

Biblioteca Área Inorgánica  
FCIYF. UNR.  
Suipacha 531 - 2000 Rosario



T 54 C129  
R 9791  
F 14/09/2018

Universidad Nacional de Rosario  
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas

Departamento de Química Física  
Área Inorgánica

*Estudios preliminares de la oxidación  
crómica de D-glucitol*

Tesina para optar al Título de  
Licenciada en Química

Autora: Calisto, Nancy Cristina

Director de Tesina: Dr. Luis Federico Sala

2002



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO  
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas  
Suipacha 531 Rosario (2000) Argentina




Rosario, 8 de marzo de 2002

En el día de la fecha se reúne el jurado compuesto por las Dras. Mirta Mischne, Claudi Palopoli y Graciela Escandar, a los efectos de evaluar la Defensa Oral y Pública de la Tesina para optar al título de Licenciado en Química presentada por la alumna Nancy C. Calisto (Legajo No. C-9595/8) y titulada "Estudios preliminares de la oxidación crómica de D-glucitol". Esta Tesina se desarrolló bajo la dirección del Dr. Luis F. Sala.

Luego de presenciar la exposición oral de la Srta. Calisto, este jurado considera que: su presentación fue realizada en forma clara y precisa, utilizando medios audiovisuales de última generación, con una buena diagramación. Durante el transcurso de la exposición se detalló con solvencia de conocimientos el trabajo experimental llevado a cabo y las conclusiones obtenidas.

Finalizada la exposición, la Srta. Calisto respondió satisfactoriamente a las preguntas formuladas por los miembros del jurado.

Por lo anteriormente expresado, este jurado califica la Tesina de la Srta. Nancy Calisto como sobresaliente (10).

  
Dra. Claudia Palopoli

  
Dra. Mirta Mischne

  
Dra. Graciela Escandar

**El presente trabajo dio lugar a la siguiente publicación:**

*Kinetics and Mechanisms of the Reduction of Chromium(VI) and Chromium(V) by D-Glucitol and D-Manitol.*

Viviana P. Roldán, Verónica A. Daier, Bernard Goodman, Mabel I. Santoro, Juan Carlos González, Nancy C. Calisto, Sandra R. Signorella, Luis F. Sala.

Helvetica Chimica Acta – Vol. 83 (2000), 3211-3228.

**Participaciones a Congresos:**

*XXIII Congreso argentino de Química.* 13 a 17 septiembre de 2000. Corrientes.

*Oxidación Crómica de Alditales.* V. Daier, L. Sala, S. Signorella, M. Santoro, J. C. Gonzales, N. Calisto, V. Roldán, B. Goodman.

A mis padres  
A Patricia, Adriana y Arturo  
A Federico

## AGRADECIMIENTOS

A mi director de Tesina Dr. Luis F. Sala, por su dedicación, constante preocupación y por permitirme integrar el Grupo de Investigación del Área Inorgánica.

A la Dra. Mabel Santoro por las innumerables horas de paciencia, por los constantes consejos y colaboración en el desarrollo de este trabajo, que sin su apoyo no hubiese sido posible.

A todos los integrantes del Grupo de Investigación del Área Inorgánica, por su colaboración y compañerismo.

A Cristian Vargas, por facilitarme el proyector para la presentación de mi tesina.

A todas las personas, familiares y amigos, que me han ayudado, tanto física como moralmente en este proyecto.

Suplemento 031 - 2000

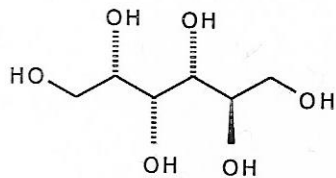
# ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE GENERAL .....</b>	<b>I</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>V</b>
<b><u>CAPITULO 1:INTRODUCCION.....</u></b>	<b>1</b>
<b>1.1- CROMO .....</b>	<b>2</b>
1.1.1- Aspectos Generales .....	2
1.1.2- Aspectos Químicos .....	2
1.1.2 a) Cr(VI), d <sup>0</sup> .....	2
1.1.2 b) Cr(V), d <sup>1</sup> .....	3
1.1.2 c) Cr(IV), d <sup>2</sup> .....	4
1.1.2 d) Cr(III), d <sup>3</sup> .....	4
1.1.3-Aspectos biológicos del cromo .....	5
1.1.4- Contaminación con Cr(VI) .....	6
1.1.4 a) A nivel de suelos .....	6
1.1.4 b) A nivel celular.....	8
<b>1.2- OBJETIVOS .....</b>	<b>10</b>
<b>1.3- D-GLUCITOL .....</b>	<b>12</b>
<b><u>CAPÍTULO 2: PARTE EXPERIMENTAL.....</u></b>	<b>14</b>
<b>2.1- INSTRUMENTAL.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2- MATERIALES.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3- TÉCNICAS GENERALES.....</b>	<b>17</b>
2.3.1- Preparación de soluciones .....	17
2.3.2- Cromatografía en papel.....	18
2.3.3- Mediciones cinéticas .....	19

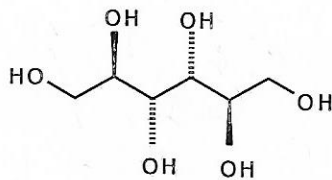
<b>2.4- ESTABILIDAD DEL D-GLUCITOL.....</b>	<b>22</b>
2.4.1- <sup>13</sup> C-RMN de D-glucitol en ácido perclórico 1M.....	22
2.4.2- Cromatografía descendente en papel.....	23
2.4.3- Espectroscopía UV-VISIBLE.....	24
<b>2.5- IDENTIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE REACCIÓN .....</b>	<b>24</b>
2.5.1- HPLC de intercambio catiónico.....	24
2.5.2- Cromatografía en papel.....	25
2.5.3- Reconocimiento de aldehidos.....	25
2.5.4- Determinación de dióxido de carbono .....	26
<b>2.6- IDENTIFICACIÓN DE INTERMEDIARIOS DE REACCIÓN .....</b>	<b>27</b>
2.6.1- Ester crómico .....	27
2.6.2- Detección de Cr(V).....	28
2.6.2 a) Mediciones espectrofotométricas a 750nm.....	28
2.6.2 b) Mediciones de RPE.....	28
2.6.3- Detección de Cr(IV).....	29
2.6.4- Detección de radicales libres.....	29
<b><u>CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</u></b>	<b>31</b>
<b>3.1- ESTUDIOS CINÉTICOS .....</b>	<b>32</b>
3.1.1- Verificación del orden de reacción respecto al agente oxidante: Cr(VI).....	32
3.1.2- Mediciones cinéticas .....	33
<b>3.2- IDENTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN .....</b>	<b>40</b>
<b>3.3- IDENTIFICACIÓN DE INTERMEDIARIOS DE REACCIÓN .....</b>	<b>43</b>
3.3.1- Ester crómico .....	43
3.3.2- Intermediarios de Cr(IV).....	45
3.3.3- Radicales libres.....	45
3.3.4- Intermediarios de Cr(V) .....	46
<b>3.4- MECANISMO DE REACCIÓN.....</b>	<b>48</b>

<b>3.5- CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES INTERMEDIARIAS DE Cr(V) POR ESPECTROSCOPIA RPE.....</b>	<b>51</b>
<b><u>CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES.....</u></b>	<b>58</b>
<b><u>CAPÍTULO 5: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</u></b>	<b>61</b>

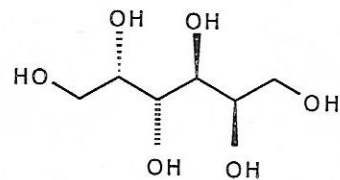
## Alditoles



**D-glucitol (1)**

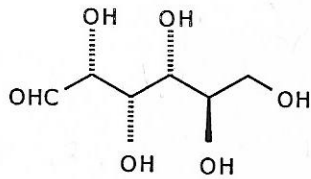


**D-manitol (2)**

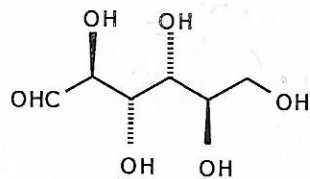


**D-galactitol (3)**

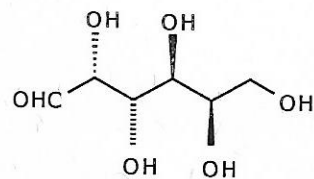
## Aldosa



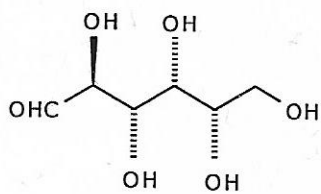
**D-glucosa (4)**



**D-manosa (5)**

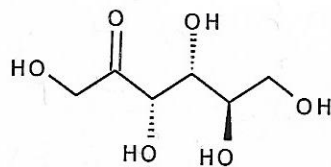


**D-galactosa (6)**



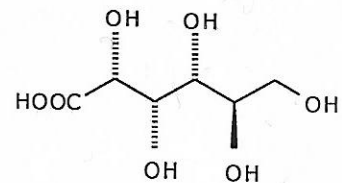
**L-gulosa (7)**

## Cetosa



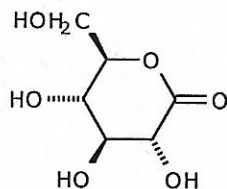
**D-fructosa (8)**

## Ácido Aldónico

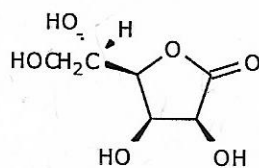


**Ácido D-glucónico (9)**

## Aldonolactonas

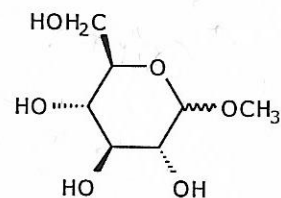


**D-glucono-1,5-lactona (10)**



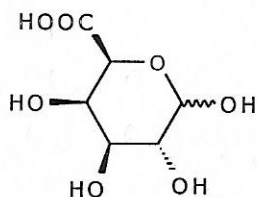
**L-gulono-1,4-lactona (11)**

## Metilglicósido

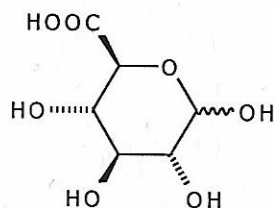


**Metil-D-glucopiranososa (12)**

## Ácido Urónico

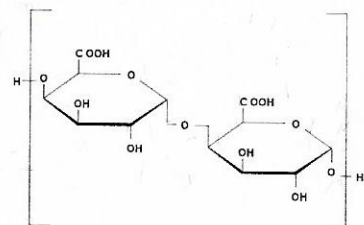


**Ácido D-galacturónico (13)**



**Ácido D-glucurónico (14)**

## Polisacárido



**Ácido D-poligalacturónico (15)**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b><u>Tabla 1:</u></b> Comprobación del cumplimiento de la Ley de Beer .....	<b>19</b>
<b><u>Tabla 2:</u></b> Desplazamiento químico de $^{13}\text{C}$ -RMN para el D-glucitol en $\text{HClO}_4$ 1M .....	<b>23</b>
<b><u>Tabla 3:</u></b> Polimerización de Acrilonitrilo en la mezcla de reacción D-glucitol-Cr(VI) en medio ácido .....	<b>30</b>
<b><u>Tabla 4:</u></b> Efecto de la $[\text{Cr(VI)}]$ en la oxidación de D-glucitol a 350nm .....	<b>33</b>
<b><u>Tabla 5:</u></b> Constantes de velocidad de pseudo primer orden observadas ( $k_6$ ) para distintas concentraciones de $\text{HClO}_4$ y D-glucitol. ...	<b>37</b>
<b><u>Tabla 6:</u></b> Valores de $k_s$ para distintas concentraciones de $\text{HClO}_4$ obtenidos de las gráficas de $k_6$ vs. $[\text{D-glucitol}]$ .....	<b>39</b>
<b><u>Tabla 7:</u></b> Tiempos de retención obtenidos en HPLC. ....	<b>41</b>
<b><u>Tabla 8:</u></b> Valores de $k_6$ y $k_5$ para distintas concentraciones de $\text{HClO}_4$ obtenidos a 750 nm.....	<b>47</b>
<b><u>Tabla 9:</u></b> Parámetros obtenidos de los espectros RPE.....	<b>53</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Circulación de Cromo en medio ambiente contaminado. ....	7
<b>Figura 2:</b> Toxicidad del Cr(VI) a nivel celular. ....	9
<b>Figura 3:</b> Curva de calibración de Cr(VI) .....	20
<b>Figura 4:</b> Verificación del orden de reacción en Cr(VI).....	32
<b>Figura 5:</b> ln(Abs) vs. tiempo para la oxidación crómica de D-glucitol.. .....	35
<b>Figura 6:</b> Curva de Absorbancia vs. tiempo para la oxidación de D- glucitol por acción del Cr(VI) a 570nm. ....	35
<b>Figura 7:</b> Efecto de la [D-glucitol] sobre $k_6$ .....	38
<b>Figura 8:</b> Efecto de la [HClO <sub>4</sub> ] sobre $k_s$ .....	39
<b>Figura 9:</b> Espectros diferenciales UV-Vis de soluciones de D-glucitol y Cr(VI) a pH=4,5.....	44
<b>Figura 10:</b> Curva de Absorbancia vs. tiempo para la oxidación crómica de D-glucitol.....	47
<b>Figura 11:</b> Espectro RPE experimental y simulado para relación D- glucitol /Cr(VI) 10:1, [Cr(VI)] = $2,5 \cdot 10^{-3}$ M, pH = 5 .....	54
<b>Figura 12:</b> Espectro RPE experimental y simulado para relación D- glucitol /Cr(VI) 20:1, [Cr(VI)] = $2,5 \cdot 10^{-3}$ M, pH =5.....	55
<b>Figura 13:</b> Espectro EPR experimental para relación D-glucitol /Cr(VI) 10:1, [Cr(VI)] = $2,5 \cdot 10^{-3}$ M, [H <sup>+</sup> ] = 0,1 M .....	57

**CAPITULO I**

**Introducción**

## **1.1- CROMO**

### **1.1.1- Aspectos Generales**

El cromo elemental no se encuentra en la naturaleza. La fuente natural mineral más importante es la cromita ( $\text{FeOCr}_2\text{O}_3$ ), una espinela con Cr(III) en huecos octaédricos y Fe(II) en huecos tetraédricos <sup>1</sup>.

El cromo es el sexto elemento más abundante en la corteza terrestre, decimoquinto en el agua de mar y en el cuerpo humano. En la corteza terrestre el rango de concentraciones es de 200 ppm y en el agua de 1 a 2.5 ppb <sup>2</sup>.

Los compuestos de cromo son utilizados principalmente en la industria química, metalúrgica, tratamiento de madera y curtiembres. En la industria metalúrgica se emplea para: platinado, producción de acero inoxidable y ferrocromo, inhibidores para la corrosión, fundición de hierro. En la industria química se emplea principalmente para pigmentos (verde, rojo, naranja, amarillo) <sup>3</sup>.

### **1.1.2- Aspectos Químicos**

#### **1.1.2 a) Cr(VI), $d^0$**

La configuración electrónica del estado fundamental del átomo de cromo es:



El Cr(VI), ion  $d^0$ , es uno de los estados de oxidación más estables del cromo. En solución acuosa, existe como oxoespecies, dependiendo de la concentración y del pH. Puede existir como dicromato,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ , especie predominante a pH menor que siete en concentraciones mayores a  $1 \cdot 10^{-2}\text{M}$ , como cromato ácido,  $\text{HCrO}_4^-$ , predominante a pH menor que seis, y en concentraciones menores a  $1 \cdot 10^{-2}\text{M}$ , y como cromato,  $\text{CrO}_4^{2-}$ , predominantemente a pH mayor que seis y bajas concentraciones y a pH mayor que siete a altas concentraciones <sup>4</sup>.

El cromato presenta estructura tetraédrica y el dicromato corresponde a dos tetraedros unidos por un átomo de oxígeno.

Las soluciones acuosas de los compuestos de cromo hexavalente presentan bandas de absorción en las regiones ultravioleta y visible del espectro. Las soluciones de cromato son de color amarillo; las soluciones de cromato de potasio presentan fuertes bandas de absorción en el rango de longitudes de onda 370-375 nm. Las soluciones de dicromato son de coloración naranja; el dicromato de potasio presenta máximos de absorción a 350 nm y a aproximadamente 450 nm. Las especies poliméricas de cromo hexavalente presentan soluciones de color rojo.

Los compuestos de Cr(VI) son agentes oxidantes poderosos, especialmente en medio ácido <sup>3</sup>. En condiciones fisiológicas (pH = 7.4), el Cr(VI) es un buen agente oxidante de sustratos biológicos <sup>5</sup>.

### **1.1.2 b) Cr(V), d<sup>1</sup>**

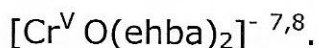
Los compuestos de cromo pentavalente son paramagnéticos debido a la presencia de un electrón desapareado en el nivel 3d, en consecuencia, los compuestos de Cr(V) pueden ser estudiados por espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (RPE).

Las especies de Cr(V) son altamente reactivas e inestables cinéticamente <sup>6</sup>. La mayoría de los complejos de cromo pentavalente que se han caracterizado contienen la unidad oxocromo(V), CrO<sup>3+</sup>, en una estructura pentacoordinada con forma de pirámide de base cuadrada <sup>6</sup>.

Dentro del conjunto de complejos de cromo pentavalente estables en solución acuosa, se destacan compuestos quelatos formados entre el Cr(V) y los  $\alpha$ -hidroxiácidos terciarios <sup>7, 8</sup>.

Dichos complejos se sintetizan sin dificultad y por ello son ideales para estudios mecanísticos, en los que se requiere analizar etapas de oxidación que involucren al agente oxidante Cr(V) <sup>7</sup>.

El quelato más comúnmente empleado y el más estable es el formado por el ligando 2-etil-2-hidroxobutirato (ehba) y el Cr(V):



### **1.1.2 c) Cr(IV), d<sup>2</sup>**

En 1990-1991, Ghosh y col. <sup>9, 10</sup> informaron sobre la preparación de complejos estables de Cr(IV) en solución, por tratamiento de  $\text{HCrO}_4^-$  con agentes reductores de dos electrones en medio acuoso regulado con ácido 2-etil-2-hidroxibutanoico y su base conjugada.

Si bien ya se conocía la importancia de Cr(IV) como intermediario de las reacciones de reducción de Cr(VI), fue detectado en el año 1991 por Espenson y col. <sup>11</sup>, quienes generaron Cr(IV) acuoso mezclando superoxocromo(III),  $\text{CrO}_2^{2+}$  (ac), o ( $\mu$ -peroxo)dicromo(III),  $\text{CrOOCr}^{4+}$  (ac), o Tl(III) (ac), con  $\text{Cr}^{2+}$  (ac) en medio perclórico y en presencia de oxígeno. El catión así preparado, exhibe un máximo de absorbancia a 260 nm ( $\epsilon = 5 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) y decae con una vida media de 30 segundos en  $\text{HClO}_4$  1 M a 25 °C.

### **1.1.2 d) Cr(III), d<sup>3</sup>**

Este ion existe en forma de complejos octaédricos hexacoordinados, cinéticamente inertes a la sustitución <sup>12</sup>. Los complejos resultantes pueden ser catiónicos, neutros o aniónicos. Los átomos de nitrógeno, oxígeno y azufre de los aminoácidos, proteínas y otros compuestos con actividad biológica, son potenciales donores de electrones para la formación de estos complejos. Algunos de estos complejos han podido ser sintetizados y caracterizados, pudiendo ser evaluadas las correspondientes actividades biológicas <sup>13, 14</sup>.

### **1.1.3-Aspectos biológicos del cromo**

El cromo en su estado trivalente es considerado un nutriente traza esencial para el metabolismo normal del colesterol, grasas y glucosa. La deficiencia de cromo en la dieta produce aumento de la concentración de la insulina circulante, hipercolesterolemia, aumento de grasa corporal, disminución del contenido de esperma, reducción de la fertilidad <sup>3</sup>.

El cromo (III) ingresa en el organismo mediante alimentos de origen vegetal y animal: azúcar negra, frutas, cereales, grasa animal, manteca, huevos de gallina, carne, pescados y en el agua potable de ingesta <sup>15</sup>.

El cromo hexavalente es un poderoso irritante de la mucosa nasal y de la piel <sup>3</sup>.

Generalmente, los desechos de compuestos químicos de carácter industrial contiene niveles potencialmente altos de Cr(VI). Las personas que trabajan o viven en la vecindad de estos sitios se encuentran expuestas al contaminante Cr(VI) que ingresa por múltiples rutas: oral, contacto dérmico e inhalación-ingestión <sup>16</sup>.

Por **vía oral** ingresa al estómago, cuya acidez reduce el Cr(VI) a Cr(III) previo a su absorción. Solo si el contenido de cromo excede la capacidad reductora del estómago, se absorbe por la mucosa gastrointestinal resultando tóxico para sangre, hígado y riñón.

Por **vía dermatológica**, el Cr(III) no presenta riesgo debido a su baja liposolubilidad a través de la piel. El Cr(VI), en muy bajas concentraciones, provoca dermatitis alérgica en individuos sensibles. En concentraciones mayores, puede producir efectos dérmicos por su naturaleza irritante.

Por **vía inhalatoria**, puede causar cáncer de pulmón o distintas lesiones bronco pulmonares o nasales debido a las propiedades corrosivas del Cr(VI).

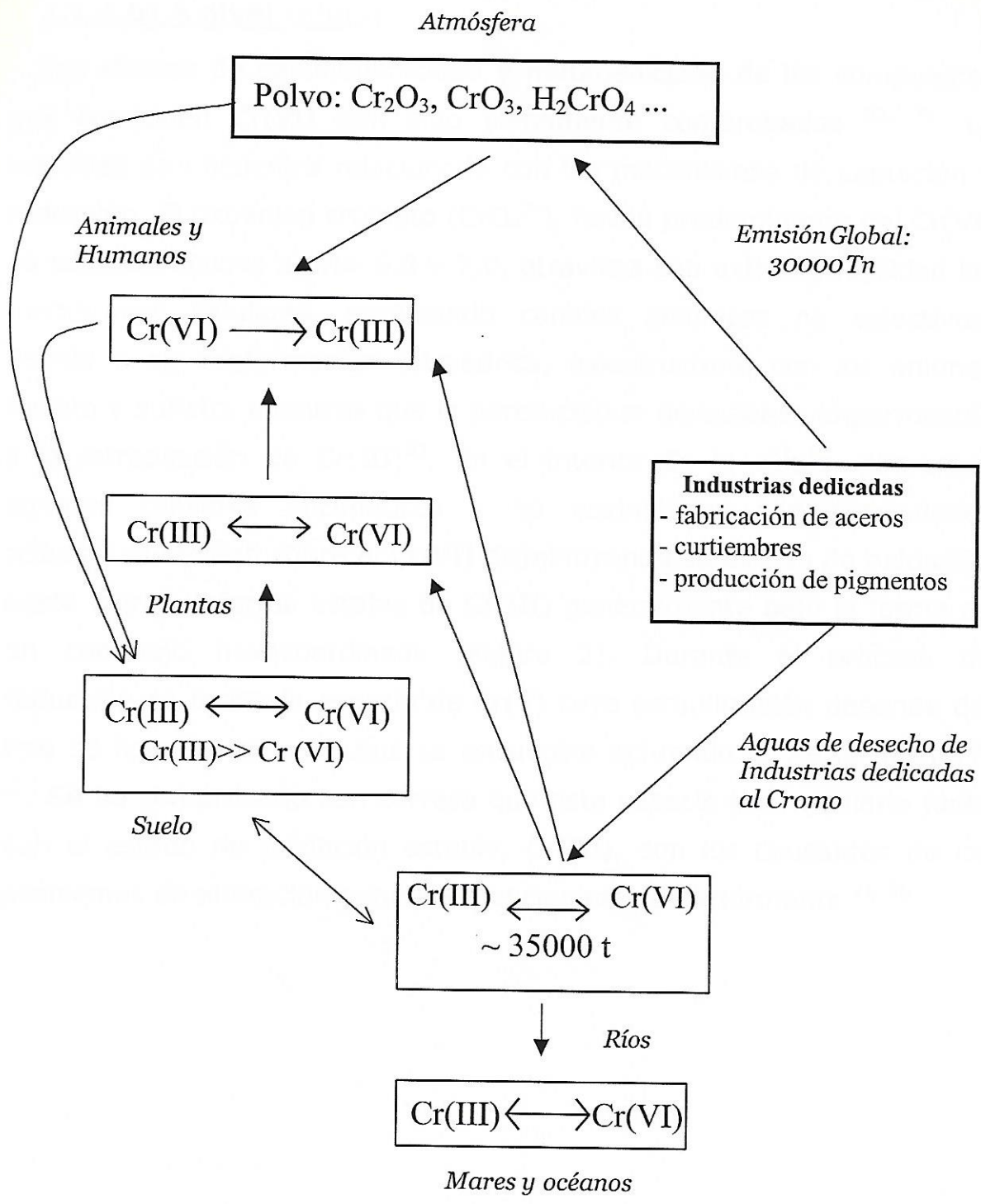
### **1.1.4- Contaminación con Cr(VI)**

#### **1.1.4 a) A nivel de suelos**

El cromo se encuentra en suelos como resultado de su uso en una gran variedad de industrias tales como: cromado, tratamiento de madera, curtiembre, pigmentos, etc. (Figura 1).

Las evidencias experimentales de la toxicidad del Cr(VI) en suelos quedaron probadas en estudios que demostraron que:

- Los ácidos fúlvicos y húmicos (componentes del suelo) reaccionan en agua con el Cr(VI) en un rango de 3 a 12 ppm., originando especies de Cr(V) que pueden detectarse por RPE durante 1 o 2 días<sup>17, 18</sup>.
- El Cr(V) es absorbido por las raíces de las plantas, en donde se reduce a Cr(III). En estudios realizados en plantas de ajo cultivadas en soluciones de distintas concentraciones de dicromato de potasio, por estudios de RPE sobre hoja, tallo y raíz se observó que el intermediario de Cr(V) se acumula y persiste durante varios días<sup>19</sup>.
- Se observó muerte de ganado vacuno en campos de pastoreo cercanos a un basural químico que contenía compuestos derivados del cromo en el orden de 127-138 ppm, observándose, también, presencia de Cr(VI) del orden de 1300 ppb en la leche de vaca (valor normal: inferior a 20 ppb). Cuando la concentración de cromo es anormalmente alta, el intermediario de Cr(V) no es totalmente reducido por la leche sino que queda estabilizado formando un complejo con la D-lactosa, a través de las funciones oxigenadas de la D-glucosa (4)<sup>20</sup>.



**Figura 1: Distribución de Cromo en medio ambiente contaminado.<sup>21</sup>**

#### **1.1.4 b) A nivel celular**

Los efectos de carcinogenicidad y mutagenicidad de los compuestos que contienen Cr(VI) han sido plenamente comprobados <sup>22, 23</sup>. La toxicidad se encuentra relacionada con los mecanismos de captación y reducción. El oxoanión cromato ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ), forma predominante del Cr(VI) en solución acuosa a pH= 6,0 - 7,0, atraviesa con extrema facilidad las membranas celulares, empleando canales aniónicos no selectivos, debido a su conformación tetraédrica, isoestructural con los aniones fosfato y sulfato, mientras que la pared celular permanece impermeable a la introducción de Cr(III)<sup>23</sup>. En el interior de la célula, diferentes agentes celulares enzimáticos y no enzimáticos con propiedades reductoras, actúan sobre el Cr(VI) disminuyendo su estado de oxidación hasta lograr la forma estable de Cr(III) generalmente bajo la forma de un complejo hexacoordinado (Figura 2). Durante el proceso de reducción se forma la especie de Cr(V) cuya estabilización depende del tipo de ligando reductor que se encuentra actuando sobre la misma<sup>24, 25</sup>. Se ha comprobado con certeza que esta especie intermediaria junto con el estado de oxidación estable, Cr(III), son los causantes de los problemas de alteración genética mencionados anteriormente <sup>21, 26</sup>



## **1.2- OBJETIVOS**

### **Objetivos Generales**

El grupo de investigación del Área Inorgánica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, ha desarrollado un profundo estudio de biomimetización, focalizando el estudio fisicoquímico de la interacción de los hidratos de carbono de importancia biológica con el cromo en su estado de oxidación hexavalente.

Los modelos de biomimetización empleados hasta el momento, han tenido por objeto poder adquirir información que permita interpretar el rol del ácido D-galacturónico (13), presente en las paredes celulares de las plantas bajo la forma polimérica (15) denominada pectina, en la incorporación y reducción del cromato en procesos de contaminación de carácter industrial (curtiembres, industrias dedicadas al cromado, etc.)

Se han completado los estudios de oxidación crómica de aldosas y ácidos aldónicos <sup>27-35</sup> obteniéndose resultados fisicoquímicos que facilitan la interpretación del estudio de la interacción entre el ácido D-galacturónico (13) y el Cr(VI).

Una de las teorías en boga, estima la hidrólisis parcial del polisacárido: pectina, aportando al suelo, unidades de ácido D-galacturónico (13) el cual complejaría el Cr(VI), facilitando su entrada a través del canal aniónico <sup>36</sup>. Sin embargo, es muy probable que un 90% del proceso de captación del ion cromato se produzca directamente a nivel del polisacárido presente en la pared celular. Por ello, se ha realizado el estudio de la oxidación crómica de metil-D-glicósidos, como modelo simple de repetición de la unidad de carbohidrato en el polisacárido, en el cual el grupo reductor hemiacetalico se encuentra bloqueado. Los resultados obtenidos demuestran que aún bajo estas condiciones, se produce un efecto reductor sobre el ion cromato, siendo el punto de ataque la función alcohol primario <sup>37</sup>.

Si bien los mecanismos de reacción propuestos por Sala y col. son específicos de cada sustrato, los mismos pueden generalizarse y dividirse en tres etapas:

- a) Primera etapa de formación del ester crómico
- b) Etapas lentas de transferencia electrónica intramolecular, determinantes de la velocidad.
- c) Reacciones rápidas, en las que participan especies altamente reactivas formadas en las etapas previas (Cr(V), Cr(IV), especies radicalarias) que dan los productos finales de oxidación y el Cr(III).

Por medidas de resonancia paramagnética electrónica, se ha detectado la presencia de Cr(V), en la oxidación crómica de metilglicósidos, con alto grado de estabilización <sup>37</sup>. Este resultado es muy interesante, ya que la presencia de distintos tipos de polisacáridos en el suelo<sup>17</sup> incidirían en la repercusión ecológica del proceso de contaminación por cromo, dado que producirían especies estables de Cr(V), que a su vez serían captadas por el polisacárido pectina, de la pared celular a nivel de la raíz de la planta.

### **Objetivos Específicos**

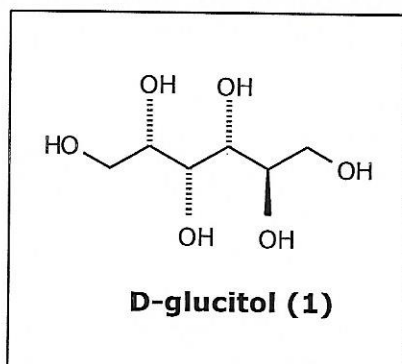
Dado la influencia de la función alcohol primario en el hidrato de carbono, se ha decidido estudiar la oxidación crómica de los polialcoholes, derivados de la reducción de la función aldehído de las aldosas, los que reciben el nombre común de alditoles.

Los alditoles constituyen un atractivo sistema biomimético, que permitirían determinar, debido a la presencia de la doble función alcohol primario en una misma molécula, la capacidad coordinante y estabilizante de la especie de Cr(VI) (ester crómico) y la de Cr(V) generada en el proceso de reducción.

Se estudiará específicamente:

- la cinética y el mecanismo de la oxidación de D-glucitol por acción de Cr(VI) en medio ácido.
- se identificará y caracterizará las especies intermediarias y los productos de la reacción de oxidación.

### 1.3- D-GLUCITOL



Los alditoles constituyen un grupo de compuestos estrechamente relacionados con los hidratos de carbono y ampliamente distribuidos en microorganismos, hongos, animales y plantas <sup>38</sup>.

Los alditoles más ampliamente distribuidos en la naturaleza son el D-glucitol (1) (sorbitol), D-manitol (2) y galactitol (3) (dulcitol), que corresponden a los productos de reducción de la D-glucosa (4), D-manosa (5) y D-galactosa (6) respectivamente <sup>39</sup>.

El D-glucitol (1) ha sido aislado de numerosas plantas desde algas hasta las de órdenes superiores, fue extraído por primera vez de las bayas de fresno (*Sorbus aucuparia*); el alga roja (*Bostrychia scorpoides*), por ejemplo, contiene casi un 14% de D-glucitol (1) <sup>40</sup>.

Se obtiene D-glucitol (1) a escala industrial por hidrogenación de glucosa (4). La reducción electrolítica de la glucosa (4) en medio

alcalino produce una mezcla de manitol (2) y glucitol (1), debido al efecto epimerizante del álcali sobre la glucosa <sup>39, 40</sup>.

La producción de D-glucitol (1) se utiliza en síntesis de vitamina C, agentes tensoactivos, alimentos, cosméticos, productos farmacéuticos y usos industriales misceláneos <sup>39-40</sup>.

El D-glucitol (1) es muy soluble en agua y da soluciones dulces, espesas, y viscosas. Se deshidrata fácilmente dando derivados del tetrahidropirano y del tetrahydrofurano <sup>39</sup>.

El D-glucitol (1) es un metabolito normal en mamíferos, específicamente como precursor de D-fructosa (8) <sup>40</sup>.



**CAPITULO II**



**Parte  
Experimental**

## **2.1- INSTRUMENTAL**

### **Pesada de reactivos**

Balanza Mettler Mod. H6, Cap. Máx 160 g, 0,001g/div

### **Polarimetría**

Polarímetro aus Jena, con celda de 2,00 dm de paso con cubeta termostatzada por circulación externa de agua.

### **RMN**

Espectrómetro Bruker AC-200E (IQUIOS, FCBYF, UNR)

### **Espectroscopía**

1- Wayers UV-VIS 6000, doble haz, cubeta con camisa termostatzada por circulación externa de agua

2- Espectrofotómetro UV/VIS Jasco V-530, compartimiento para cubetas termostatzado por circulación externa de agua.

### **Procesamiento de datos**

Computadoras PC IBM compatible, AT586

Programas: -Microcal Origin, versiones 3.5 y 6.0

-Sigma Plot 5.01

-WinSIM EPR Calculations for Windows Version 0.96

### **HPLC**

Cromatógrafo KNK - 500 A provisto con bomba 7125 HPLC

Columna Aminex HPX - 87 H (300 x 7,8 mm Bio Rad Laboratories)

Detector de Índice de refracción ERC - 7522, ERMA INC.

## **RPE**

Spectrofotómetro Bruker ESP300E (Scottish Croop Research Institute, Invergowrie, Dundee Scotland DD25DA)

Frecuencias de Microondas generadas con Bruker 04 ER (9-10 GHz)

Medidor de frecuencia Recal-Dana

Campo magnético medido con Gaussímetro Bruker NMR-probe

## **2.2- MATERIALES**

Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica.

### **Reactivos inorgánicos**

$K_2Cr_2O_7$  (Cicarelli c.a.)

$HClO_4$  70%  $\delta = 1,66 \text{ g/cm}^3$  (Merck)

NaOH (Merck)

$H_2SO_4$  (Merck)

$Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$  (BDH)

$Na_2CO_3$  (Sigma Chemical Co.)

$NaHCO_3$  (Sigma Chemical Co.)

Agua bidestilada sobre  $KMnO_4$

Los patrones primarios sólidos ( $K_2Cr_2O_7$  y  $Na_2CO_3$ ) fueron secados durante una hora a  $110^\circ C$  y se enfriaron en desecador a temperatura ambiente <sup>41</sup>.

### **Reactivos orgánicos**

D-glucitol (1) (Sigma Chemical Co.)

D-glucosa (4) (Merck)

Acrilonitrilo 99%  $\delta = 0,8069 \text{ g/cm}^3$  (Aldrich)

Biftalato de potasio (Sigma Chemical Co.)

D-glucono-1,5-lactona (10) (Sigma Chemical Co.)

L-gulono-1,4-lactona (11) (Sigma Chemical Co.)

Ácido D-glucurónico (14) (Sigma Chemical Co.)

## **Solventes**

n-butanol (Merck)

Etanol (Merck)

Ácido acético (Merck)

Acetonitrilo (Merck)

Isopropanol (Merck)

Acetato de etilo (Merck)

## **2.3- TÉCNICAS GENERALES**

### **2.3.1- Preparación de soluciones**

Las soluciones stock de ácido perclórico se prepararon a partir de una solución de  $\text{HClO}_4$  70% P/P  $\delta=1,67$  g/ml. Para obtener 500 ml de solución de  $\text{HClO}_4$  2 M se midieron 86,0 ml de solución concentrada diluyendo con agua destilada en matraz aforado. En los casos en que fue necesario se ajustó la fuerza iónica con  $\text{NaClO}_4$ . Las soluciones preparadas de  $\text{HClO}_4$  se valoraron con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  usando como indicador naranja de metilo <sup>41</sup>.

Las soluciones de  $\text{NaClO}_4$  se prepararon a partir de soluciones de  $\text{NaOH}$  y de  $\text{HClO}_4$ . Para preparar 500 ml de  $\text{NaClO}_4$  2 M se midieron 250 ml de  $\text{HClO}_4$  4 M y se agregó  $\text{NaOH}$  6 M hasta  $\text{pH}=7$ , por último se llevó a volumen con agua destilada en matraz aforado.

Las soluciones stock de los sustratos orgánicos se prepararon por pesada directa de los mismos, momentos previos a la realización de las experiencias, empleando agua como solvente.

Las soluciones stock de agente oxidante se prepararon a partir de una solución madre de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en solución acuosa. Para preparar 50 ml de solución madre de  $\text{Cr(VI)}$  0,1 M se disolvieron 0,7355 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en cantidad suficiente de agua, llevando a volumen en matraz aforado.

### **2.3.2- Cromatografía en papel**

Se utilizó la técnica de cromatografía descendente<sup>42</sup> en papel Whatman nº 1.

Los solventes de desarrollo empleados fueron: n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5 capa superior)<sup>42</sup>; n-butanol-etanol-agua (5:1:4 capa superior)<sup>42</sup>; acetonitrilo-acetato de etilo-isopropanol-agua (85:20:20:15)<sup>43</sup>.

Para la preparación de los testigos empleados en las corridas cromatográficas, se disolvieron 10 mg de sustrato orgánico por ml de agua o de ácido perclórico cuando correspondía.

Los reactivos de revelado fueron los siguientes:

**Nitrato de plata-hidróxido de sodio**, según técnica de Trevelyan y col<sup>44</sup>.

A 0,1 ml de solución saturada de  $\text{AgNO}_3$  se le añadieron 20 ml de acetona. El precipitado obtenido se disolvió por agregado de agua. Se sumergieron los cromatogramas en esta solución y se secaron a temperatura ambiente. Luego se pulverizaron con una solución de  $\text{NaOH}$  0,5 M en etanol al 50 %, fijándose las manchas por pulverización con solución acuosa de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  5% P/V.

Los azúcares y los polialcoholes revelan como manchas de color marrón oscuro.

**Clorhidrato de p-anisidina**, según técnica de Hough y col<sup>45</sup>.

Se pulverizaron los cromatogramas con una solución de clorhidrato de p-anisidina 3% P/V en n-butanol-etanol-agua (4:1:1) con trazas de cloruro estanoso. Se secaron a temperatura ambiente y para su revelado se colocaron en estufa a 120 °C durante 10 minutos.

Las aldohexosas revelan de color marrón y ácidos urónicos marrón rojizo.

**Biftalato de anilina**, según técnica de Wilson <sup>46</sup>.

Se disolvieron 1,66 g de ácido ftálico y 0,91 g de anilina, destilada a presión reducida, en una mezcla formada por 48 ml de éter etílico, 48 ml de n-butanol y 4 ml de agua. Los cromatogramas se sumergieron en el reactivo, se secaron a temperatura ambiente y se revelaron calentando en estufa a 105 °C por 10 minutos. Las aldohexosas revelan de color marrón.

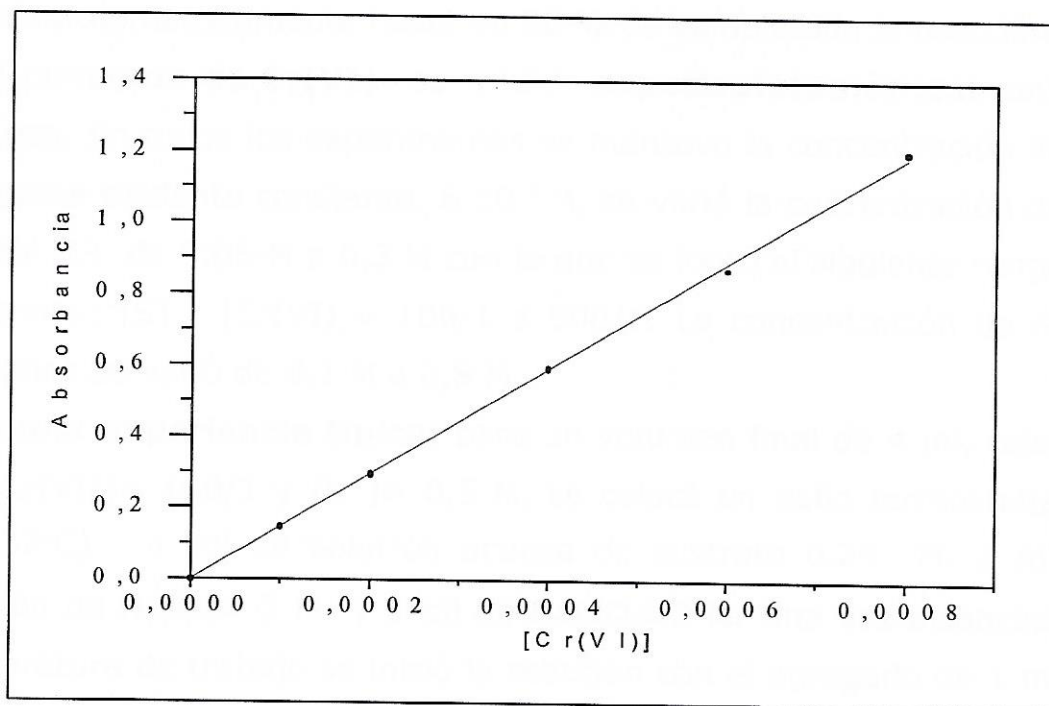
### **2.3.3- Mediciones cinéticas**

La longitud de onda de trabajo se seleccionó barriendo los espectros correspondientes a las soluciones del agente oxidante, del agente reductor y a la mezcla una vez finalizada la reacción. Se tuvo en cuenta que se cumpliera la Ley de Beer en todo el rango de condiciones de trabajo para el agente oxidante.

A modo de ejemplo se presenta la curva de calibración a  $[\text{HClO}_4]=0,5 \text{ M}$ ,  $I=1,0 \text{ M}$  (Tabla 1, Figura 3). Se preparó una solución madre de Cr(VI) 0,001 M en  $\text{HClO}_4$  0,5 M (0,0147 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  +  $\text{HClO}_4$  0,5 M csp. 100 ml). Se tomó con pipeta calibrada un volumen determinado de solución madre y se lo llevó en matraz aforado a un volumen final de 5 ml con  $\text{HClO}_4$  0,5 M.

Nº tubo	ml sol. Madre	$[\text{Cr(VI)}]_{\text{final}}$ ( $10^{-4}\text{M}$ )	Absorbancia original	Absorbancia duplicado
1	0	0	0	0
2	0,5	1,0	0,149	0,147
3	1,0	2,0	0,297	0,292
4	2,0	4,0	0,590	0,596
5	3,0	6,0	0,869	0,868
6	4,0	8,0	1,198	1,202

**Tabla 1: Comprobación del cumplimiento de la Ley de Beer**



**Figura 3: Curva de calibración de Cr(VI)**

**[HClO<sub>4</sub>]=0,5M, I=1,0M,  $\lambda$ =350nm,  $\epsilon_{\text{calc}} = (1480,7 \pm 0,8) \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$**

Las mediciones espectrofotométricas se realizaron registrando las variaciones en el tiempo de la absorbancia del agente oxidante a 350, 570 y 750 nm, en condiciones de aislamiento, (exceso de sustrato orgánico).

Las soluciones de los reactivos fueron termostatazadas, iniciándose las reacciones por el agregado de solución acuosa del agente oxidante a la solución de D-glucitol (1) con cantidades de perclorato de sodio y ácido perclórico de manera tal que se mantuviera la fuerza iónica (I) constante a valor 1,0 M, lográndose a su vez las condiciones de acidez requeridas.

Las mezclas de reacción fueron transferidas, inmediatamente después de mezclar los reactivos, previamente termostatazados, a celdas de

cuarzo de 1 cm de paso de luz. Las reacciones fueron seguidas espectrofotométricamente hasta un 80 % de completada la reacción.

**El consumo de Cr(VI) se midió espectrofotométricamente a 350 nm.** En todos los experimentos se mantuvo la concentración inicial de agente oxidante constante,  $6 \cdot 10^{-4}$  M, se varió la concentración de D-glucitol (1) de 0,06 M a 0,3 M con lo que se logró el siguiente rango de relaciones:  $[S] / [Cr(VI)] = 100/1$  a  $500/1$ . La concentración de ácido perclórico se varió de 0,1 M a 0,8 M.

**En una experiencia típica:** para un volumen final de 4 ml, relación  $[S]/[Cr(VI)] = 100/1$  y  $[H^+] = 0,5$  M, se colocó en baño termostatzado ( $T = 33^\circ C$ ) 1 ml de solución acuosa de sustrato 0,24 M, 1 ml de solución de  $HClO_4 = 2$  M y 1 ml de  $NaClO_4 = 2$  M. Una vez alcanzada la temperatura de trabajo se inició la reacción con el agregado de 1 ml de solución acuosa de Cr(VI) 0,0024 M previamente termostatzada. La mezcla de reacción se transfirió inmediatamente a una celda espectrofotométrica de 1 cm de paso de luz luego de mezclar.

Debido a la dilución realizada, las condiciones iniciales de trabajo fueron:

$$[S] / [Cr(VI)] = 100/1$$

$$[Cr(VI)] = 6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$$

$$[S] = 0,06 \text{ M}$$

$$[H^+] = 0,5 \text{ M}$$

$$I = 1 \text{ M}$$

$$T = 33^\circ C$$

$$\lambda = 350 \text{ nm}$$

Se realizaron múltiples determinaciones de los experimentos, los cuales no presentaron variaciones mayores al 5 %. La constante de velocidad observada ( $k_6$ ) se determinó a partir de la pendiente de la parte lineal de la curva  $\ln(\text{Abs}^{350})$  vs. tiempo.

**La formación de Cr(III) fue monitoreada a 570 nm.** Las reacciones se realizaron con concentraciones de Cr(VI) constante e igual a  $6 \cdot 10^{-3}$  M con exceso de D-glucitol (1) (0,3 M) y variando la concentración de  $\text{HClO}_4$  en el rango 0,1-0,5 M.

Para el procesamiento de los datos se obtuvieron las velocidades iniciales de reacción ajustando las curvas Abs. vs. tiempo con una expresión polinomial <sup>47</sup> y calculando la pendiente de la tangente a tiempo cero ( $v_i$ ). Las constantes de velocidad de primer orden fueron obtenidas a partir de la ecuación:  $k = -v_i / (A_0 - A_\infty)$ , siendo  $A_0$  = absorbancia inicial y  $A_\infty$  = absorbancia a tiempo infinito.

## **2.4- ESTABILIDAD DEL D-GLUCITOL**

Se controló la estabilidad del D-glucitol (1) en las condiciones de acidez y temperatura de trabajo realizando mediciones de:

- $^{13}\text{C}$ -RMN de D-glucitol (1) en medio ácido
- Cromatografía descendente en papel
- Espectroscopía uv-visible

### **2.4.1- $^{13}\text{C}$ -RMN de D-glucitol en ácido perclórico 1M**

Al realizar la experiencia en dichas condiciones se comprueba que los valores de desplazamientos químicos obtenidos se corresponden con los datos de literatura <sup>48</sup>, por lo tanto no se producen modificaciones estructurales en las condiciones de trabajo.

ASIGNACIÓN	SEÑALES HClO <sub>4</sub> 1M (ppm)	DATOS LITERATURA (ppm)
C1	63,73	63,8
C2	74,18	74,3
C3	70,90	71,0
C4	72,41	72,6
C5	72,29	72,5
C6	64,09	64,2

**Tabla 2: Desplazamiento químico de <sup>13</sup>C-RMN para el D-glucitol en HClO<sub>4</sub> 1M, T= 25°C.**

#### **2.4.2- Cromatografía descendente en papel**

Se trabajó sembrando las muestras de D-glucitol (1) a distintos tiempos de disolución en el solvente de trabajo (5 min, 1 h, 3 hs, 24 hs) y variando la concentración de HClO<sub>4</sub> (0,2 M, 0,5 M, 1 M).

También se sembraron muestras de D-glucitol (1) en HClO<sub>4</sub> 1 M variando la temperatura (30 °C, 40 °C, 50 °C).

En todos los casos se observó la aparición de una única mancha característica de D-glucitol (1).

Solvente de desarrollo: n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5)

Tiempo de desarrollo: 32 hs.

Reactivos de revelado: -Nitrato de plata-hidróxido de sodio  
-Clorhidrato de p-anisidina

### **2.4.3- Espectroscopía UV-VISIBLE**

Se realizaron barridos de espectros de D-glucitol (1) a distintos tiempos (2 min, 2 hs, 24 hs) de disolución en el solvente de trabajo ( $H_2O$ ,  $HClO_4 = 0,1 M$  y  $1 M$ ). No se observaron diferencias en los espectros para las distintas condiciones de trabajo.

### **2.5- IDENTIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE REACCIÓN**

Con el objeto de determinar los productos de la reacción se utilizaron los siguientes métodos:

- Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)
- Cromatografía descendente en papel
- Reconocimiento de aldehídos mediante 2,4-dinitrofenilhidracina (2,4-DNFH)

#### **2.5.1- HPLC de intercambio catiónico**

Esta técnica fue empleada para detectar los productos de reacción bajo las condiciones empleadas en las mediciones cinéticas (exceso de D-glucitol (1) sobre Cr(VI)).

Las condiciones de trabajo fueron:

Columna: Aminex HPX-87H

Temperatura de trabajo:  $35\text{ }^{\circ}C$

Flujo:  $0,6\text{ ml/mín}$

Detección: Índice de refracción ERC-7522, ERMA INC

Método: isocrático de flujo constante

Para resolver el sistema se analizó una mezcla de reacción de acumulación de producto, para ello se realizaron 32 agregados sucesivos de  $20\text{ }\mu\text{l}$  de una solución de Cr(VI)  $0,32\text{ M}$ , de manera que la concentración del ion metálico fuera  $8\text{ }10^{-4}\text{ M}$ . El agregado de cada alícuota fue realizado una vez que se comprobó la reducción del Cr(VI) agregado anteriormente.

Las condiciones finales fueron:

$$[\text{Cr(VI)}] = 8 \cdot 10^{-4} \text{ M}$$

$$[\text{D-glucitol}] = 0,04 \text{ M}$$

$$[\text{HClO}_4] = 0,5 \text{ M}$$

La mezcla de reacción se llevó a pH= 3 con NaOH y se filtró a través de un filtro de 0,2  $\mu\text{m}$ .

### **2.5.2- Cromatografía en papel**

Las muestras sembradas fueron:

- D-glucono-1,5-lactona (10)
- D-glucosa (4)
- D-glucitol (1)
- L-gulono-1,4-lactona (11)
- Ácido D-glucurónico (14)
- Mezclas de reacción

Los solventes empleados fueron:

- n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5)
- n-butanol-etanol-agua (5:1:4)
- Acetonitrilo- acetato de etilo-isopropanol-agua (85:20:20:15)

Los reveladores utilizados fueron:

- Nitrato de plata en medio alcalino
- Biftalato de anilina
- p-anisidina

### **2.5.3- Reconocimiento de aldehídos** <sup>49</sup>

Reactivo: 2,4 DNFH 0.1% en HCl 2 N

Mezcla de reacción: [S] = 0,22 M

$$[\text{Cr(VI)}] = 0,073 \text{ M}$$

$$[\text{HClO}_4] = 0,25 \text{ M}$$

Relación [S]/[Cr(VI)] = 3:1

A una alícuota de 3 ml de mezcla de reacción termostatzada a 25 °C durante 10 minutos se agrega 1 ml del reactivo, se mezcla; luego de 5 minutos se agregan 8 ml de acetato de etilo pasando una corriente de N<sub>2</sub> durante 2 minutos. Se remueve la capa acuosa.

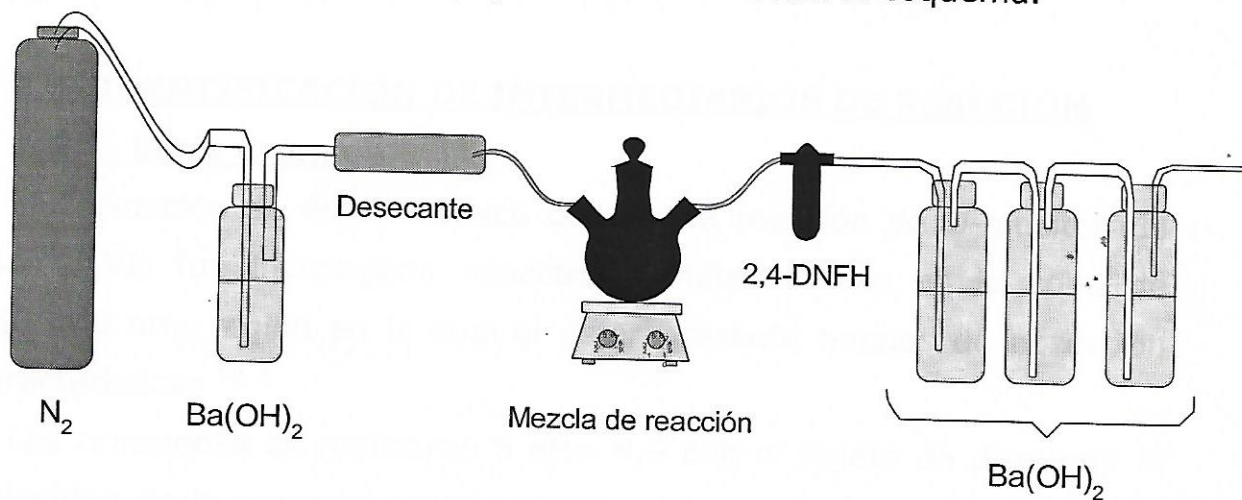
A la capa orgánica se agregan 6 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 4% P/V y se airea rápidamente durante 2 minutos. Se separan las dos fases. A 5 ml de la fase acuosa se adicionan 5 ml de NaOH 6 % P/V. Se barren espectros durante 5-10 minutos luego del agregado de la base. La presencia de máximos a aproximadamente 420-520 nm indican la presencia de hidrazona.

#### **2.5.4- Determinación de dióxido de carbono**

Con el objeto de determinar si se rompen enlaces C-C en la reacción de D-glucitol (1) con Cr(VI) se preparó una mezcla de reacción en relación:

$$[S] / [Cr(VI)] = 10/1; [HClO_4] = 0,5 M$$

Se trabajó a 40 °C. Para cuantificar la cantidad de dióxido de carbono desprendido se empleó un equipo tal como muestra el esquema.



Durante la reacción se burbujeó N<sub>2</sub> para arrastrar los productos gaseosos. El N<sub>2</sub> se pasó primero por una solución de Ba(OH)<sub>2</sub> para retener el CO<sub>2</sub> que pudiera contener el gas de arrastre, luego se pasó

por desecante (silicagel) y por último por la mezcla de reacción. Para retener aldehídos y cetonas volátiles se burbujeó el gas de arrastre en una solución ácida de 2,4-DNFH y por último por tres frascos lavadores que contenían  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  para retener el  $\text{CO}_2$  formado como producto de la reacción.

La reacción se dio por terminada luego de una hora cuando se observó la desaparición de la coloración amarilla del agente oxidante.

Se comprobó que no se produjeron aldehídos y cetonas volátiles.

Para cuantificar la cantidad de  $\text{CO}_2$  formada, se valoraron las soluciones de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  con biftalato de potasio y fenolftaleína como indicador.

Se resume la técnica empleada:

A una solución preparada a partir de  $2 \cdot 10^{-3}$  moles (0,3643 g) de D-glucitol (1) disuelto en 30 ml de  $\text{HClO}_4$  0,5 M se le añadió una solución de Cr(VI) ( $2 \cdot 10^{-4}$  moles, 0,0294 g) disuelto en 20 ml  $\text{HClO}_4$  0,5 M, manteniendo el sistema a  $33^\circ\text{C}$ , burbujeando  $\text{N}_2$  y recibiendo la corriente gaseosa en solución de  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  0,2021 N.

El experimento se realizó por triplicado.

## **2.6- IDENTIFICACIÓN DE INTERMEDIARIOS DE REACCIÓN**

### **2.6.1- Ester crómico**

La formación de éster crómico durante la reacción de D-glucitol (1) con Cr(VI) fue investigada espectrofotométricamente en la zona de 350-400 nm, región en la cual el éster presenta bandas de absorción características<sup>50, 6</sup>

Las reacciones se realizaron a  $\text{pH} = 4,5$  con el objeto de disminuir la velocidad de la reacción redox y poder observar la formación del éster crómico.

Para realizar las experiencias el espectrofotómetro fue llevado a cero colocando en la cubeta de referencia y en la cubeta de la muestra una solución acuosa de Cr(VI)  $6 \cdot 10^{-4}$  M a  $\text{pH} = 4,5$ . La solución en la celda

de la muestra fue reemplazada por la mezcla de reacción conteniendo Cr(VI)  $6 \cdot 10^{-4}$  M y D-glucitol (1) 0,12 – 0,30 M a pH= 4,5, I= 1,0 M y T= 33 °C.

### **2.6.2- Detección de Cr(V)**

#### **2.6.2 a) Mediciones espectrofotométricas a 750nm**

La determinación espectrofotométrica de Cr(V) se realizó midiendo en función del tiempo la variación de la absorbancia a 750 nm, sabiendo que a esta longitud de onda sólo absorbe el Cr(V) <sup>51</sup>.

Debido a que los complejos de Cr(V) presentan un valor bajo de coeficiente de extinción molar a 750 nm, las medidas espectrofotométricas se realizaron utilizando soluciones de reactivos más concentradas que las empleadas en las mediciones a 350 nm, para obtener valores de absorbancia significativos.

Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

$$[S] / [Cr(VI)] = 50/1$$

$$[Cr(VI)] = 0,018 \text{ M}$$

$$[S] = 0,9 \text{ M}$$

$$[H^+] = 0,1 \text{ M}; 0,2 \text{ M}; 0,3 \text{ M}; 0,4 \text{ M}; 0,5 \text{ M}; 0,6 \text{ M}; 0,7 \text{ M}; 0,8 \text{ M}$$

$$I = 1 \text{ M}$$

$$T^{\circ} = 33 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

$$\lambda = 750 \text{ nm}$$

#### **2.6.2 b) Mediciones de RPE**

Dado que la configuración electrónica del Cr(V) es  $[Ar]3d^1$ , el electrón desapareado confiere propiedades paramagnéticas al cromo pentavalente. En consecuencia, los complejos intermediarios de Cr(V) pueden ser detectados por espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica (RPE) <sup>52</sup>

Se registraron los espectros RPE de diversas mezclas de reacción utilizando las siguientes condiciones de trabajo:

$$[\text{Cr(VI)}] = 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

Frecuencia = 9,7815 GHz

$[\text{S}]/[\text{Cr(VI)}] = 10:1$  pH = 5 modulación de amplitud = 0,4 G

$[\text{S}]/[\text{Cr(VI)}] = 20:1$  pH = 5 modulación de amplitud = 0,4 G

$[\text{S}]/[\text{Cr(VI)}] = 10:1$   $[\text{H}^+] = 0,1 \text{ M}$  modulación de amplitud = 0,4 G

T = 25 °C

Celda plana.

### **2.6.3- Detección de Cr(IV)**

La formación de Cr(II) como un intermediario en la reducción de Cr(VI) por alcoholes y otros reductores en medio ácido perclórico ha sido explicada por la transferencia de un ion hidruro desde el agente reductor al intermediario de Cr(IV)<sup>53</sup>. El Cr(II) en presencia de oxígeno se convierte rápidamente en  $\text{CrO}_2^{2+}$ , especie que presenta máximos de absorción característicos a 290 y 245 nm<sup>11</sup>.

La formación de  $\text{CrO}_2^{2+}$  durante la oxidación del D-glucitol (1) por Cr(VI) sería evidencia de que el Cr(IV) es un intermediario de la reacción.

Se realizaron barridos de espectros en la región de 200-600 nm cada 2 min; utilizando una mezcla de reacción de Cr(VI) 0,016 mM y D-glucitol (1) 0,2 M en  $\text{HClO}_4 = 0,5 \text{ M}$ , I = 1 M, T = 33 °C

A cada espectro realizado se restó el barrido de espectro de D-glucitol (1) en las mismas condiciones de trabajo.

### **2.6.4- Detección de radicales libres**

La presencia de radicales libres se detectó mediante la polimerización de acrilonitrilo, atrapador de radicales libres.

A 1 ml de sustrato  $2 \cdot 10^{-2}$  M en  $\text{HClO}_4$  0,5 M, se le añadió 1 ml de solución de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$   $2 \cdot 10^{-3}$  M en  $\text{HClO}_4$  0,5 M (mezcla de reacción:  $[\text{S}] / [\text{Cr(VI)}] = 10/1$ ) y 0,5 ml de acrilonitrilo 1,5 M.  $T = 33^\circ\text{C}$


Se llevaron a cabo al mismo tiempo los blancos de todos los reactivos involucrados en la reacción. Como testigo positivo se utilizó la reacción de D- glucono-1,5-lactona ( $10$ )  $2 \cdot 10^{-2}$  M con  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$   $2 \cdot 10^{-3}$  M en medio perclórico <sup>29</sup>. (Tabla 3)

	Sustrato	Cr(VI)	acrilonitrilo	Resultado
D-glucitol (1) ( $2 \cdot 10^{-2}$ M)	1 ml	1 ml	0,5 ml	(+)
Blanco D-glucitol	1 ml	-	0,5 ml	(-)
D-glucono-1,5-lactona ( $2 \cdot 10^{-2}$ M)	1 ml	1 ml	0,5 ml	(+)
Blanco D-glucono-1,5- lactona	1 ml	-	0,5 ml	(-)
Blanco de Cr(VI)	-	1 ml	0,5 ml	(-)

**Tabla 3: Polimerización de Acrilonitrilo en la mezcla de reacción D-glucitol-Cr(VI) en medio ácido**



**CAPITULO III**



**Resultados  
y Discusión**

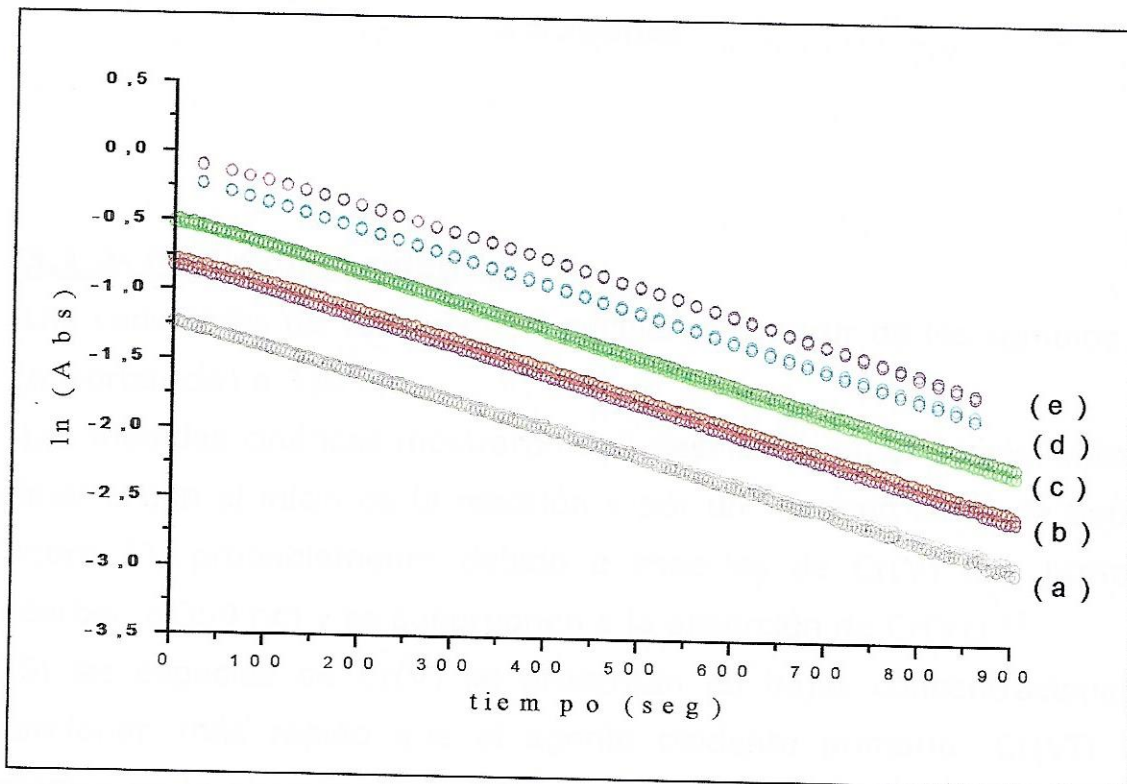


### 3.1- ESTUDIOS CINÉTICOS

#### 3.1.1- Verificación del orden de reacción respecto al agente oxidante: Cr(VI)

Con el fin de comprobar el decaimiento de primer orden respecto a concentraciones variables de Cr(VI), se determinaron los valores de la constante cinética,  $k_6$ , en condiciones de acidez, fuerza iónica y concentración de D-glucitol (1) constantes, variándose la concentración de Cr(VI) en el rango de  $2 \cdot 10^{-4}$  M a  $7 \cdot 10^{-4}$  M.

Los valores de  $k_6$  obtenidos para las distintas concentraciones de Cr(VI) (Tabla 4, Figura 4), resultaron independientes de la concentración inicial de Cr(VI) utilizada.



**Figura 4: Verificación del orden de reacción en Cr(VI).**  
[Cr(VI)]: (a)  $2 \cdot 10^{-4}$  M, (b)  $3 \cdot 10^{-4}$  M, (c)  $4 \cdot 10^{-4}$  M, (d)  $6 \cdot 10^{-4}$  M,  
(e)  $7 \cdot 10^{-4}$  M, [D-glucitol] =  $6 \cdot 10^{-2}$  M,  $[H^+] = 0,5$  M,  $I = 1$  M,  $T = 33^\circ C$ ,  $\lambda = 350$  nm

$10^4$ [Cr(VI)](M)	$10^4 k_6$ (s <sup>-1</sup> )	
	Original	Duplicado
2	19,1	19,2
3	19,3	19,1
4	18,9	19,2
6	19,1	19,0
7	18,8	19,1

**Tabla 4: Efecto de la [Cr(VI)] en la oxidación de D-glucitol**  
**[D-glucitol]=  $6 \cdot 10^{-2}$  M, [H<sup>+</sup>]= 0,5 M, I= 1 M, T= 33°C,**  
 **$\lambda = 350\text{nm}$**

### **3.1.2- Mediciones cinéticas**

Las constantes de velocidad se calcularon a partir de los cambios del ln(absorbancia) a 350 nm.

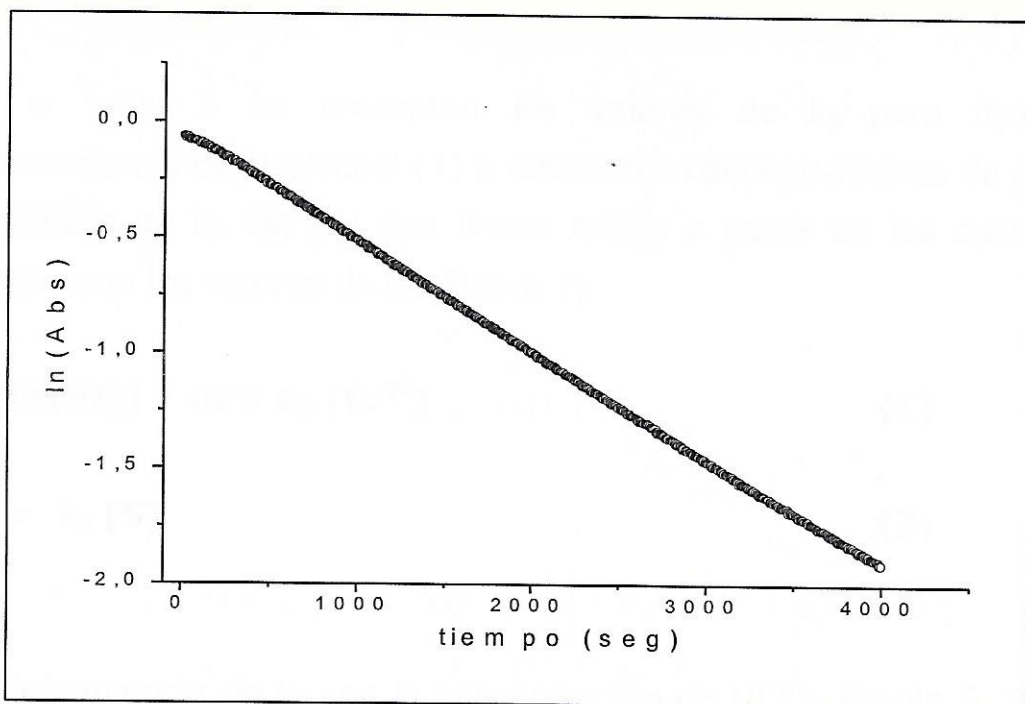
Las medidas cinéticas mostraron una desviación en el decaimiento de primer orden al inicio de la reacción y por un periodo corto de tiempo (Figura 5), probablemente debido a especies de Cr(V) que también absorben a 350 nm y se superponen a la absorción de Cr(VI) <sup>54</sup>.

Si las especies de Cr(V) se presentan en bajas concentraciones y reaccionan más rápido que el agente oxidante primario: Cr(VI), los cambios en la absorbancia a 350 nm reflejarán esencialmente cambios en la concentración de Cr(VI), excepto para el breve periodo inicial. En estas circunstancias las constantes de velocidad de pseudo primer orden ( $k_6$ ) pueden obtenerse a partir de la pendiente de la parte lineal de la curva ln(Abs) vs. tiempo.

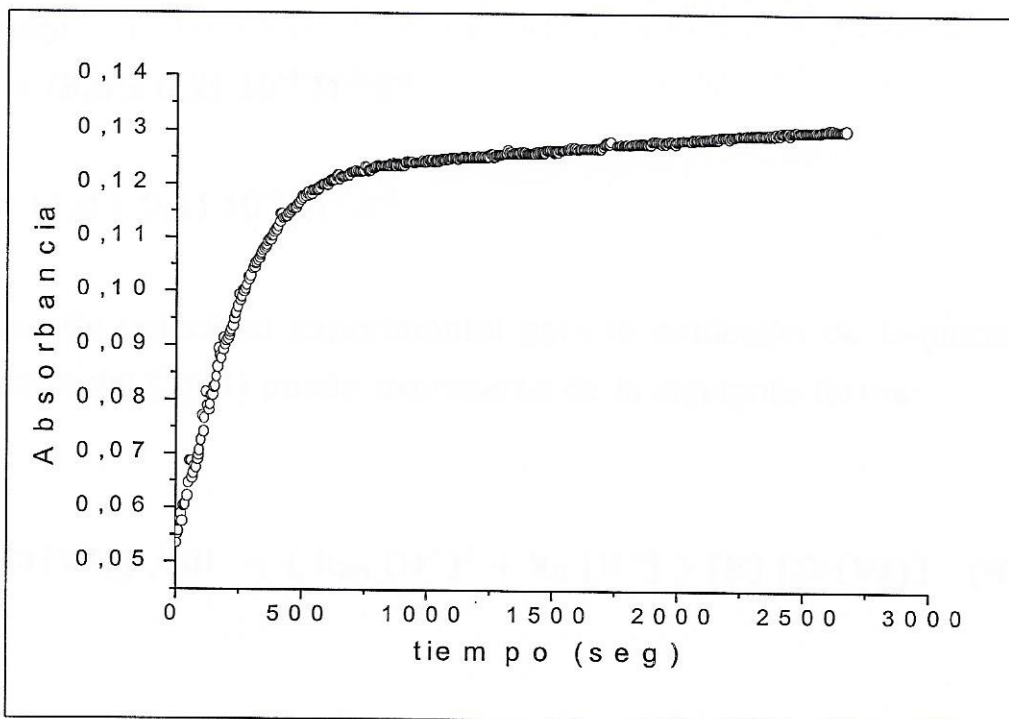
Para evitar una interpretación incorrecta de los valores espectrofotométricos del decaimiento de absorbancia a 350 nm, debido a la superposición de la absorbancia del Cr(V), se determinaron los valores de las constantes de velocidad de reducción de Cr(VI) y Cr(V) ( $k_6$  y  $k_5$ ) a partir de datos espectrofotométricos a 750 nm encontrándose que  $k_5 \gg k_6$  en el rango de  $[H^+]$  empleado en las mediciones cinéticas. Alternativamente se evaluó la formación de Cr(III) a 570 nm en el rango de concentraciones de  $HClO_4 = 0,1 - 0,5$  M (Figura 6) con lo cual se determinó la velocidad de formación de Cr(III) relativa al consumo de Cr(VI).

Las constantes de pseudo primer orden obtenidas a esta longitud de onda coincidieron con los valores obtenidos a 350 nm (Tabla 5). Esto significa que el Cr(III) se forma a la misma velocidad a la que se consume el Cr(VI) y que la etapa lenta de la reacción redox implicará la reducción de Cr(VI), el cual reaccionaría más lentamente que el Cr(V).

De esta manera las constantes de velocidad de pseudo primer orden ( $k_6$ ) obtenidas a partir de la pendiente de la parte lineal de la curva  $\ln(\text{Abs})$  vs. tiempo, corresponderían al consumo de Cr(VI).



**Figura 5:  $\ln(\text{Abs})$  vs. tiempo para la oxidación crómica de D-glucitol.  $[\text{Cr}(\text{VI})]= 6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $[\text{D-glucitol}]= 0,21 \text{ M}$ ,  $[\text{H}^+]= 0,1 \text{ M}$ ,  $I= 1 \text{ M}$ ,  $T= 33^\circ\text{C}$ ,  $\lambda = 350 \text{ nm}$**



**Figura 6: Curva de Absorbancia vs. tiempo para la oxidación de D-glucitol por acción del  $\text{Cr}(\text{VI})$  a  $570\text{nm}$ .  $[\text{Cr}(\text{VI})]= 6 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ,  $[\text{D-glucitol}]= 0,3 \text{ M}$ ,  $[\text{H}^+]= 0,3 \text{ M}$ ,  $I= 1 \text{ M}$ ,  $T= 33^\circ\text{C}$**

En la tabla 5 se presentan los valores de  $k_6$  para distintas concentraciones de D-glucitol (1) a diferentes concentraciones de ácido. Los gráficos de  $k_6$  vs.  $[S]$  dan líneas rectas a partir de las cuales se determinaron los valores de  $k_s$  (Figura 7)

$$-d[\text{Cr(VI)}] / dt = k_6 [\text{Cr}^{\text{VI}}] \quad (1)$$

$$k_6 = k_s [S] \quad (2)$$

La dependencia de  $k_s$  con la concentración de  $\text{HClO}_4$  (Tabla 6, Figura 8) puede expresarse de acuerdo a la ecuación:

$$k_s = k_{2\text{H}}[\text{H}^+]^2 + k_{\text{H}} [\text{H}^+] \quad (3)$$

Siendo:

$$k_{2\text{H}} = (8,5 \pm 0,2) 10^{-2} \text{ M}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$k_{\text{H}} = (1,8 \pm 0,1) 10^{-2} \text{ M}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$$

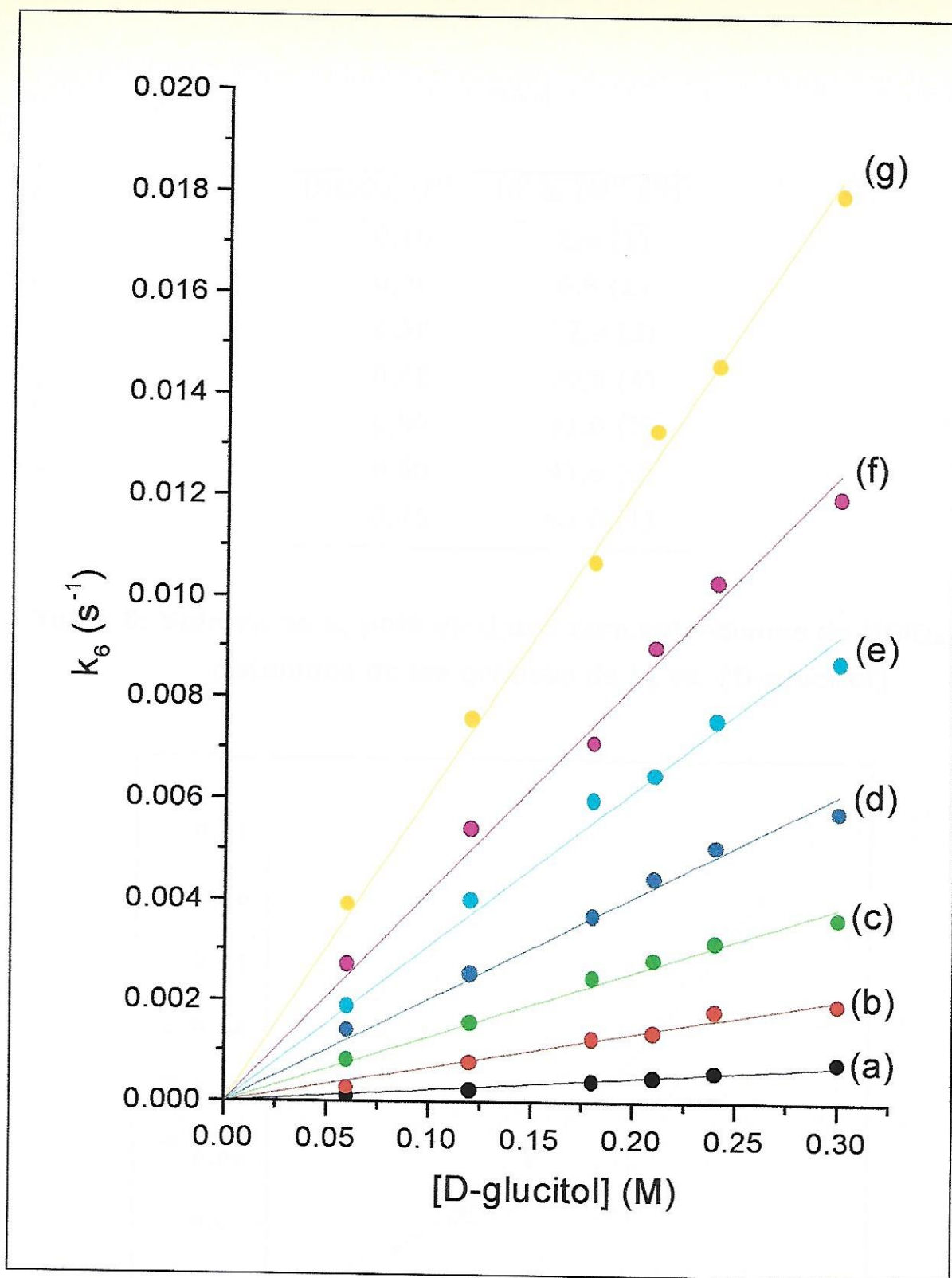
La ley de velocidad experimental para la oxidación de D-glucitol (1) por acción del Cr(VI) puede expresarse de la siguiente forma:

$$-d[\text{Cr(VI)}] / dt = \{ k_{2\text{H}} [\text{H}^+]^2 + k_{\text{H}} [\text{H}^+] \} [S] [\text{Cr(VI)}] \quad (4)$$

[HClO <sub>4</sub> ](M)	10 <sup>4</sup> k <sub>6</sub> (s <sup>-1</sup> ) para [D-glucitol] (M)						
	0,06	0,12	0,18	0,21	0,24	0,3	
						λ=350nm	λ=570nm <sup>a</sup>
0,10	1,3 (1)	2,25(5)	4,0 (1)	4,9 (1)	5,8 (1)	7,7 (1)	7,2 (2)
0,20	2,7 (1)	7,75(5)	12,7 (1)	13,9 (1)	18,2(1)	19,4 (1)	20,3 (6)
0,30	8,2 (1)	15,6(1)	24,6 (7)	28,1 (5)	31,6(7)	36,4 (1)	34,6 (5)
0,40	14,1(1)	25,5(2)	37,0 (3)	44,3 (7)	50,4(6)	57,6 (5)	51 (2)
0,50	19,0(1)	40,0(2)	60,0 (8)	64,8 (7)	75,9(8)	87,5 (5)	82 (2)
0,60	27,3(4)	54,1(9)	71 (2)	90 (21)	103 (1)	120 (2)	-
0,75	39,1(5)	76 (2)	107 (1)	133 (3)	146 (1)	180 (2)	-

**Tabla 5: Constantes de velocidad de pseudo primer orden observadas (k<sub>6</sub>) para distintas concentraciones de HClO<sub>4</sub> y D-glucitol. T= 33°C, [Cr(VI)]= 6 10<sup>-4</sup> M.**

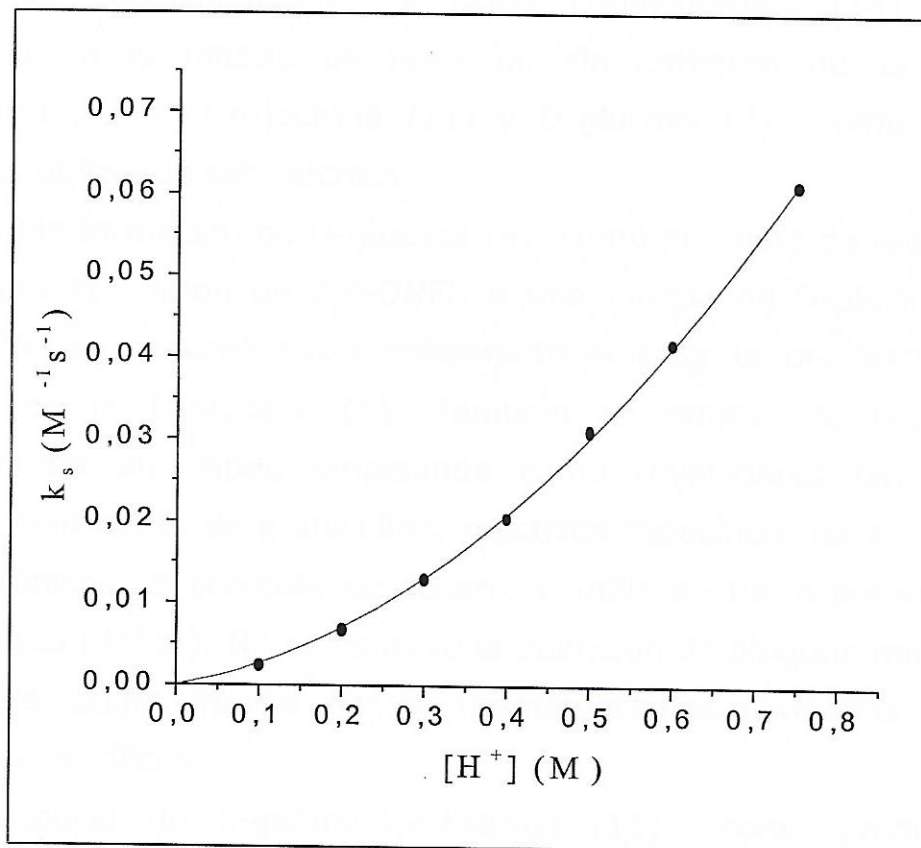
<sup>a</sup> [Cr(VI)]= 6 10<sup>-3</sup> M



**Figura 7: Efecto de la [D-glucitol] sobre  $k_6$ .  $T = 33^\circ C$ ,  $I = 1 M$ ,  $[H^+]$ : (a) 0,10M, (b) 0,20 M, (c) 0,30 M, (d) 0,40 M, (e) 0,5 M, (f) 0,60 M, (g) 0,75M**

[HClO <sub>4</sub> ] (M)	10 <sup>3</sup> k <sub>s</sub> (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
0,10	2,4 (1)
0,20	6,8 (2)
0,30	12,9 (3)
0,40	20,3 (4)
0,50	31,0 (7)
0,60	41,6 (9)
0,75	61,0 (1)

**Tabla 6: Valores de k<sub>s</sub> para distintas concentraciones de HClO<sub>4</sub> obtenidos de las gráficas de k<sub>6</sub> vs. [D-glucitol]**



**Figura 8: Efecto de la [HClO<sub>4</sub>] sobre k<sub>s</sub>**

### **3.2- IDENTIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN**

Cuando se empleó un exceso de D-glucitol (1) respecto a Cr(VI) no se observó la formación de CO<sub>2</sub> como producto de reacción; esto indica que no hay ruptura de enlaces C-C durante la reacción.

Una mezcla de reacción obtenida a partir de Cr(VI)  $8 \cdot 10^{-4}$  M y D-glucitol (1) 0,04 M en HClO<sub>4</sub> 0,5 M fue estudiada por HPLC. Se detectó sólo una señal correspondiente al producto de reacción: D-glucono-1,5-lactona (10) (Tabla 7).

La co-cromatografía de la mezcla de reacción y D-glucono-1,5-lactona (10) dio como resultado un incremento en la señal de la lactona, indicando que el producto de reacción preponderante es la D-glucono-1,5-lactona (10) .

La señal correspondiente al ácido D-glucurónico (14) no fue observado en la mezcla de reacción, sin embargo no se pueden descartar L-gulono-1,4-lactona (11) y D-glucosa (4) como posibles productos utilizando esta técnica.

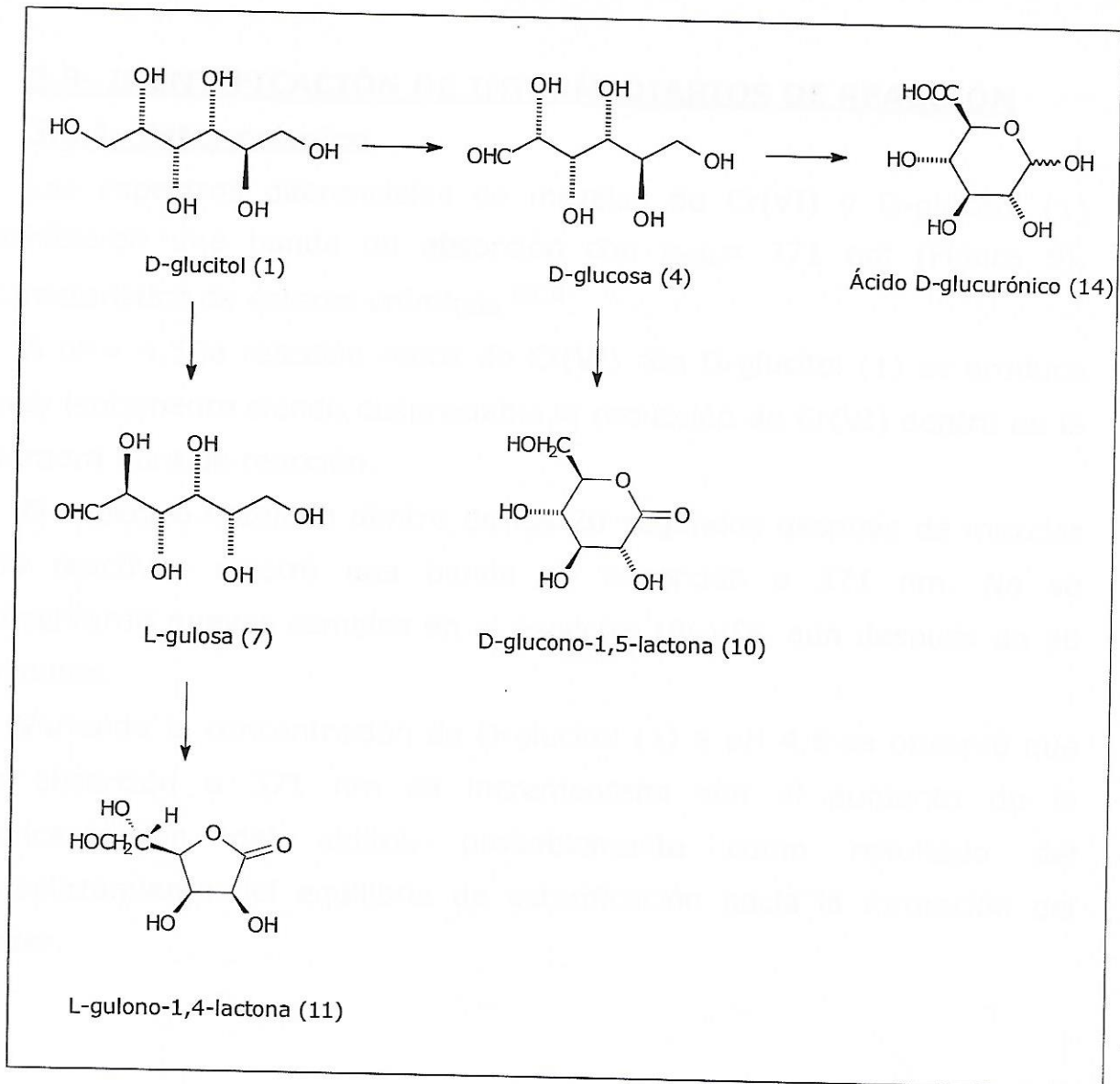
La posible formación de D-glucosa (4) como producto de reacción se estudió por la adición de 2,4-DNFH a una mezcla de D-glucitol (1) y Cr(VI). No se observó espectrofotométricamente la presencia de la osazona de la D-glucosa (4). También se empleó la técnica de cromatografía en papel, empleando como reveladores biftalato de anilina y clorhidrato de p-anisidina, reactivos específicos para aldosas y ácidos urónicos. El solvente de desarrollo utilizado fue n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5). No se observó la aparición de ninguna mancha de aldosa y/o ácido urónico en los cromatogramas revelados con los reactivos específicos.

La presencia de L-gulono-1,4-lactona (11) como producto de reacción se estudió cromatográficamente empleando como solvente de desarrollo n-butanol-etanol-agua (5:1:4) que permite separar  $\delta$ -lactonas de  $\gamma$ -lactonas. Sólo se observó la presencia de D-glucono-1,5-

lactona (10) en la mezcla de reacción revelando los cromatogramas con nitrato de plata en medio alcalino, sin embargo no se puede descartar la presencia de L-gulono-1,4-lactona (11) .

Sustrato	Tiempo de retención
D-glucitol	<b>9 min 32 seg</b>
L-gulono-1,4-lactona	8 min 22 seg
D-glucono-1,5-lactona	<b>8 min 26 seg</b>
D-glucosa	8 min 20 seg
Ácido D-glucurónico	7 min 25 seg
Mezcla de reacción	<b>8 min 26 seg</b>
	<b>9 min 32 seg</b>

**Tabla 7: Tiempos de retención obtenidos en HPLC. Columna Aminex HPX-87H, fase móvil H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,0033 M, flujo 0,6 ml/ min, Detector de índice de refracción ERC-7522, ERMA INC, T= 35°C**



**Esquema 1: Posibles productos de reacción de la oxidación crómica de D-glucitol.**

### **3.3- IDENTIFICACIÓN DE INTERMEDIARIOS DE REACCIÓN**

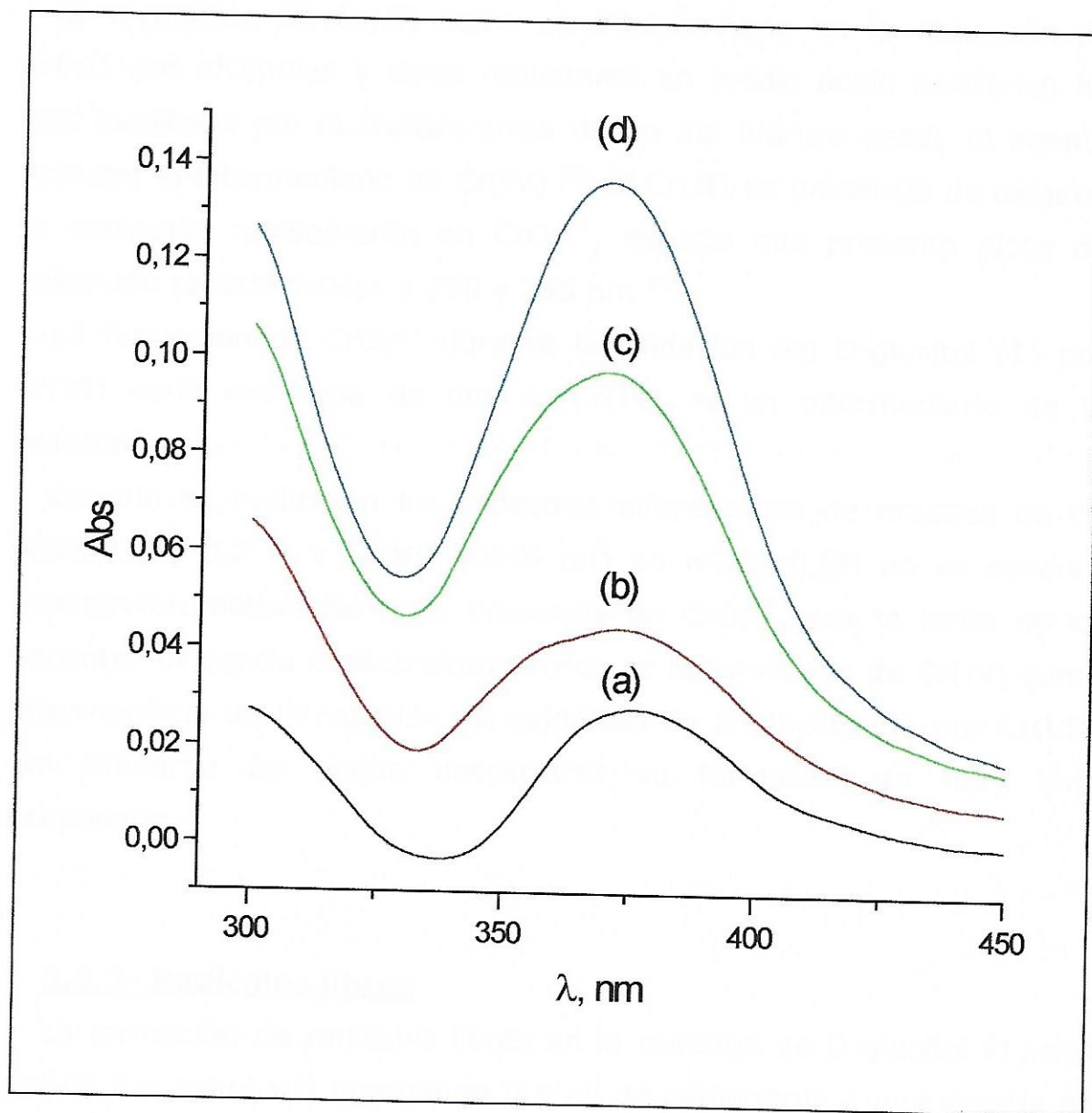
#### **3.3.1- Ester crómico**

Los espectros diferenciales de mezclas de Cr(VI) y D-glucitol (1) exhibieron una banda de absorción con  $\lambda_{\text{máx}} = 371 \text{ nm}$  (Figura 9), característica de ésteres crómicos<sup>50, 6</sup>.

A pH= 4,5 la reacción redox de Cr(VI) con D-glucitol (1) se produce muy lentamente siendo despreciable la reducción de Cr(VI) dentro de la primera hora de reacción.

El espectro obtenido dentro de los 20 segundos después de mezclar los reactivos mostró una banda de absorción a 371 nm. No se observaron nuevos cambios en el espectro UV-VIS, aún después de 30 minutos.

Variando la concentración de D-glucitol (1) a pH 4,5 se observó que la absorción a 371 nm se incrementaba con el aumento de la concentración del alditol, probablemente como resultado del desplazamiento del equilibrio de esterificación hacia la formación del éster.



**Figura 9: Espectros diferenciales UV-Vis de soluciones de D-glucitol y Cr(VI) a pH=4,5. Seguimiento del incremento de banda a 371 nm con el aumento de [D-glucitol]: (a) 0,12 M, (b) 0,18 M, (c) 0,24 M, (d) 0,30 M [Cr(VI)]=  $6 \cdot 10^{-4}$  M, T= 33°C,**

**I= 1 M**

### **3.3.2- Intermediarios de Cr(IV)**

La formación de Cr(II) como un intermediario en la reducción de Cr(VI) por alcoholes y otros reductores en medio ácido perclórico ha sido explicada por la transferencia de un ion hidruro desde el agente reductor al intermediario de Cr(IV) <sup>53</sup>. El Cr(II) en presencia de oxígeno se convierte rápidamente en  $\text{CrO}_2^{2+}$ , especie que presenta picos de absorción característicos a 290 y 245 nm <sup>11</sup>.

La formación de  $\text{CrO}_2^{2+}$  durante la oxidación del D-glucitol (1) por Cr(VI) sería evidencia de que el Cr(IV) es un intermediario de la reacción.

Cuando se realizaron los espectros diferenciales de mezclas de D-glucitol (1) 0,2 M y Cr(VI) 0,016 mM en  $\text{HClO}_4$  0,5M no se observó espectrofotométricamente la presencia de  $\text{CrO}_2^{2+}$ , por lo tanto no se encontró evidencia espectrofotométrica de la formación de Cr(IV) como intermediario de la reacción de oxidación de D-glucitol (1) por Cr(VI). Sin embargo no puede descartarse su formación en muy baja proporción.

### **3.3.3- Radicales libres**

La formación de radicales libres en la reacción de D-glucitol (1) con Cr(VI) fue estudiada agregando 0,5 ml de acrilonitrilo a una mezcla de reacción de D-glucitol (1)  $8 \cdot 10^{-3}$  M y Cr(VI)  $8 \cdot 10^{-4}$  M en  $\text{HClO}_4$  0,5 M. Luego de pocos minutos se observó la aparición de un precipitado blanco.

La posible reacción de Cr(V) con acrilonitrilo fue descartada en base a la ausencia de precipitado un día después de mezclar  $\text{K}[\text{Cr}^{\text{V}}\text{O}(\text{ehba})_2]$  (ehba:2-etil-2-hidroxibutirato) y acrilonitrilo bajo las mismas condiciones de trabajo.

### **3.3.4- Intermediarios de Cr(V)**

La cinética de formación y desaparición de Cr(V) se estudió espectrofotométricamente a 750 nm, longitud de onda a la cual sólo absorbe el Cr(V). Las curvas obtenidas experimentalmente fueron ajustadas con la ecuación

$$\text{Abs}^{750} = k_6 \varepsilon^V [\text{Cr}^{\text{VI}}]_0 (e^{-k_5 t} - e^{-k_6 t}) / (k_6 - k_5) \quad (5)$$

En esta ecuación,  $\varepsilon^V$  corresponde a la absortividad molar del Cr(V) a la longitud de onda de trabajo y se considera que es igual a la del complejo  $[\text{Cr}^{\text{VO}}(\text{ehba})_2]^-$  ( $38 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )<sup>55</sup>.

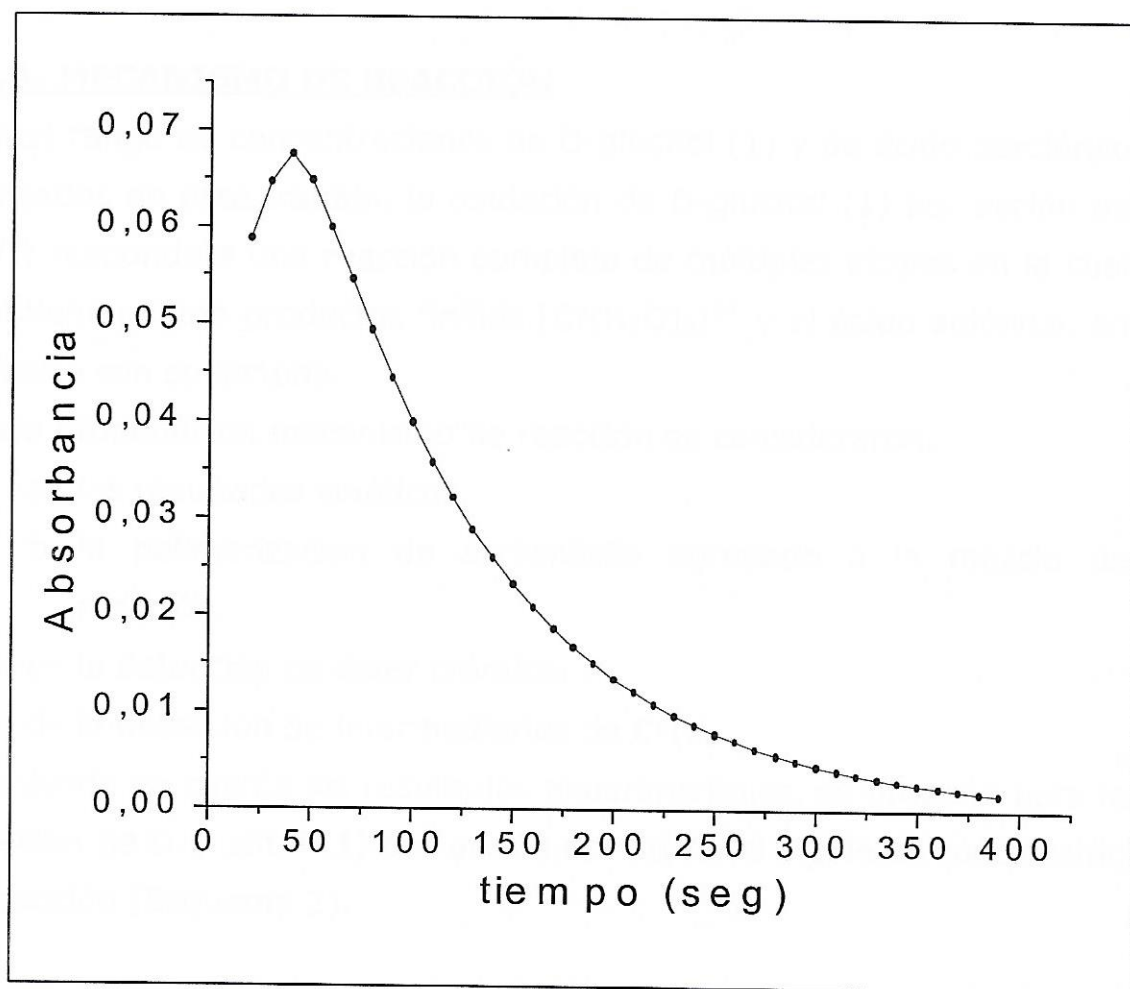
La figura 10 muestra una curva experimental típica para una cinética a 750 nm.

Los valores de  $k_5$  y  $k_6$  obtenidos a partir de los ajustes para una relación  $[\text{S}] / [\text{Cr}(\text{VI})]$  50:1 a dos concentraciones distintas de  $\text{HClO}_4$  se calcularon con la ecuación (5). Los valores de  $k_6$  concuerdan perfectamente con los valores calculados a partir de los datos obtenidos a 350 y 570 nm (Ecuación 4).

Para las concentraciones de D-glucitol (1) y Cr(VI) utilizadas en las mediciones cinéticas, la concentración máxima de Cr(V) calculada ( $[\text{Cr}(\text{V})]_{\text{máx}}$ ) representa alrededor del 17 % de la concentración total de cromo y el  $t_{\text{máx}}$  es muy corto comparado con el tiempo total de la reacción redox. Esto confirma que la absorbancia a 350 nm se debe esencialmente a cambios en la concentración de Cr(VI).

[HClO <sub>4</sub> ]	10 <sup>-3</sup> k <sub>6calc</sub> (s <sup>-1</sup> )	10 <sup>-3</sup> k <sub>6</sub> (s <sup>-1</sup> )	10 <sup>-2</sup> k <sub>5</sub> (s <sup>-1</sup> )
0,2	6,3	6,2	7,4
0,3	12	11	8,1

**Tabla 8: Valores de k<sub>6</sub> y k<sub>5</sub> para distintas concentraciones de HClO<sub>4</sub> obtenidos a 750 nm. [Cr(VI)] = 0,018 M, [D-glucitol] = 0,9 M, I = 1 M, T = 33°C**



**Figura 10: Curva de Absorbancia vs. tiempo para la oxidación crómica de D-glucitol. [Cr(VI)] = 0,018 M, [D-glucitol] = 0,9 M, I = 1 M, [H<sup>+</sup>] = 0,3 M, T = 33°C, λ = 750 nm**

Los espectros RPE de mezclas de D-glucitol (1) y Cr(VI) en el rango de concentraciones de  $\text{HClO}_4$  0,1 - 0,8 M mostraron la formación de distintas especies intermediarias de Cr(V). En este rango de acidez los espectros consisten en una señal minoritaria a  $g_{\text{iso}}$  1,9793, la cual está compuesta por varias especies de Cr(V) (discutidas más adelante) y una señal mayoritaria a  $g_{\text{iso}}$  1,9718/9. La señal de menor  $g_{\text{iso}}$  no se observa a  $\text{pH} > 1$ , donde la reacción de transferencia electrónica resulta extremadamente lenta, y las especies de Cr(V) con  $g_{\text{iso}}$  1,9793 se encuentran en solución durante un tiempo prolongado.

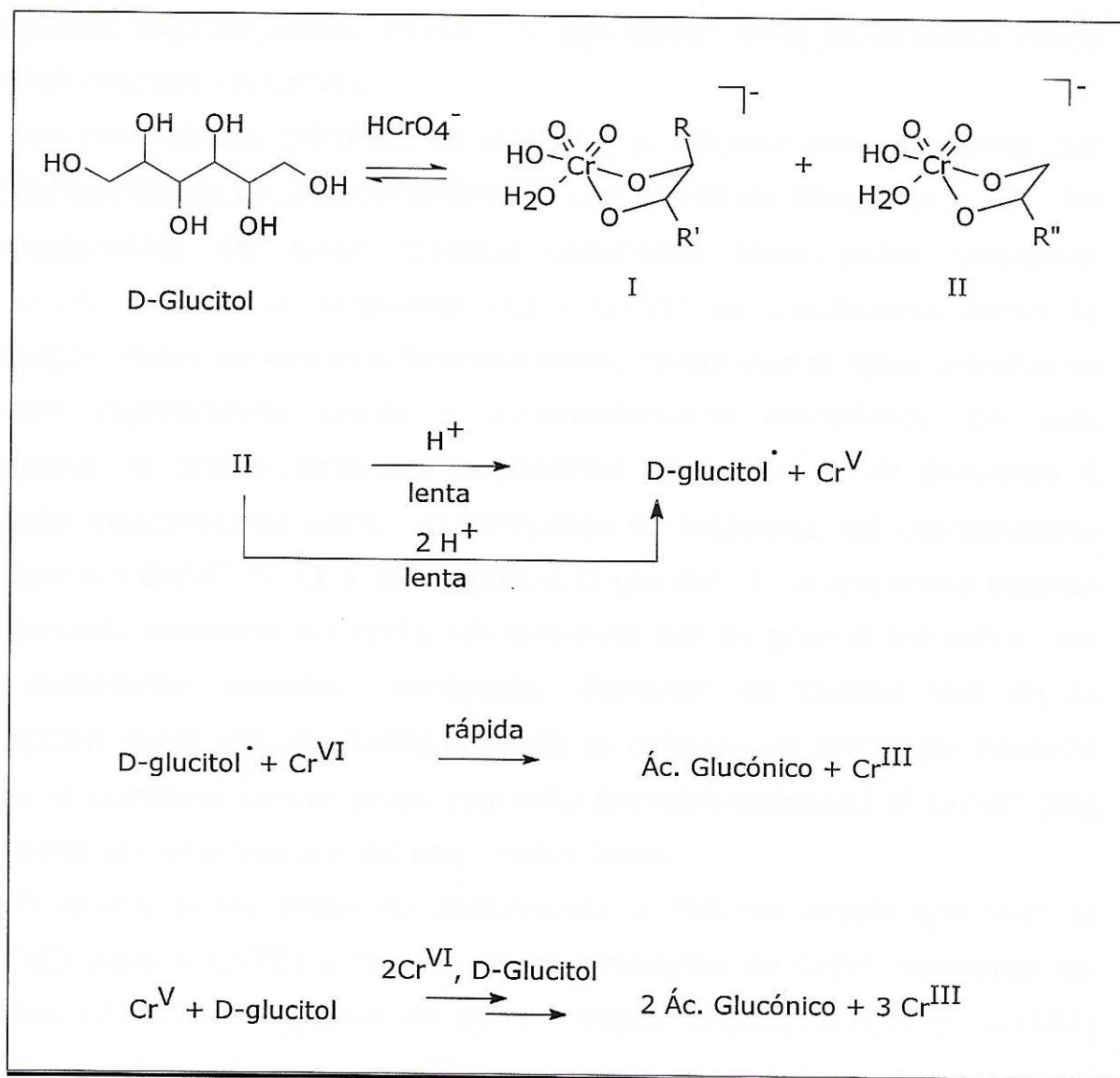
### **3.4- MECANISMO DE REACCIÓN**

En el rango de concentraciones de D-glucitol (1) y de ácido perclórico empleados en este trabajo, la oxidación de D-glucitol (1) por acción de Cr(VI) responde a una reacción compleja de múltiples etapas en la cual se obtienen como productos finales  $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  y el ácido aldónico, en equilibrio con su lactona.

Para proponer un mecanismo de reacción se consideraron:

- a- los resultados cinéticos.
- b- la polimerización de acrilonitrilo agregado a la mezcla de reacción.
- c- la detección de éster crómico.
- d- la detección de intermediarios de Cr(V).

Teniendo en cuenta los resultados experimentales, se propone para la oxidación de D-glucitol (1) por acción del Cr(VI) el siguiente mecanismo de reacción (Esquema 2).



**Esquema 2: Mecanismo de reacción de la oxidación crómica de D-glucitol por acción de Cr(VI)**  
**R, R', R'' = residuos polihidroxisustituidos**

En el rango de concentraciones de ácido empleado, el Cr(VI) se presenta bajo la forma:  $\text{HCrO}_4^-$ <sup>56</sup>, por ende, ésta se propone como forma reactiva de Cr(VI).

Las oxidaciones crómicas de alcoholes y glicoles son precedidas por la formación de un éster crómico<sup>50, 6</sup>. La banda de absorción a 371 nm característica del éster crómico observada unos pocos segundos después de mezclar D-glucitol (1) y Cr(VI) en condiciones donde la reacción redox es extremadamente lenta, revela que el éster crómico se forma rápidamente previo a la transferencia electrónica. De esta manera, el primer paso del mecanismo propuesto en el Esquema 2 puede interpretarse como la formación de isómeros del monoquelato D-glucitol-Cr(VI)<sup>57</sup>, (**I** y **II**) donde el D-glucitol (1) actúa como ligando bidentado enlazado al Cr(VI), vía cualquier par de grupos hidroxilos con la disposición espacial apropiada. Teniendo en cuenta que en la reacción redox sólo el alcohol primario es oxidado, es razonable suponer que el complejo con el grupo hidroxilo primario enlazado al Cr(VI) (**II**) debería ser el precursor del paso redox lento.

El ajuste de los datos de absorbancia a 750 nm revela que todo el Cr(VI) pasa a Cr(III) a través del intermediario de Cr(V) siguiendo los pasos redox consecutivos de primer orden  $\text{Cr(VI)} \rightarrow \text{Cr(V)} \rightarrow \text{Cr(III)}$ ; indicando que el paso redox lento en esta reacción corresponde a un proceso de transferencia de un electrón ( $\text{Cr(VI)} \rightarrow \text{Cr(V)}$ ). Este resultado difiere del observado para la oxidación de aldosas y metilglicósidos, en donde el paso determinante de la velocidad involucra un proceso de transferencia de dos electrones y sólo la mitad del Cr(VI) pasa a Cr(III) a través de Cr(V)<sup>27, 30, 31, 58-61</sup>.

Los dos términos en la ley de velocidad (Ecuación 4) indican que hay por lo menos dos estados de transición, que difieren en el grado de protonación pero que son similares en energía, a través de los cuales puede producirse la reducción del Cr(VI). De esta manera, en la etapa redox lenta del mecanismo propuesto en el Esquema 2, el complejo **II**

produce el radical D-glucitol (1) (D-glucitol•), el cual puede reaccionar con Cr(VI) para dar el producto final de oxidación (ácido D-glucónico (9)) y Cr(III).

El Cr(V) formado en el paso lento reacciona con exceso de D-glucitol (1) para dar el complejo oxo-cromato(V) precursor de la etapa de transferencia electrónica, que da lugar al producto.

En contraste con alcoholes monohídricos<sup>62-64</sup>, el D-glucitol (1) es oxidado al ácido carboxílico y no al aldehído. Para alcoholes monohídricos se ha demostrado que las velocidades de oxidación de aldehídos son del mismo orden de magnitud que las correspondientes a los alcoholes<sup>65, 66</sup>. De esta manera, cuando se utiliza un gran exceso de alcohol sobre Cr(VI) la concentración de aldehído no es suficiente para competir con el alcohol para reducir al Cr(VI).

Para el caso de D-glucitol (1), la velocidad de oxidación por Cr(VI) de la aldosa -D-glucosa (4) - (forma hemiacetálica del aldehído formada por oxidación del alditol) es mucho menor que la del alditol.  $k_{\text{sorbitol}}/k_{\text{glucosa}} = 9,4$ <sup>27, 32, 59</sup>; entonces, si se formara, la aldosa no sería oxidada por el Cr(VI) al ácido aldónico cuando se utiliza un gran exceso de alditol.

El hecho de no observar D-glucosa (4) como producto de reacción de D-glucitol (1) con Cr(VI) significa que la aldosa no se forma y que el alditol es directamente oxidado al ácido aldónico. Consecuentemente el camino redox mostrado en el Esquema 2 tiene en cuenta la oxidación directa del grupo hidroxilo primario a grupo carboxilo, sin formación del aldehído.

### **3.5- CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES INTERMEDIARIAS DE Cr(VI) POR ESPECTROSCOPÍA RPE.**

Los parámetros obtenidos de los espectros RPE (valores  $g_{\text{iso}}$  y  $A_{\text{iso}}$ ), juntamente con el acoplamiento superhiperfino de protón (shf) han mostrado ser útiles en la determinación de modos de enlace

correspondientes a compuestos polihidroxilados con centros de Cr(V) <sup>27, 31, 58, 59</sup>. Los polioles generalmente forman complejos débiles con los cationes metálicos, sin embargo, para competir con las moléculas de agua para ocupar la esfera primaria de coordinación de un catión metálico, estos ligandos acíclicos deben poseer alguna preorganización y contener un arreglo espacial particular de los grupos ligandos <sup>67</sup>. En el arreglo treó, los grupos hidroxilos vecinos están ubicados adecuadamente para complejar cationes metálicos hipervalentes, lo cual refuerza la preferencia de CrO<sup>3+</sup> para formar anillos quelatos de cinco miembros de Cr(V) <sup>68, 69</sup>

Debido a que los valores  $g_{iso}$  y  $A_{iso}$  de las señales de RPE de complejos de Cr(V) dependen del número de coordinación de Cr(V) y de la naturaleza de los grupos donores enlazados al Cr(V) <sup>70-72</sup>, puede obtenerse una estimación del número de especies de Cr(V) en solución de acuerdo al patrón shf junto con los parámetros isotrópicos de RPE (valores  $g_{iso}$  y  $A_{iso}$ ) basados en el método empírico desarrollado por Lay y colaboradores <sup>70</sup>. En la discusión que sigue, usaremos esta aproximación para asignar la esfera de coordinación de las especies intermediarias de Cr(V) formadas en la reacción de Cr(VI) con D-glucitol (1).

En el rango de pH= 4 - 5 y en relación ligando / metal < 20 (figura 11, tabla 9) se detectaron tres quintetos a  $g_1 = 1,9800$ ,  $g_2 = 1,9798$  y  $g_3 = 1,9797$  y  $A_{iso} = 16,5(3) \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ . Los valores de  $g_{iso}$  y  $A_{iso}$  corresponden a los calculados para los complejos pentacoordinados oxo-Cr(V) con cuatro donores alcoholatos <sup>70</sup> y el patrón shf es el observado para cuatro protones carbinólicos equivalentes, pertenecientes al sitio diolato donador de dos moléculas de D-glucitol (1) bidentadas enlazados al Cr(V), acoplado al spin electrónico de Cr(V). La independencia del espectro con la concentración de D-glucitol (1) confirma que todas las especies tienen una esfera de coordinación de Cr(V) saturada con respecto al alditol.

Las diferentes constantes de acoplamiento shf indican que se trata de isómeros con distintas uniones del bisquelato-Cr(V)  $[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^{2(3)},\text{O}^{3(4)}\text{-Glucitol})_2]^-$  (**Tipo A**), con  $\text{O}^{2(3)},\text{O}^{3(4)}\text{-Glucitol}$  correspondiente al ligando unido al Cr(V) con cualquier grupo diolato ( $\text{O}^2,\text{O}^3$  o  $\text{O}^3,\text{O}^4$ ), de posición treo.

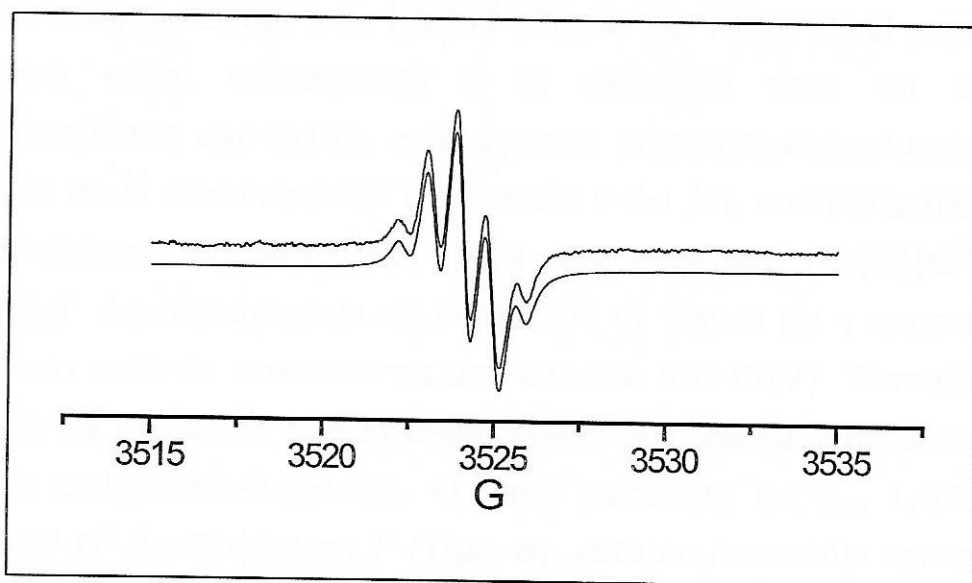
La formación de los monoquelatos  $[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^2,\text{O}^3,\text{O}^4\text{-Glucitol})(\text{OH}_2)]$  ( $g_{\text{calc}}=1,9783$ ) o  $[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^2,\text{O}^3,\text{O}^4\text{-Glucitol})(\text{OH}_2)_2]$  ( $g_{\text{calc}}=1,9735$ ) y el bisquelato  $[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^2,\text{O}^3,\text{O}^4\text{-Glucitol})(\text{O}^2,\text{O}^3\text{-Glucitol})]^{2-}$  ( $g_{\text{calc}}=1,9759$ ) con una molécula de D-glucitol (1) actuando como ligando tridentado (treo-treo) fue descartada por no observarse señales con el patrón shf y los parámetros  $g_{\text{iso}}$  y  $A_{\text{iso}}$  correspondientes a dichos compuestos <sup>70</sup>.

Especies de Cr(V)	$g_{\text{iso}}$	$A_{\text{iso}} 10^{-4}\text{cm}^{-1}$	$a_{\text{H}} 10^{-4}\text{cm}^{-1}$ (N)
$[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^{2(3)},\text{O}^{3(4)}\text{-Glucitol})_2]^-$	1,9800	$16,5 \pm 0.3$	0,78 (4)
	1,9798		0,68 (4)
	1,9797		0,60 (4)
$[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^1,\text{O}^2\text{-ÁcGlucónico})_2]^-$	1,9787	ND	0,68 (4)
$[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^{1(2,3)},\text{O}^{2(3,4)}\text{-Glucitol})(\text{H}_2\text{O})_3]^+$	1,9719	$20 \pm 1$	ND

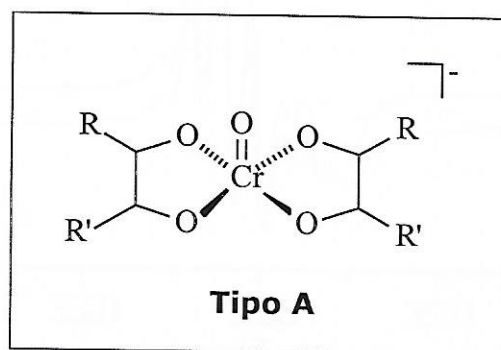
**Tabla 9: Parámetros obtenidos de los espectros RPE.**

**N = número de protones equivalentes**

**ND: no determinado.**



**Figura 11: Espectro RPE experimental y simulado para relación D-glucitol /Cr(VI) 10:1, [Cr(VI)] =  $2,5 \cdot 10^{-3}$  M, pH = 5, T= 25°C, frecuencia 9,7815 GHz, mod. ampl. 0,4 G.**

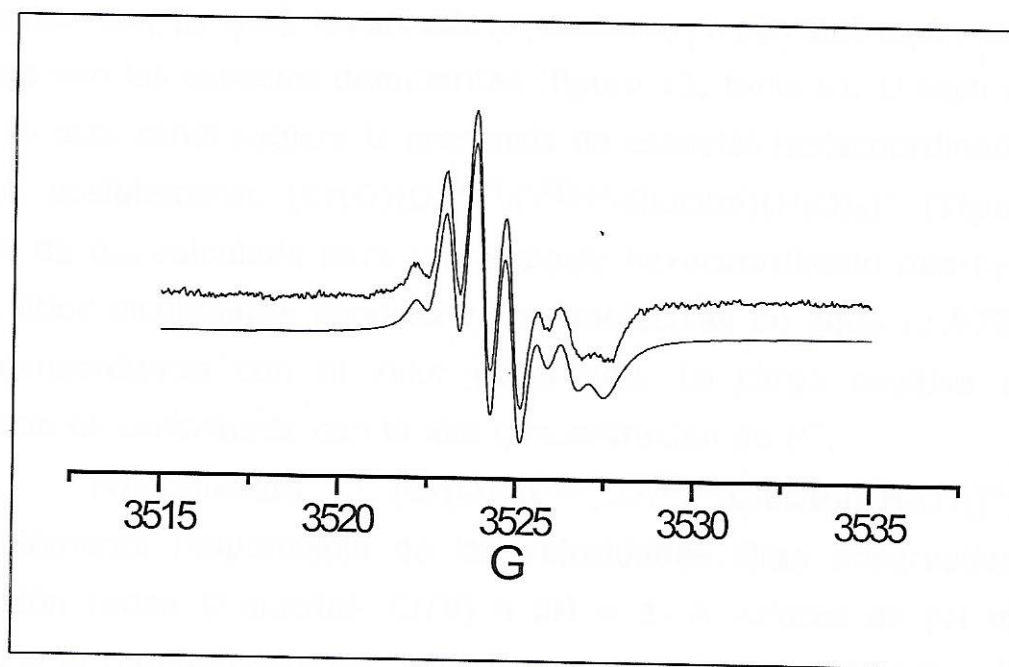


**R, R' = residuos polihidroxisustituidos**

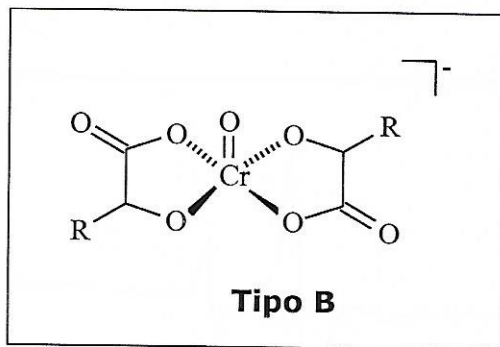
A pH = 2 y relación ligando / metal > 10:1 y a pH = 4 - 5 con relación ligando / metal  $\geq$  20, los espectros mostraron las tres señales atribuidas a los distintos isómeros  $[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^{2(3)}, \text{O}^{3(4)}\text{-Glucitol})_2]^-$  junto

con una señal adicional a  $g_4$  1,9787 (Figura 12, Tabla 9). El valor  $g_{iso}$  de la nueva señal corresponde a la calculada para un complejo pentacoordinado oxo-Cr(V), esta especie presenta dependencia con la variación de la concentración de ligando y del pH, comportamiento que se contrapone al observado para las especies  $[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^{2(3)}, \text{O}^{3(4)}\text{-Glucitol})_2]^-$ . La dependencia de la señal a  $g_4$  con el pH y concentración de ligando está de acuerdo con una especie oxo-Cr(V) formada con el producto de oxidación (Ácido D-glucónico (9)), coordinada a través del grupo 1-carboxilato-2-hidroxi. El valor calculado de  $g_{iso}$  1,9783 para  $[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^1, \text{O}^2\text{-Ác Glucónico})_2]^-$  (**Tipo B**), está en razonable concordancia con el valor de  $g_{iso}$  observado.

La coordinación del ligando oxidado es consistente con el hecho que el Cr(VI) es un oxidante muy fuerte en este medio más ácido.



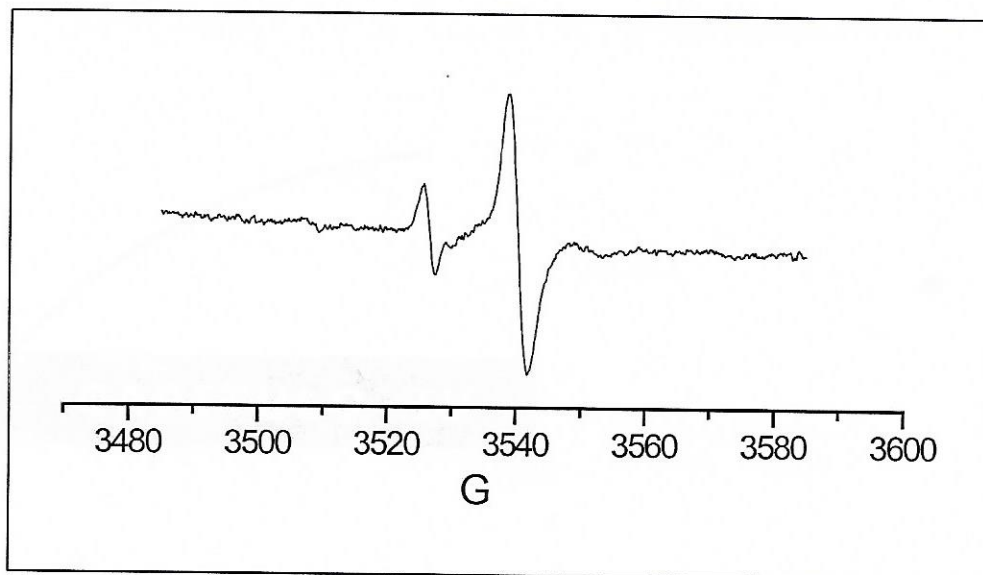
**Figura 12: Espectro RPE experimental y simulado para relación D-glucitol /Cr(VI) 20:1,  $[\text{Cr}(\text{VI})] = 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ , pH = 5, T = 25°C, frecuencia 9,7815 GHz, mod. ampl. 0,4 G.**



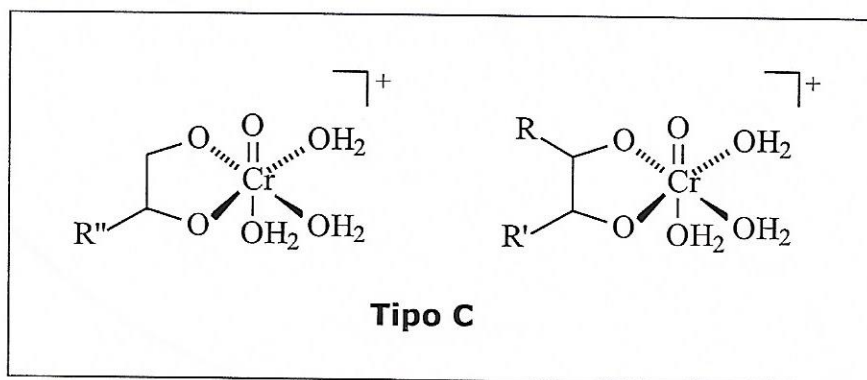
**R= residuos polihidroxisustituidos**

A pH = 1 y relación ligando / metal = 10:1, se observa una señal adicional a  $g_5$  1,9719, junto con las señales a  $g_1$  1,9800,  $g_2$  1,9798,  $g_3$  1,9797 y  $g_4$  1,9798. El patrón shf de esta nueva señal no está resuelto, sin embargo, su dependencia con el pH y valor de  $g_{iso}$  pueden proporcionar alguna información de su naturaleza. La formación de las especies con  $g_5$  está favorecida a una mayor concentración de ácido, donde son las especies dominantes (figura 13, tabla 9). El bajo valor de  $g_{iso}$  de esta señal sugiere la presencia de especies hexacoordinadas oxo-Cr(V) posiblemente  $[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^{1(2,3)}, \text{O}^{2(3,4)}\text{-Glucitol})(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  (**Tipo C**). El valor de  $g_{iso}$  calculado para una especie hexacoordinado oxo-Cr(V) con dos sitios alcoholatos donores y tres moléculas de agua (1.9724) está en concordancia con el valor observado. La carga positiva de esta especie es consistente con la alta concentración de  $\text{H}^+$ .

El monoquelato  $[\text{Cr}(\text{O})(\text{O}^{1(2,3)}, \text{O}^{2(3,4)}\text{-Glucitol})(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  es posiblemente responsable de las velocidades altas observadas en la reacción redox D-glucitol- Cr(V) a pH = 1. A valores de pH mayores (donde el monoquelato de Cr(V) no se observa) los complejos de Cr(V) son estables de días a meses.



**Figura 13: Espectro EPR experimental para relación D-glucitol /Cr(VI) 10:1, [Cr(VI)] =  $2,5 \cdot 10^{-3}$  M,  $[H^+] = 0,1$  M,  $T = 25^\circ\text{C}$ , frecuencia 9,7815 GHz, mod. ampl. 1,01 G.**



**R, R', R'' = residuos polihidroxisustituidos**



**CAPITULO IV**



**Conclusiones**



El Cr(VI) oxida selectivamente al grupo hidroxilo primario del D-glucitol (1), para dar como producto de la reacción D-glucono-1,5-lactona (10).

La reacción sigue los siguientes pasos de reducción  $\text{Cr(VI)} \rightarrow \text{Cr(V)} \rightarrow \text{Cr(III)}$ , siendo el paso  $\text{Cr(VI)} \rightarrow \text{Cr(V)}$  el determinante de la velocidad de reacción.

Se propuso el mismo mecanismo para la oxidación de D-Manitol (2), la configuración del C(2) afecta levemente la velocidad de la reacción redox, hecho que se puede observar a partir de los valores similares de las constantes de velocidad <sup>73</sup>.

La reacción redox del D-glucitol (1) con Cr(VI) requiere la presencia de protones en el medio: cuando la acidez es baja la reacción redox se produce muy lentamente.

El D-glucitol (1) es oxidado por el Cr(VI) más rápidamente que el respectivo metil-glicósido (metil-D-glucopiranososa (12)) en el cual el grupo hidroxilo primario también es oxidado a carboxilato. Esta mayor reactividad en el alditol está relacionada con la habilidad de éste para formar complejos quelatos de Cr(V) de cinco miembros involucrando al grupo hidroxilo primario, lo cual no es posible en el metil-glicósido debido a que el grupo hidroxilo inmediato al grupo hidroxilo primario se encuentra formando parte del enlace acetálico.

Cuando se emplea un exceso de agente reductor respecto al agente oxidante los grupos hidroxilos secundarios son inertes a la oxidación como ocurre en el caso de azúcares y sus derivados.

El D-glucitol (1) estabiliza al Cr(V) dando complejos penta y hexacoordinados oxo-Cr(V), dependiendo de la concentración de protones. A  $[\text{H}^+] \geq 0,1 \text{ M}$  se forman monoquelatos hexacoordinados oxo-Cr(V) cargados positivamente, los cuales serían los responsables de las altas velocidades de transferencia electrónica observadas en el rango de  $[\text{H}^+] = 0,1 - 0,75 \text{ M}$ . A  $\text{pH} > 1$ , se forman solamente las especies pentacoordinadas, siendo las reacciones redox

intramoleculares muy lentas y los complejos de Cr(V) permanecen en solución varios días o semanas.

Los parámetros RPE juntamente con el patrón shf indican que los complejos penta coordinados oxo-Cr(V) formados en exceso de D-glucitol (1) involucran el enlace del metal a cuatro grupos alcoholatos secundarios pertenecientes a dos moléculas de D-glucitol (1). Además los complejos más estables oxo-Cr(V) no involucran al Cr(V) coordinado al grupo hidroxilo primario, hecho similar al observado para azúcares y sus derivados <sup>27, 30, 31, 58, 59, 61</sup>.



**CAPITULO V**



**Referencias  
Bibliográficas**

1. S. Langard Editor, *Biological and enviromental aspects of chromium*, Elsevier Biomedical press, **1982**, Ch. 3, p.49-53.
2. D. Burrows Editor, *Chromium: Metabolism and Toxicity*, CRC press, Inc, Boca Raton, Florida, **1983**, Ch. 1, p.2-3.
3. D. G. Barceloux, *Clinical Toxicology*, **1999**, 37, 173
4. L. Kalbus, R. Petrucci, G. Forman; *J. Chem. Ed.*, **1991**, 68, 677
5. P. H. Connett, K. E. Wetterhahn, *Stuct. Bonding*, **1983**, 54, 93
6. M. Mitewa, P. R. Bontchev, *Coord. Chem. Rev.*, **1985**, 61, 241
7. E. S. Gould, *Acc. Chem. Rev.*, **1986**, 19, 66
8. M. Krumpolc, J. Rocek, *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 2306
9. M. C. Ghosh, E. S. Gould, *Inorg. Chem.*, **1990**, 29, 4258
10. M. C. Ghosh, E. Gelerinter, E. S. Gould, *Inorg. Chem.*, **1991**, 30, 1039
11. S. L. Scott, A. Bakac, J. H. Espenson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 7787
12. F. A. Cotton, G. Wilkinson, **1990**, *Química inorgánica Avanzada*, Ed. Limusa. p. 869-889
13. C. E. Skinner, M. M. Jones, *Inorg. Nuclear Chem. Lett.*, **1967**, 3, 185

14. D. Beyersmann, A. Koster, *Toxicol. Environ. Chem.*, **1987**, 14, 11
15. S. A. Katz, H. Salem, *The biological and environmental chemistry of chromium*, VCH Publishers, Inc., New York, **1994**, p.1-6
16. J. E. Fagliano, J. Savrin, I. Udasin, M. Gochfeld, *Reg. Tox. and Farm.*, **1997**, 26, 513
17. S. Boyko, D. Goodgame, *Inorg. Chim. Acta*, **1986**, 123, 189
18. M. Quiros, D. Goodgame, *Polyhedron*, **1992**, 11, 1
19. G. Micera, A. Dessi, *J. Inorg. Biochem.*, **1988**, 34, 157
20. K. Sen Gupta, S. Basu, *Carbohydr. Res.*, **1986**, 86, 7
21. M. Ciésłak-Golonka, *Polyhedron.*, **1996**, 15, 3667
22. M. Branca, M. Fruianu, S. San, M. A. Zoroddu, *J. Inorg. Biochem. Soc.*, **1996**, 62, 223
23. K. D. Sugden, K. E. Weterhahn, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 10811
24. L. Zhang, P. A. Lay, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 12624
25. H. Luo, Y. Lu, Y. Mao, X. Shi, N. S. Dalal, *J. Inorg. Biochem.*, **1996**, 64, 25

26. K. D. Sugden, K. E. Weterhahn, *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 651
27. L. F. Sala, S. R. Signorella, M. Rizzotto, M. I. Frascaroli, F. Gandolfo, *Can. J. Chem.*, **1992**, 70, 2046
28. S. R. Signorella, S. García, L. F. Sala, *Polyhedron.*, **1992**, 11, 1391
29. S. R. Signorella, M. I. Santoro, M. Mulero, L. F. Sala, *Can. J. Chem.*, **1994**, 72, 398
30. M. Rizzotto, S. R. Signorella, M. I. Frascaroli, V. Daier, L. F. Sala, *J. Carbohyd. Chem.*, **1995**, 14, 45
31. S. R. Signorella, M. Rizzotto, V. Daier, M. I. Frascaroli, C Palopoli, D. Martino, A. Boussecksou, L. F. Sala, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1996**, 1607
32. M. Rizzotto, M. I. Frascaroli, S. R. Signorella, L. F. Sala, *Polyhedron*, **1996**, 15, 1517
33. L. Sala C. Palopoli, S. Signorella, *Polyhedron.*, **1995**, 14, 1725
34. S. Signorella, S. García, L. Sala, *Polyhedron*, **1997**, 16, 701
35. S. Signorella, M. Santoro, C. Palopoli, C. Brondino, J. M. Salas-Peregrin, M. Quiroz, L. Sala, *Polyhedron*, **1998**, 17, 2739
36. M. Branca, G. Micera, A. Dessi, *Inorg. Chim. Acta*, **1988**, 153, 61

37. S. R. Signorella, M. I. Frascaroli, S. García, M. Santoro, J. C. González, C. Palopoli, N. Casado, L. F. Sala, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **2000**, 1617
38. R. L. Bielecki, *Sugar Alcohols, in Encyclopaedia of Plant Physiology, New Series*, Eds. F. A. Lowus and W. Tanner, Springer-Verlag, Berlin, **1982**, Vol. 13 A, p.158
39. C. Noller, *Química de los Compuestos Orgánicos*, Editorial Médico Quirúrgica, Segunda Edición, **1968**, p. 553-555
40. W. Pigman, D. Horton, *The Carbohydrates, Chemistry and Biochemistry*, Academic Press Inc. , Florida, **1972**, Vol. 1 A, p. 479, 484-487, 512
41. I. M. Kolthoff, E. B. Sandell, E. J. Meehan, S. Bruckenstein, *Análisis Químico Cuantitativo*, Ed. Nigar, Buenos Aires, Sexta Edición, **1988**, p. 806-807
42. E. Lederer, M. Lederer, *Cromatografía*, Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Segunda Edición, **1960**, p.179-182, 268-282
43. Nan Soo Han, J. F. Robyt, *Carbohydr. Res.*, **1998**, 313, 135
44. M. E. Trevelyan, D. R. Procter, J. S. Harrison, *Nature*. **1950**, 166, 444
45. L. Hough, J. K. N. Jones, H. W. Wadman, *J. Chem. Soc.* **1950**, 1702
46. C. M. Wilson, *Anal. Chem*, **1959**, 31, 1199

47. W. Chandler, E. Lee, D. Lee, *J. Chem. Ed.*, **1987**, 64, 878
48. K. Bock, C. Pedersen, *Adv. in Carb. Chem. and Biochem.*, **1983**, 14, 27
49. D. F. Snell, C. T. Snell, *Colorimetric Methods of Analysis*, Ed. Van Nostrand, N.Y., **1961**, vol. IIIB, p. 353
50. J. K. Besttie, G. P. Haight, *Inorganic Reaction Mechanisms*. Part II, Ed. J. O Edwards, Wiley, N.Y., **1972**.
51. K. G. Srinivasan, J. Rocek, *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, 96, 127
52. G. R. Buettner; L. W. Oberley; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1978**, 83, 69
53. J. Pérez-Benito, C. Arias, D. Lamrhari, *New J. Chem.*, **1994**, 18, 663
54. G. P. Haight, G. M. Jursich, M. T. Kelso, P. J. Merrill, *Inorg. Chem.* **1985**, 24, 2740
55. M. Krumpolc, J. Rocek, *Inorg. Synth.* **1980**, 20, 63
56. N. E. Brasch, D. A. Buckingham, A. B. Evans, C. R. Clark, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 7969
57. R. P. Farrell, P. A. Lay, A. Levina, I. A. Maxwell, R. Bramley, S. Brumby, J. Ji, *Inorg. Chem.*, **1998**, 37, 3159

58. V. Daier, S. R. Signorella, M. Rizzotto, M. I. Frascaroli, C Palopoli, C. Brondino, J. M. Salas-Peregrin, L. F. Sala, *Can. J. Chem.*, **1999**, 77, 57
59. S. R. Signorella, V. Daier, S. García, R. Cargnello, J. C. González, M. Rizzotto, L. F. Sala, *Carbohyd. Res.*, **1999**, 316, 14
60. S. R. Signorella, S. García, L. F. Sala, *J. Chem. Ed.*, **1999**, 76, 405
61. S. R. Signorella, R. Lafarga, V. Daier, L. F. Sala, *Carbohyd. Res.*, **2000**, 324, 127
62. C. Palopoli, S. Signorella, L. Sala, *New J. Chem.*, **1997**, 21, 343
63. J. Perez-Benito, C. Arias, *An. Quím.*, **1993**, 89, 636
64. J. Rocek, *Collect. Czech., Chem. Commun.*, **1960**, 25, 1052
65. M. Rahman, J. Rocek, *J Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, 5455
66. J. Rocek, C. Ng, *J. Org. Chem.*, **1973**, 38, 3348
67. Y. Israeli, C. Detellier, *Carbohyd. Res.*, **1997**, 297, 201
68. R. Codd, P. A. Lay, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 7864
69. S. P. Kaiwar, M. S. Raghavan, C. P. Rao, *Carbohyd. Res.*, **1994**, 256, 29

70. G. Barr-David, M. Charara, R. Codd, R. P. Farrell, J. A. Irwin, P. A. Lay, R. Bramley, S. Brumby, J. Y. Ji, G. R. Hanson, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1995**, 91, 1207
71. R. Bramley, J. Y. Ji, R. J. Judd, P. A. Lay, *Inorg. Chem.*, **1990**, 29, 3089
72. R. P. Farrell, R. J. Judd, P. A. Lay, R. Bramley, J. Y. Ji, *Inorg. Chem.*, **1989**, 28, 3401
73. V. P. Roldán, V. A. Daier, B. Goodman, M. I. Santoro, J. C. González, N.C. Calisto, S. R. Signorella, L. F. Sala, *Helv. Chim. Acta*, **2000**, 83, 3211