.38 \text{ M}$, $I = 1 \text{ M (NaCl)}$, $[\text{ClO}^-] = 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{Ala-Gly}] = 1.2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

De todo esto se sigue que al igual que en medio alcalino se forma un intermedio de reacción cuya concentración depende mucho de las condiciones del medio de reacción, sobre todo del pH, ya que a medida que cambia este su máximo de absorción se desplaza y su concentración aumenta.

Ya que como la concentración del intermedio depende del pH, puede sospecharse de la existencia de un equilibrio ácido-base, por lo que se midió la absorbancia final del primer

proceso a diferentes valores de pH (figura 6.7), que es similar a las curvas obtenidas para este tipo de equilibrios.

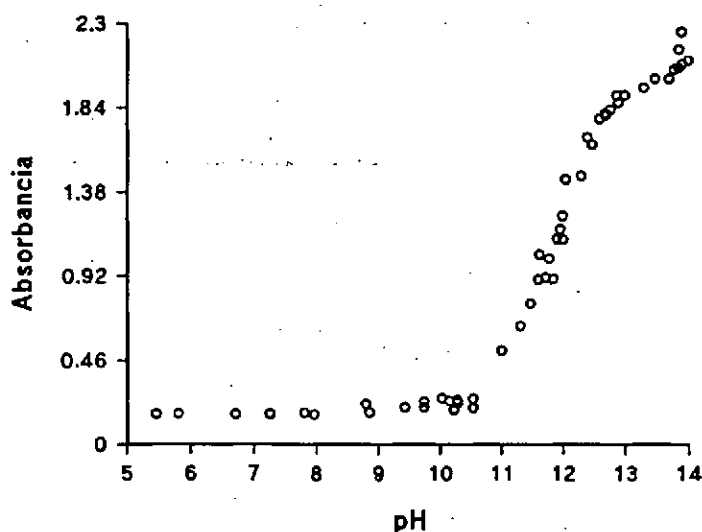


Figura 6.7.: Curva absorbancia-pH del intermedio de la reacción de descomposición de *N*-Cl-Gly-Gly

A partir de los valores de absorbancia-pH se estimó el pKa del intermedio. Los valores así obtenidos se recopilan en la siguiente tabla:

Aunque este intermedio no puede ser aislado pueden conocerse alguna de sus características a partir del análisis de productos.

6.1.3. COMPROBACIÓN DEL ORDEN DE REACCIÓN

Se comprobó que los datos de absorbancia-tiempo se ajustaban a la ecuación integrada de orden uno, tanto el primero como para el segundo proceso, en medio básico y en neutro.

$$v = \frac{\partial[N\text{-Cl-dipéptido}]}{\partial t} = k_{obs} \cdot [N\text{-Cl-dipéptido}]$$

Como se dijo antes en medio neutro sólo se siguió el primer proceso para los dipéptidos cuyo primer aminoácido no fuera la Glicina.

Los datos absorbancia tiempo de ambos procesos también se ajustaron tratándolos como reacciones consecutivas y los resultados obtenidos fueron los mismos en la mayoría de los casos. El único problema para tratarlos de este modo, era la diferencia de velocidades existente entre el primer y el segundo proceso; si se seguían las dos reacciones simultáneamente, no se obtenían suficientes datos para la primera reacción, por lo que los errores en el ajuste eran considerables.

6.1.4. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS REACTIVOS

Ya en apartado 6.1.3 se mencionó que relación hipoclorito/dipéptido influía en la reacción de descomposición en medio neutro; sin embargo, en el caso de medio básico no se observa ninguna influencia al cambiar esta relación (Tabla 6.2)

Tabla 6.2. Influencia de [Gly-Gly] en medio básico

[Gly-Gly] · 10 ³ / M	k ₁ / s ⁻¹	k ₂ / s ⁻¹
1.0	0.5968	0.01703
2.5	0.5976	0.01751
5.0	0.5938	0.01736
7.5	0.5843	0.01683
10.0	0.5817	0.01737
25.0	-----	0.01746

6.1.5. INFLUENCIA DEL PH

La velocidad de ambos procesos aumenta con el pH del medio de reacción. Por lo expuesto en apartados anteriores no se pudo seguir la reacción en un intervalo de pH amplio pero teniendo en cuenta las velocidades que se obtuvieron valores de pH comprendidos entre 6 y 8 y en medio básico se observa que el pH acelera la velocidad de la reacción.

6.1.5.1. Influencia de la [NaOH]

Del análisis de los datos cinéticos se concluye que la reacción muestra una dependencia de orden uno con la concentración de iones hidróxido para ambos procesos, como se muestra en las figuras 6.8 y 6.9. Para cada proceso establecerse la siguiente ecuación de velocidad:

$$v = v_0 + v_{OH} = k_{obs} [N-Cl-dipéptido] = (k_0 + k_{OH} [OH^-]) [N-Cl-dipéptido]$$

donde v₀ representa la velocidad de la reacción independiente del pH, v_{OH} tiene en cuenta la dependencia con la concentración de hidróxido sódico, k₀ es la constante de velocidad de la reacción sin catalizar y k_{OH} es la constante catalítica de los iones hidróxido.

Las constantes catalíticas de ambos procesos están en la tabla 6.3

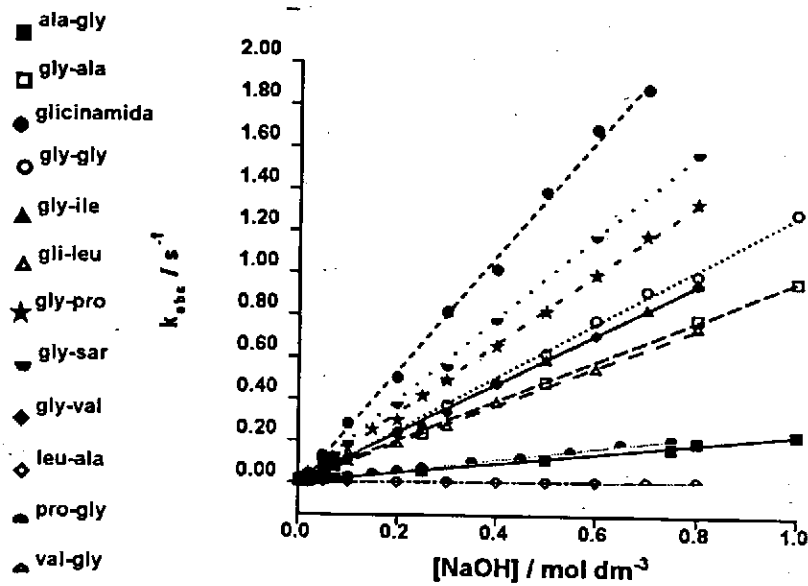


Figura 6.8.: Influencia de $[NaOH]$ en el primer proceso de descomposición de N-Cl-dipéptidos, $I = 1\ M\ (NaClO)$, $[ClO] = 5 \cdot 10^{-4}$, $[dipéptido] = 1 \cdot 10^{-2}\ M$

En la figura 6.8 se observa que las ordenadas en el origen están próximas a cero de ahí que no se aprecie reacción de descomposición de dipéptidos sin la presencia de una base.

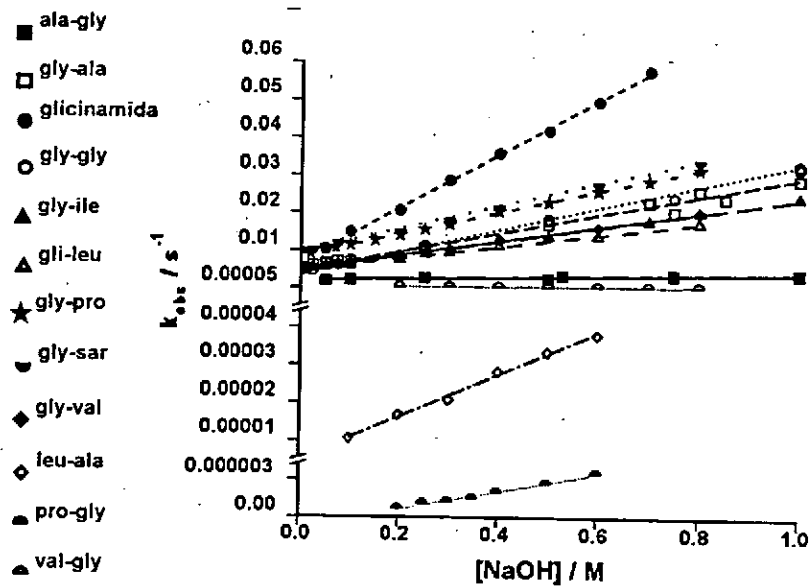


Figura 6.9.: Influencia de la $[NaOH]$ en el segundo proceso de descomposición de N-Cl-dipéptidos, $I = 1\ M\ (NaClO)$, $[ClO] = 5 \cdot 10^{-4}\ M$, $[dipéptido] = 1 \cdot 10^{-2}\ M$

Tabla 6.3.: Constantes catalíticas del primer y segundo proceso de descomposición de N-Cl-dipéptidos en medio básico

Dipéptido	$k_{OH}^1 / M^{-1} s^{-1}$	$k_{OH}^2 / M^{-1} s^{-1}$
Glicinamida	2.75 ± 0.06	0.072 ± 0.001
Gly-Sar	1.96 ± 0.02	$(3.07 \pm 0.03) \cdot 10^{-2}$
Gly-Pro	1.67 ± 0.02	$(2.93 \pm 0.02) \cdot 10^{-2}$
Gly-Gly	1.29 ± 0.02	$(2.9 \pm 0.2) \cdot 10^{-2}$
Gly-Ile	1.19 ± 0.01	$(1.94 \pm 0.04) \cdot 10^{-2}$
Gly-Val	1.18 ± 0.01	$(1.92 \pm 0.04) \cdot 10^{-2}$
Gly-Ala	0.96 ± 0.004	$(2.51 \pm 0.09) \cdot 10^{-2}$
Gly-Leu	0.92 ± 0.01	$(1.61 \pm 0.03) \cdot 10^{-2}$
Pro-Gly	0.28 ± 0.004	$(6.9 \pm 0.3) \cdot 10^{-6}$
Ala-Gly	0.23 ± 0.004	$(2.4 \pm 0.2) \cdot 10^{-3}$
Val-Gly	0.0131 ± 0.0001	$(5.2 \pm 0.1) \cdot 10^{-4}$
Leu-Ala	0.0128 ± 0.0002	$(5.6 \pm 0.2) \cdot 10^{-5}$

6.1.5.2. Influencia de la disolución reguladora $HPO_4^{-2}/H_2PO_4^{-}$

Se llevó a cabo el estudio de la influencia de disoluciones reguladoras en la constante de velocidad. Para ello se ha utilizado como disolución reguladora el hidrógeno fosfato / dihidrógeno fosfato y el resultado obtenido en ambos casos es un aumento de la constante de velocidad a medida que aumenta la concentración de la disolución reguladora. El estudio de esta influencia se realizó a diferentes valores de pH, tanto para el primer proceso (figura 6.10) como para el segundo (figura 6.11.).

Tal como se indicó, para los dipéptidos que comienzan por el aminoácido glicina, se ha seguido únicamente el segundo proceso, ya que resulta muy difícil seguir el primero y obtener constantes de velocidad reproducibles. Para los otros dipéptidos se siguió solamente el primer proceso, dada la lentitud del segundo.

Teniendo en cuenta la influencia de las disoluciones reguladoras anteriores, puede establecerse la existencia de una catálisis general básica, por lo que se cumple que:

$$k_{obs} = k_0 + \sum k_i [Base]$$

En la tabla 6.4 se recogen los valores de las constantes catalíticas del tampón fosfato

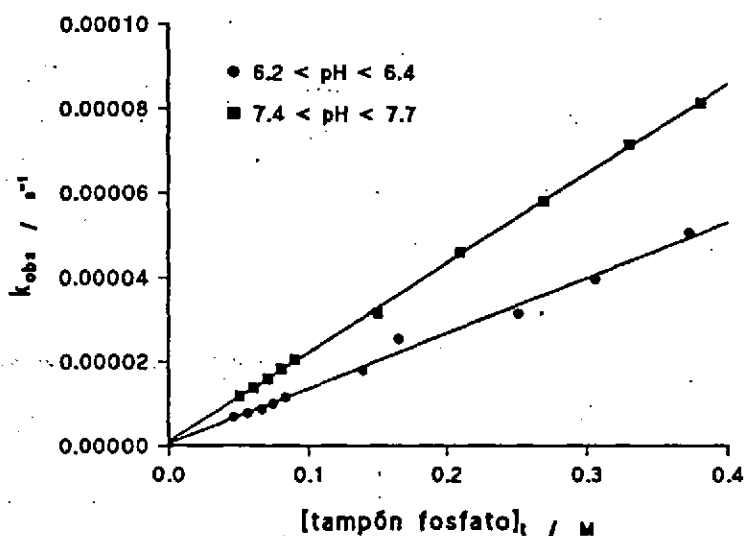


Figura 6.10.: Influencia del tampón fosfato en el segundo proceso de descomposición de la N-Cl-Ala-Gly. $I = 1\ M$ ($NaClO_4$), $[ClO^-] = 1 \cdot 10^{-3}\ M$, $[Ala-Gly] = 1.2 \cdot 10^{-3}\ M$

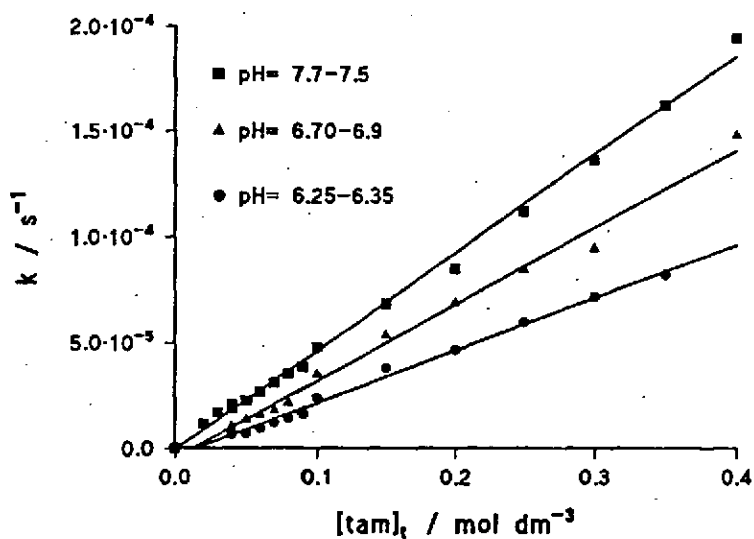


Figura 6.11.: Influencia del tampón fosfato en el segundo proceso de descomposición de la N-Cl-Gly-Gly. $I = 1\ M$ ($NaClO_4$), $[ClO^-] = 1 \cdot 10^{-3}\ M$, $[Gly-Gly] = 1.2 \cdot 10^{-3}\ M$

Tabla 6.4.: Constantes catalíticas de los iones $H_2PO_4^-$ y HPO_4^{2-}

Dipéptido	$k_A^1 / M^{-1} s^{-1}$	$k_B^1 / M^{-1} s^{-1}$	$k_A^2 / M^{-1} s^{-1}$	$k_B^2 / M^{-1} s^{-1}$
Gly-Gly	-----	-----	$2.05 \cdot 10^{-4}$	$5.97 \cdot 10^{-4}$
Gly-Sar	-----	-----	$1.59 \cdot 10^{-4}$	$3.72 \cdot 10^{-4}$
Gly-Pro	-----	-----	$1.43 \cdot 10^{-4}$	$3.45 \cdot 10^{-4}$
Gly-Leu	-----	-----	$1.64 \cdot 10^{-4}$	$3.23 \cdot 10^{-4}$
Ala-Gly	$1.037 \cdot 10^{-4}$	$2.42 \cdot 10^{-4}$	-----	-----
Leu- Ala	-----	-----	-----	-----
Val-Gly	$6.23 \cdot 10^{-6}$	$1.67 \cdot 10^{-5}$	-----	-----

k_A^1 - Constante catalítica del ion dihidrógeno fosfato en el primer proceso

k_B^1 - Constante catalítica del ion hidrógeno fosfato en el primer proceso

k_A^2 - Constante catalítica del ion dihidrógeno fosfato en el segundo proceso

k_B^2 - Constante catalítica del ion hidrógeno fosfato en el segundo proceso

6.1.6. ANÁLISIS DE PRODUCTOS

6.1.6.1. Análisis del cloro activo

Se realizaron análisis de alícuotas de la reacción a diferentes tiempos con el fin de determinar en que momento de la reacción ya no existe cloro activo, o sea, en que momento de la reacción el enlace N-Cl- deja de existir.

A cada alícuota se añadía yoduro de potásico y una disolución de tampón acético/acetato y se observaba como desaparecía el color amarillo del medio, debido a la desaparición del yodo que se forma.

Como las reacciones en medio neutro eran muy lentas (la más rápida era la Gly-Sar y era de 8 horas el proceso completo, por lo que el primero sería de 1 hora) y por otra parte no se distinguía bien el primer proceso, y en aquellos que se podía seguir, se necesitaba mucho tiempo ya que la reacción era muy lenta, estos análisis sólo se realizaron para las reacciones en medio básico.

Los análisis se llevaron a cabo a diferentes concentraciones de NaOH y con varios dipéptidos. En todos los casos la desaparición del cloro activo coincidía con el final del segundo proceso, por lo que se puede decir que la especie intermedia todavía lleva el átomo de cloro unido al nitrógeno

6.1.6.2. Análisis de amoníaco

Se realizaron análisis de amoníaco al final de la reacción y también se siguió la concentración de amoníaco con el tiempo con el fin de ver si el amoníaco se producía en el primer o segundo proceso.

Los resultados del análisis al final de la reacción están en la tabla 6.5. mientras que en la figura 6.12 se presenta el perfil de la reacción seguida con el electrodo de amoníaco.

Tabla 6.5.: Análisis de amoníaco

Dipéptido	% NH ₃ (medio básico)	% NH ₃ (medio neutro)
Gly-Sar	96	87
Gly-Ala	96	89
Gly-Pro	97	95
Gly-Gly	95	92
Gly-Val	85	77
Ala-Gly	88	81
Leu-Val	83	83
Pro-Gly	0	0

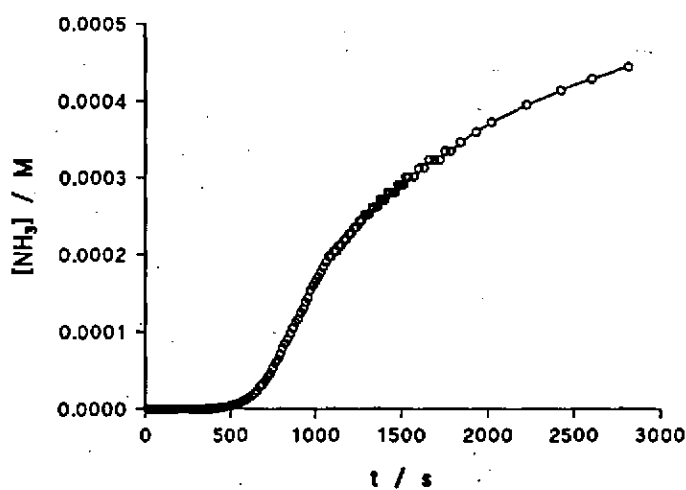
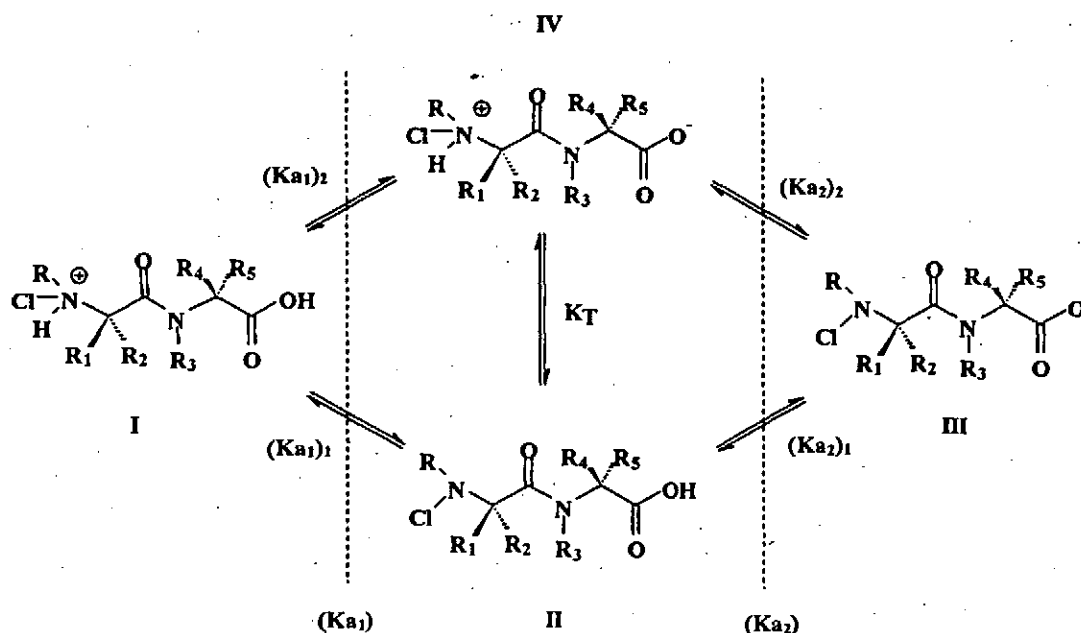


Figura 6.12.: Cinética de descomposición de la N-Cl-Ala-Gly seguida con el electrodo de amoníaco, $[NaOH] = 0.0125 M$, $[ClO^-] = 5 \cdot 10^{-4} M$, $[Ala-Gly] = 1 \cdot 10^{-3} M$

Los resultados muestran que la reacción se produce prácticamente al 100 % en los dipéptidos analizados

6.2.- DISCUSIÓN DEL MECANISMO

Al igual que en la discusión de los capítulos 4 y 5, el paso previo a la discusión del mecanismo de reacción es aclarar que especies de N-Cl-dipéptido participan en el proceso y para ello deben de considerarse los equilibrios de ionización de N-Cl-dipéptidos mostrados en el esquema 6.1.



Esquema 6.1.: Posibles equilibrios de ionización para los N-Cl-dipéptidos

donde K_a y K_a son la primera y segunda constantes de ionización macroscópicas, $(K_{a1})_1$, $(K_{a1})_2$, $(K_{a2})_1$ y $(K_{a2})_2$ corresponden a los cuatro equilibrios de ionización microscópicos existentes (dos para cada equilibrio macroscópico) y K_T es la constante de equilibrio de tautomería.

Las concentraciones de las especies I, II, III, IV pueden expresarse en función de la acidez del medio, de las constantes de equilibrio K_{a1} , K_{a2} y K_T y la concentración analítica de N-Cl-dipéptido:

$$[I] = \frac{[N\text{-Cl-dipéptido}]_0}{1 + \frac{K_{a1}}{[H^+]} + \frac{K_{a1} \cdot K_{a2}}{[H^+]^2}}$$

$$[II] = \frac{[N\text{-Cl-dipéptido}]_0}{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{a2}}{[H^+]}\right) \cdot (1 + K_T)}$$

$$[III] = \frac{[N-Cl-dipéptido]_0}{1 + \frac{[H^+]}{K_{a_2}} + \frac{[H^+]^2}{K_{a_1} \cdot K_{a_2}}} \quad [IV] = \frac{K_T \cdot [N-Cl-dipéptido]_0}{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_{a_1}} + \frac{K_{a_2}}{[H^+]}\right) \cdot (1 + K_T)}$$

$$[II] + [IV] = \frac{[N-Cl-dipéptido]_0}{1 + \frac{[H^+]}{K_{a_1}} + \frac{K_{a_2}}{[H^+]}}$$

Los valores de las constantes que aparecen en las ecuaciones no se conocen para los N-Cl-dipéptidos, sin embargo cabe esperar que en las condiciones de trabajo, la especie I y II no se hallen en proporción significativa, dado que la sustitución de un hidrógeno por un cloro en compuestos similares (Weil & Morris, 1949b, Antelo *et al*, 1989), supone un fuerte aumento de la acidez del compuesto en cuestión, disminuyendo de esta manera los valores del pK_a correspondientes a la desprotonación del grupo amino, y por otra parte, Armesto *et al* estimaron los valores de estas constantes para N-Cl-aminoácidos obteniendo una disminución del pK_a del grupo amino hasta de 10 unidades en algunos casos (Armesto *et al*, 1994e). Si se considera que el pK_a del grupo amino del N-Cl-dipéptido desciende 8 unidades, la especie IV debe de hallarse en concentración despreciable en las condiciones de trabajo. De este modo, la especie que debe considerarse implicada en la reacción es la III. Por otra parte si las otras especies estuviesen implicadas en el proceso, se obtendría una dependencia compleja con el pH, contrariamente a lo observado en las condiciones de trabajo. De esta forma la ecuación de velocidad de la reacción total resulta:

$$v = v_0 + v_b + v_{OH} = k_{obs} \cdot [III] = (k_0 + \Sigma k_i \cdot [Base]) \cdot [III]$$

Sustituyendo el valor de la concentración de la especie III:

$$v = k_{obs} \cdot \frac{[N-Cl-Val]_0}{1 + \frac{[H^+]}{K_{a_2}} + \frac{[H^+]^2}{K_{a_1} \cdot K_{a_2}}}$$

Dado que las condiciones de trabajo $[H^+] \ll K_{a_1}$ y $[H^+] \ll K_{a_2}$, la expresión anterior se simplifica, obteniéndose:

$$v = k_{obs} \cdot [N-Cl-dipéptido]_0$$

donde $k = k_0 + \Sigma k_i \cdot [Base]$

Todos los resultados del apartado anterior sugieren la existencia de dos procesos consecutivos bien diferenciados catalizados por bases y la existencia un intermedio de reacción inestable que en función del pH del medio presenta dos formas diferentes relacionadas a través de un equilibrio ácido-base.

El hecho de que la glicinamida presente las mismas características de reacción que los dipéptidos, pone de manifiesto que el enlace peptídico no es específico del proceso de reacción.

Los cambios espectrales observados en el apartado 6.1.1. son debidos a que el intermedio de la reacción depende del pH del medio presentado una forma básica, a altos valores de pH que absorbe a 237 nm y otra ácida a valores bajos de pH que absorbe a 255 nm. El pKa de este equilibrio se presenta en torno a 11 y 12 (Tabla 6.1).

Según los espectros la forma básica del intermedio absorbe mucho más que la forma ácida, por lo que deben de producirse cambios en los enlaces del compuesto de tal modo que se produzcan conjugaciones entre los enlaces y de esta forma la absorbancia es mayor.

La existencia de este equilibrio ácido-base explica la influencia de la concentración del hipoclorito en el perfil de reacción en medio neutro. Cuando la concentración de hipoclorito es muy baja, la cantidad de N-Cl-dipéptido formado es poca y por consiguiente también lo es la de especie ácida del intermedio. Teniendo en cuenta esto el primer proceso no puede observarse por lo siguiente:

* El salto de absorbancia del primer proceso en medio neutro es directamente proporcional a la concentración de la especie ácida, si esta es baja, la absorbancia también; por consiguiente no se pone de manifiesto el primer proceso.

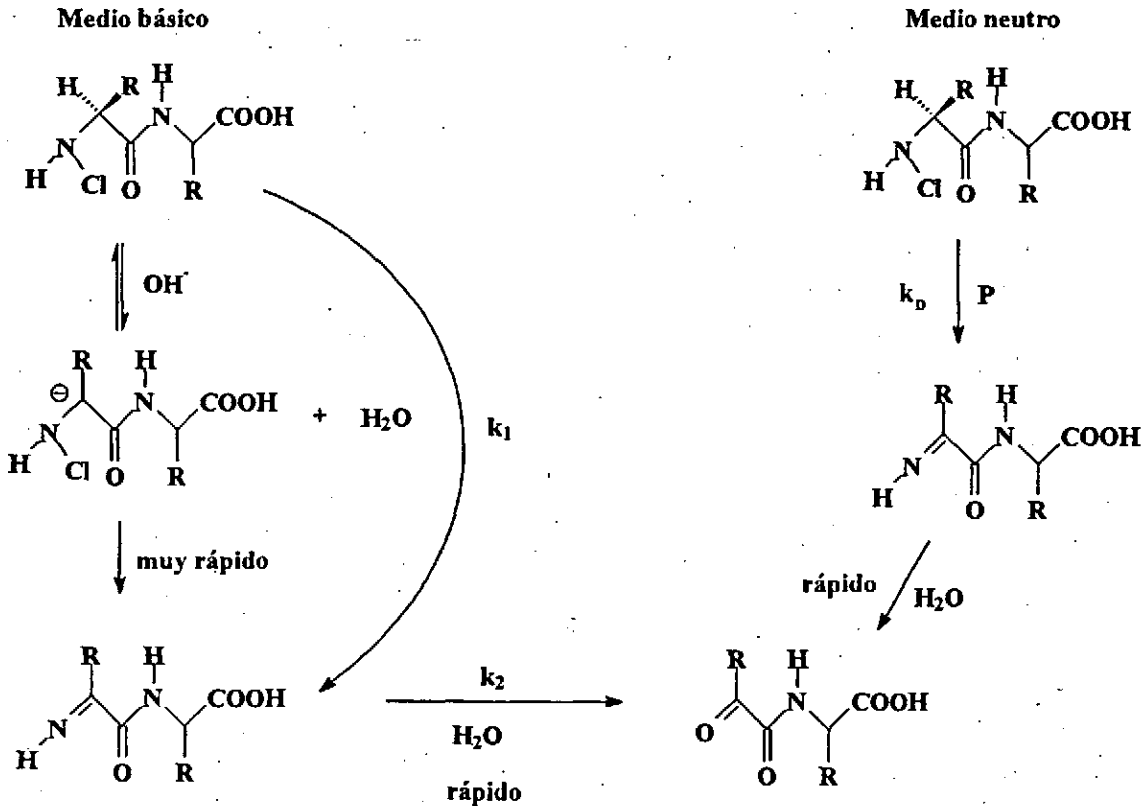
A medida que aumenta la concentración de hipoclorito, aumenta la cantidad de especie ácida formada y por lo tanto el salto de absorbancia del primer proceso es mayor y este se hace perceptible (figura 6.4).

La influencia de la disolución reguladora en el perfil de reacción se explica teniendo en cuenta que a mayor cantidad de disolución reguladora, el equilibrio se desplaza más hacia la formación de la especie básica. El máximo de absorción se verá desplazado ligeramente y como antes se indicó, esta especie absorbe mucho más por lo que el primer proceso se observará mejor. Esto también se puede explicar teniendo en cuenta que al aumentar la concentración de regulador aumenta ligeramente el pH: la especie básica aumenta al aumentar el pH.

Los resultados del análisis de productos muestran que el átomo de cloro y el amoníaco se producen en el segundo proceso de la reacción. Esto significa que el intermedio de reacción posee el enlace N-Cl.

Teniendo en cuenta los valores de las ordenadas en el origen de la figura 6.8 los N-Cl-dipéptidos son estables y sólo en presencia de una base sufren descomposición, podría plantearse un mecanismo como el planteado por Snyder (Snyder, 1972), que estudió las reacciones de descomposición de dipéptidos en medio básico y neutro. Los dipéptidos que utilizó fueron la glicil-glicina, alanil-glicina, seril-serina y ácido aminoisobutiril-aminoisobutírico. Snyder planteó que la reacción de descomposición de los N-Cl-dipéptidos en medio básico se produce mediante dos procesos consecutivos de primer orden y forma como productos finales amoníaco y un compuesto dicarbonílico. El paso determinante de la velocidad es la abstracción del protón en posición alfa al nitrógeno amínico, seguido de un reordenamiento del carbanión para formar una imina. El segundo paso es la hidrólisis de esta imina para dar los productos finales. Encontró que el ácido aminoisobutiril-aminoisobutírico no se declora en un periodo de 1 hora. En medio neutro encuentra que los N-Cl-dipéptidos son mucho más estables que los N-Cl-aminoácidos y que un aumento en la concentración del tampón utilizado (hidrógeno fosfato / di-hidrógeno

fosfato) acelera la velocidad de la reacción lo que explica a través de un mecanismo de catálisis general básica, en la que el paso determinante de la velocidad es la pérdida del protón en alfa (esquema 6.2.)



Esquema 6.2.: Mecanismo de descomposición de N-Cl-dipéptidos propuesto por Snyder

Donde P es la forma básica del tampón, k_1 y k_2 son las constantes de las dos reacciones consecutivas en medio básico y k_D es la constante de descomposición en medio neutro.

Este mecanismo no explica los resultados obtenidos en este trabajo por las siguientes razones:

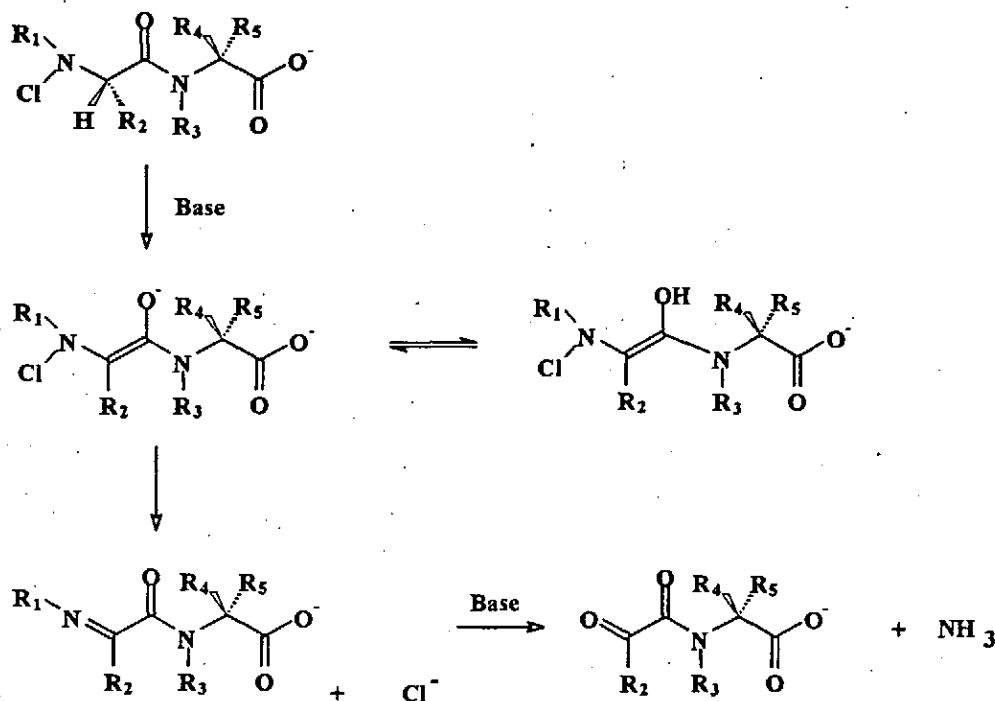
- En el primer proceso, la formación del carbanión en el $\text{C}\alpha$ puede descartarse dado que la reacción es más rápida para los dipéptidos cuyo primer aminoácido es la glicina, comportamiento contrario al que cabe esperar si se formase el carbanión en el carbono alfa (tabla en el apéndice).

- Por otra parte Snyder no observa en medio neutro el primer proceso, la razón estriba en las concentraciones muy bajas de hipoclorito y de tampón fosfato, por lo que la formación de la especie básica del intermedio es mínima y no se observa el primer proceso.

- Snyder propone este mecanismo basándose en: el análisis de cloro activo que según él la desaparición del cloro coincide con el primer proceso de descomposición, contrario a lo observado en este trabajo y al hecho de que al aminoisobutilil-aminoisobutírico (no tiene

hidrógeno en alfa al nitrógeno amínico) no se descompone.

En este trabajo se propone un mecanismo alternativo teniendo en cuenta todos los resultados que se obtuvieron, mecanismo que se presenta en el esquema 6.3



Esquema 6.3.: Mecanismo de reacción para la descomposición de N-Cl-dipéptidos

Este mecanismo permite justificar los datos experimentales observados:

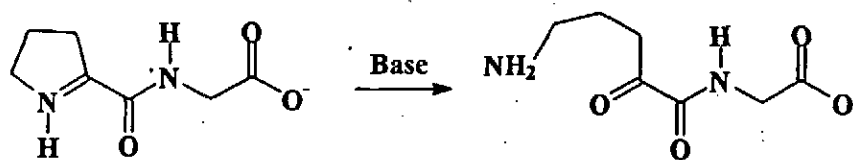
1º- Existencia de dos procesos diferenciados de orden uno, catalizados por bases, tanto en medio neutro como en medio básico. Explica la existencia de catálisis básica.

2º- La tendencia en las constantes de velocidad observadas en el primer proceso, al no formarse un carbanión en el carbono en alfa al nitrógeno.

3º- La formación de un ion enolato como especie intermedia permite explicar variación observada de la absorbancia del máximo de absorción del intermedio con el pH. Este ion enolato presenta un equilibrio ácido-base con su forma enólica. La cantidad de enol o enolato es una función del pH del medio y del pKa del enol. El ion enolato se forma en medio básico y es la especie que absorbe a 235-237 nm. El enol estará presente en medio neutro y absorbe a 255 nm. Los valores de pKa de enoles simples están en torno a los valores aquí observados (entre 10-12) (Toullec, 1990) La diferencia de absorbancia que se observa es debido a que la forma ceto es siempre mucho más absorbente que el enol y necesita poca concentración de enol (del orden de 10^{-4} M) para dar valores de absorbancia altos (Toullec, 1990; Keeffe & Kresge, 1990).

4º- El segundo proceso no es la formación de la imina a partir del enolato, ya que si fuera así el segundo proceso para la Pro-Gly tendría una velocidad parecida a la de los demás y por

el contrario es un proceso muy lento y esto es debido a que este dipéptido en el segundo proceso (hidrólisis de la imina) se rompe el anillo de cinco miembros de la prolina (esquema 6.4).

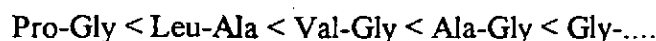


Esquema 6.4.: Hidrólisis de la imina de la Pro-Gly

Por otra parte este mecanismo también justifica que en la descomposición de la Pro-Gly no se produzca amoníaco, al igual que en los otros dipéptidos.

5°- El hecho de que tanto el cloro como el amoníaco se desprendan durante el segundo proceso, avala la formación de que el intermedio conserve el enlace N-Cl-

6°- La hidrólisis de la imina coincide con el segundo proceso de la reacción. Los procesos de hidrólisis de iminas son catalizados por bases. La tendencia observada de las constantes de velocidad en el segundo proceso coincide con el hecho de que los sustituyentes voluminosos estabilizan el carbono de la imina (Culbertson *et al*, 1962; Culbertson, 1951). La tendencia observada es:



7°- Podría considerarse la formación del ion enolato con la formación de un doble enlace en la unión peptídica, pero hay que descartar este proceso ya que la Gly-Pro presenta el mismo comportamiento que el resto de los dipéptidos (Esquema 6.5).



Esquema 6.5.: Formación del enol con un doble enlace en la unión peptídica

Capítulo 7

Conclusiones

disminuir al aumentar la basicidad del medio. Se ha comprobado que el máximo coincide con el valor medio de la suma de los pKa del agente clorante y del grupo amino del dipéptido

11.- Teniendo en cuenta las posibles especies que pueden intervenir en la reacción y la naturaleza de los procesos involucrados, se postula que en la etapa limitante de la reacción se produce la transferencia del átomo de cloro desde la molécula de ácido hipocloroso hasta el grupo amino libre del dipéptido, con la posible participación de una molécula de agua en el estado de transición.

12.- A partir de los resultados obtenidos de las constantes de cloración y los parámetros de activación podría decirse que es un proceso controlado por la difusión de los reactivos, pero tal idea se ha descartado si considerando las constantes de velocidad de cloración obtenidas para otros N-Cl-compuestos con otros agentes clorantes y por la existencia de correlaciones de reactividad-nucleofilia. Se ha comprobado que los procesos de solvatación de reactivos tienen una gran importancia en la reacción.

Con referencia a la descomposición de N-Cl-dipéptidos se concluye que:

13.- Los N-Cl-dipéptidos son compuestos estables en medio neutro y que se descomponen descomponen en presencia de bases.

14.- El estudio espectrográfico ha revelado que la reacción transcurre a través de la formación de un intermedio, por lo que hay dos procesos claramente diferenciados. Ambos procesos son de orden uno respecto al N-Cl-dipéptido y están catalizados por bases, mostrando una dependencia lineal con las bases utilizadas, lo que demuestra la existencia de catálisis general básica.

15.- El estudio de la influencia de las concentraciones de reactivos, de las concentraciones de las bases y el pH pone de manifiesto que la cantidad de intermedio que se forma depende de las condiciones anteriores (sobre todo del pH), lo que ha sugerido la existencia de un equilibrio ácido-base en el mecanismo de reacción.

17.- A la vista de los resultados se propone la existencia de dos procesos: en el primer proceso el N-Cl-dipéptido se descompone formando un enol que está en equilibrio con el ion enolato que es inestable y se reorganiza electrónicamente formándose una imina. El segundo proceso es la hidrólisis de la imina catalizada por bases.

Conclusiones

La investigación llevada a cabo en este trabajo se ha dividido en tres partes: descomposición de N-Cl-valina, formación de N-Cl-dipéptidos y descomposición de N-Cl-dipéptidos:

Por lo que se refiere a la descomposición de la N-Cl-valina

- 1.- Se ha realizado un estudio de la reacción de descomposición de la N-Cl-valina encontrándose que la reacción responde a una ecuación de orden uno respecto a la concentración de la N-Cl-valina.
- 2.- Se investigó la influencia de la acidez del medio sobre la velocidad de reacción, observándose que la reacción es independiente del pH en intervalo comprendido entre 4 y 13. A valores de pH mayores que 13 la velocidad de la reacción varía con la concentración de hidróxido sódico, mostrando una dependencia de orden uno.

La misma dependencia se ha observado utilizando otras bases diferentes al hidróxido sódico, mostrando la existencia de una catálisis general básica en el intervalo de pH estudiado ($4 < \text{pH} < 14$)

- 3.- Se llevó a cabo un estudio de la influencia de la concentración de reactivos, comprobándose que no afectan a la velocidad de descomposición.
- 4.- El estudio de la influencia de la fuerza iónica ha permitido establecer que la velocidad de reacción es independiente de la fuerza iónica a valores de pH comprendidos entre 4 y 13 y a valores superiores a 13 muestra una notable influencia en la velocidad de reacción.
- 5.- La descomposición de la N-Br-valina ha mostrado ser similar a la de la N-Cl-valina, con la particularidad que la sustitución de un cloro por un bromo aumenta la velocidad de descomposición en un factor de 4.
- 6.- El análisis de los productos de reacción muestran la formación de amoníaco y un aldehído con un átomo de carbono menos que la valina (valeraldehído)
- 7.- A la vista de todos los resultados se ha propuesto un mecanismo de descomposición de la N-Cl-valina, diferenciando dos procesos distintos: un proceso de fragmentación unimolecular que predomina a valores de pH comprendidos entre 4 y 13 y otro proceso catalizado por bases que es un mecanismo de eliminación E2 para valores de pH mayores que 13.
- 8.- Los parámetros de activación obtenidos y efecto del disolvente están de acuerdo con el mecanismo planteado.

Respecto a la formación de N-Cl-dipéptidos se concluye que:

- 9.- La reacción de cloración de N-Cl-dipéptidos por mezclas de ácido hipocloroso e ion hipoclorito es un proceso de orden dos: orden uno respecto al aminoácido y orden uno respecto al agente clorante.
- 10.- La reacción muestra una dependencia compleja con el pH. Se halla que partir de valores de pH próximos a 6 la velocidad aumenta hasta un máximo en torno a pH 8.5 para luego volver a

Capítulo 8

Bibliografía

Capítulo 8

Bibliografía

- Abia, Ll., *Tesis Doctoral*, Universidad de La Coruña, La Coruña, (1993).
- Agrawal, M. C., Mushran, S. P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 762, (1973)
- Ahlberg, P., *Chem. Scr.*, **3**, 183, (1973).
- Albert, A., Serjeant, E. D., *Ionization Constants of Acids and Bases*. Chapman & Hall, Ltd., 2ª edición, 1971.
- Albery, W. J., *Ann. Rev. Phys. Chem.*, **31**, 227, (1980).
- Alouini, Z., Seux, R., *Water Res.*, **21** (3), 335, (1987).
- Anbar, N., Yagil, G., *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 1798, (1962).
- Antelo, J. M., Arce, F., Casado, J., Varela, A., *An. Quim.*, **76**, 100, (1980).
- Antelo, J. M., Arce, F., Barbadillo, F., Casado, J., Varela A., *Rev. Port. Quim.*, **22**, 75, (1980b).
- Antelo, J. M., Arce, F., Barbadillo, F., Casado, J., Varela A., *Env. Sci. Technol.*, **15** (8), 912, (1981).
- Antelo, J. M., Arce, F., Casado, J., Varela, A., *An. Quim.*, **78**, 63--68, (1982).
- Antelo, J. M., Arce, F., Armesto, X. L., Casado, J., Varela, A., *An. Quim.* **79**, 90, (1983).
- Antelo, J. M., Arce, F., Armesto, J. L., Casado, J., Varela A., *An. Quim.*, **79**, 196 (1983b).
- Antelo, J. M., Arce, F., Armesto, J. L., Casado, J., Penedo, F. J., Varela A., *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 101, (1984).
- Antelo, J. M., Arce, F., Armesto, X. L., Casado, J., Varela, A., *An. Quim.* **79**, 308, (1984b).
- Antelo, J. M., Arce, F., Armesto, J. L., García Verdugo, A., Penedo, F. J., Varela A., *Int. J. Chem. Kinet.*, **17**, 1231, (1985)
- Antelo, J. M., Arce, F., Franco, J., García López, M. C., Sánchez, M., Varela, A., *Int. J. Chem. Kinet.*, **29**, 397, (1988).
- Antelo, J. M., Arce, F., Franco, J., Rodríguez, P., Varela, A., *Int. J. Chem. Kinetic.* **20**, 433 (1988b).
- Antelo, J. M., Arce, F., Fernández, J.G., Franco, J. Rodríguez, P., Varela, A., *Env. Techn. Lett.*, **9**, 589, (1988c).
- Antelo, J.M., Arce, F., Casal, D., Franco, J., Rodríguez, P., Varela, *Tetrahedron*, **65** (12), 3955, (1989).
- Antelo, J.M., Arce, F., Franco, J., Sánchez, M., Varela, A., *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **98** (2), 85, (1989b).
- Antelo, J.M., Arce, F., Crueiras, J., Franco, J., Rodríguez, P., Varela, A.; *Int. J. Chem. Kin.*, **21**, 343, (1989c).
- Antelo, J.M., Arce, F., Franco, J., Rodríguez, P., Varela, A.; *Int. J. Chem. Kin.*, **22**, 1271, (1990).
- Antelo, J.M., Arce, F., Crueiras, J., Franco, J., López, F., Rodríguez, P., Varela, A., *An. Quim.*, **82**, 195, (1991).

- Antelo, J.M., Arce, F., Crueiras, J., Franco, J., Rodríguez, P., Varela, A., *An. Quím.*, **87**, 21, (1991b).
- Antelo, J.M., Arce, F., Franco, J., Rodríguez, P., Varela, A., *An. Quím.*, **87**, 862, (1991c).
- Antelo, J.M., Arce, F., Parajó, M., Rodríguez, P., Varela, A.; *Int. J. Chem. Kin.*, **24**, 991, (1992).
- Antelo, J.M., Arce, F., Carballo, A., Crueiras, J., Pérez, J. C., Rodríguez, P., Varela, A., *An. Quím.*, **88**, 359, (1992b).
- Antelo, J.M., Arce, F., Armesto, J. L., Crueiras, J., Franco, J., *Afinidad*, **II**, (437), 45, (1992c).
- Antelo, J.M., Arce, F., Crueiras, J., *Int. J. Chem. Kinet.*, **25**, 995, (1993).
- Armesto, X. L., Canle, M., Santaballa, J. A., *Tetrahedron*, **49**, 275, (1993).
- Armesto, X. L., Canle, M., Losada, M., Santaballa, J. A., *Int. J. Chem. Kinet.*, **25**, 332, (1993b).
- Armesto, X. L., Canle, M., Losada, M., Santaballa, J. A., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 181, (1993c).
- Armesto, X. L., Canle, M., Losada, M., Santaballa, J. A., *Int. J. Chem. Kinet.*, **25**, 1, (1993d).
- Armesto, X. L., Canle, M., García, M. V., Losada, M., Santaballa, J. A., *Gazz. Chim. Ital.*, **124**, (1994).
- Armesto, X. L., Canle, M., García, M. V., Losada, M., Santaballa, J. A., *Int. J. Chem. Kinet.*, **26**, (1994b).
- Armesto, X. L., Canle, M., García, M. V., Losada, Rodríguez, P., M., Santaballa, J. A., *Tetraheron*, **50** (7), 2265, (1994c).
- Armesto, X. L., Canle, M., Losada, M., Santaballa, J. A., *J. Org. Chem.*, **59** (16), 4659, (1994d).
- Armesto, X. L., Canle, Gamper, A. M., M., Losada, M., Santaballa, J. A., *Tetrahedron*, **50** (35), 10509, (1994e).
- Arnett, E. M., Troughton, E. B., McPhail, A. T., Molter, K. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 6172, (1983).
- Aue, D. H., Webb, H. M., Bowers, M. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 311, (1976).
- Aue, D. H., Webb, H. M., Bowers, M. T., *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 318, (1976b).
- Awad, R., Hussain, A., Crooks, A. P., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1233, (1990).
- Ayotte, R. C., Gray, T. Jr., *Water Chlorination*, **5**, 797, (1973).
- Baker, R. W. R., *Biochem. J.*, **41**, 337, (1947).
- Balasubramanian, V., Thiagarajan, V. *Aust. J. Chem.*, **29**, 1449, (1976).
- Baldwin, J. E., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 734, (1976).
- Bartsch, R. A., Zavada, J., *Chem Rev.*, **80**, 453, (1980).
- Bell, R. P., Gelles, E. J., *J. Am. Chem. Soc.*, 2734, (1951).
- Bellar, T.A., Lichtumberg, J. J., *J. Am. Works Assoc.*, **6**, 703, (1974).
- Berliner, E., *J. Chem. Ed.*, **43**, 124, (1966).
- Bermejo, F.; *Química analítica*, Vol. 1, 5 Ed., Imprenta del Seminario Conciliar, Santiago de Compostela, (1974).
- Bernasconi, C. F., Zitomer, J. L., Fox, J. P., Howard, K. A., *J. Org. Chem.*, **49**, 482, (1984).
- Bernasconi, C. F., Howard, K. A., Kanavrioti, A., *J. Org. Chem.*, **106**, 6827, (1984b).
- Bernt, A., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **8**, 613, (1969).
- Bhargava, M., Sethuram, B., Rao, T. N., *Indian J. Chem. Sect A*, **16**, 651, (1978).
- Bieber, T. I., Trehy, M. N., *Water chlorination*, **4**, 85, (1983).

- Böhme, H., Krause, W., *Ber*, **84**, 170, (1951).
- Bordwell, F. G., *Acc. Chem. Res.*, **5**, 374, (1972).
- Borisova, A.P.; Granorskii, Yu. V.; Savich, I. A.; Spitsyn, *Vest. Moskov. Univ., Khim.*, **22**, 41, (1967).
- Bousher, A., Brimblecombe, P., Midgley, D., *Water Res.*, **20**, 865, (1986).
- Brigano, F. A. O., Scarpino, P., *78th Annual Meeting of the American Society of Microbiology*, (1978).
- Briggs, J. F., *J. Soc. Chem. Ind.*, **37** (23), 447, (1918)
- Brönsted, J. N., Pedersen, K. J. Z., *Phys. Chem.*, **108**, 186, (1923)
- Brookes, G.; Pettit, L. D., *J. Chem. Soc. Dalton*, 2106, (1975).
- Brunetti, A.P.; E.J. Burke; Lim, M. C.; Nancollas, G. H., *J. Soln. Chem.*, **1**, 153, (1972).
- Buncel, E., Shaik, S. S., Um, I.-H., Wolfe, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 1275, (1988).
- Bunnet, J. F., Garbistch, E. W., Pruitt, K. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 385, (1957).
- Campbell, M. M., Johson, G., *Chem. Rev.*, **78**, 65, (1978).
- Canle L., M., *Tesis Doctoral*, Universidad de La Coruña, La Coruña, (1994).
- Casado, J., Mosquera, M., Rivas, M., Rodriguez, M. F., Santaballa, J. A., *Comp. & Chem.*, **7**, 209, (1983).
- Casado, J., Castro, A., Leis, J. R., Mosquera, M., Peña, M. E., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1859, (1985).
- Cho, B. R., Namgoong, S. K., Bartsch, R. A., *J. Org. Chem.*, **51**, 1320, (1986).
- Cohen, A. O., Marcus, R. A., *J. Phys. Chem.*, **72**, 4249, (1968).
- Cohen, D.; Bar, R.; Shaik, S. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 231, (1986).
- Conyers, B., Walker, E., Scully, F. E., *Env. Sci. Technol.*, **27** (4), 720, (1993).
- Conyers, B., Scully, F. E., *Env. Sci. Technol.*, **27** (2), 261, (1993).
- Corbett, R. E., Metcalf, W. S., Soper, F. G., *J. Chem. Soc.*, 1927, (1953).
- Cotton, F. A., Wilkinson, G., *Advanced inorganic chemistry*, Ed. Wiley & Sons, Inc. 5^a Ed. New York, (1989).
- Crujeiras, J., *Tesis Doctoral*, Universidad de Santiago, Santiago, (1993).
- Culver, R. H., *Tesis Doctoral*, Harvard University. Cambridge, (1955).
- Culbertson, J. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 4818, (1951).
- Culbertson, J. B., Butterfield, D., Kolewe, C., Shaw, R., *J-Org. Chem.*, 729, (1962).
- Chambers, C. W., *Water Poll. Control Fed.*, **43**, 228, (1971).
- Chandra, M., Bansal, O. P., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **40**, 1185, (1978).
- Chapin, R. *J. Am. Chem. Soc.* **51**, 2113, (1929).
- Dakin, H. D., Cohen, J. B., *Procedures of the royal society, serie B*, **89**, 232, (1916).
- Dakin, H. D., *Biochem. J.*, **10**, 319, (1916).
- Dakin, H. D., *Biochem. J.*, **11**, 79, (1917).
- Davies, Swann, Campey, *J. Chem. Ed.*, **54**, 426, (1927).
- Dehn, W. N., *J. Am. Chem. Soc.*, **31**, 1220, (1909).
- Delahay, P., *Acc. Chem. Res.*, **15**, 40, (1982).
- Dennis, W. H., Hull, L. A. Jr., Roseblatt, D. H., *J. Org. Chem.*, **32**, 3783, (1967).
- Deno, N. C., Fruit, R. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 3502, (1968).
- Derbyshire, D. H., Waters, W. A., *J. Chem. Soc.*, 564, (1949).
- Díaz, L. A., *Unidades temáticas ambientales de la dirección general del medio ambiente*. Enero, (1988).

- Draper, N. R., Smith, H., *Applied Regression Analysis*, John Wiley & Sons, Inc., New York, (1984).
- Edmond, C. R., Soper, F. G., *J. Chem. Soc. (B)*, 2942, (1949).
- Eigen, M. Kustin, K. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 1355, (1962).
- Eigen M., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **3**, 1, (1964).
- Ellis, A. J., Sopper, F. G. J., *J. Chem. Soc.*, 1750, (1954).
- Engel, P., Oplatka, A., Perlmutter--Hayman, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 2010, (1954).
- Engelbrecht, R. S., Weber, M. J., *Env. Protection Agency*, **2** (78), 123, (1978).
- Evans, M. G., Polanyi, M., *Trans. Faraday Soc.*, **34**, 11, (1938).
- Farkas, L., Lewin, M., *J. Am. Chem. Soc.*, 564, (1950).
- Feige, P.; Mockler, D.; Dreyer, R.; Munze, R., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **35**, 3269, (1973).
- Ferriol, M., Gazet, J., Rizk--Ouaini, R., Saugier--Cohen Adad, M. Th., *Inorg. Chem.*, **28**, 3808, (1989).
- Ferriol, M., Gazet, J., Saugier--Cohen Adad, M., *J. Chem. Phys.*, **86** (9), 1955, (1989)
- Ferriol, M., Gazet, J., Saugier--Cohen Adad, M. Th., *Int. J. Chem. Kinet.*, **23**, 315, (1991).
- Floyd, R. S., Johnson, D. J., *Env. Sci. Technol.*, **13**, 438, (1979).
- Friend, A. G., *Tesis Doctoral*, Harvard University, Cambridge, MA, (1956).
- Galal--Gorchev, H., Morris, J., *Inorg. Chem.*, **4**, 899, (1965).
- Gandler, J. R., *The Chemistry of Double--Bounded Funtional Groups*, Ed. Samuel Patais, John Wiley & Sons Ltd., (1989).
- García--Rio, L., Iglesias, E., Leis, J. R., Peña, M.E., Rios, A., *J. Chem. Perkin Trans. 2*, **29**, (1993).
- Gassman, P. G., *Acc. Chem. Res.*, **3**, 26, (1970).
- Gazda, M., Margerum, D. W., *Inorg. Chem.*, **33**, 118, (1994).
- Glaze, W. H., Herderson, J. E., *J. Wat. Poll. Control Fed.*, **47**, 1011, (1975).
- Gocke, *Arch. Mychrobiol.*, **67**, 285, (1970).
- Goldschmidt, S., Wiberg, E., Nagel, F., Martin, K., *Ann.*, **456**, 1, (1927).
- Gopalakrishnan, G., Hogg, J. L., *J. Org. Chem.*, **50**, 1206, (1985).
- Gordon, G., Pacey, G., *Am. Waters Works Assoc.*, (15--20), 1005, (1987).
- Gowda, B. T., Sherigara, B. S., Mahadevappa, D. S., Rangappa, K. S., *Indian J. Chem. Sect. A*, **24**, 932, (1985).
- Gowda, B. T., Rao, R. V., *J. Ind. Chem. Soc.*, **64**, 467, (1987).
- Gowda, B. T., Rao, R.V., *Ind. J. Chem. Sect. A*, **27** (1), 39, (1988).
- Gowda, B. T., Rao, R.V., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1**, (1988b)
- Gowda, B. T., Sherigara, B. S., *Ind. J. Chem. Sect. A*, **26** (11), 930, (1987).
- Gowda, B. T., Sherigara, B. S., *J. Ind. Chem. Soc.* **64**, 158, (1987b).
- Gowda, B. T., Sherigara, B. S., *J. Ind. Chem. Soc.* **64**, 403, (1987c)
- Gowda, B. T., Jagan, M. R., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **62**, 3303, (1989).
- Granstom, M. L., *Ph.D. Thesis*, Harvard University, Cambrigde MA, (1954).
- Gray, E., *Tesis Doctoral*, Harvard University, Lafayette, (1977).
- Gray, E. T., Margerum, D.W., Huffman, R. P., *A.C.S. Symposium Series*, **82**, 264, (1978).
- Grob, C. A., *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **8**, 535, (1969).
- Grob, C. A., Schiess, P. W., *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **6**, 1, (1967).
- Gupta, K. C., Gupta, K., *Natl. Acad. Sci. Lett.*, **6**, 53, (1983).
- Gupta, K. C., Gupta, K., *Int. J. Chem. Kin.*, **17**, 769, (1985).

- Gupta, J., Agrawal, M. C., *Ind. J. Chem. Sect. A*, **28**, 1100, (1989).
- Guy Martin, *Le probleme de l'azote dans les eaux*", Ed technique and Documentation., 1968.
- Haag, W. R., *Water Chlorination*, Vol. 3, 193, (1980).
- Haag, W. R., *Inorg. Nucl. Chem.*, **42**, 1123, (1980b).
- Haag, W. R., Hoigné, J., *Env. Sci. technol.*, **17**, 261, (1983).
- Haag, W. R., Jolley, R. J., *Water Chlorination*, Vol. 4 (I), 77, (1983).
- Hammett, L. P., *Physical Organic Chemistry*, McGraw-Hill, New York, 2nd ed., (1970).
- Hammond, G. S., *J. Am. Chem. Soc.*, 334-338, (1955).
- Hand, V. C., Snyder, M. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **105** (12), 4022, (1983).
- Hand, V. C., Margerum, D. W., *Inorg. Chem.*, **12**, 1449, (1983).
- Haruta, K., Takeyama, T., *J. Phys. Chem.*, **85**, 2383, (1981).
- Hass, C. N., *Env. Sci. Technol.*, **14** (3), 339, (1980).
- Higuchi, T., Ikeda, K., *J. Chem. Soc.(B)*, 546, (1967).
- Higuchi, T., Ikeda, K., *J. Chem. Soc.(B)*, 1031, (1968).
- Higuchi, T., Hasegawa, J., *J. Phys. Chem.*, **69** (3), 796, (1965).
- Higuchi, T., Hussain, A., *J. Chem. Soc.(B)*, 549, (1967).
- Hoffman, R. V., Radom, L., Pople, P., Schleyer, R., Hehre, W. J., Salem, J., *J. Am. Soc.*, **94**, 6221, (1972).
- Huffman, *Tesis Doctoral*, Harvard University, Lafayette, (1976).
- Hughes, E. D., Ingold, C. K., Patel, C. S., *J. Chem. Soc.*, 526, (1933).
- Hughes, E. D., Ingold, C. K., *Trans. Faraday Soc.*, **37**, 657, (1941).
- Hull, D., Larry, R., *J. Am. Chem. Soc.*, **31**, 3050, (1966).
- Hurst, F. B., Soper, F. G., *Env. Sci. Technol.*, **9**, 2, (1975).
- Hussain, A., Trudell, P., Repta, A. J.; *J. Pharm. Sci.*, **59** (8), 1168, (1970).
- Ingolds, R. S., Wyckoff, H. A., Kethley, T. W., Hodgen, H. W., Finther, E. L., Hildebrand, J. C., Mandel, J. W., *Ind. Engen. Chem.* **45** (5), 996, (1953).
- Inman, G. W., Johnson, J. D., *Env. Sci. Technol.*, **18**, 219, (1984).
- Ishikawa, S., Fujino, H., *Suishitsu Odaku Kenkyu*, **9**(12), 786, (1986).
- Issac, R. A., *Ph.D. Thesis*. Harvard University. Cambrigde, MA, (1981).
- Jafvert, C. T., Valentine, R. L., *Wat. Res.*, **21**, 967, (1987).
- Jencks, D. A., Jencks, W. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 7948, (1977).
- Jencks, W. P., *Chem. Rev.*, **72**, 705, (1972).
- Jencks, W. P., *Chem. Rev.*, **85**, 6, (1985).
- Johannesson, J. K., *Analyst*, **83**, 155, (1958).
- Johannesson, J. K., *Chem. Ind.*, 97, (1958b).
- Johannesson, J. K., *Nature*, **181**, 1799, (1958c).
- Johannesson, J. K., *J. Chem. Soc.*, 2998, (1959).
- Jolley, R. L., Carpenter, J. H., *Water Chlorination*, **4** (3), 47, (1981).
- Jolly, W. L., *J. Phys. Chem.*, **60**, 507, (1956).
- Kamwiski, J. J., Boder, N., *J. Pharm. Sci.*, **65**, 533, (1976).
- Karper Vel Leitner, N., De Laat, J., Dore, M., Suty, H., Pouillot, M., *Environ Technol.*, **12**, 803, (1991).
- Katgeri, S. N., Mahadevappa, D. S., *Bull. Soc. Chim. Mr.*, (9-10), 381, (1979).
- Katgeri, S. N., Mahadevappa, D. S. *Ind. J. Chem.*, **17A**, 412, (1979b).
- Katgeri, S. N., Mahaddevappa, D. S. *Ind. J. Chem.*, **19A**, 29, (1980).

- Kelly, C. M., Tartar, H. V., *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 5752, (1956).
- King, E. J., *J. Chem. Soc. Faraday. I*, **71**, 88, (1975).
- Koch, H. F., *Acc. Chem. Rev.*, **17**, 137, (1984).
- Koltun, W. L.; Fried, M.; Gurd, F. R. N., *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 233, (1960).
- Kovacid, P., Lowery, K., Field, K. W., *Chem. Rev.* **70** (6), 639, (1970).
- Kreevoy, M. M., Konasewich, D. E., *Adv. Chem. Phys.*, **21**, 241, (1971).
- Kreevoy, M. M., Oh, S. W., *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 4805, (1973).
- Keeffe, J. R., Kresge, A. J., (capítulo 6), *The Chemistry of Enols*, Editor: Zvi Rappoport, *The Hebrew University, Jerusalem*. John Wiley & Sons, West Sussex (Inglaterra), (1990)
- Kresge, A. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2**, 475, (1973).
- Kumar, A., Bose, A. K., *Monatshefte für Chemie*, **106**, 13, (1975).
- Kwok, W. K., Lee, W. G., Miller, S. I., *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 368, (1969).
- Lal A., Agrawal, M. C., *Ind. J. Chem. Sect A*, **23A** (5), 411, (1984)
- Le Cloirec, C., Poncin, J., Martin, G., *C. R. Acad. Sci. Ser 2*, **298**, (13), 559, (1984).
- Le Cloirec, C., Martin, G., *Water chlorination. Environmental Impacts and Health Effects*, Vol 5, pp. 831--834, Lewis publishers, Inc. Michigan, EEUU, (1985).
- Leao, F., *Tesis Doctoral*, University of California, Berkeley, (1981).
- Leao, S. F., Selleck, R. E., *Water Chlorination*, Vol. 4, Cap. 9, (1983).
- Lee, D. G., Srinivasan, R., *Can. J. Chem.*, **90**, 3502, (1973).
- Leung, S. W., *Tesis Doctoral*, Iowa University, Iowa, (1989).
- Liebafsky, H. A., Makower, B., *J. Phys. Chem.*, **37**, 1037, (1933).
- Liebafsky, H. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 3513, (1939).
- Lifsnitz, A., Perlmutter-Hayman, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 546, (1967).
- Lister, M. W., *Can. J. Chem.*, **34**, 465, (1956).
- Lister, M.W. *Can. J. Chem.* **34**, 479, (1956b).
- Lister, M.W., Petterson, R.C. *Can. J. Chem.* **40**, 729--733, (1962).
- Lohman, F. H., *Anal. Chem.*, **50** (5), 972--974, (1958).
- Losada, M., Santaballa, J. A., Armesto, X. L., Antelo, J. M., *Acta Chim. Hung. Models Chem.*, **129**, 535, (1992).
- Losada, M., *Tesis Doctoral*, Universidad de La coruña, La coruña, (1993).
- Mahadevappa, D. S., Ahmed, M. S., Gowda, N. M. M., *Indian J. Chem.*, **19A**, 325, (1980).
- Mahadevappa, D. S., Rangapa, K. S., Gowda, N. M. M., *React. Kinet. Catal. Lett.*, **15** (1), 13, (1980b).
- Mahadevappa, D. S., Rangapa, K. S., Gowda, N. M. M., Gowba, T. B., *Int. J. Chem. Kinet.*, **14**, 1183, (1982).
- Mahadevappa, D. S., Ahmed, M. S., Gowda, N. M. M., Gowda, T. B., *Int. J. Chem. Kinet.*, **15**, 775, (1983).
- Manikyamba, P., Sundaram, E. V., *Indian J. Chem. Sect. A*, **19**, 1122, (1980).
- March, J., *Advanced Organic Chemistry*, Ed. McGraw-Hill Kogakusha, Ltd. 2ª Ed, 322, (1984).
- Marcus, R. A., *J. Phys. Chem.*, **72**, 891, (1968).
- Marcus, R. A., *J. Phys. Chem.*, **26**, 867, (1957).
- Marcus, R. A., *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **15**, 155, (1964).
- Marcus, R. A., *J. Phys. Chem.*, **43**, 679, (1965).
- Marcus, R. A., *Discuss. Faraday Soc.*, **29**, 21 (1960).

- Marcus, R. A., *J. Phys. Chem.*, **24**, 966, (1956).
- Marcus, R. A., *Can. J. Chem.*, **37**, 155, (1959).
- Marcus, R. A., *J. Phys. Chem.*, **67**, 853, (1963).
- Mare, P. B. D., Harvey, J. T., Hassan, M., Varma, S., *J. Chem. Soc.*, 4039, (1960).
- Margerum, D.W., Gray, E. T., Huffman, R. P., *A.C.S. Symposium Series*, **82**, 278, (1978).
- Marquardt, D. W., *J. Soc. Ind. Math.*, **11**, 431, (1963).
- Matsushima, A., Yamazaki, S., Shibata, K., Inada, Y., *Biochim. Biophys. Acta*, **271**, 243, (1972).
- Matté, D., *Thesis doctoral*, University of Nancy I, Nancy, (1986).
- Matté, D., Solastiouk, B., Merlin, A., Deglise, X., *Can. J. Chem.*, **67**, 786, (1989).
- Matté, D., Solastiouk, B., Merlin, A., Deglise, X., *Can. J. Chem.*, **68**, 307, (1990)
- Matté, D., Solastiouk, B., Merlin, A., Deglise, X., *Can. J. Chem.*, **10**, 89, (1992)
- McCormick, E. F., Conyers, B., Scully, F. E., *Env. Sci. Technol.*, **27** (2), 255, (1993).
- McGregor, W. H., Carpenter, F. H., *Biochem.*, **1** (1), 53, (1962).
- Mercer, W. A., Somers, I. J., *Advances in Food Research*, New York, Academic Press, Inc., 129--169, (1957).
- Metcalf, W. S., *J. Chem. Soc.*, 148, (1942).
- Mitchel, D. J., Schlegel, H. B., Shaik, S. S., Wolfe, S., *Can. J. Chem.*, **63**, 1642, (1985)
- More O'Ferral, R. A., *J. Am. Soc. (B)*, 274, (1970).
- More O'Ferral, R. A., *The Chemistry of the Carbon--Halogen Bond*, S. Patai, Ed., Wiley Interscience, Part 2, Chapter 9, pp 609--675, (1973).
- More O'Ferral, R. A., Warren, P. J., *Chem. Soc. Commun.*, 483, (1975).
- Morris, J. C., Weil, I., *ACS*, Detroit, Abril, (1950).
- Morris, J. C., *J. Phys. Chem.*, **70** (12), 3798, (1966).
- Morris, J. C., *Principles and Applications of Water Chemistry*, Eds. Faust S. D. & Hunter J. V., Wiley, New York, (1967).
- Morris, J. C., *Modern Chemical Methods in Water and Wastewater Treatment*. International institute for hydraulic and Environmental Engineering. Delft, Holanda, (1978).
- Morris, J. C., *Water Chlorination*, **4** (2), 24, (1983).
- Morris, J. C., Russell, A. I., *Water Chlorination* **4**, 49, (1983).
- Murdoch, J. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 4410, (1972).
- Mushran, S. P., Agrawal, M. C., Prasad, B., *J. Chem. Soc. (B)*, 1712, (1971). -- Nagawa, Y., Kitoshi, U., *Chem. Soc. Jpn.*, **11**, 1650, (1983).
- Nagawa, Y., Uematsu, K., *Suishitsu Odaku Kenkyu*, **7**(1), 31, (1984).
- Nweke, A., Scully, F. E. Jr, *Env. Sci. Technol.*, **27** (2), 261, (1989).
- Nweke, A., Scully, F. E., *Env. Sci. Technol.*, **23**, (8), 989, (1989).
- Ogata, Y., Kimura, M., Kondo, Y., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **54**(7), 2057, (1981).
- Pacik, D., Rice, R. G., *Ozone Sci. Technol.*, **13**, 63, (1991).
- Page, M.I., Webster, P. S., *Perkin Trans. II*, 813, (1990).
- Panchetsharam, S., Sundaram, Ind. J. Chem., **20A**, 469, (1981).
- Pasquini, C. S., Azure, M. T., Workman, H. J., Gray, E. T., *Water Chlorination*, Vol. 5, 763, (1985).
- Pasternack, R. P.; Gipp, L.; Sigel, H., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 803, (1972).
- Patton, Crouch, *Anal. Chem.*, **49**, 464, (1977).
- Pereira, W. E., Hoyano, Y., Summons, R. E., Bacon, V. A., Duffield, A. M., *Biochim. Biophys.*

Acta, 313, 170, (1973).

- Petrov, N. V.; Borisova, A.P.; Savich, I. A.; Spitsyn, *Doklady*, **192**, 574, (1970).
- Pocklinton, R., *Nature*, **230**, 374, (1971).
- Poncin, J., Le Cloirec, C., Martin, G., *Env. Technol. Lett.*, **5**, 263, (1984)
- Pressley, T. A., Dollof, F. B., Roan, S. G., *Env. Sci. Technol.*, **6**, 622, (1972).
- Pross, A.; Shaik, S. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 187, (1982).
- Pross, A.; Shaik, S. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 363, (1983).
- Pross, A.; Shaik, S. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 1129, (1982b).
- Pross, A.; Shaik, S. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 3702, (1981).
- Ramachandran, M. S., Vivekanandam, T. S., Nithyanandhan, R., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1507, (1985).
- Ramaiah, K. A., Rao, P. V. K., *Indian. J. Chem.* **19 A**, 1120, (1980).
- Rappoport, Z., *Tetrahedron Lett.*, 3601, (1968).
- Reddy, M. K., Reddy, C. S., Sundaram, E. V., *Tetrahedron*, **41**, 3071, (1985)
- Reichardt, C., *Solvent Effects in Organic Chemistry*, Ed. Verlag Chemie, Weinheim, Alemania, (1990).
- Reynolds, G., Mekras, C., Perry, R., Graham, N., *Env. Technol. Lett.*, **10**, 591, (1989).
- Rhoda, Mauger, P., Sopper, F. G. J., *J. Chem. Soc.*, 71, (1946).
- Rice, S. A., *Diffusión--limited reactions* en *Comprehensive Chemical Kinetics*, Vol. 25, Eds. C. H. Bamford, C. F. H. Tipper, R. J. Compton, Ed. Elsevier Sci. Publs. Amsterdam, (1985).
- Ridd, J. H., *Advan. Phys. Org. Chem.*, **15**, 1, (1978).
- Ritchie, C. D., *Acc. Chem. Res.*, **5**, 384, (1972).
- Ritchie, C. D., *Pure Appl. Chem.*, **50**, 1281, (1978).
- Ritchie, C. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 1170, (1975).
- Ritchie, C. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 7313, (1983).
- Ritchie, C. D., *Can. J. Chem.*, **64**, 2239, (1986).
- Ritchie, C. D., Skinner, G. A., Badding, V. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 2063, (1967).
- Rosa, M.de, *J. Heterocycle Chem.* **70**, 3798, (1966).
- Russell, I., Morris, J. C., *Water chlorination*, **3**, 182, (1980).
- Russell, I., Morris, J. C., *Env. Sci. Technol.*, **17** (12), 738, (1983).
- Russell, I., Morris, J. C., *Env. Sci. Technol.* **19** (9), 810, (1985).
- Rydon, H. N., Smith, P. W. G., *Nature (London)*, 169, 922, (1952).
- Sakurai, E., Sawamura, R., *Eisei Kagaku*, **29**(6), 368, (1983).
- Sánchez de la Nieta, J. R., *Revista de obras públicas*, **19**, 31, (1979).
- Santaballa, J. A., *Tesis doctoral*, Universidad de Santiago de Compostela, (1985).
- Santaballa, J. A., Armesto, X. L., Canle L., M., Losada, M. Abia, Ll. García, M. V., *resultados sin publicar*, (1995).
- Saquinsin, Tesis Doctoral, Harvard University, Lafayette, (1975).
- Sawamura, R., Sakurai, E., Yamamoto, M., Tachikawa, M., *Eisei Kagaku*, **28**, 267, (1982).
- Sawamura, R., Sakurai, E., Kinoshita, M., Tachikawa, M., *Eisei Kagaku* **26**, 38, (1982b).
- Shaik, S. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, (1981).
- Shaik, S. S., *J. Org. Chem.*, **52** (8), 1563, (1987).
- Shaik, S. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 1227, (1984).
- Shaik, S. S., Schlegel, H. B., Wolfe, S., *Theoretical aspects of physical organic chemistry. The S_N2 mechanism*. John Wiley & Sons, pag. 135 (1992) y todas las referencias que allí se citan
- Shaik, S. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 4359, (1983).

- Shaik, S. S., *Isr. J. Chem.*, **26**, 367, (1986).
- Shaik, S. S., *Can. J. Chem.*, **64**, 96, (1986).
- Shaik, S. S., Pross, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 2708, (1982)
- Shaik, S. S., *Progr. Phys. Org. Chem.*, **15**, 197, (1985).
- Schönberg, A., Moubacher, R., *Chem. Rev.* **50**, 261, (1952).
- Selvaraj, R. J., Benoy, B. P., Strauss, R. R., Jacobs, A. A., Sbarra, A. J., *Infection and Immunity*, Febrero, 255, (1974).
- Sigel, H., *Inorg. Chem.*, **14**, 1535, (1975).
- Smith, J. G., *J. Chem. Ed.*, **52**, 656, (1975).
- Snyder, M. P., Margerum, D. W., *Inorg. Chem.*, **21** (7), 2545, (1982).
- Snyder, M. P., *Diss. Abstr. Int.B*, **42**, 4408, (1982).
- Snyder, M. P., *Tesis Doctoral*, Purdue University, West Lafayette, Indiana, (1972).
- Soulard, M., Bloc, F., Hatterer, A., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2300, (1981).
- Soulard, M., Bloc, F., Hatterer, A., *Rev. Fr. Sci. Eau*, **3**, 113, (1984).
- Srinivasan, C., Pitchumani, K., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **55**, 289, (1982).
- Stanbro, W. D., Lenkevich, M. J., *Int. J. Chem. Kin.*, **17**, 401, (1985).
- Stanbro, W. D., Lenkevich, M. J., *Int. J. Chem. Kinet.*, **15**, 1321, (1983).
- Stanbro, W. D., Smith, W. D., *Env. Sci. Techn.*, **13** (4), 446, (1979).
- Stankovic, L., *Chem. Zvesti* **14**, 275, (1960).
- Stankovic, L.; Vasatkol, J., *Chem. Zvesti.*, **14**, 434, (1960).
- Stelmaszyńska, T., Zgliczyński, J. M., *Eur. J. Biochem.*, **92**, 301, (1978).
- Stewart, R., *The Proton, Applications to Organic Chemistry*. Academic Press, Inc. Orlando, Florida, (1985).
- Stirling, C. J. M., *Tetrahedron*, **41**, 1613, (1985).
- Strecker, A., *Ann.*, **123**, 363, (1862).
- Swain, C. G., Ketley, A. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 3410, (1955).
- Symons, J. M., Beller, T. A., *J. Am. Works Assoc.*, **67**, 634, (1978).
- Tan, H., Sen, A. C., Wheeler, B., Cornell, J. A., Wei, C. I., *J. Food Sci.*, **52** (6), 1706, (1987).
- Tardiff, R. G., Carlon, G. P., *Water Chlorination. Environmental Impact and Health Effects*, Vol I, Ed. Ann Arbor Science, Michigan, EEUU, (1975).
- Ta--Shma, R., Rappoport, Z., *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 6082, (1983).
- Tee, O. S., Yates, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 3074, (1972).
- Thomm, E. W. C. W., Wayman, M., *Can. J. Chem.*, **47**, 2561, (1969).
- Thomm, E. W. C. W., Wayman, M., *Can. J. Chem.*, **47**, 3289, (1969b).
- Toullec, J., (capítulo 7), *The Chemistry of Enols*, Editor: Zvi Rappoport, *The Hebrew University, Jerusalem*. John Wiley & Sons, West Sussex (Inglaterra), (1990)
- Trehy, M. N., Bieber, T. I., *An. Arbor M. I.*, **2**, 433, (1981).
- Trehy, M. L., Yost, R. A., *Env. Sci. Technol.*, **20** (11), 1117, (1986).
- Trofe, T. W., Inman, G. W., Johnson, J. D., *Env. Sci. Technol.*, **14**, (7), 544, (1980).
- Turner, A. G., *Inorg. Chim. Acta*, **111**, 157, (1986).
- Vacca, A., Sabatini, A., "MINIQUAD Y MINIQUV", en D. J. Legget, Ed., *Computational methods for determination of formation constants*, Plenum, New York, (1985).
- Valentine, J. R., *J. Fisheries Res. Board, Canadá*, **14**, 33, (1957).
- Valentine, R. L., Brandt, K. I., Jafvert, C. T., *Wat. Res.*, **20**, 1067, (1986).
- Valentine, R. L., Jafvert, C. T., Leung, S. W., *Wat. Res.*, **22**, 1047, (1988).

- Valentine, R. L., Wilber, G. G., *Water Chlorination*, Vol. 6, (1990).
- Van Tamelen, E. E., Haarstad, V., Orvis, R. L. *Tetrahedron* **24**, 687, (1968).
- Von Arx, E.; Neher, R., *Chromatography*, **12**, 329, (1963).
- Wajon, J. E., Morris, J. C., *Inorg. Chem.*, **21**, 4258, (1982).
- Wang, T. X., Margerum, D. W., *Inorg. Chem.*, **33**, 1050, (1994).
- Wayman, M., Thomm, E. W. C. W., *Can. J. Chem.*, **47**, 2561, (1969).
- Wayman, M., Thomm, E. W. C. W., *Can. J. Chem.*, **47**, 3289, (1969b).
- Wei, I. D., *Tesis Doctoral*, Harvard University, Cambridge, MA, (1972).
- Weil, I., Morris, J.C., *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 1664, (1949).
- Weil, I., Morris, J.C., *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 3123, (1949b).
- Warshel, A., Russell, S. Q., *Rev. Biophys.*, **17**, 283, (1984).
- Warshel, A., Weiss, R. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 6218, (1980).
- Wharsel, A., Weis, R. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 6218, (1980).
- White, G. C., *Water Chlorination. environmental Impact and Health Effects. Vol 1.*, 1, Ed. Ann Arbor science, Michigan, EEUU, (1978)
- Withmore, F. C., Withmore, M. G., *Organic Syntheses*, Wiley, N. Y., **1**, 401, (1941).
- Wright, N. C., *Biochem. J.* **20**, 524, (1926).
- Wright, N.C. *Biochem. J.* **30**, 1661, (1936).
- Yamanchi, O.; Miyata, H.; Nakahara, A., *Bull Soc. Chim. France.*, **44**, 2716, (1971).
- Yiin, B. S., Margerum, D. W., *Inorg. Chem.*, **29**, 2135, (1990).
- Yoon, J., Jensen, J. N., *Env. Sci. Technol.*, **27**, 403, (1993).
- Zgliczyński, J. M., Stelmaszyńska, T., Ostrowski, W., Naskalski, J., Sznajd, J., *Eur. J. Biochem.*, **4**, 540, (1968).
- Zgliczyński, J. M., Stelmaszyńska, T., Domański, J., Ostrowski, W., *Biochim. Biophys. Acta*, **235**, 419, (1971).
- Ziwer, H., Andrietch, L. F., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 3856, (1954).

Apéndice 1

Modelo SCD

Apéndice 1

Modelo SCD

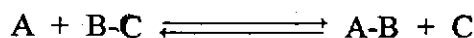
El modelo SCD utiliza para su aplicación el modelo de Pross y Shaik VBCM (Valence Bond Configuration Mixing), el cual puede resumirse como un modelo termoquímico donde las variables a considerar son las diferencias energéticas entre las diferentes configuraciones de enlace valencia y los cambios energéticos que dichas configuraciones sufren debido a la distorsión molecular a lo largo de la coordenada de reacción. El modelo VBCM genera perfiles de reacción a partir de combinaciones lineales de enlace valencia adecuadas (Pross & Shaik, 1981; 1982; 1982b; 1983; Shaik, 1983; Tee & Yates, 1972)

El SCD se puede aplicar a reacciones de combinación electrófilo-nucleófilo (tales como las reacciones de cloración del grupo amino tratadas en este trabajo) para poder establecer correlaciones entre las reactividades del nucleófilo y las barreras energéticas existentes dentro de una familia de reacciones.

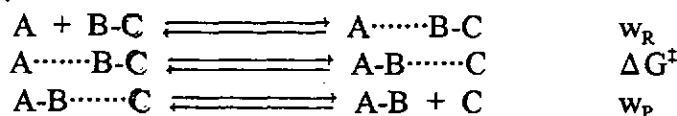
La aplicación de este modelo, necesita el uso de la teoría de Marcus para el cálculo de las barreras energéticas (Marcus, 1956; 1957; 1959; 1960; 1963, 1964, 1965; 1968; Murdoch, 1972; Albery, 1980; Cohen & Marcus, 1968). La teoría de Marcus ha sido desarrollada para reacciones de transferencia electrónica pero ya ha sido extendida para el estudio de procesos de transferencia protónica y de grupos metilo. Considera que las reacciones pueden ser entendidas en términos de balance energético entre lo que Marcus llama "barrera intrínseca" y "fuerza termodinámica" para el caso de reacciones no idénticas (exergónicas o endoergónicas). Estos parámetros energéticos están relacionados por la siguiente ecuación:

$$\Delta G^\ddagger = \gamma + \frac{\Delta G^\circ}{2} + \frac{(\Delta G^\circ)^2}{16\gamma} \quad (1)$$

donde γ es la "barrera cinética intrínseca" (en algunos trabajos aparece representada por ΔG_0^\ddagger) y ΔG° es la "fuerza termodinámica". Esta ecuación se hace más compleja cuando las reacciones son en disolución, por ejemplo para una reacción genérica:



que puede ser descrita como suma de los tres procesos siguientes:



donde w_R y w_P se llaman términos de trabajo y representan la energía necesaria para unir los reactivos o separar los productos desde su posición inicial a distancia infinita hasta las posiciones que ocupan en el complejo de encuentro; la ecuación anterior toma la siguiente forma:

$$\Delta G^\ddagger = (\gamma + w_R) + \frac{\Delta G^\circ + w_R - w_P}{2} + \frac{(\Delta G^\circ + w_R - w_P)^2}{16\gamma} \quad (2)$$

frecuentemente el término $(\gamma + w_R)$ se representa por ΔG_o^\ddagger y $(\Delta G^\circ + w_R - w_P)$ por ΔG° . Cuando la reacción es termoneutra $\Delta G^\circ = 0$, por lo que la barrera intrínseca coincide con la fuerza termodinámica. En la figura 1A aparece reflejado el significado de cada término:

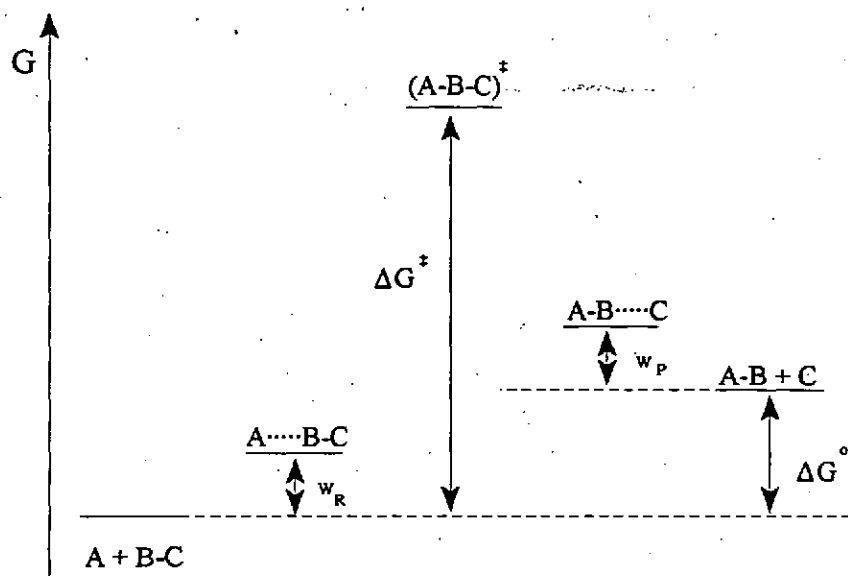


Figura 1 A: Representación de los términos de la ecuación de Marcus

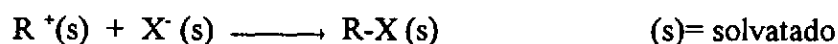
Como ya se dijo antes, este modelo, describe una reacción como un balance energético entre una magnitud termodinámica ΔG° y otra magnitud puramente cinética ΔG_o^\ddagger , pero esta teoría no interpreta los valores de los términos energéticos, las tendencias de estos términos dentro de una familia de reacciones y en las geometrías del estado de transición y cuál es la razón de porqué dentro de una serie de reacciones se cumple el principio de BEP (las barreras energéticas disminuyen dentro de una serie de reacciones cuando estas son más exergónicas) (Bell, 1973, Evans & Polanyi, 1938), siempre y cuando las barreras intrínsecas sean constantes.

Las respuestas a estas preguntas se pueden resolver aplicando el modelo SCD (Shaik, 1985; Shaik & Pross, 1982), el cual, como la teoría de Marcus, considera la barrera energética como una composición de una cantidad cinética intrínseca y una fuerza termodinámica, pero a diferencia del tratamiento de Marcus, trata más a fondo, el valor de la barrera intrínseca, estableciendo todas las cantidades energéticas que intervienen en su valor y sus tendencias dentro de una serie de reacciones.

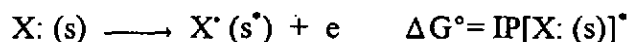
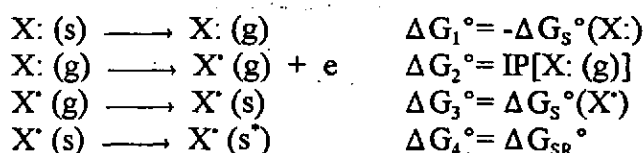
Unas de las cantidades que podemos considerar que intervienen en el valor de la barrera

cinética intrínseca de una reacción de combinación electrófilo-nucleófilo son el potencial de ionización del electrófilo y la afinidad electrónica del nucleófilo. Existen trabajos en los que se encuentran correlaciones entre estas cantidades y las barreras cinéticas intrínsecas de familias de reacciones. Se puede aplicar el modelo SCD para intentar explicar la existencia de estas correlaciones. Así Shaik y Buncel *et al* han estudiado correlaciones entre el potencial de ionización vertical y la barrera energética de una reacción utilizando diferentes nucleófilos, obteniéndose buenos resultados (Shaik, 1987; Buncel *et al*, 1988).

Antes de explicar el modelo SCD se explicará como se calcula el potencial de ionización vertical para una reacción de recombinación electrófilo-nucleófilo en disolución como la siguiente:



El potencial de ionización es el cambio de energía que acompaña a la pérdida de un electrón de $X^-(s)$. Los potenciales de ionización verticales en disolución se pueden calcular por espectros de fotoemisión de aniones (Delahay, 1982) pero son muy pocos los calculados por este método, por lo que la mayoría necesitan ser estimados por otros métodos como por ejemplo, utilizando el siguiente ciclo termodinámico:



Este ciclo implica desolvatación, ionización en fase gas y solvatación del radical resultante. El paso final implica la reorganización de las moléculas del disolvente alrededor del radical ya formado. El resultado es que las moléculas del disolvente poseen orientaciones en desequilibrio con el radical (lo que aparece representado mediante un asterisco). La energía asociada con este proceso corresponde a la energía de reorganización del disolvente.

Teniendo en cuenta este ciclo la expresión que resulta para el valor del potencial de ionización vertical será:

$$IP[X^-(s)]^* = IP[X^-(g)] - \Delta G_s^\circ(X^-) + \Delta G_s^\circ(X^{\cdot-}) + \Delta G_{SR}^\circ \quad (3)$$

Los potenciales de ionización vertical y las energías de solvatación están calculados para una gran variedad de nucleófilos (Shaik, 1985; Ritchie, 1983; Shaik *et al*, 1992). Las energías de reorganización del disolvente se pueden calcular mediante la teoría de Marcus (Marcus, 1984). ΔG_{SR}° se puede obtener de las energías de solvatación ΔG_s° utilizando una relación de Delahay (Delahay, 1982):

$$\Delta G_{SR}^\circ = -\rho \Delta G_s^\circ(X^-) \quad (4)$$

$$\Delta G_{SR}^\circ = -\rho \Delta G_s^\circ(X^{\cdot-}) \quad (5)$$

donde ρ es el factor de reorganización del disolvente, así por ejemplo, el valor para el agua es

0.56 a 298°K, mientras que para el benceno es 0.0093.

De esta manera los potenciales de ionización vertical pueden ser calculados para la mayoría de los nucleófilos, existiendo un gran correspondencia entre los valores así calculados y los resultados experimentales (Shaik, 1987).

MODELO SCD (State Correlation Diagram)

Un SCD puede ser representado como el diagrama de la figura 2A para una reacción no termoneutra (endergónica o exergónica).

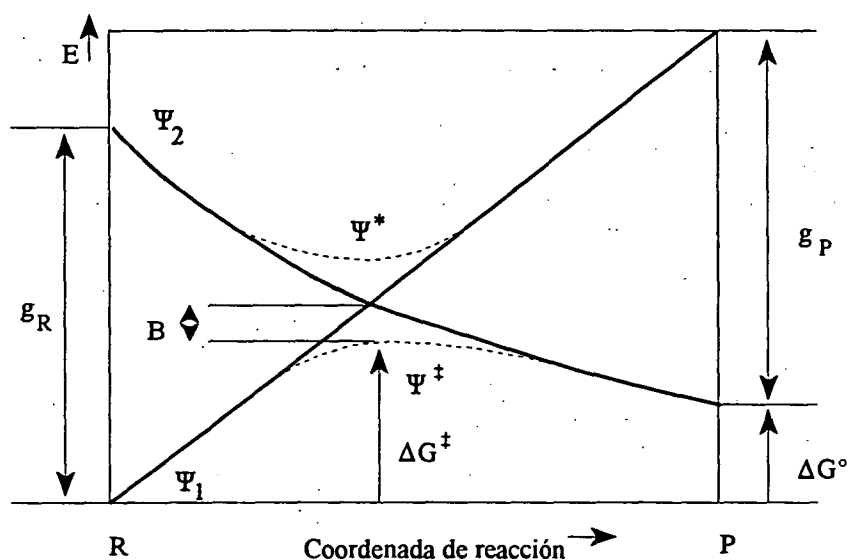
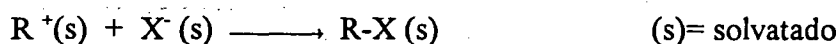


Figura 2 A: SCD para una reacción no ergoneutra

Este diagrama se construye usando el modelo VBCM. De forma resumida, este modelo genera un perfil de reacción a partir de la combinación lineal de las configuraciones de enlace valencia. Esta combinación lineal evita que ambas configuraciones se crucen y genera dos nuevas curvas: una de menor energía que describe el camino de reacción y corresponde al estado de transición Ψ^\ddagger y otra de mayor energía que corresponde al estado vertical de transición excitado Ψ^* . En el comienzo de la reacción, el sistema está definido fundamentalmente por Ψ_1 . A medida que avanza la reacción el salto energético entre Ψ_1 y Ψ_2 disminuye, por lo que la participación de Ψ_2 incrementa hasta ser la configuración dominante en el proceso. Como se ve el estado de transición Ψ^\ddagger contiene contribuciones de las dos configuraciones Ψ_1 y Ψ_2 .

Para el tratamiento de una reacción de recombinación electrófilo-nucleófilo en disolución como la siguiente:



se pueden considerar dos configuraciones: una iónica y otra covalente que aparecen representadas en la figura 3 A. Este diagrama fue propuesto por varios grupos de investigadores y recientemente fue calculado por Warshel & Weiss utilizando la teoría de enlace valencia (Warshel & Weiss, 1980).

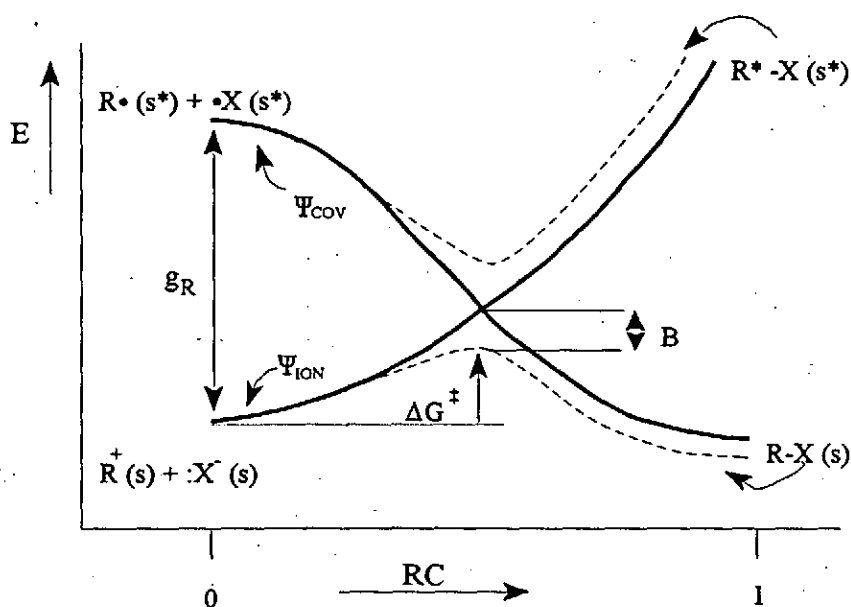


Figura 3 A: Diagrama del cruce evitado (Avoided crossing diagram) para reacciones de recombinación R^+ y X^-

En la coordenada de reacción están implícitamente representados los acercamientos entre R y X, los cambios geométricos internos en R y X y los movimientos de las moléculas del disolvente, las cuales se reorganizan para mantener el equilibrio con las cargas del sistema R,X. De esta forma, la anterior figura describe un cambio en las configuraciones iónica y molecular a lo largo de la coordenada de reacción que implica una combinación de todos los movimientos que convierten a $R^+ + X^-$ en R-X. Por lo tanto, esta reacción de combinación puede ser descrita como una transformación que implica una transferencia electrónica de un electrón para emparejarse con otro electrón y formar un enlace. La combinación de las configuraciones iónica y covalente evita que estas se crucen apareciendo como resultado dos configuraciones nuevas (representadas como línea de puntos) una de menor energía que corresponde al estado de transición y otra de mayor energía que corresponde al estado vertical excitado de la anterior.

Para entender lo descrito anteriormente se considera una coordenada de reacción en la que solo se considera la reorganización del disolvente, el resto de los movimientos permanecen congelados. Considerando la figura anterior, al principio de la reacción, en la curva iónica están los iones $R^+(s)$ y $X^-(s)$ solvatados en equilibrio con el disolvente, y en la molecular los radicales $R^\bullet(s)$ y $X^\bullet(s)$ solvatados pero en desequilibrio con el disolvente. Cuando la reorganización del disolvente tiene lugar, la configuración covalente se estabilizará, mientras que la iónica se desestabilizará. Si inicialmente, el intervalo energético entre las curvas iónica y covalente (g_R) es pequeño, la reorganización del disolvente será suficiente para posibilitar el cruce de ambas

curvas y se producirá una transferencia electrónica. Este tipo de reacciones han sido observadas por Arnett *et al* para el caso que implican iones $R^+ X^-$ inestables (Arnett *et al*, 1983).

A diferencia de las reacciones de transferencia electrónica, las reacciones de recombinación electrófilo-nucleófilo son un resultado de una distorsión molecular asociada con el movimiento de un electrón de X^- a R^+ y una contribución de la barrera del disolvente. Esta barrera del disolvente existe porque el disolvente debe de reorganizar sus posiciones de equilibrio para ajustarse a la nueva distribución de carga. Este concepto de la barrera del disolvente corresponde al concepto de Marcus de una barrera de disolvente en un transferencia electrónica (R.A. Marcus, 1956; 1965; 1956; 1963)

El estado de transición está en el punto de cruce de las configuraciones iónica y covalente, en el cual las energías de ambas configuraciones son la misma. Para alcanzar este punto se requieren distorsiones en los reactivos e interacciones entre ellos para estabilizar los estados de transferencia de carga y desestabilizar el estado fundamental hasta que las dos están en resonancia en el punto cruce.

Existen trabajos en los que se observan correlaciones entre la energía necesaria para deformar los reactivos y organizar el disolvente para alcanzar el estado de transición y la barrera energética de la reacción (ΔG^\ddagger) (Mitchel *et al*, 1985). La existencia de esta correlación se puede explicar teniendo en cuenta la figura 3 A en la que la barrera de recombinación electrófilo-nucleófilo puede expresarse como:

$$\Delta G^\ddagger = f \cdot g_R - B \quad (f < 1) \quad (6)$$

Esta ecuación establece que la barrera de energía es una fracción (f) del intervalo de energía g_R menos la interacción que evita el cruce de configuraciones B (avoided crossing interaction). La cantidad $f \cdot g_R$ es la energía en el punto de cruce (la energía necesaria para que se produzca el cruce, esto es la energía necesaria para deformar los reactivos y reorganizar el disolvente) y B es la energía de interacción asociada con la deslocalización de la carga en el estado de transición. La magnitud de f dependerá de los perfiles de las configuraciones individuales a lo largo de la coordenada de reacción como se observa en la figura 4 A. Hay dos factores que influirán en el valor de f: deslocalización electrónica y factores estéricos. f es como un índice de retraso de formación del enlace ("bond-coupling delay index").

Si B es constante dentro de una serie de reacciones, la ecuación 6 indica que debería haber una relación estructura-reactividad entre ΔG^\ddagger y g_R como ha observado Mitchel *et al*. (*loc. cit.*) (se tratará más adelante, figura 5 A).

Ya que g_R es la energía de transferencia electrónica vertical de X^- (s) a R^+ (s) la ecuación 6 se puede escribir en función de las energías puestas en juego, que son el potencial de ionización vertical de X^- (s) y la afinidad electrónica vertical de R^+ (s):

$$\Delta G^\ddagger = f (IP[X(s)]^* - A[R^+(s)]^*) - B \quad (7)$$

Esta ecuación describe un proceso de activación desde el punto de vista de los reactivos de la siguiente manera:

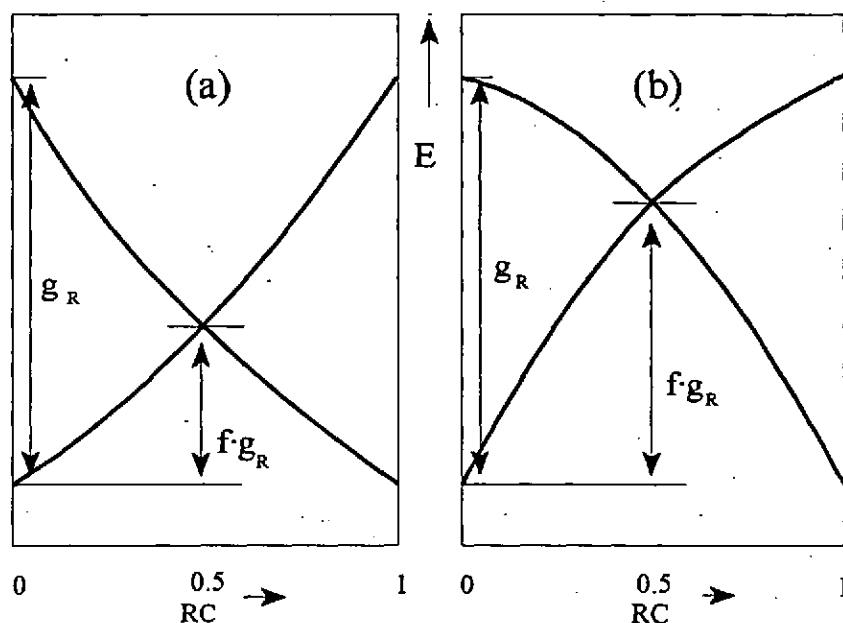


Figura 4 A: (a) Un descenso acusado de las curvas corresponde a un proceso caracterizado por un valor de f pequeño, (b) Un descenso suave de las curvas corresponde a un proceso caracterizado por un valor de f grande

El estado de transición ocurre en las proximidades del punto cruce, en el cual las configuraciones iónica y covalente son degeneradas. Como ambas configuraciones se diferencian energéticamente en una cantidad correspondiente a la energía de transferencia vertical, para alcanzar la misma energía (punto cruce) se necesitarán deformaciones que desestabilicen ($R^+ + X^-$) (s) y estabilicen ($R^* + X^*$) (s*). La energía de deformación necesaria para alcanzar el punto cruce es una fracción del intervalo de energía de transferencia vertical. Esto se tiene en cuenta en el primer término de la ecuación 7.

Una vez alcanzado el punto cruce, la energía disminuye como consecuencia de una interacción de resonancia existente entre las dos configuraciones degeneradas:



Esta interacción de resonancia es B, que es el segundo término de la ecuación 7. Esta ecuación describe el proceso de activación como la deformación que se necesita para superar la energía de transferencia vertical para que un electrón puede transferirse de $:X^-$ (s) a R^+ (s) y sincrónicamente emparejarse formando un enlace.

Las tendencias observadas por Mitchel *et al* se pueden explicar considerando grupos de reacciones que tienen f y B constantes, por lo que en estas reacciones, solo la energía de transferencia vertical es la que determina la tendencia en la reactividad. Para una familia de reacciones en las que el electrófilo es constante y solo se varía el nucleófilo la ecuación anterior podemos ponerla de la forma.

$$\Delta G^\ddagger = f(IP[X:(s)]^*) - C \quad (8)$$

donde C es una constante igual a $B + f(A[R^+(s)]^*)$. Para esta familia de reacciones se observará una relación lineal entre ΔG^\ddagger y el potencial de ionización vertical IP, con una pendiente cuyo valor será f y una ordenada en el origen C (más adelante en la figura 5 A).

Aquí cabe plantearse si con correlaciones de este tipo permiten obtener información acerca del estado de transición, para poder responder a esta pregunta tenemos que tener en cuenta todas las distorsiones y movimientos que contribuyeron a la variación de las curvas.

En un principio en la curva covalente están dos radicales en un estado de desequilibrio con el disolvente. A medida que se avanza por la coordenada de reacción, estos radicales se van acercando y debido a distorsiones geométricas, se emparejan para formar un enlace covalente R-X. Al mismo tiempo las moléculas del disolvente se organizan alcanzando configuraciones de equilibrio en torno a R-X. Todos estos efectos contribuyen a un descenso de la curva covalente a lo largo de la coordenada de reacción.

Por otra parte la curva iónica comienza con los dos iones en equilibrio con el disolvente. Es mejor considerar los iones y las moléculas de disolvente por separado. Inicialmente los iones sin solvatar se atraen a lo largo de la coordenada de reacción hasta una distancia crítica que es la suma de los radios iónicos (Shaik, 1981; Warshel & Weiss, 1980). Más allá de esta distancia los iones se repelen y esto aumentará las distorsiones geométricas de los iones, terminando la curva iónica con un estado excitado de $R^+ \cdot X^- (s^*)$.

Por otra parte las moléculas de disolvente ha de reorganizarse y esto da lugar a una pérdida de solvatación de los iones. Esto persiste hasta que las moléculas de disolvente ocupan configuraciones de no equilibrio alrededor del estado excitado de R-X.

De esta manera en la curva iónica, la atracción iónica se contrapone a la pérdida de solvatación y el resultado es una curva relativamente plana (Warshel & Russell, 1984). A distancias más cercanas que la suma de los radios iónicos, la pérdida de solvatación es mayor debido a las repulsiones iónicas no enlazantes y las distorsiones geométricas de los iones. Esta rama de la curva se eleva de forma aguda y es responsable de la barrera de recombinación electrófilo-nucleófilo (Shaik, 1981).

Ahora se puede responder a la pregunta anterior. La barrera de la reacción, es en general una combinación de la energía de deformación (que implica las repulsiones iónicas no enlazantes y las distorsiones geométricas) y la energía por pérdida de solvatación. La extensión de estos cambios solo será en cantidad suficiente para superar la energía de transferencia vertical y alcanzar el punto cruce.

Si tenemos en cuenta el ejemplo anterior de una serie de reacciones en las que la barrera energética de la reacción solo dependía del potencial de ionización vertical, esto significa que la extensión de las deformaciones estará determinada por el $IP[X:(s)]^*$, es decir cuanto mayor es el IP mayor serán las deformaciones en el estado de transición. Así, cuanto mayor es la energía de recombinación, más avanzado está el estado de transición en términos de su deformación total desde el estado inicial (Mitchell, *et al*, 1985).

Si las distorsiones que constituyen la deformación total son sincronizadas linealmente, se puede decir que lo establecido antes significa que cuando el IP y por lo tanto ΔG^\ddagger aumentan a lo largo de una serie de reacciones, los estados de transición son más tensas ("tighter") y R y X sufren más distorsiones geométricas y las moléculas de disolvente sufrirán más

reorganizaciones. Sin embargo, esto no siempre es así, porque las distorsiones a lo largo de la coordenada de reacción no presentan siempre dependencias lineales unas de otras (Shaik, 1985).

Otro hecho a tener en cuenta en una serie de reacciones es la constancia de la interacción que evita el cruce de curvas (avoided crossing interaction). El valor de B se puede obtener a partir de la ordenada en el origen de la ecuación 8 una vez conocidos la afinidad electrónica vertical del electrófilo y el valor del parámetro f . B es un índice del solapamiento existente entre el nucleófilo y el electrófilo en el estado de transición. Su valor constante para una serie de reacciones no es indicativo de un estado de transición constante (Mitchel *et al*, 1985). El solapamiento es función de la distancia entre reactivos y de las distorsiones geométricas y la constante de proporcionalidad depende de la fuerza del enlace (Shaik, 1985).

Otro tema a tratar a partir de las tendencias observadas en ciertas series de reacciones es si se puede anticipar estas tendencias para familias de reacciones. Se puede hablar de familias de reacciones cuando existe una constancia en el factor f (índice de retraso en la formación del enlace). En la ecuación 6, f es una relación entre la energía en el punto cruce y el intervalo de diferencia de energía en la parte de los reactivos de la figura 3 A. Como se ha dicho antes, esta relación depende de la curvatura de las curvas, del nivel de energía del estado excitado en la parte de los productos y del cambio de energía libre de la reacción. La falta de estos valores no nos permite anticipar estas correlaciones en una familia de reacciones, lo único que se puede hacer es investigar familias de reacciones aproximadas por correlaciones empíricas.

Aunque la ecuación 6 no conduzca a valores absolutos de f para una reacción particular, se pueden predecir algunas tendencias de los valores de f si se tienen en cuenta los resultados obtenidos en la bibliografía. Por ejemplo, se ha encontrado que f tiene un valor grande para nucleófilos deslocalizados del tipo PhO^- , PhS^- o similares. Esto es debido a que la deslocalización del electrón de X^- provoca un descenso poco acusado de la curva covalente hacia $R-X$, haciendo que la energía del punto cruce aumente y como consecuencia las deformaciones en R y X son mayores, los estados de transición son más \ddagger tensos y mayor la reorganización del solvente (Shaik, 1985; Shaik, 1986b; Shaik, 1986; Mitchel, *et al*, 1985; Cohen *et al*, 1986). Este resultado depende de si se necesita o no una unión fuerte de R y X en punto cruce. Para uniones débiles, electrófilos deslocalizados o localizados pueden presentar valores de f similares y conducir a la misma correlación entre el IP y ΔG^\ddagger .

Si se tiene en cuenta lo dicho anteriormente, una familia de reacciones se caracteriza por tener un valor de f constante y por otra parte, aquellas reacciones en las que intervienen nucleófilos deslocalizados tendrán valores de f mayores que aquellas con nucleófilos localizados; por lo que se puede predecir que una representación de ΔG^\ddagger frente a g_R (ecuación 6) o frente a IP (ecuación 7) conducirá a una serie de rectas características para una familia de reacciones dada. Esto se puede ver en la figura 4 en la que aparecen representadas tres hipotéticas familias (I, II, III), caracterizadas por un incremento en el grado de deslocalización del radical y, por lo tanto, un incremento de f . Tales representaciones de estructura-reactividad aportan información sobre el mecanismo.

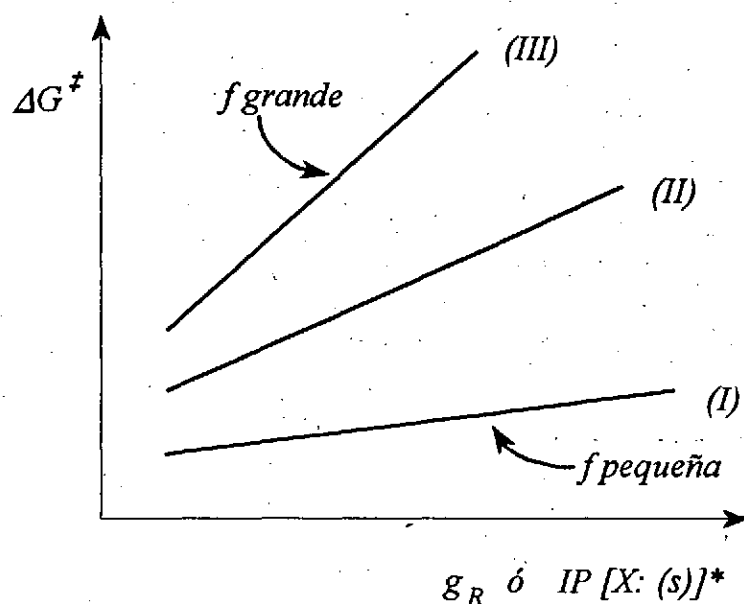


Figura 5 A: Relaciones de estructura reactividad esperadas para una familia de reacciones. Cada línea representa una familia de reacciones con un valor común de f y B .

Buncel *et al* estudiaron la reactividad nucleofílica en reacciones de adición a compuestos carbonílicos. De las correlaciones obtenidas se deduce que un incremento en la pendiente (o sea un valor de f mayor) implica que la reacción es más sensible al potencial de ionización vertical. Las pendientes que obtuvieron revelaron que la deslocalización electrónica es un factor que impone barreras energéticas más altas y deformaciones moleculares y reorganizaciones del disolvente mayores en el estado de transición (Buncel *et al*, 1988). Este mismo comportamiento se obtuvo para otros nucleófilos (Bernasconi *et al*, 1984; 1984b; Mictchel *et al*, 1985; Shaik, 1986; Cohen *et al*, 1986).

Las correlaciones estructura-reatividad obtenidas con los potenciales de ionización vertical son similares a las obtenidas por Ritchie (Ritchie, 1972; 1975, 1978; 1986). Si consideramos una familia de reacciones que obedece a la ecuación 7, y definimos una reacción con un cierto nucleófilo como una reacción estándar, que tiene una energía de reacción ΔG_0^\ddagger , la reactividad cualquier otro nucleófilo, relativa a la del estándar, se puede escribir como:

$$\Delta G^\ddagger - \Delta G_0^\ddagger = f (IP[X:(s)]^* - IP[X:(s)]_0^*) = f [\Delta[IP^*]] \quad (9)$$

y expresada en términos de constantes de velocidad en forma logarítmica:

$$\log \frac{k}{k_0} = -\frac{f\Delta[IP^*]}{2.303 \cdot R \cdot T} \quad (10)$$

De la ecuación 10 se deduce que las reactividades relativas de los nucleófilos depende únicamente de las diferencias entre sus potenciales de ionización vertical. k_0 es la constante de velocidad de la reacción tomada como referencia y depende de la reactividad del catión.

La ecuación 10 es isomorfa con la ecuación N^+ de Ritchie:

$$\log k = \log k_0 + N^+ \quad (11)$$

Esta ecuación correlaciona las constantes de velocidad de reacciones de combinación electrófilo-nucleófilo. N^+ es un parámetro que depende de la reactividad del nucleófilo y del disolvente (Ritchie *et al*, 1967) y k_0 es un parámetro característico del electrófilo. La ecuación 11 establece que las reactividades relativas de electrófilos son independientes de los nucleófilos y viceversa. Ritchie establece que esta ecuación no es teórica sino una sistematización de los resultados experimentales.

Al igualar el parámetro N^+ con el término de la derecha de la ecuación 10 se obtienen:

$$N^+ = -\frac{f\Delta[IP^*]}{2.303 \cdot R \cdot T} \quad (12)$$

Teniendo en cuenta las discusiones realizadas en torno a las ecuaciones 6 y 8, se ve que el parámetro de Ritchie posee un significado físico relacionado con la estructura del estado de transición. De esta manera, puede ser descrito como una medida de la deformación total experimentada por X: (relativa el nucleófilo estándar) al reaccionar con un R^+ dado.

Ya que como dijimos antes para una familia de reacciones dada f es constante, el parámetro N^+ en un familia de reacciones es proporcional a las diferencias entre los potenciales de ionización vertical. El comportamiento de N^+ en diferentes series, se apoya en la constancia de f para diferentes electrófilos por lo que, considerando que, como se dijo antes, no siempre existen correlaciones de f con la barrera energética, también son de esperar desviaciones con N^+ (Ta-Shma & Rappoport, 1983). También se pueden encontrar buenas correlaciones de reactividad con N^+ y no tan buenas con PI dentro de una misma familia de reacciones (García-Río *et al*, 1993), lo que ha llevado a pensar que el parámetro de Ritchie no sólo está relacionado con el potencial de ionización vertical, sino, que como N^+ es determinado cinéticamente, parece como si tuviera información de las transformaciones que tienen lugar en el nucleófilo durante la reacción, pero que estas transformaciones no sólo dependieran de un solo parámetro físico como es el PI*.

Teniendo en cuenta todo lo visto, se puede concluir que las correlaciones del parámetro de Ritchie y el IP^* pueden ser atribuidas, algunas veces, a una propiedad del nucleófilo está asociada con la deformación que se produce en este cuando se transfiere un electrón al electrófilo, a la vez que se forma un nuevo enlace.

Apéndice 2

Tablas de resultados

TABLA 1 A: Determinación de ϵ del hipoclorito

$[\text{ClO}^-] \cdot 10^3 / \text{M}$	Absorbancia
1.46	0.498
1.32	0.441
1.17	0.397
1.02	0.345
0.88	0.292

$\lambda = 292 \text{ nm}$, $\text{pH} > 12$

- Pendiente: $347 \pm 3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

- Ordenada: -0.01 ± 0.01

TABLA 2 A: Calibrado del electrodo de amoníaco

$[\text{NH}_3] \cdot 10^4 / \text{M}$	E / mv
1.5	-17
2.0	-24
2.5	-30
2.5	-25
3.0	-36
3.5	-36
3.5	-39
4.0	-43
4.5	-43
5.0	-50
5.5	-52
6.0	-52

- Pendiente: $(-7.9 \pm 0.5) \cdot 10^4$

- Ordenada: -9 ± 2

TABLA 3 A: Determinación de ϵ de la (2,4)-dinitrofenilhidrazona

[aldehído] · 10 ⁵ / M	Absorbancia
0.125	0.035
0.250	0.076
0.375	0.091
0.500	0.176
0.625	0.159
0.750	0.200
1.000	0.274
1.125	0.233
1.250	0.261
1.500	0.279
1.750	0.377

$\lambda = 430 \text{ nm}$

- Pendiente: $(1.9 \pm 0.2) \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
- Ordenada: 0.04 ± 0.02

TABLA 4 A: Variación del ϵ de la N-Cl-valina con el pH

pH	$\epsilon \text{ (M}^{-1} \text{ cm}^{-1}\text{)}$
4.3	277
5.2	254
6.2	249
7.2	257
8.5	278
9.3	245
10.0	263
13.5	276

TABLA 5 A: Influencia del pH en la descomposición de la N-Cl-Valina

pH	$k \cdot 10^4 / s^{-1}$
4.10	1.90
5.00	1.71
6.00	2.04
7.00	2.03
8.18	2.07
8.94	1.91
10.03	2.03
10.70	1.97
12.00	1.89
12.70	2.05
13.00	2.36
13.30	2.51
13.48	3.03
13.60	3.42
13.70	3.76
13.77	4.74
13.84	5.32
13.90	5.57
13.95	5.87
14.00	7.21

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I = 0.5 \text{ M (NaCl)}$, $T = 298 \text{ K}$.

TABLA 6 A: Influencia de la concentración de NaOH en la descomposición de la N-Cl-valina (I ≠ cte).

[NaOH] / M	$k \cdot 10^4 / s^{-1}$
0.200	2.51
0.305	3.03
0.402	3.42
0.505	3.98
0.588	4.74
0.698	5.31
0.796	5.57
0.900	5.86
1.040	7.21

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$.

TABLA 7 A: Influencia de la temperatura en la descomposición de la N-Cl-valina (I ≠ cte)

T / °K	$k \cdot 10^4 / s^{-1}$
pH = 7	
293	0.82
298	2.03
303	4.26
308	8.99
313	17.02
[NaOH] = 0.3 M	
293	0.481
298	1.001
303	1.681
308	2.544
313	6.085

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 8 A: Influencia de la temperatura en la descomposición de la N-Cl-valina.

T / K		293	298	303	308	313
pH=5.1	$k \cdot 10^4$ s^{-1}	1.02	1.78	3.76	10.8	17.9
pH=7.0		1.26	2.03	4.26	8.99	16.8
pH=10.3		0.89	1.92	4.16	8.06	19.2

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M (NaCl)}$

TABLA 9 A: Influencia de la concentración de NaOH a diferentes temperaturas en la descomposición de la N-Cl-valina

T / K	$k \cdot 10^4 / s^{-1}$				
[NaOH] / M	293	298	303	308	313
0.10	1.035	2.250	4.790	9.219	17.80
0.20	1.324	2.636	5.402	10.53	19.08
0.30	1.401	2.917	5.924	12.01	20.69
0.40	1.687	3.402	6.695	13.30	22.50
0.50	1.820	3.813	7.583	14.36	24.55

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I (\text{NaCl} + \text{NaOH}) = 0.5 \text{ M}$

TABLA 10 A: Influencia de la concentración de NaOH a diferentes temperaturas en la descomposición de la N-Cl-valina

T / K	$k \cdot 10^4 / s^{-1}$				
[NaOH] / M	293	298	303	308	313
0.070	----	2.909	----	----	----
0.096	1.490	----	6.549	13.12	25.70
0.195	----	3.709	----	----	----
0.256	2.180	----	8.491	16.34	29.57
0.325	----	4.650	----	----	----
0.384	2.720	----	10.21	18.80	33.02
0.390	----	5.245	----	----	----
0.460	----	5.743	----	----	----
0.512	3.400	----	12.07	21.84	38.99
0.576	----	6.771	----	----	----
0.640	4.130	7.007	14.49	24.50	42.78

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I (\text{NaClO}_4 + \text{NaOH}) = 3 \text{ M}$

TABLA 11 A: Influencia del NaOH a diferentes fuerzas iónicas en la descomposición de la N-Cl-valina

I / M	$k \cdot 10^4 / s^{-1}$				
[NaOH] / M	I= 1	I= 1.5	I= 2	I= 2.5	I= 3
0.129	2.87	2.72	2.70	3.26	2.81
0.257	3.58	3.30	3.54	4.37	3.77
0.386	4.46	4.39	4.39	5.61	4.92
0.514	5.69	5.61	5.59	6.78	6.19
0.643	6.76	6.57	7.15	8.24	7.64

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $I (\text{NaCl} + \text{NaOH})$

TABLA 12 A: Influencia del NaOH a diferentes fuerzas iónicas en la descomposición de la N-Cl-valina

I / M	$k \cdot 10^4 / s^{-1}$				
[NaOH] / M	I= 1	I= 1.5	I= 2	I= 2.5	I= 3
0.007	----	----	----	----	2.91
0.096	2.35	2.50	2.93	2.81	----
0.133	----	----	----	2.65	3.67
0.195	----	----	----	----	3.71
0.256	3.18	3.31	4.15	3.83	----
0.267	----	----	----	4.11	4.79
0.325	----	----	----	----	4.65
0.384	3.72	4.17	4.65	4.60	5.25
0.460	----	----	----	----	5.74
0.512	4.65	4.88	5.62	5.83	----
0.533	----	----	----	5.93	6.87
0.576	----	----	----	----	6.77
0.640	5.67	5.87	6.60	6.73	7.01
0.670	----	----	----	7.04	8.26

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $I (\text{NaClO}_4 + \text{NaOH})$

TABLA 13 A: Influencia de la fuerza iónica en medio básico en la descomposición de la N-Cl-valina

	$k \cdot 10^4 / s^{-1}$				
I / [NaOH] M	0.129 M	0.257 M	0.386 M	0.514 M	0.643 M
1.0 (NaCl)	2.87	3.58	4.46	5.69	6.76
1.5 (NaCl)	2.72	3.30	4.40	5.61	6.57
2.0 (NaCl)	2.70	3.54	4.39	5.59	7.15
2.5 (NaCl)	3.15	3.98	5.06	6.33	7.62
3.0 (NaCl)	2.81	3.76	4.92	6.19	7.64

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, $I (\text{NaCl} + \text{NaOH})$

TABLA 14 A: Influencia de la fuerza iónica en medio básico en la descomposición de la N-Cl-valina

I / [NaOH] M	$k \cdot 10^4 / s^{-1}$				
	0.096 M	0.256 M	0.384 M	0.512 M	0.640 M
1.0	2.36	3.18	3.72	4.65	5.67
1.5	2.50	3.31	4.17	4.89	5.88
2.0	2.94	4.16	4.66	5.62	6.61
2.0	2.93	4.05	4.95	5.85	6.74
2.5	2.82	3.83	4.60	5.83	6.73
3.0	3.15	4.51	5.46	6.58	7.49

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $T = 298 \text{ K}$, I (NaClO₄ + NaOH)

TABLA 15 A: Influencia de la fuerza iónica en las constantes catalíticas del ion hidróxido en la descomposición de la N-Cl-valina

I / M	NaCl	NaClO ₄
	$k_{\text{OH}} \cdot 10^4 / M^{-1} s^{-1}$	
1.0	7.71	5.99
1.5	7.78	6.18
2.0	8.52	6.55
2.0	----	7.00
2.5	9.62	7.30
3.0	9.40	7.48
3.0	----	8.40

T= 298 K

TABLA 16 A: Influencia de la concentración de trifluoretanol en la descomposición de la N-CI-valina

pH= 11.63	[CF ₃ CH ₂ OH] / M	0.11	0.16	0.21	0.27	0.32	0.37
	k · 10 ⁻⁴ / s ⁻¹	2.13	2.18	2.23	2.26	2.32	2.41
pH= 12.19	[CF ₃ CH ₂ OH] / M	0.08	0.15	0.19	0.23	0.27	0.35
	k · 10 ⁻⁴ / s ⁻¹	2.22	2.26	2.35	2.42	2.55	2.72
pH= 12.68	[CF ₃ CH ₂ OH] / M	0.07	0.12	0.15	0.20	0.23	0.30
	k · 10 ⁻⁴ / s ⁻¹	2.16	2.29	2.38	2.41	2.58	2.75

$\lambda = 255 \text{ nm}$, [Val] = $1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, T = 298 K, I = 1 M (NaCl)

TABLA 17 A: Influencia de la concentración de trifluoretóxido en la descomposición de la N-CI-valina

[CF ₃ CH ₂ O ⁻] / M	k · 10 ⁴ / s ⁻¹
0.0061	2.10
0.0140	2.17
0.0229	2.22
0.0317	2.29
0.0404	2.35
0.0511	2.42
0.0164	2.19
0.0382	2.33
0.0579	2.43
0.0742	2.52
0.0918	2.48
0.1294	2.83
0.0219	2.26
0.0517	2.45
0.0750	2.58
0.1182	2.76
0.1443	2.91
0.1920	3.20

$\lambda = 255 \text{ nm}$, [Val] = $1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, I = 1 M (NaCl), T = 298 K.

TABLA 18 A: Influencia de la concentración de tampón fosfato en la descomposición de la N-CI-valina

		T / K	[fosfato] _{total} / M	0.10	0.20	0.30	0.40
pH= 6.3		293	$k \cdot 10^{-4} / s^{-1}$	0.86	0.89	0.84	0.86
		298		1.87	1.89	1.91	1.93
		303		4.03	4.10	4.15	4.25
		308		8.33	8.55	8.83	9.18
		313		16.49	16.50	16.33	17.69
		T / K	[fosfato] _{total} / M	0.10	0.15	0.25	0.30
pH= 7.6		293	$k \cdot 10^{-4} / s^{-1}$	0.78	0.81	0.83	0.79
		298		1.89	1.92	1.95	1.98
		303		4.09	4.19	4.23	4.29
		308		8.48	8.61	8.92	9.04
		313		17.25	17.68	18.63	18.84

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$ (NaCl , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^-)

TABLA 19 A: Influencia de la concentración de hidrógeno-fosfato en la descomposición de la N-Cl-valina

		T / K	[HPO ₄ ⁻²] _{total} / M	0.012	0.028	0.048	0.072
pH= 6.3		293	$k \cdot 10^{-4} / s^{-1}$	0.86	0.86	0.84	0.86
		298		1.87	1.89	1.91	1.93
		303		4.03	4.10	4.15	4.25
		308		8.33	8.55	8.83	9.18
		313		16.49	16.50	16.33	17.69
		T / K	[HPO ₄ ⁻²] _{total} / M	0.072	0.114	0.203	0.245
pH= 7.6		293	$k \cdot 10^{-4} / s^{-1}$	0.78	0.81	0.83	0.80
		298		1.89	1.92	1.95	1.98
		303		4.09	4.20	4.23	4.29
		308		8.48	8.61	8.92	9.04
		313		17.25	17.68	18.63	18.84

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{Val}] = 1.2 \cdot 10^{-2}$, $2 \cdot 10^{-3} < [\text{ClO}^-] < 2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$ (NaCl , HPO_4^{-2} , H_2PO_4^-)

TABLA 20 A: Influencia del pH a diferentes temperaturas en la formación de la N-Cl-Glicil-glicina

T = 288 K		T = 293 K		T = 298 K	
pH	$k_{\text{obs}} \cdot 10^{-5}$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	pH	$k_{\text{obs}} \cdot 10^{-5}$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	pH	$k_{\text{obs}} \cdot 10^{-5}$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$
6.15	0.41	6.22	0.60	6.42	1.15
7.06	4.53	6.99	1.93	6.77	2.40
7.15	2.60	7.52	2.91	7.00	3.09
8.24	3.26	7.91	3.87	7.35	3.59
8.45	2.37	8.33	3.92	7.56	4.84
8.87	1.33	8.46	3.39	8.00	5.37
9.34	0.65	8.89	2.58	8.30	4.05
9.67	0.27	9.11	1.51	8.51	3.53
		9.64	0.65	8.70	2.50
		10.2	0.38	9.04	1.99
				9.17	1.36
				9.80	0.49
				10.2	0.17
T = 303 K		T = 308 K		T = 313 K	
6.25	0.98	6.13	1.29	6.13	1.35
6.98	3.01	6.89	3.68	6.90	3.42
7.35	4.95	7.26	5.84	7.17	4.43
8.26	4.04	7.87	6.54	8.23	3.82
8.57	2.74	8.19	5.19	8.24	3.78
9.54	0.66	8.20	5.25	8.59	2.76
9.84	0.38	8.53	2.87	9.04	1.52
		9.00	1.52	9.56	0.62
		9.51	6.37	8.88	0.35
		9.81	3.26		

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{dipéptido}] = [\text{ClO}^-] 1.2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I = 0.7 \text{ M (NaCl)}$

TABLA 21 A: Influencia del pH a diferentes temperaturas en la formación de la N-Cl-Glicil-glicina éster etílico

T = 288 K		T = 293 K		T = 298 K	
pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$	pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$	pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$
6.35	0.88	6.41	1.19	6.39	1.58
6.68	1.71	6.76	2.26	6.70	2.68
7.18	2.95	7.18	3.30	7.09	4.02
7.92	3.48	7.46	3.96	7.38	5.22
7.57	3.69	8.01	4.18	8.49	3.03
8.13	3.11	8.12	4.32	8.7	2.33
8.42	2.44	8.65	2.69	8.93	1.59
8.68	1.87	8.85	2.13	9.10	1.23
8.89	1.33	9.11	1.64	9.52	0.57
9.10	0.95	9.28	1.17		
9.50	0.50	9.69	0.59		

T = 303 K		T = 308 K	
pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$	pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$
6.35	2.11	6.38	2.53
6.70	3.47	8.14	4.14
8.15	4.34	8.54	3.29
8.47	3.25	8.71	2.38
8.69	2.39	8.95	1.36
8.89	1.64	9.09	1.08
9.04	1.24	9.49	0.59
9.44	5.89		
8.11	0.46		

$\lambda = 255$ nm, [dipéptido] = $[ClO^-] 1.2 \cdot 10^{-3}$ M, I = 0.7 M (NaCl)

TABLA 22 A: Influencia del pH en la formación de la N-dipéptidos

Gly-Ala		Gly-Sar		Gly-Val	
pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$	pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$	pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$
5.00	0.14	6.23	0.98	6.31	1.35
5.49	0.33	6.29	1.22	6.34	1.30
6.16	0.83	6.50	1.67	6.53	1.93
6.67	1.57	6.78	2.36	6.78	2.47
7.37	2.44	7.11	2.65	7.06	3.36
8.41	2.97	7.15	2.66	7.22	3.60
8.51	2.60	7.29	3.03	7.64	4.43
8.99	1.75	7.65	3.84	7.87	3.79
9.14	1.66	7.74	3.91	8.39	3.33
9.58	0.91	7.87	3.73	8.74	2.49
		8.34	3.22	9.08	1.94
		8.39	3.33	9.62	0.91
		8.66	2.65	10.38	0.16
		8.74	2.49	10.82	0.075
		8.98	1.83	10.90	0.047
		9.08	1.94		
		9.49	0.91		
		9.62	0.92		
		10.38	0.20		
		10.38	0.16		
		10.82	0.075		
		10.83	0.077		

$\lambda = 255 \text{ nm}$, [dipéptido] = $[ClO^-] 1.2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I = 0.7 \text{ M (NaCl)}$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 23 A: Influencia del pH en la formación de la N-dipéptidos

Gly-Ile		Gly-Leu		Gly-Pro	
pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$	pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$	pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$
6.30	1.34	6.30	1.40	6.17	1.20
6.67	1.91	6.57	1.94	6.43	1.84
6.78	2.53	6.83	2.52	8.86	1.73
7.11	2.95	7.12	3.31	9.20	2.25
7.29	3.76	7.29	3.72	9.74	0.29
7.68	4.75	7.68	4.58	10.33	0.26
7.89	3.54	7.89	4.11	10.50	0.17
8.38	2.76	8.37	2.72	11.58	0.13
8.78	2.10	8.77	2.02	11.94	0.044
9.10	1.35	9.10	1.43		
10.42	0.12	10.40	0.12		
10.94	0.046	10.92	0.045		

Ala-Gly		Val-Gly		Pro-Gly	
pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$	pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$	pH	$k_{obs} \cdot 10^{-5}$ $M^{-1} s^{-1}$
4.98	0.15	6.43	1.48	6.27	1.33
5.39	0.33	6.73	2.31	6.52	2.56
6.07	0.86	7.02	4.49	8.99	0.96
6.56	1.98	8.31	2.86	9.36	0.46
8.27	2.63	8.33	3.63	9.52	0.72
8.36	2.33	8.69	2.20	9.80	0.29
8.81	1.84	9.74	0.24	9.85	0.11
8.98	1.62	9.95	0.14	10.12	0.14
9.41	0.91	10.25	0.062	10.14	0.13
		10.44	0.039	10.33	0.082
				10.75	0.055
				11.58	0.053
				11.94	0.019

$\lambda = 255 \text{ nm}$, [dipéptido] = $[ClO^-] 1.2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I = 0.7 \text{ M (NaCl)}$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 24 A: Influencia del pH en la formación de la N-dipéptidos y glicinamida

Leu-Ala		Glicinamida	
pH	$k_{\text{obs}} \cdot 10^{-5}$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	pH	$k_{\text{obs}} \cdot 10^{-5}$ $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$
6.31	1.38	6.26	1.30
6.65	4.17	6.54	2.16
7.35	6.67	6.74	2.59
8.21	5.01	7.06	3.41
8.50	3.81	7.31	4.20
9.63	0.64	7.31	3.72
9.86	0.42	7.62	4.03
10.17	0.11	7.85	4.37
10.42	0.062	8.02	4.06
		8.14	2.71
		8.66	1.80
		8.79	1.21
		8.80	1.23
		9.48	0.52
		10.02	0.13
		10.40	0.034

$\lambda = 255 \text{ nm}$, $[\text{dipéptido}] = [\text{ClO}^-] 1.2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $I = 0.7 \text{ M (NaCl)}$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 25 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de glicilglicina

Gly-Gly			
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^1 / s^{-1}$	[NaOH] / M	$k_2 \cdot 10^2 / s^{-1}$
0.010	0.18	0.025	0.48
0.020	0.26	0.050	0.66
0.030	0.36	0.075	0.62
0.040	0.49	0.100	0.77
0.050	0.58	0.100	0.64
0.060	0.71	0.250	1.14
0.080	0.96	0.250	1.04
0.100	1.14	0.500	1.83
0.200	2.38	0.500	1.87
0.300	3.71	0.750	2.44
0.400	4.79	1.000	3.26
0.500	6.23	1.000	3.34
0.600	7.81	1.500	4.90
0.700	9.21	1.500	4.80
0.800	9.95	2.000	6.38
1.000	12.97	2.000	6.44
----	----	2.500	7.88
----	----	2.500	7.75
----	----	3.000	9.13
----	----	3.000	9.22

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 3 \text{ M (NaClO}_4)$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 26 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de glicilsarcosina

Gly-Sar		
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^2 / s^{-1}$	$k_2 \cdot 10^2 / s^{-1}$
0.010	3.29	1.04
0.025	6.18	1.07
0.050	10.88	1.16
0.075	14.28	1.24
0.100	19.41	1.26
0.200	37.99	1.56
0.300	56.06	1.87
0.400	78.64	2.20
0.600	118.39	2.83
0.800	158.06	3.46

$\lambda = 250 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M (NaClO}_4)$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 27 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de glicilisoleucina

Gly-Ile		
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^2 / s^{-1}$	k_2 / s^{-1}
0.010	2.03	0.53
0.025	3.65	0.57
0.050	6.25	0.61
0.075	8.64	0.65
0.100	11.38	0.66
0.100	-----	0.63
0.250	27.630	0.91
0.500	58.772	1.38
0.700	83.020	1.81
0.800	95.540	2.04
1.000	-----	6.25

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 3 \text{ M (NaClO}_4)$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 28 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de glicilalanina

Gly-Ala			
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^2 / s^{-1}$	[NaOH] / M	$k_2 \cdot 10^2 / s^{-1}$
0.001	0.87	0.010	0.51
0.002	1.01	0.025	0.61
0.003	1.10	0.050	0.68
0.004	1.13	0.075	0.72
0.005	1.50	0.100	0.70
0.006	1.46	0.250	1.06
0.007	1.50	0.500	1.73
0.008	1.77	0.700	2.32
0.009	1.90	0.750	2.07
0.010	2.15	0.800	2.63
0.025	3.82	0.850	2.43
0.050	6.48	1.000	2.95
0.075	8.65	1.250	3.45
0.250	23.54	1.500	4.53
0.500	48.58		
0.800	78.65		
1.000	96.56		

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 3 \text{ M (NaClO}_4\text{)}$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 29 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de glicilleucina

Gly-Leu		
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^2 / s^{-1}$	$k_2 \cdot 10^2 / s^{-1}$
0.010	1.57	0.45
0.025	3.02	0.52
0.050	5.18	0.56
0.075	6.81	0.60
0.100	9.65	0.62
0.200	18.53	0.78
0.300	26.63	0.97
0.400	38.39	1.15
0.600	54.46	1.40
0.800	74.65	1.76

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 3 \text{ M (NaClO}_4\text{)}$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 30 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de glicilvalina

Gly-Val		
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^2 / s^{-1}$	$k_2 \cdot 10^2 / s^{-1}$
0.010	2.11	0.53
0.025	3.68	0.57
0.050	6.60	0.61
0.075	8.64	0.66
0.100	12.12	0.69
0.200	24.11	0.86
0.300	33.49	1.05
0.400	48.47	1.31
0.600	71.02	1.64
0.800	95.20	2.06

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M (NaClO}_4\text{)}$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 31 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de glicilprolina

Gly-Pro			
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^2 / s^{-1}$	$k_2 \cdot 10^2 / s^{-1}$	
0.020	4.78	0.91	
0.050	9.43	1.02	
0.070	11.94	1.07	
0.100	16.75	1.15	
0.150	25.31	1.29	
0.200	29.74	1.42	
0.250	41.45	1.58	
0.300	48.96	1.71	
0.400	65.66	2.07	
0.500	82.28	2.31	
0.600	99.62	2.61	
0.700	118.50	2.89	
0.800	134.00	3.21	

$\lambda = 250 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M (NaClO}_4)$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 32 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de alanilglicina

Ala-Gly			
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^2 / s^{-1}$	[NaOH] / M	$k_2 \cdot 10^2 / s^{-1}$
0.010	0.37	0.050	0.20
0.025	0.77	0.100	0.24
0.050	1.35	0.100	0.22
0.075	1.91	0.250	0.30
0.100	2.09	0.500	0.29
0.250	5.58	0.530	0.35
0.500	11.39	0.750	0.37
0.750	16.94	0.750	0.41
0.800	19.61	1.000	0.46
1.000	23.79	1.000	0.43

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 3 \text{ M (NaClO}_4)$, $T = 298 \text{ K}$

TABLA 33 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de valilglicina

Val-Gly			
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^2 / s^{-1}$	[NaOH] / M	$k_2 \cdot 10^3 / s^{-1}$
0.040	0.05	0.200	5.01
0.060	0.08	0.300	5.48
0.100	0.13	0.400	5.99
0.200	0.27	0.500	6.47
0.300	0.41	0.600	6.94
0.400	0.52	0.700	7.60
0.500	0.64	0.800	8.12
0.600	0.78		
0.700	0.91		
0.800	1.06		

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$ (NaClO_4), $T = 298 \text{ K}$

TABLA 34 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de leucilalanina

Leu-Ala			
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^3 / s^{-1}$	[NaOH] / M	$k_2 \cdot 10^5 / s^{-1}$
0.020	0.23	0.100	1.07
0.050	0.56	0.200	1.69
0.100	1.17	0.300	2.08
0.100	1.13	0.400	2.83
0.200	2.37	0.500	3.35
0.200	2.28	0.600	3.81
0.300	3.70		
0.300	3.57		
0.400	5.12		
0.400	5.07		
0.500	6.18		
0.600	7.56		

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$ (NaClO_4), $T = 298 \text{ K}$

TABLA 35 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de prolilglicina

Pro-Gly			
[NaOH] / M	$k_1 \cdot 10^2 / s^{-1}$	[NaOH] / M	$k_2 \cdot 10^6 / s^{-1}$
0.020	0.62	0.200	0.71
0.050	1.35	0.250	1.13
0.070	1.89	0.300	1.27
0.100	2.63	0.350	1.53
0.150	4.11	0.400	2.06
0.200	5.51	0.500	2.73
0.250	6.98	0.600	3.48
0.350	9.97		
0.450	12.11		
0.550	15.02		
0.650	18.96		
0.750	21.01		

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$ (NaClO_4), $T = 298 \text{ K}$

TABLA 36 A: Influencia de la concentración de hidróxido sódico en los dos procesos de la descomposición de la glicinamida

Glicinamida		
[NaOH] / M	k_1 / s^{-1}	$k_2 \cdot 10^2 / s^{-1}$
0.050	0.13	1.05
0.100	0.28	1.50
0.200	0.50	2.07
0.300	0.82	2.89
0.400	1.02	3.61
0.500	1.39	4.21
0.600	1.69	4.98
0.700	1.88	5.81

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{dipéptido}] = 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $I = 1 \text{ M}$ (NaClO_4), $T = 298 \text{ K}$

TABLA 37 A: Influencia de la concentración de la [Gly-Gly] en medio básico para la glicilglicina

[NaOH] = 0.5 M		
[Gly-Gly] · 10 ³ / M	k ₁ · 10 ¹ / s ⁻¹	k ₂ · 10 ² / s ⁻¹
1.0	5.97	1.71
2.5	5.98	1.75
5.0	5.94	1.74
7.5	5.84	1.68
10.0	5.82	1.74
25.0	----	1.75

$\lambda = 237 \text{ nm}$, $[\text{ClO}^-] = 5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $I = 3 \text{ M (NaClO}_4)$, $T = 298 \text{ K}$



UNIVERSIDADE DA CORUNA

UNIVERSIDADE DA CORUÑA
Servicio de Bibliotecas



1700744455