

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIA
ESCUELA DE QUÍMICA
CENTRO DE EQUILIBRIOS EN SOLUCIÓN



APORTE A LA QUÍMICA DEL $Zn(II)$ EN SOLUCIÓN ACUOSA.
SISTEMA TERNARIO $Zn(II)$ -His-Glu Y EL SISTEMA H^+ -His-Glu

Trabajo Especial de Grado presentado
ante la Ilustre Universidad Central de
Venezuela, por la T.S.U. Emily Siu-Ling
Niño Solorzano, para optar al título de
Licenciado en Química

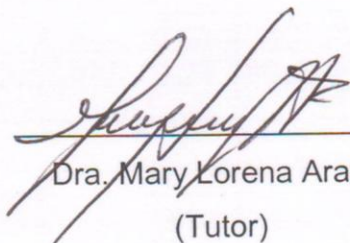
Tutor: Mary Lorena Araujo

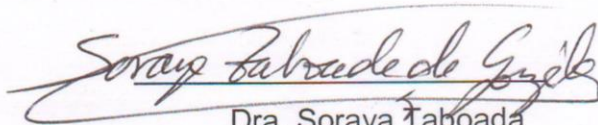
Caracas, Octubre 2018

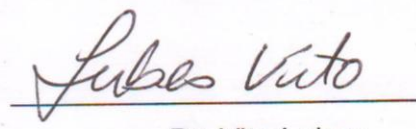
Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela (UCV), como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado

**APORTE A LA QUÍMICA DEL $Zn(II)$ EN SOLUCIÓN ACUOSA. SISTEMA
TERNARIO $Zn(II)$ -His-Glu Y EL SISTEMA H^+ -His-Glu.**

Presentado por T.S.U. Emily Siu-Ling Niño Solorzano C.I. 19.223.955, certificamos que éste trabajo cumple con los requisitos exigidos por la Normativa vigente de Trabajo Especial de Grado de la Escuela de Química.


Dra. Mary Lorena Araujo
(Tutor)


Dra. Soraya Taboada
(Jurado)


Dr. Vito Lubes
(Jurado)



Yo, Dra. Mary Lorena Araujo Profesora Investigadora Titular del Centro de Equilibrios en Solución de la Universidad Central de Venezuela (UCV).

Certifico que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

**APORTE A LA QUÍMICA DEL Zn(II) EN SOLUCIÓN ACUOSA. SISTEMA
TERNARIO Zn(II)-His-Glu Y EL SISTEMA H^+ -His-Glu.**

Que presenta la T.S.U. Emily Siu-Ling Niño Solorzano, C.I. 19.223.955, ha sido revisado por mi persona, por lo cual autorizo su presentación.



Mary Lorena Araujo

(Tutora)

RESUMEN

El siguiente trabajo se realizó el estudio de los sistemas H^+ -His-Glu y $Zn(II)$ -His-Glu empleando medidas de fuerzas electromotrices $emf(H)$ en $NaCl$ 3,0M a $25^\circ C$. El análisis de los datos experimentales fueron realizado empleando el programa computarizado de mínimos cuadrados LETAGROP, y fueron obtenidas las constantes de acidez del sistema H^+ -His- Glu, en términos de $\log \beta_{por}$ (a partir de las cuales fueron calculados los pK_a) y las constantes de estabilidad β_{pqrs} para los complejos ternarios (p,q,r,s) formados en el sistema $Zn(II)$ -His- Glu. Las siguientes tablas reúnen los resultados.

Tabla a. Constantes acidez de los ligandos His y Glu, en términos de $\log \beta_{por}$, obtenidas del recalcu de los datos de la literatura en el nivel C y las obtenidas en el análisis de los datos del sistema H^+ -His- Glu. Se reporta además la constante de acidez de la especie $H_2HisGlu$.

Histidina (His)		Ácido glutámico (Glu)	
Recalculo de los datos ref. 84 y 85 (nivel C)			
reacciones	log β _{p0r} (3σ)	Modelo	log β _{p0r} (3σ)
C ⁻ + H ⁺ ⇌ HC	9,32(2)	L ²⁻ + H ⁺ ⇌ HL ⁻	9,70(1)
C ⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ C ⁺	16,01(2)	L ²⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ L	14,08(1)
C ⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ C ²⁺	18,25(3)	L ²⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ L ⁺	16,56(1)
σ (θ _c)	0,04	σ (θ _L)	0,01
Valores obtenidos a partir del análisis del sistema H ⁺ -His-Glu (este trabajo)			
Histidina (His)		Ácido glutámico (Glu)	
	log β _{p0r} (3σ)	Modelo	log β _{p0r} (3σ)
C ⁻ + H ⁺ ⇌ HC	9,53(6)	L ²⁻ + H ⁺ ⇌ HL ⁻	max = 9,2
C ⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ C ⁺	14,86(5)	L ²⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ L	18,29(5)
C ⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ C ²⁺	17,12(6)	L ²⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ L ⁺	21.38(6)
[H ₂ HisGlu] ³⁺	22,53(6)		
σ (θ _L)	0,054		

Tabla b. Constantes de estabilidad de los complejos obtenidos para el sistema H^+ -Zn(II)-His-Glu en un medio iónico de NaCl 3,0M a 25°C.

Especie	$\log \beta_{pqrs} (3\sigma)$
$[ZnC(L)]^-$	21,8(2)
$HZnC(L)$	28,9(2)
$[H_2ZnC(L)]^+$	35,2(2)
$[H_3ZnC(L)]^{2+}$	40,6(1)
$[H_6ZnC_2(L)]^{4+}$	64,9 (max = 65,3)
$[H_4ZnC_2(L)]^{2+}$	54,9 (max = 55,2)
$\sigma (\theta_c)$	0,14

(C = histidina, L = glutámico)

Palabras claves: Equilibrio de solución, Zn(II), Ácido glutámico, Histidina, Potenciometría.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1. GENERALIDADES.....	14
1.2. QUÍMICA DEL ZINC.....	17
1.3. QUÍMICA DEL ZINC EN SOLUCIÓN ACUOSA.....	20
1.4. IMPORTANCIA BIOLÓGICA DEL ZINC.....	21
1.5. COMPLEJOS DE ZINC CON BIOMOLÉCULAS.....	28
1.6. QUÍMICA DE LOS LIGANDOS (LOS AMINOÁCIDOS).....	32
1.6.1. SISTEMA H^+ -HISTIDINA (His).....	35
1.6.2. SISTEMA H^+ -ÁCIDO GLUTÁMICO (Glu).....	37
1.7. COMPLEJOS BINARIOS Zn CON HISTIDINA Y ÁCIDO GLUTÁMICO.....	39
1.7.1. COMPLEJO Zn(II)-HISTIDINA (His).....	39
1.7.2. COMPLEJO Zn(II)-ÁCIDO GLUTÁMICO (Glu).....	44
1.8. SISTEMAS HIS-GLU, GLU-HIS y SISTEMAS TERNARIOS Zn(II)-HIS-GLU.....	45
2. OBJETIVOS.....	46
3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	47
3.1. CONSTANTES DE ESTABILIDAD DE LOS COMPLEJOS.....	47
3.2. LEY DE ACCIÓN DE MASAS.....	49
3.3. MEDIDA DE FUERZAS ELECTROMOTRICES.....	50
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	52
4.1. REACTIVOS A EMPLEAR.....	52
4.2. PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES.....	53
4.3. INSTRUMENTOS Y EQUIPOS DE MEDIDA.....	53
4.4. PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR LAS MEDIDAS DE emf (H).....	54
4.4.1. <i>Procedimiento de medida de emf(H) para el sistema H^+-ligando-ligando</i>	54
4.4.2. <i>Procedimiento de medida de emf(H) para los sistemas ternarios H^+-Zn(II)-Glu-His</i>	55
4.5. TRATAMIENTO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.....	55

5. RESULTADOS Y ANALISIS.....	58
6. CONCLUSIONES.....	69
7. BIBLIOGRAFÍA.....	70
8. ANEXOS.....	76

SIMBOLOS

h, b, c, ℓ	Concentración en equilibrio de H^+ , $Zn(II)$, His y Glu
H, B, C, L	Concentración en equilibrio de H^+ , $Zn(II)$, His y Glu
$\beta^*_{(p,q,r,s)}$	Constante de estabilidad para un complejo (p,q,r,s) en el nivel C
c_{pqrs}	Concentración en el equilibrio del complejo (p,q,r,s)
$\{H\}$	Disolución de ácido fuerte, HCl (0,1M) en NaCl 3,0M
$\{OH\}$	Disolución de base fuerte, NaOH (0,1M) en NaCl 3,0M
$\{mi\}$	Disolución de medio iónico NaCl 3,0M
M	Concentración Molar
$emf(H)$	Medida de fuerza electromotriz (EV)
E	Potencial en mV
E_0	Potencial estandar de la pila (mV)
J	Constante relacionada con el potencial de difusión en la unión líquida
REF	Semipila de referencia
EV	Electrodo de vidrio
T	Disolución titulante
U	Suma de los mínimos cuadrados
θ_c	Número medio de moles de protones asociados por mol de ligando
θ_c^*	Valores calculados por el modelo
$\sigma(\theta)$	Dispersiones dadas por $\sigma(\theta) = \sqrt{\frac{U}{((ns-np)-nk)}}$
ns	Número de experimentos
np	Número de puntos en un experimento
nk	Número de complejos
pH	$-\log h$
R	Relación metal ligando

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades del Zn.....	18
Tabla 2. Productos de hidrólisis del Zn^{2+} en diferentes escalas de actividades, reportados en la bibliografía.....	21
Tabla 3. Cantidades de Zn que deben ser consumidas en la dieta diaria recomendadas para las poblaciones.....	28
Tabla 4. Valores de pK_a para los 20 aminoácidos abundantes en las proteínas.....	34
Tabla 5. Valores de pK_a de la histidina reportados en la bibliografía, obtenidos en diferentes escalas de actividades.....	36
Tabla 6. Valores de pK_a del ácido glutámico reportados en la bibliografía, obtenidos en diferentes escalas de actividades.....	39
Tabla 7. Trabajos relacionados al estudio de la formación de complejos del sistema H^+ -Zn(II)-His.....	42
Tabla 8. Resumen de los complejos reportados en la bibliografía del sistema H^+ -Zn(II)-ácido glutámico, en diferentes escalas de actividades.....	45
Tabla 9. Relaciones metal:ligando:ligando R para los sistemas Zn-His-Glu.....	52
Tabla 10. Niveles de reacción para el sistema H^+ -Histidina-Ácido Glutámico.....	58
Tabla 11. Constantes de protonación, en términos de $\log \beta_{\text{por}}$, para el sistema H^+ -Histidina-Ácido Glutámico obtenidas en el nivel C ⁻ , en NaCl 3,0 M, a 25 °C, mediante medidas de <i>emf</i> (H).....	59
Tabla 12. Valores de pK_a del sistema H^+ -Histidina-Ácido Glutámico obtenidos en NaCl 3,0 M, a 25 °C, mediante <i>emf</i> (H).....	60
Tabla 13. Constantes de estabilidad de los complejos obtenidos para el sistema Zn(II)-Histidina en un medio iónico de NaCl 3,0M a 25°C.....	63
Tabla 14. Constantes de estabilidad de los complejos obtenidos para el sistema Zn(II)-Ácido Glutámico en un medio iónico de NaCl 3,0M a 25°C.....	64
Tabla 15. Constantes de estabilidad de los complejos obtenidos para el sistema Zn(II)-Histidina-Ácido Glutámico en un medio iónico de NaCl 3,0M a 25°C.	

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática del método indio para producir zinc.....	16
Figura 2. Estructura del acetilacetato, donde se evidencia dos átomos de Zn pentacoordinado (bipirámide trigonal distorsionada) y un átomo de Zn hexacoordinado.....	19
Figura 3. Representación esquemática de la distribución del zinc en mamíferos. Albúmina (ALB), α_2 -macroglobulina (α_2 -MG).....	23
Figura 4. Distribución esquemática del zinc en las células. proteína (P), proteína de transporte (ZRT), metolotioneína (MT).....	25
Figura 5. (a') Estructura de RMN de un dedo de zinc $[Zn(Cys)_2(His)_2]$ y esfera de coordinación del metal (PDB: 3ZNF). (b') A- Unión del ADN a una proteína "dedo de Zinc". B- Estructura de una secuencia de unión "dedo de Zinc"-ADN 20.....	27
Figura 6. Estructura de la carboxipeptidasa A (CPA) de Bos Taurus (PDB: 5CPA)...	30
Figura 7. Estructura de la anhidrasa carbónica humana II. Plegamiento de la proteína (PDB: 1CA2).....	31
Figura 8. Estructura básica de un α -aminoácido.....	33
Figura 9. Estructura de la L-histidina.....	35
Figura 10. Estructura del ácido glutámico (Glu).....	37
Figura 11. Curva θ_c (pH), para el sistema H^+ - His- Glu en NaCl 3,0 M, a 25 °C, obtenida mediante medidas de <i>emf</i> (H).....	59
Figura 12. Estructura propuesta de la formación de la especie $[H_2HisGlu]^-$	61

- Figura 13.** Diagrama de distribución de las especies del sistema H^+ -His-Glu en un medio iónico NaCl 3,0M a 25°C. *emf*(H).....62
- Figura 14.** Curva θ_c (*pH*), para el sistema Zn(II)-His-Glu en NaCl 3,0 M, a 25 °C, obtenida mediante medidas de *emf* (H), empleando las relaciones $R = 1:1:1$, $1:1:2$, $1:2:1$ y $1:4:1$64
- Figura 15.** Diagrama de distribución de las especies del sistema Zn(II)-His-Glu, obtenida en medio iónico de NaCl 3,0 M, a 25°C, *emf*(H) para $R = 1:1:1$65
- Figura 16.** Diagrama de distribución de las especies del sistema Zn(II)-His-Glu, obtenida en medio iónico de NaCl 3,0 M, a 25°C, *emf*(H) para $R = 1:1:2$66
- Figura 17.** Diagrama de distribución de las especies del sistema Zn(II)-His-Glu, obtenida en medio iónico de NaCl 3,0 M, a 25°C, *emf*(H) para $R = 1:2:1$66
- Figura 18.** Diagrama de distribución de las especies del sistema Zn(II)-His-Glu, obtenida en medio iónico de NaCl 3,0 M, a 25°C, *emf*(H) para $R = 1:4:1$67

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios, por colocarme las barreras que necesitaba para crecer no solo como profesional sino como individuo, por brindarme luz cuando no veía claridad y la fuerza para levantarme y seguir mi camino para lograr mis metas.

A mis padres, mi base, mis ejemplos a seguir, que con grandes sacrificios me han llevado a donde estoy. Su apoyo, dedicación y palabras de aliento fueron en muchas ocasiones el impulso que necesité para atreverme, buscar y encontrar lo que requería para seguir adelante. Dios no pudo darme mejor regalo que mis amados padres, he sido increíblemente bendecida y doy gracias por eso. Gracias a mi madre que siempre ha estado pendiente de mí, que me ha enseñado que nada es imposible, que con trabajo y esfuerzo no hay meta inalcanzable, solo hace falta ser constante. Gracias a mi padre, un ejemplo de lucha y de logros, de hombre correcto y honesto que me enseñó que los atajos no existen y que todo tiene su tiempo, su lección y su recompensa.

A mi familia, mis tíos, tía y abuelos; mi abuela Carmen un ser increíblemente alegre que me animaba a seguir entre risas y locuras haciéndome olvidar la angustia que podía tener. A mi Abuelo Armando, un ser de luz que, aunque no esta presente sus bases en humanidad, rectitud y humildad continúan en su legado, un ser ejemplar cuyas enseñanzas me han ayudado a ser quien soy.

A mi novio Mauricio, quien ha sido un apoyo incondicional en todo momento, no sólo académicamente sino también a nivel personal, me has brindado consuelo y fuerza cuando más lo necesité. Tuve la fortuna de encontrarte y que te convirtieras en mi compañero de traspaso, dudas, miedos, alegrías y triunfos. Gracias por mis tés nocturnos y por estar ahí ayudándome cuando sentía que ya no podía más.

Gracias a mi tutora Mary Lorena Araujo, haberla tenido como tutora en este proyecto fue una bendición. Muchas gracias por todo su esfuerzo y dedicación, por toda la enseñanza que ha dado en este tiempo y sobre todo por la gran oportunidad que me dio en este proyecto de tesis. Siempre le estaré muy agradecida, es una profesora y un ser humano increíble, aun no entiendo cómo puede hacer tanto por tantos.

Gracias a los docentes del CES, quienes con buena disposición siempre me ayudaron y me brindaron conocimiento cuando lo necesite, principalmente a la profesora Nataly Nunes, al profesor Julian Jaramillo.

Finalmente, gracias a mis amigos quienes me aconsejaron, me apoyaron y me regañaron para poder lograr esto. Entre locuras, alegrías, tristezas y risas (aun cuando se suponía que debíamos estar triste) me enseñaron que con amigos lo difícil es más sencillo. Ha sido una lucha difícil para todos y es muy grato saber y comprender que estamos los unos para los otros en todo momento.

INTRODUCCIÓN

1.1. GENERALIDADES

Desde el punto de vista bioquímico el zinc es un metal importante por diversas razones, que van desde su papel enzimático hasta sus funciones en la transcripción genética, pasando por su papel regulador en la neurotransmisión. Por esta razón resulta en un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo de todas las formas de vida. Muchos de los complejos de zinc son enzimas (conociéndose hasta ahora más de 300) y su función resulta en un gran campo de estudio. Algunos juegan un papel importante en la estabilización de filamentos (por ejemplo, las queratinas), en el mantenimiento de la integridad de orgánulos celulares, organización de cromosomas y gametos, y en funciones de modulación neuronal.¹

En condiciones normales adopta un único estado de oxidación estable, como Zn(II), por lo que este no puede intervenir en procesos REDOX biológicos directos; es decir aquellas reacciones en donde el zinc varíe su estado de oxidación.¹

La química de coordinación de Zn(II) viene marcada por el hecho de que es un d^{10} , resulta ser un catión pequeño de 0,69Å y un ácido de Lewis “frontera”. El pequeño radio favorece los números de coordinación bajos y su carácter de “frontera” hace frecuente las uniones con átomos dadores. Este metal es capaz de generar ligandos hidroxilo por hidrólisis de moléculas de agua de su esfera de hidratación. Un aspecto importante es que prefiere números de coordinación bajos (4 y 5) con geometría flexible, siendo precisamente esta flexibilidad una cualidad excelente para funcionar como centro catalítico. Se tiene que de las 490 estructuras de complejos de Zinc de bajo peso molecular analizadas en el año 1991 la mayoría presentó al metal con un número de coordinación 4 (58%), la coordinación de 5 en un 13% y un 27% tenían al zinc hexacoordinado. En solución acuosa resulta difícil la identificación de átomos dadores unidos al metal ya que en Zn(II) es diamagnético e incoloro y las técnicas experimentales más utilizadas en diagnosis estructural no son operativas en este caso.¹

El zinc puede acumularse en metaloproteínas de los tejidos y presenta afinidad por los grupos hidroxilos y tioles de las proteínas, péptidos, aminoácidos y ácidos nucleicos con diferentes efectos. Aunque muchas de las funciones de las metaloproteínas de zinc aún son un misterio, la información manejada en la actualidad es suficiente para comprender la importancia del papel bioinorgánico del elemento.¹

Mucho antes de que se descubriera el zinc como metal, este era empleado con fines médicos, para curar heridas y dolor en los ojos. Se sabe que finales del siglo XIII, Marco Polo describió la fabricación de óxido de Zn por los persas, que preparaban una solución de vitriolo de Zn para aliviar los ojos adoloridos. Sin embargo, se puede evidenciar la aparición frecuente de la palabra latón en el Antiguo Testamento, aunque existe poca evidencia de que se conociera que era una aleación de cobre y zinc.²

Alrededor del año 1200 D.C. se describe la producción de zinc metálico en el libro hindú Rasanarva, siglos más tarde (XIV) en la obra Rasaratnassamuchchaya se describe como el nuevo metal el cual se hizo calentando directamente calamina (mineral de Zn) con materia orgánica en un crisol cubierto con un condensador, desprendiendo vapores de zinc los cuales se enfriaron con aire en el condensador el cual se ubicaba debajo del crisol refractario, **figura 1**. Para finales de este siglo se evidencia el reconocimiento del zinc como un metal nuevo y su producción limitada por parte de los hindúes.²



Figura 1. Representación esquemática del método indio para producir zinc.²

En Zawar, Rajasthan, fueron halladas gran cantidad de pequeñas retortas que muestra la basta producción de Zn entre los siglos XII y XVI. Se produjo Zn metálico para la producción de latón y óxido de Zn para uso medicinal: se estima más de 130000 toneladas de residuos que aún permanecen en Zawar lo cual representa una extracción equivalente a 1.000.000 de toneladas de zinc metálico y de óxido de zinc².

En Europa, en el año 1546, Georgius Agricola reporta que un metal blanco fue condensado y raspado de las paredes del horno cuando el mineral Rammelsberg fue fundido en las montañas Harz para la obtención del oro y la plata, el cual se usaba para imitar el oro; dicho metal blanco frecuentemente consistía de zinc metálico, aunque no fue reconocido como tal. Ya alrededor de 1600 los científicos europeos tenían conocimiento de la existencia del Zn, sin embargo, todo el metal evaluado provenía del este por comerciantes portugueses, holandeses y árabes. Mientras tanto en China, la fabricación de Zn se desarrollo como una industria para satisfacer las necesidades para la fabricación de bronce, este conocimiento al parecer fue adquirido gracias a el libro Tien-kong-kai-ou publicado a principios del siglo XVII.²

El inglés William Champion, en un viaje a china, adquirió el conocimiento de la fundición deliberada de Zinc en un crisol y desarrolló un procedimiento de crisol vertical y en 1743 se fundó en Bristol una fundición de Zn en el Reino Unido. El

procedimiento consistía en que una cantidad de calamina y carbono eran sellados en un crisol de arcilla el cual tenía un orificio en la parte inferior. Dicho orificio estaba unido a una plancha en forma de tubo que iba hasta debajo del crisol hacia una cámara fría. El extremo cerrado del tubo de hierro se encontraba en una tina de agua en donde se recolectó el zinc metálico.²

Por otro lado, en 1746 Andreas Marggraf estableció la teoría básica de producción de Zn, sobre un método de extraer zinc de su verdadero mineral, calamina. Redujo la calamina con carbono en crisoles cerrados obteniendo Zn metálico. También demostró que los minerales de Plomo de Rammelsberg contenían zinc y que además este se podía preparar a partir de la esfalerita.²

Gracias a la resistencia del zinc a la corrosión fue descubierta hacia el 1805, en la producción de láminas. La producción de estas láminas de Zinc se hacía a entre 100 y 150 °C. Por otro lado, el proceso de galvanizado en caliente se introdujo en Francia en 1836, haciendo a escala industrial después del desarrollo de un proceso efectivo para limpiar superficies de hierro y acero.²

1.2. QUIMICA DEL ZINC

El Zn (con número atómico 30), junto con cadmio y el mercurio, forma el grupo 12 de la tabla periódica.⁴ Tiene una configuración electrónica $[\text{Ar}]3d^{10}4s^2$ y es el segundo elemento en abundancia entre los metales de transición y post-transicionales. Tiene una representación de 76ppm en la corteza terrestre, donde se encuentra principalmente como ZnS, aunque también se puede encontrarse como esfalerita (blenda de zinc), smithsonita o calamina, carbonato de zinc, willemita, Zi_2SiO_4 y óxido de zinc (ZnO). Aunque los minerales de zinc más importantes son el carbonato de zinc y el sulfuro de zinc.^{1,3}

Tiene unas características químicas parecidas a las del cadmio, pero muy distintas a las del mercurio. En la **tabla 1** se muestran algunas de las propiedades del zinc.

Tabla1. Propiedades del Zn.^{3,4}

Propiedad	Zn
Número atómico	30
Peso atómico (g/mol)	65,39
Electronegatividad	1,6
Densidad (g/mL) ^{25°C}	7,133
Configuración electrónica exterior	3d ¹⁰ 4s ²
1°Potencial de ionización (eV)	9,39
2°Potencial de ionización (eV)	17,89
3°Potencial de ionización (eV)	40,0
Punto de fusión (°C)	419
Punto de ebullición (°C)	907
Radio del ion divalente (Å)	0,69

Es un metal de color blanco brillante de aspecto lustroso pero que se opaca fácilmente, es singularmente volátil por ser un metal pesado. Presenta características químicas parecidas a las del cadmio, pero muy distintas a las del mercurio. El Zn reacciona con ácidos no oxidantes con liberación de hidrógeno y formación de los iones divalentes respectivos, también resulta soluble en bases fuertes debido a su tendencia formar iones zincatos, los cuales son representados de forma general como Zn_2^{-2} aunque la forma correcta sería $[Zn(OH)_3(H_2O)]^-$, $[Zn(OH)_3(H_2O)_3]^-$ o $[Zn(OH)_4]^-$. El zinc forma un gran número de aleaciones algunas de las cuales como el ejemplo el bronce posee una gran importancia desde el punto de vista técnico.³

Tanto el Zn como el Cd pueden formar aniones complejos, un ejemplo de complejos aniónicos que permite estudiar y apreciar las diferencias que existen en la coordinación del Zn y Cd resulta de la interacción de Zn(II) y Cd(II) con el anión SCN. Ambos cationes forman especies tetraédricas $[ML_4]^{2-}$, pero en el caso de Zn el ligando se une por medio del N mientras que en el Cd lo hace a través del S, lo que evidencia el incremento de carácter “blando” al bajar en el grupo. Otra fuente de compuestos de coordinación es el carácter de ácido Lewis de las moléculas ZnX_2 ; debido a esto, los haluros de Zn forman aductos con ligandos monodentados y bidentados, dando lugar a situaciones donde el metal alcanza una coordinación tetraédrica. Por otro lado, con ligandos polidentados con átomos dadores pequeños pueden originar números de coordinación mayores a cuatro pudiendo obtener una geometría piramidal cuadrada (pentacoordinado). También se conocen complejos neutros de Zn(II) hexacoordinados o pentacoordinados, un ejemplo de esto se muestra en la siguiente imagen con el $[Zn(acac)_2]_3$ con dos átomos de zinc pentacoordinado y un átomo hexacoordinado.¹

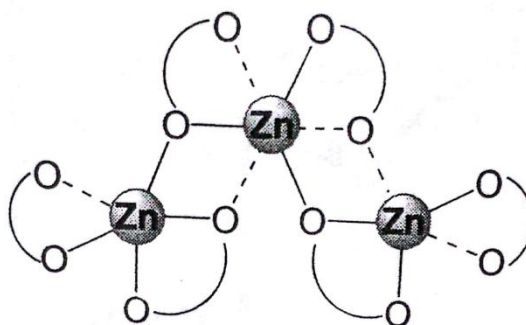


Figura2. Estructura del acetilacetonato, donde se evidencia dos átomos de Zn pentacoordinado (bipirámide trigonal distorsionada) y un átomo de Zn hexacoordinado.¹

1.3. QUÍMICA DEL ZINC EN SOLUCIÓN ACUOSA

El catión $\text{Zn}^{2+}_{(\text{ac})}$ ($[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ en las disoluciones habituales), tiene un tamaño significativamente mayor que el catión desnudo debido a su primera esfera de coordinación de moléculas de agua, tiene una relación q/r mucho menor que la del ion libre, por lo que se hidroliza poco en medio moderadamente ácido.¹

Schorsch,⁵ estudio la formación del zincato ($[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$) por métodos potenciométricos, modificando la concentración de Zn(II) ($B = 0,00125 \text{ M}$ a $0,01 \text{ M}$) y NaOH, con el uso de un electrodo de amalgama de zinc, en NaCl 3M a 25°C .⁷ Determinó que el ion $[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$ es la especie importante y que el complejo $[\text{Zn}_2(\text{OH})_6]^{2-}$ se encuentra en menor proporción.⁶ El Zn(II) se hidroliza muy poco en medio ácido para producir $[\text{ZnOH}]^+$ y $[\text{Zn}_2\text{OH}]^{3+}$ antes de que comience la precipitación en la región neutra. En medios básicos se forman $[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$ y tal vez $[\text{Zn}_2(\text{OH})_6]^{2-}$.^{7,8}

Schorsch⁹, Perrin¹⁰, Biedermann¹¹, Sekine¹², y Gübeli¹³, realizaron estudios de la hidrólisis del Zn(II); los tres primeros emplearon medidas de fuerzas electromotrices con diferentes electrolitos, Sekine utilizó medidas de extracción con disolvente (Benceno- NaClO_4 3M) con muy bajas concentraciones de Zn(II) y Gübeli hizo estudios de solubilidad del hidróxido como función del pH .⁷ Existe un consenso general entre los resultados de los estudios potenciométricos sobre la existencia de los complejos $[\text{ZnOH}]^+$ y $[\text{Zn}_2\text{OH}]^{3+}$ en pequeñas cantidades, como también, las medidas de solubilidad y extracción con solventes indican diferentes estabilidades tanto para $\text{Zn}(\text{OH})_2$ como para $[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$.^{7,8} La **tabla 2** resume diferentes trabajos reportados en la bibliografía sobre el estudio de la hidrólisis del Zn(II) en diferentes NaCl a 25°C .⁸

Tabla 2. Productos de hidrólisis del Zn^{2+} en diferentes escalas de actividades, reportados en la bibliografía.⁸

Medio	log β_{pq0}					Ref.
	$[\text{ZnOH}]^+$	$[\text{Zn}(\text{OH})_3]^-$	$[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$	$[\text{Zn}_2\text{OH}]^{3+}$	$[\text{Zn}_2(\text{OH})_6]^{2-}$	
NaCl 0,15M, 20°C	-8,2	-28,6				14
NaCl 0,15M, 25°C	-8,57					15
NaCl 2M, 25°C	-9,12			-7,48		6
NaCl 3M, 25°C	-9,25			-7,50		9
NaCl 3M, 25°C			-42,8		-57,7	6

Como se puede apreciar en la **tabla 2**, sólo una de las especies es coincidente en todos los trabajos y sus constantes de formación son bastante similares; en el resto de los trabajos, se presentan diferencias en cuanto a la especiación real de los productos de hidrólisis del $\text{Zn}(\text{II})$ y en los valores de sus constantes de formación, en las diferentes escalas de actividad reportadas.⁸

Resulta importante resaltar que aunque la existencia del ion hexacuocinc(II) en las disoluciones acuosas de sales con aniones poco coordinantes está fuera de toda duda, la presencia simultánea de otras especies con índice de hidratación menor como por ejemplo $[\text{Zn}(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ no puede descartarse. De hecho, se tiene que el número de coordinación 4 es muy frecuente en medios biológicos, en donde el metal se encuentra acompañado en muchas ocasiones de ligandos imidazol, una base con la que su enlace es particularmente fuerte¹.

1.4. IMPORTANCIA BIOLÓGICA DEL ZINC

La capacidad que presenta el átomo de zinc para participar en la unión al ligando fuerte pero fácilmente intercambiable, además de la flexibilidad en la geometría de coordinación del metal, ha demostrado su utilidad en sistemas biológicos.^{16,17} Mucho antes de conocer sus propiedades en el cuerpo este era un mineral significativo en la agricultura sin embargo fue hasta 1869 que Raulin, un estudiante de Louis

Pasteur, dio a conocer que el zinc era un nutriente requerido para el crecimiento de *Aspergillus niger*.^{18,19} Este hallazgo no fue relevante hasta que Bertrand y Javillier en 1911 confirmaron el descubrimiento de Raulin.^{18,20} Tres años más tarde, Maze informó que el maíz cultivado mediante el uso de métodos hidropónicos requería zinc para su crecimiento y desarrollo,^{18,21} este hecho fue el impulso para confirmar que las plantas requerían zinc para su desarrollo. No fue hasta 1926 que cuando Sommer y Lipman mostraron que se requería zinc para el crecimiento y desarrollo de los girasoles y la cebada.^{18,22} Este hallazgo dio como resultado que el zinc generalmente se reconoce como esencial para las plantas verdes superiores. Para el año 1961, *Prasad* y otros describen las implicaciones físicas en los humanos a causa de la deficiencia de zinc, conocido actualmente como síndrome de deficiencia de zinc.^{18,23}

En el cuerpo humano existe entre 2 y 3 gramos de este metal por 70Kg de peso y requiere de 10 a 20 miligramos de zinc diarios en la dieta. Este se encuentra distribuido en diferentes tipos de alimentos, en especial en aquellos derivados del reino animal, el pan integral, las legumbres secas y particularmente en los mariscos. El metal es adsorbido a través del intestino delgado, pero la mayor parte de la ingesta se excreta con las heces. La absorción parece tener lugar a través de mecanismos de difusión pasiva y por medio de proteínas transportadoras, **figura 3.**¹

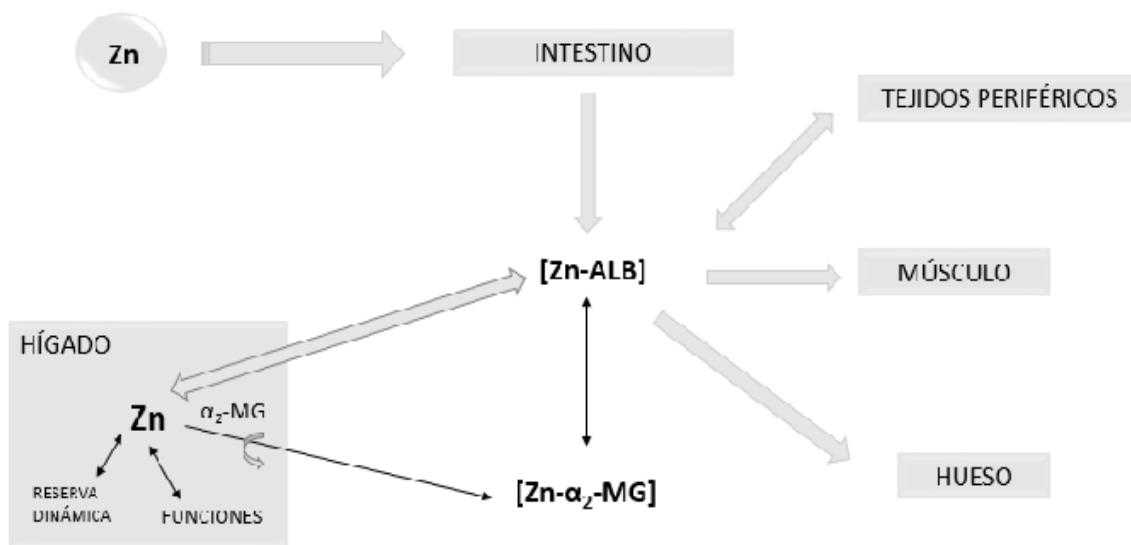


Figura3. Representación esquemática de la distribución del zinc en mamíferos. Albúmina (ALB), α_2 -macroglobulina (α_2 -MG).¹

Una vez en el torrente sanguíneo, se cree que la proteína de transporte principal a través del suero es la albúmina, que enlaza aproximadamente las dos terceras partes del metal presente, mientras que la α_2 -macroglobulina enlaza el otro tercio. También se puede encontrar a la transferrina puede tener una función importante en el transporte de este metal en suero, en donde puede presentar una competencia por el zinc con la albúmina.¹

En cuanto a su distribución macroscópica en humanos es muy poco homogénea, su concentración resulta alta en la próstata, en ciertas zonas del páncreas, el hígado, músculos y huesos (**figura 3**); siendo de baja disponibilidad metabólica en los últimos tres, por lo que se consideran depósito de zinc a largo plazo. Se tiene que la reserva más dinámica es la del hígado, desde donde puede pasar a formar parte de diversas biomoléculas.¹

La mayor parte del zinc se absorbido se encuentra dentro de las células, otra pequeña parte es asociada a la membrana celular y menos del 1% se encuentran en

los fluidos extracelulares.¹ Algunos átomos de zinc tienen funciones estructurales específicas en moléculas de enzimas, así como en muchas otras proteínas y en biomembranas.¹⁶ Estas funciones estructurales del zinc son de gran importancia en el metabolismo celular y subcelular. En las células eucariotas se supone que el metal atraviesa la membrana ayudado por proteínas transportadoras específicas y una vez en el citoplasma su concentración y permanencia es regulada por proteínas llamadas metalotioneínas.¹

Se han identificados dos familias de proteínas transportadoras, ZIP y CDF, que juegan un papel importante y complementario. Los transportadores pertenecientes a ZIP al parecer participan en la adquisición de zinc por parte de la célula y, por medio de al menos unos de sus miembros, participa en el transporte desde el compartimiento celular al citoplasma cuando éste tiene una deficiencia del metal. Por el contrario, las proteínas pertenecientes a la familia CDF facilitan la salida del zinc de la célula o la reubicación en organelas del zinc citoplasmático. En la **figura 4** se puede apreciar la reacción de una parte del Zn citoplasmático con las proteínas (Px) para formar metaloproteínas con diversas actividades biológicas o con el fin de transportar el metal al núcleo, a diversas organelas o a la membrana celular para allí formar nuevos complejos activos.¹

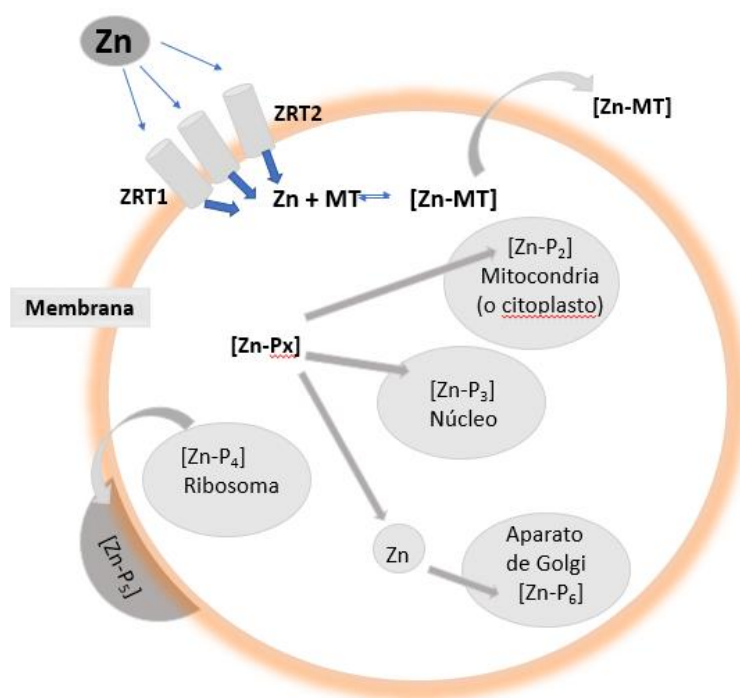


Figura 4. Distribución esquemática del zinc en las células. proteína (P), proteína de transporte (ZRT), metalotioneína (MT).

Finalmente, un aspecto importante es conocer que la estabilidad del complejo [Zn-MT] es muy alta ($K_d = 1,4 \times 10^{-13}$ M en metalotioneína humana a $pH=7$), probablemente más alta que la de los compuestos que forman muchas proteínas. Sin embargo, el metal puede transferirse desde un centro de alta afinidad con otro que tiene afinidad más baja, este comportamiento puede deberse al comportamiento reductor de la metalotioneína que hace relativamente fácil encontrar un oxidante biológico capaz de oxidarla.^{1,24,25} Esta forma oxidada contiene probablemente uniones disulfuro donde antes había grupos sulfidrilo asociados con restos cisteínicos: es decir, en ella se pierden los centros dadores que coordinan al Zn(II) y este es liberado, pudiendo ser capturado por Px. Por lo tanto, [ZnMT] funcionaría, según esta hipótesis, como un sistema regulador de Zn(II) sensible al estado de oxidación de la célula.^{1, 26,27,28}

Desde principios de los años 80's se sabe de la existencia de proteínas de Zn que reconocen secuencias específicas de bases del ADN y participan en la regulación de la transcripción. La ARN-polimerasa II (enzima que cataliza la síntesis de ARNm en el núcleo de las células eucarióticas), debe unirse en el inicio de la transcripción con secuencias conservadas en el ADN. Para que esto ocurra, es necesaria la participación de una serie de proteínas que interaccionan con la región promotora, con otra secuencia de regulación del gen, entre sí y con la ARN-polimerasa, favoreciendo la formación del complejo de inicio y la transcripción de un gen concreto en su correspondiente ARNm; dichas proteínas se conocen como factores de transcripción. Algunos de estos factores contienen motivos estructurales que reciben el nombre de “dedos de zinc”. ¹La configuración de los mismos, que determina su unión al ADN, está determinada por el único átomo de zinc en su base. La unión de estos dedos de zinc a los sitios correspondientes en el ADN inicia el proceso de transcripción y la expresión génica.¹⁶El interés por las proteínas es grande, por constituir objetivos potenciales para terapéuticos farmacológicos.²⁹

Se denominan dedos de zinc porque contienen agrupaciones o dominios estructurales capaces de “anclarse” en los surcos de la doble hélice del ADN como si fueran dedos. En plegamiento proteico más típico, el Zn(II) está coordinado a dos restos de cisteína y dos de histidina originando una geometría tetraédrica distorsionada (**figura 5**). Estos dedos se unen entre sí a través de cortas hélices, organizándose de modo que la α pueda contactar con el surco mayor del ADN, generándose un cierto efecto cooperativo entre ellos.^{1,30}

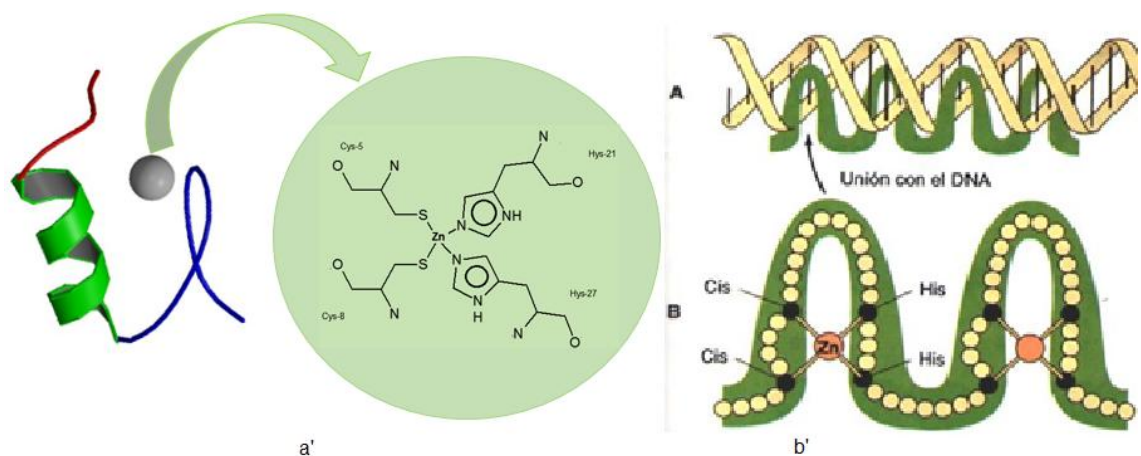


Figura 5. (a') Estructura de RMN de un dedo de zinc $[Zn(Cys)_2(His)_2]$ y esfera de coordinación del metal (PDB: 3ZNF). (b') A- Unión del ADN a una proteína "dedo de Zinc". B- Estructura de una secuencia de unión "dedo de Zinc"-ADN 20.³¹

Por lo ya expuesto, es de esperarse que una deficiencia de Zn en el cuerpo pueda acarrear grandes consecuencias en el organismo, Michael Hambidge discutió los aspectos clínicos de la deficiencia de zinc usando acrodermatitis enteropática como un ejemplo de la deficiencia de zinc más severa. La enfermedad es causada por mutaciones en la porción extracelular del transportador transmembranal de zinc; este transportador regula la absorción de zinc. Cuando no existe esta regulación, la deficiencia de zinc pronto se hace evidente produciendo morbilidad progresiva, que incluye acrodermatitis, detención del crecimiento, infecciones y finalmente la muerte.²⁴

En 1975 Hambidge y col.,³² estudiaron los efectos de la acrodermatitis enteropática materna tratada de forma no adecuada en los descendientes arrojando como resultado que algunos bebés presentaban malformaciones cerebrales.^{24,32} Lo que sugiere la presencia de una baja nutrición materna de Zn. Esta enfermedad incrementa su aparición de anencefalia fetal.^{24,33}

La **tabla 3** muestra las cantidades de Zn que deben ser consumidas diariamente, dependiendo de la población.³⁴

Tabla 3. Cantidades de Zn que deben ser consumidas en la dieta diaria recomendadas para las poblaciones.³⁴

Población	Cantidad Zn (mg)
Menores de 1 año	5
1-10 años	10
Mayores de 10 años	15
Mujeres embarazadas	20
Mujeres en lactancia	25

La deficiencia concurrente de zinc complica la morbilidad de las enfermedades crónicas mediante la supresión de la inmunidad, el aumento del estrés oxidativo y el aumento de la generación de citoquinas inflamatorias.²⁴ Por lo que resulta imperante lograr que la ingesta de Zn adecuada dentro de la dieta que sea adecuada al rango fisiológico, ya que a concentraciones muy altas puede interferir con el metabolismo normal del cobre, conduciendo a una anemia por deficiencia de este último.⁸

1.5. COMPLEJOS DE ZINC CON BIOMOLÉCULAS

Las enzimas son los catalizadores de los sistemas biológicos, las cuales no solo controlan la rapidez de las reacciones, sino que, permitiendo que se presenten varias geometrías en el estado de transición pueden abatir la energía de activación para la formación de un producto en lugar de otro. Su estructura fundamental se constituye de proteínas.³⁵ Se tiene que el Zn en sus enzimas puede desarrollar diferentes funciones.¹

- **Catalítica:** cuando el ion metálico se encuentra implicado directamente en la catálisis y su eliminación origina la pérdida de la actividad enzimática.
- **Cocatalítica:** cuando son necesarios dos o tres metales para que la enzima enlace su actividad completa y el zinc ocupa una posición muy próxima a otro centro metálico con el que está unido por un puente formado por un solo residuo de aminoácido y a veces también por una molécula de agua.
- **Estructural:** cuando el ion solo es necesario para mantener la estructura terciaria y, frecuentemente, la cuaternaria de la apoenzima.
- **Desconocida:** cuando el comportamiento del Zn no concuerda con ninguna de las ya expuestas.

Entre las enzimas más comunes que presentan interacción con el Zn están la *carboxipeptidasa A* (CPA) y la anhidrasa carbónica, las cuales han sido estudiadas por difracción de rayos X.

Carboxipeptidasa A (CPA)¹

Las proteasas que contienen zinc se clasifican habitualmente como metaloexoproteasa (ejerce su función hidrolítica en los extremos de la cadena polipeptídica) y metaloendoproteasas (actúan en algún punto intermedio). La CPA es, probablemente la carboxipeptidasa más estudiada, su función es catalizar la hidrólisis del enlace peptídico del C-terminal cuando la cadena lateral es un resto aromático o alifático ramificado de un L-aminoácido. Esta enzima también puede hidrolizar enlaces ésteres. Existen diferentes tipos de CPA que varían en la masa molecular y número de residuos aminoácido, en cuanto a esta se han aislado 3 formas, pero solo la estructura de una de ellas ha sido determinada con alta resolución por difracción de rayos X (**figura 6**).¹



Figura 6.Estructura de la carboxipeptidasa A (CPA) de Bos Taurus (PDB: 5CPA).¹

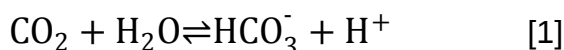
La estructura muestra la presencia de un átomo metálico por molécula de proteína y entre 300-307 residuos de aminoácidos, con un peso molecular de alrededor de 34600 y una forma de huevo con una dimensión entre 3800pm-5000pm^{35,36}. La fijación a la apoenzima se lleva a cabo a través de los N imidazólicos de las His69 y His196, y de los oxígenos del grupo carboxilato de un resto glutamato (Glu72) que es anisobidentado. Posiblemente se encuentre una molécula de agua en una quinta posición de coordinación. La agrupación formada por el Zn(II), His69, His196, Glu72 y agua, representa un típico centro de zinc catalítico, ya que esos centros contienen el metal coordinado siempre a una molécula de agua y unido a restos de His, Glu, Asp y Cys de los que, el primero, es el más frecuente. El número de coordinación del Zn catalítico es 4, o este caso, 5 y las esferas de coordinación son tetraédricas distorsionadas o bipiramidales trigonales.¹

En cuanto al mecanismo de acción, se tiene que el enlace peptídico que va a ser hidrolizado, de la cadena peptídica se sitúa en las proximidades del Zn una vez que el grupo carboxilato terminal es fijado por la Arg145 y otras interacciones con restos de aminoácidos anclan al sustrato, luego el grupo carbonilo del enlace peptídico a hidrolizar interacciona con la Arg127 lo que incrementa su acidez de Lewis, lo cual facilita el ataque nucleofílico del sistema H₂O/OH⁻ unido al Zn(II) sobre el carbono del carbonilo originando un posible desplazamiento de la coordinación del Glu72, finalmente se da una transferencia de un protón al grupo -NH del enlace peptídico a

hidrolizar y del segundo protón del agua de nuevo al Glu270, completándose la hidrólisis.¹

Anhidrasa Carbónica (AC)

Pertenece a las liasas, las cuales llevan a cabo la catálisis de reacciones de adición de grupos a dobles enlaces o la formación de éstos por eliminación de grupos. Contiene un átomo de zinc por número y fue la primera enzima de zinc descubierta en 1939.¹ Se encuentra en plantas y animales, en los procesos fisiológicos que requieren una rápida equi-liberación del CO₂, con HCO₃⁻ a *pH* cercano a 7, la cual no catalizada resulta muy lenta.³⁶ Cataliza la reacción reversible del CO₂ con agua tal como se muestra en la ecuación [1].¹



La velocidad de reacción enzimática es 10⁷ veces mayor que la del proceso no catalizado. Las anhidrasas carbónicas α- se encuentran en animales, algas y procariotas, mientras que las β- en plantas superiores, en algas y procariotas y las γ- han sido identificadas en la *archaea methanosarcina thermophila*, aunque también pudieran existir en plantas superiores y en procariotas.¹ En la **figura 7** se puede apreciar la estructura de la AC humana II.¹

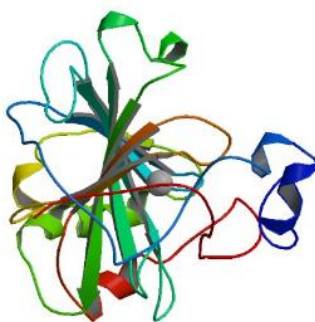


Figura 7. Estructura de la anhidrasa carbónica humana II. Plegamiento de la proteína (PDB: 1CA2).¹

En las α y γ-ACs, estudiadas, el Zn(II) se encuentra unido a tres grupos imidazólicos de residuos histidínicos (His94,96 y 119) completando su coordinación,

probablemente, con una o dos moléculas de agua. Un posible mecanismo de acción se basa en la formación de un ion hidroxilo unido al zinc a expensas de ionizar la molécula de agua de coordinación. Esta molécula tiene un pK_a muy bajo; la disminución del pK_a del agua a la coordinación del zinc además de la influencia de los grupos histidínicos que “cuelgan” dentro de la cavidad hidrofóbica. Posiblemente en el proceso de desprotonación un resto de histidina, próxima al centro activo, se vea involucrado tomando el protón empleando el átomo de nitrógeno no protonado presente en su estructura. Asimismo, otros residuos de histidina, podrían estar involucrados en el transporte de protones mediante un mecanismo de protonación/desprotonación del nitrógeno imidazólico. De esta manera el CO_2 , que al perecer se une a un punto del bolsillo hidrofóbico puede ser atacado por el grupo hidroxilo.¹

Como se puede apreciar, en las diferentes funciones del Zn dentro del organismo, el metal interactúa con diferentes tipos de proteínas las cuales están constituidas por residuos de aminoácidos. Dichos residuos, en especial los que se encuentran en el sitio activo, resulta de gran importancia en el mecanismo de acción del Zn, por lo que es imperante comprender las características químicas y estructurales básicas de los mismos.

1.6. QUIMICA DE LOS LIGANDOS (LOS AMINOACIDOS)

Las proteínas son polímeros que se forman a partir de monómeros de aminoácidos que se unen entre sí, cada uno de ellos contiene en su estructura un grupo amino y un grupo carboxílico que permiten a los aminoácidos unirse, mediante enlaces peptídicos. Un amino ácido puede tener un número de átomos de carbono, que separa estos dos grupos funcionales, sin embargo, aquellos en los que estos grupos funcionales se encuentren separados por un átomo de carbono se denominan α -aminoácidos (**figura 8**). En la naturaleza se encuentra una gran cantidad de

diferentes aminoácidos, pero solo 20 se encuentran abundantemente en las proteínas.³⁷

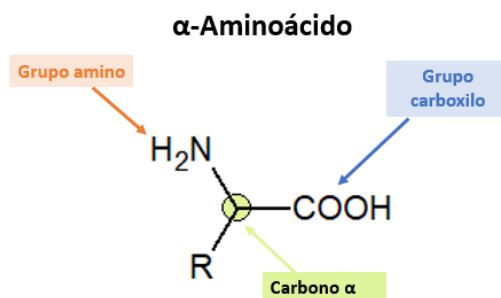
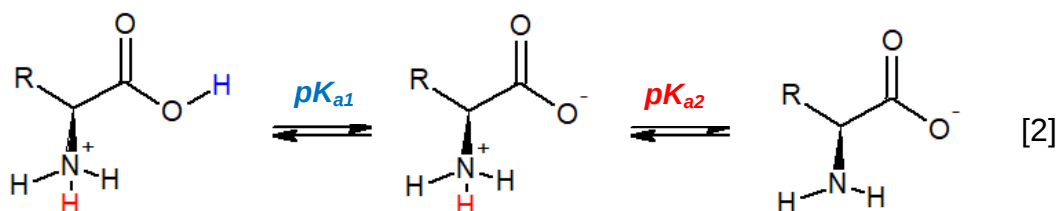


Figura 8. Estructura básica de un α-aminoácido.³⁷

Cuando un aminoácido se disuelve en solución ácida, ambos grupos funcionales existen fundamentalmente en su forma protonada. En donde cada protón presenta sus propios valores de pK_a , encontrándose en diferentes equilibrios ácido-base como se muestra en la ecuación [2].



En la ecuación [2] se observa que el protón de mayor carácter de acidez viene dado por aquel unido al ácido carboxílico, mientras que el segundo valor de pK_a está asociado a la acidez del grupo amonio. Algunos aminoácidos presentan en sus cadenas laterales grupos con características ácidas o básicas, por lo que estos aminoácidos presentarán un tercer valor de pK_a . La **tabla 4** resume los 20 aminoácidos más comunes y abundantes en las proteínas con sus correspondientes valores de pK_a .³⁷

Tabla 4. Valores de pK_a para los 20 aminoácidos abundantes en las proteínas.³⁷

Clasificación	Nombre	Abreviaturas	pK_a del grupo $\alpha - \text{COOH}$	pK_a del grupo $\alpha - \text{NH}_3^+$
Aminoácidos con cadenas laterales apoles	Alanina	A, Ala	2,34	9,69
	Glicina	G, Gly	2,34	9,60
	Isoleucina	I, Ile	2,36	9,68
	Metionina	M, Met	2,28	9,21
	Fenilalanina	F, Phe	1,83	9,13
	Leucina	L, Leu	2,36	9,60
	Valina	V, Val	2,32	9,62
	Triptófano	W, Trp	2,38	9,39
	Prolina	P, Pro	1,99	10,96
Aminoácidos con cadenas laterales polares	Asparagina	N, Asn	2,02	8,80
	Glutamina	Q, Gln	2,17	9,13
	Serina	S, Ser	2,21	9,15
	Treonina	T, Thr	2,11	9,62
	Tirosina	Y, Tyr	2,20	9,11
	Cisteína	C, Cys	1,96	10,28
Aminoácidos con cadenas laterales ácidas	Ácido aspártico	D, Asp	1,88	9,60
	Ácido glutámico	E, Glu	2,19	9,67
Aminoácidos con cadenas laterales básicas	Arginina	R, Arg	2,17	9,04
	Histidina	H, His	1,82	9,17
	Lisina	K, Lys	2,18	8,95

Al observar la tabla anterior, se puede apreciar que dependiendo de las características de la cadena R de los aminoácidos se encuentran agrupados, clasificándose en aminoácidos de cadena lateral apolar presentan en su estructura cadenas con carácter no polares e hidrofóbicas en donde los sustituyentes R son alifático, en el caso de la metionina con un átomo de azufre, y grupos aromáticos; los

aminoácidos con cadenas laterales polares (no ionizadas) los cuales presentan mayor solubilidad en agua gracias a que los grupos R presentan grupos funcionales sin carga, capaces de formar puentes de hidrogeno con el agua.^{37,38} Los aminoácidos con cadenas laterales ácidas presentan grupos R hidrófilos, pero con una carga neta negativa a *pH* 7. Mientras que aquellos de cadenas laterales básicas, presentan grupos R más hidrófilos, poseen carga positiva neta a *pH* 7.^{37,38,39}

1.6.1. SISTEMA H⁺-HISTIDINA (His)

El aminoácido L-histidina (His) fue descubierto de forma simultánea e independiente por Kossel y Hedin en 1896.⁴⁰ En la estructura de su cadena lateral presenta un anillo imidazol el cual pierde su protón a un *pH* aproximadamente 6, **figura 9**.³⁹

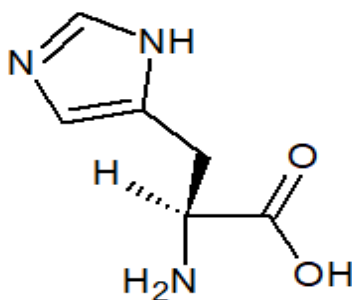


Figura 9. Estructura de la L-histidina.³⁹

Este anillo imidazol puede intercambiar protones cerca al *pH* fisiológico, esta propiedad le permite a la histidina participar en catálisis ácido-bases y, en consecuencia, está presente en los sitios activos de las proteínas.^{39,40}

Se tiene que el grupo imidazol no protonado presenta características nucleofílicas y puede actuar como una base, por ejemplo, en triadas catalíticas el N (básico) extrae protones de los residuos serina, treonina o cisteína, mientras que la forma protonada es ácido.

Por otro lado, el grupo de imidazol no protonado de His juega papeles importantes como nucleófilo en la transferencia de fosforilo y en la coordinación de iones metálicos en un rango de metaloproteínas, mejor conocido como dedos de zinc.⁴⁰ La histidina también juega un papel importante en la tolerancia de Ni en varias especies de plantas hiperacumuladoras de Ni, donde actúa como un ligando de enlace de Ni.⁴⁰

La His se descarboxila para generar histamina, la cual al ser segregada en el estómago fomenta la secreción del ácido clorhídrico y pepsina para facilitar la digestión. Además, es un vaso dilatador potente que se libera localmente en los lugares de traumatismo, inflamación o reacciones alérgicas.³⁹ Concluyendo que en los mamíferos la histidina es importante como el precursor de la farmacológicamente activa amina periférica y neurotransmisor central histamina. Cambios en el metabolismo de la histidina pueden ser importantes en el desarrollo de dermatitis fotosensible y deficiencia de zinc.⁴¹

La **tabla 5**, muestra los valores de pK_a reportados en la literatura, en diferentes escalas de actividades del sistema H^+ -His.

Tabla 5. Valores de pK_a de la histidina reportados en la bibliografía, obtenidos en diferentes escalas de actividades.

Medio iónico	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	Referencia
NaCl 0,15 M, 37 °C	1,677(3)	5,837(2)	8,750(1)	42
NaCl 0,15 M /25°C	-	6,06	9,11	43
NaCl 1,0 M, 25 °C	2,50(5)	6,26(7)	9,06(7)	44
NaCl 1,0 M, 25 °C	2,21(2)	6,33(1)	9,08(2)	45
NaCl 1,0 M, 25 °C	2,50(4)	6,25(3)	8,85(5)	46
NaCl 0,60 M / 25°C	-	6,147	9,103	47
NaCl 0,12 M/ 25°C	1,81	6,08	9,20	48
NaCl 0,15 M / 37°C	1,701	5,789	8,712	49
NaCl 0,15 M / 37°C	1,69	5,83	8,77	50
NaCl 1,0 M, 25 °C	1,89(2)	6,27(2)	9,14(1)	51

1.6.2. SISTEMA H⁺-ÁCIDO GLUTÁMICO (Glu)

El ácido glutámico presenta carga negativa neta a *pH* 7, el valor del *pK_a* es tan bajo que incluso cuando este aminoácido se incorpora en las proteínas la carga negativa de la cadena lateral se conserva en condiciones fisiológicas, por lo que su residuo se suele denominar como glutamato. El ácido glutámico, **figura 10**, presenta una fórmula condensada es C₅H₉NO₄ y un peso molecular de 147,13 g/mol.

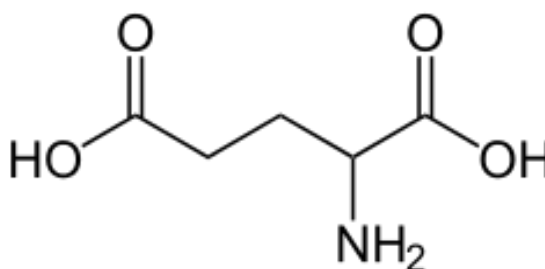


Figura 10. Estructura del ácido glutámico (Glu).

El glutamato experimenta reacciones de transaminación, reacciones que pueden producir intermediarios del ciclo del ácido cítrico, para obtener el α -cetoglutarato. Otra enzima, la glutamato deshidrogenasa, proporciona una ruta adicional para la síntesis de α -cetoglutarato a partir de glutamato. Al ser reversibles las transaminaciones y la reacción del glutamato deshidrogenasa pueden utilizarse tanto para la síntesis de los aminoácidos como para la reposición de los intermediarios del ciclo del ácido cítrico, según sean las necesidades de la célula.³⁹

El glutamato quizás sea uno de los aminoácidos más activos en cuanto al número de funciones metabólicas, este es el precursor de la glutamina, la arginina, la creatina fosfato, la prolina, la hidroxiprolina, las poliaminas, el glutatión y el ácido γ -aminobutírico. Una reacción importante del Glu es la reducción, con gasto de

energía, del grupo alfa-carboxilo para dar la γ -semialdehído glutámico conduciendo a la obtención de la prolina.³⁹

El glutamato actúa también como un neurotransmisor o como precursor de neurotransmisores. La necesidad de muchos tipos de neurotransmisores y de los correspondientes tipos de sinapsis deriva probablemente de la complejidad del sistema nervioso. Existen sinapsis, como la colinérgicas nicotínicas, y aquellas en las que interviene el glutamato, que son estimuladoras y promueven un potencial de acción en la célula post-sináptica. Por otro lado, trabajos recientes han implicado a los receptores de glutamato en el control del comportamiento adictivo.³⁹

Sin embargo el glutamato ingerido en grandes cantidades, como potenciador de sabor (glutamato monosódico), puede dañar el sistema nervioso central por exceso de estimulación. Por este motivo el glutamato monosódico fue retirado de la mayor parte de las leches artificiales infantiles.³⁹

La **tabla 6**, muestra los valores de pK_a reportados en la literatura, en diferentes escalas de actividades del sistema H^+ -Glu.

Tabla 6. Valores de pK_a del ácido glutámico reportados en la bibliografía, obtenidos en diferentes escalas de actividades.

Medio iónico M / °C	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	Ref.
NaCl 1,0M / 25°C	2,32(4)	4,15(3)	9,37(4)	44
NaCl 1,0 M / 25°C	2,27(3)	4,15(2)	9,36(4)	45
NaCl 1,0 M / 25 °C	2,41(3)	4,22(2)	9,31(2)	46
NaCl 1,0 M / 25 °C	2,39*	4,06*	9,50*	52
NaCl 1,0 M / 37 °C	---	4,26*	9,47*	53
NaCl 1,0 M / 25 °C	---	4,07*	9,50*	48
NaCl 0,15 M / 37 °C	---	4,1*	9,26*	48
NaCl 0,12 M / 25 °C	---	4,2*	9,67*	54

Valores dentro del () representa el error

1.7. COMPLEJOS BINARIOS DE ZINC CON HISTIDINA Y ÁCIDO GLUTÁMICO

1.7.1. SISTEMA Zn(II) –HISTIDINA (His)

Leberman y col.,^{55,8} reportaron la formación del complejo $[ZnL]^+$ (donde L = histidina), empleando medidas de fuerzas electromotrices, obteniendo que el valor de la constante de formación fue $\log \beta_{pqr} = 6,63$. En este trabajo no se menciona las condiciones del medio iónico empleadas.

W. Stack y col.,^{8,56} realizando estudios microcalorimétricos de la formación de complejos de metales de transición con aminoácidos, reportaron la formación del complejo ZnL_2 y su respectiva constante de formación ($\log \beta_{pqr} = 11,8$), empleando KNO_3 0.1 M a 21,3 °C. ⁴⁰

Raju y col.,^{8,57} empleando medidas termoquímicas y potenciométricas, estudiaron el efecto del campo ligando sobre los metales de transición Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II),

Cu(II) y Zn(II). Como las capas internas de éstos metales modifican las propiedades termodinámicas de los complejos formados con ligandos como la serina, treonina e histidina, en KNO_3 0.2 M, variando la temperatura entre 15 y 40 °C en las medidas potenciométricas. Reportaron la formación de dos especies el complejo $[\text{ZnL}]^+$: ($\log \beta_{\text{pqr}} = 7.01$ (15 °C), 6,91 (25 °C), 6,78 (40 °C) y para el caso del complejo ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 5,64$ (15 °C), 5,53 (25 °C), 5,37 (40 °C)).⁸

A.C. Andrews y col.,^{8,58} mediante estudios potenciométricos determinaron las constantes de formación de los complejos Zn-histidina, a varias temperaturas, 0, 15, 25 y 40 °C. Los complejos formados son: $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 7,00$ (0 °C), 6,78 (15 °C), 6,40 (40 °C) y 6,52 (40 °C) y el complejo ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 5,96$ (0 °C), 5,55 (15 °C), 5,02 (40 °C)).⁴⁰

A.Chakravorty y col.,^{8,59} reportaron la formación del complejo $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,57$) empleando KNO_3 0,2 M y 25 °C.⁴⁰

D. R. Williams,^{8,60} encontró que el Zn y la histidina forman una única especie, el complejo $[\text{ZnL}]^+$ con una constante de formación de $\log \beta_{\text{pqr}} = 7.09$, empleando medidas potenciométricas en NaClO_4 3,0 M a 25 °C.⁴⁰

R.P. Agarwal y col.,^{8,61} empleando KNO_3 0,15 M a 37°C, reportan la formación de tres especies con sus correspondientes constantes de formación; $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,22(1)$), ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 11,49(2)$) y el complejo $[\text{HZnL}]^{2+}$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 2,08(1)$).⁸

J.H Ritsma, reportó la formación del complejo $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,57$) a través de medidas potenciométricas en KNO_3 0,1 M en el estudio del sistema H^+ -Zn-His.^{8,62}

I. Sóvágó y col.,⁶³ reportaron la formación de los complejos $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,31$), ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 11,84$), $[\text{HZnL}]^{2+}$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 11,37$) y $[\text{HZn}_2\text{L}]^{4+}$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 17,55$), empleando medidas potenciométricas en KCl 0,2 M a 25 °C.⁸

A. Giuseppe y col.,⁶⁴ empleando medidas potenciométricas y calorimétricas en KNO_3 0,1 M a 25 °C, estudiaron la formación de los complejos entre el Zn(II) y la histidina, reportando la formación de las especies: $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,53(2)$), $[\text{HZnL}]^{2+}$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 11,37(2)$) y ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 11,92(2)$).⁸

M.S. El-Ezaby y col.,⁶⁵ empleando NaNO_3 0,15 M como medio iónico, a una temperatura de 37 °C reportan la formación de los complejos $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,411$) y ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 11,874$).⁸

V.P. Vasil'ev.,⁶⁶ empleando diferentes concentraciones de NaCl (0,2, 0,5 y 1,0 M) y temperaturas (15, 25 y 35 °C) reportó las constantes de formación de los complejos: $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,97(3)$ a 15°C; 6,80(2) a 25°C y 6,70(3) a 35°C, para NaCl 0,2 M) y ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 12,45(4)$ a 15°C; 12,24(3) a 25°C y 12,14(3) a 35°C, para NaCl 0,2 M); de igual forma para NaCl 0,5 M $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,89(2)$ a 15°C; 6,72(2) a 25°C y 6,56(3) a 35°C) y ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 12,30(3)$ a 15°C; 12,15(4) a 25°C y 12,01(4) a 35°C) y finalmente con el uso de NaCl 1,0 M: $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,78(3)$ a 15°C; 6,61(3) a 25°C y 6,51(4) a 35°C) y ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 12,24(3)$ a 15°C; 12,05(3) a 25°C y 11,94(4) a 35°C).⁸

P.R. Reddy y col.,⁶⁷ reportan la formación de complejos binarios y ternarios del Zn(II) con varios aminoácidos, en KNO_3 0,1 M a 35 °C. En el caso particular de la histidina como ligando, sugieren la formación de una única especie $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,35$).⁸

A. Rao,⁶⁸ estudió la formación de complejos binarios entre Co(II) , Ni(II) , Zn(II) , Cd(II) , Mn(II) , Mg(II) y Ca(II) con varios aminoácidos en KNO_3 0,2 M a 37 °C. En el caso particular del sistema Zn(II) -histidina, reporta solo la formación del complejo $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,34$).⁸

L.D. Couves y col.,⁶⁹ empleando medidas de resonancia magnética nuclear de ^{13}C , determinaron la formación del complejo $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,90$).⁸

P. Gockel y col.,⁷⁰ empleando KNO_3 0,1 M a 25 °C y a través de medidas de fuerzas electromotrices, reportaron la formación de los complejos $[\text{ZnL}]^+$ ($\log \beta_{\text{pqr}} = 6,90$ (2)) y ZnL_2 ($\log \beta_{\text{pqr}} = 12,03(2)$).⁸

En la **tabla 7** se resumen los trabajos mencionados en relación a los sistemas H^+ -Zn(II)-histidina.⁸

Tabla 7. Trabajos relacionados al estudio de la formación de complejos del sistema H^+ -Zn(II)-His.⁸

Especie	$\log \beta_{\text{pqr}}$	Condiciones	Ref.
$[\text{ZnL}]^+$	6.63	---	55
ZnL_2	11.8	KNO_3 0,1 M 21,3 °C	56
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2	7,01(15°C) 6,91(25°C) 6,78(40°C); 5,64(15°C) 5,53(25°C) 5,37(40°C)	KNO_3 0,2 M	57
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2	7.00(0°C) 6,78(15°C) 6,52(40°C); 5,96(0°C) 5,55(15°C) 5,02(40°C)	---	58
$[\text{ZnL}]^+$	6,57	KNO_3 0,2 M 25°C	59
$[\text{ZnL}]^+$	7,09	NaClO_4 3,0M 25°C	60
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2 $[\text{HZnL}]^{2+}$	6,22(1) 11,49(2) 2,08(1)	KNO_3 0,15 M 37°C	61

Continuación tabla 7...

Especie	log β_{pqr}	Condiciones	Ref.
$[\text{ZnL}]^+$	6,57	KNO_3 0,1 M 25°C	62
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2 $[\text{HZnL}]^{2+}$ $[\text{HZn}_2\text{L}]^{4+}$	6,31 11,84 11,37 17,55	KCl 0,2 M 25°C	63
$[\text{ZnL}]^+$ $[\text{HZnL}]^{2+}$ ZnL_2	6,53(2) 11,37(2) 11,92(2)	KNO_3 0,1 M 25°C	62
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2 $[\text{HZnL}]^{2+}$ $[\text{HZn}_2\text{L}]^{4+}$	6,31 11,84 11,37 17,55	KCl 0,2 M 25°C	63
$[\text{ZnL}]^+$ $[\text{HZnL}]^{2+}$ ZnL_2	6,53(2) 11,37(2) 11,92(2)	KNO_3 0,1 M 25°C	64
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2	6,411 11,874	NaNO_3 0,15 M 37°C	65
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2	6,97(3)(15°C); 6,80(2)(25°C); 6,70(3)(35°C) 12,45(4)(15°C) 12,24(3)(25°C) 12,14(3)(35°C)	NaCl 0,2 M	66
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2	6,89(2)(15°C) 6,72(2)(25°C) 6,56(3)(35°C) 12,30(3)(15°C) 12,15(4)(25°C) 12,01(4)(35°C)	NaCl 0,5 M	66
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2	6,78(3)(15°C) 6,61(3)(25°C) 6,51(4)(35°C) 12,24(3)(15°C) 12,05(3)(25°C) 11,94(4)(35°C)	NaCl 1,0 M	66
$[\text{ZnL}]^+$	6,35	KNO_3 0,1 M 35°C	67
$[\text{ZnL}]^+$	6,34	KNO_3 0,2 M 37°C	68
$[\text{ZnL}]^+$	6,90	RMN ^{13}C	69
$[\text{ZnL}]^+$ ZnL_2	6,90(2) 12,03(2)	KNO_3 0,1 M 25°C	70

1.7.2. SISTEMA Zn(II) - ÁCIDO GLUTÁMICO (Glu)

Albert,⁷¹ empleando medidas potenciométricas, estudió la formación de complejos para el sistema H^+ -Zn(II)-Glu, reportando la formación de una sola especie $[ZnL]^+$ con una constante de formación en términos de $\log \beta_{pqr} = 8,5$.⁸

D. Perkins,⁷² usando al $ZnSO_4$ 0,005 M a 20 °C, reportó la formación de una única especie, $[ZnL]^+$ ($\log \beta_{pqr} = 8,8$).⁸

V. Jokl,⁷³ reportó la formación de los complejos $[ZnL]^+$ ($\log \beta_{pqr} = 5,6$) y ZnL_2 ($\log \beta_{pqr} = 8,8$), obtenidos empleando medidas electroforéticas en KNO_3 0,1 M a 20 °C.⁸

J. Happe,⁷⁴ empleando medidas de resonancia magnética nuclear de ^{35}Cl , reportó la formación de la siguiente especie con su respectiva constante de formación: $HZnL$ ($\log \beta_{pqr} = 1,39$).⁸

D. N. Shelke,⁷⁵ empleando $NaClO_4$ 0,1 M a 30 °C y a través de medidas potenciométricas, reporta la formación de los complejos $[ZnL]^+$ ($\log \beta_{pqr} = 5,48$) y ZnL_2 ($\log \beta_{pqr} = 9,48$).⁸

E. Bottari,⁷⁶ reporta la formación de los complejos $[ZnL]^+$ ($\log \beta_{pqr} = 4,53(5)$), $[HZnL]^{2+}$ ($\log \beta_{pqr} = 10,25(10)$), ZnL_2 ($\log \beta_{pqr} = 7,79(7)$), $[HZnL_2]^+$ ($\log \beta_{pqr} = 15,44(6)$), $[ZnL_3]^-$ ($\log \beta_{pqr} = 9,41(10)$), $HZnL_3$ ($\log \beta_{pqr} = 18,90(6)$) y $[H_2ZnL_3]^+$ ($\log \beta_{pqr} = 25,08(8)$) empleando medidas de fuerzas electromotrices en $NaCl$ 1,0 M a 25 °C.⁸

La **tabla 8**, muestra en forma resumida los complejos y constantes de formación reportados en la bibliografía, para el sistema H^+ -Zn(II)-ácido glutámico.⁸

Tabla 8. Resumen de los complejos reportados en la bibliografía del sistema H^+ -Zn(II)-ácido glutámico, en diferentes escalas de actividades.

Especies	$\log \beta_{pqr}$	Condiciones	Ref.
$[ZnL]^+$	8,5	I = 0,01 M 20°C	71
$[ZnL]^+$	8,8	ZnSO ₄ 0,005 M 20°C	72
$[ZnL]^+$	5,6	KNO ₃ 0,10 M 20 °C	73
ZnL ₂	8,8		
HZnL	1,39	RMN ³⁵ Cl	74
$[ZnL]^+$	5,48	NaClO ₄ 0,1 M 30 °C	75
ZnL ₂	9,48		
$[ZnL]^+$	4,685(5)	NaClO ₄ 0,1 M 25 °C	50
ZnL ₂	8,470(8)		
$[(OH)ZnL_2]^-$	-1,19(2)		
$[ZnL]^+$	4,53(5)	NaCl 1,0 M 25 °C	76
$[HZnL]^{2+}$	10,25(10)		
ZnL ₂	7,79(7)		
$[HZnL_2]^+$	15,44(6)		
$[ZnL_3]^-$	9,41(10)		
HZnL ₃	18,90(6)		
$[H_2ZnL_3]^+$	25,08(8)		

1.8. SISTEMAS HIS-GLU y SISTEMA TERNARIO Zn(II)-HIS-GLU.

Se realizó una exhaustiva búsqueda de información acerca del estudio de formación los péptidos His-Glu y viceversa y sobre los sistemas ternarios Zn(II)-His-Glu y Zn(II)-Glu-Hii y no se encontró bibliografía relacionada con el tema.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la posible interacción del sistema His-Glu y la especiación de los complejos formados en el sistema ternario Zn(II) – His – Glu, mediante medidas de $emf(H)$ en el medio iónico NaCl 3.0 M a 25°C.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudiar el efecto del pH sobre la posible interacción del sistema H^+ -His-Glu, empleando medidas de $emf(H)$ en NaCl 3.0 M a 25 °C.
- Estudiar el efecto del pH sobre el sistema ternario Zn(II) – His – Glu, empleando medidas de $emf(H)$ en NaCl 3.0 M a 25 °C.

3. FUNDAMENTOS TEORICOS

3.1. CONSTANTES DE ESTABILIDAD DE LOS COMPLEJOS

Las propiedades de los iones metálicos en disolución dependen de la naturaleza de los x grupos ligantes ha sido ampliamente estudiado. Estos resultados suelen expresarse mediante la constante de estabilidad, y estas se encuentran vinculadas o no entre sí.⁷⁷

Si un sistema se encuentra en equilibrio a cierta temperatura, se sabe que el producto de las actividades de los productos de la reacción dividido por el producto de las actividades de los reactantes es igual a una constante denominada γ , la constante de equilibrio para la reacción dada, planteada por la ecuación [3]. Se tiene que la actividad de la especie química A es igual al producto de su concentración multiplicada por un coeficiente de actividad γ_A .⁷⁷

$$K = \frac{a_c^c a_d^d}{a_a^a a_b^b} = \text{cte} \quad [3]$$

Se tiene que las reacciones que forman complejos metálicos en disolución ocurren en etapas sucesivas y cada una de ellas posee una constante de equilibrio denominada *constante de estabilidad sucesiva* K_i . Estas constantes se denominan constantes de estabilidad, ya que cuanto mayor sea su valor, mayor será la concentración del complejo al que se refiere a alcanzar el estado de equilibrio.⁷⁷

Generalmente se emplea una segunda clase de constante de equilibrio llamada constante de estabilidad total, denominada β ; ésta se define como el producto de las constantes de equilibrio sucesivas respectivas. En un sistema que posee dos equilibrios sucesivos, $\beta_1 = K_1$ y $\beta_2 = K_1 \cdot K_2$; en general, se tendrá que $\beta_n = K_1 \cdot K_2 \cdots K_n$.⁷⁷

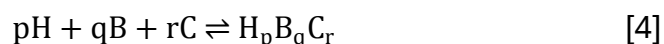
Desde el punto de vista termodinámico la constante de equilibrio de una reacción mide la cantidad de calor que se libera y la variación de la entropía que tuvo lugar durante la misma. A medida que la cantidad de calor liberado aumenta, mas estables son los productos de reacción. Cuanto mayor sea el desorden de los productos en relación con los reactivos, tanto mayor será el incremento de la entropía que acompaña la reacción, por lo tanto, mayor será la estabilidad de los productos.⁷⁷

La estabilidad relativa de muchos complejos se puede explicar basándose en un simple modelo electrostático, el cual permite predecir el calor de reacción producido durante la formación de un complejo. Sabiendo que las partículas electrizadas con cargas de diferente signo se atraen, pero se repelen si el signo de las cargas es el mismo y que dichas atracciones y repulsiones dependen de la distancia a la cual se encuentran las partículas cargadas, aumentando a medida que la distancia entre ellas es menor. Cuanto mayor sea su carga y mayor su radio, tanto mayor deberá ser la estabilidad del complejo resultante; por tanto, los iones pequeños están favorecidos porque pueden acercarse más. Así, la estabilidad de los complejos debiera aumentar con la carga del ion metálico, aunque esta dependencia varía con el tamaño del ion, es decir, un catión muy pequeño dotado de dos caras puede formar complejos de estabilidad comparable a la de los complejos de cationes más grandes de mayor carga. A pesar de ello, la relación carga/radio juega un papel más importante que la carga por sí misma o el radio, ya que se ha encontrado que mientras mayor sea la relación carga/radio, mayor será la estabilidad del complejo formado.^{8,77}

3.2. LEY DE ACCIÓN DE MASAS

Como se explicó anteriormente la velocidad, de una reacción química es proporcional al producto de las actividades de las sustancias reaccionantes elevada a una potencia igual al coeficiente que se produce en la ecuación química.⁷⁷

La interacción entre los reactivos H, B, C en una disolución acuosa, para formar complejos del tipo $H_pB_qC_r$ según la ecuación [4], puede ser expresada mediante la ecuación 5.^{8,78}



$$c_{pqr} = \theta_{pqr} \beta_{pqr} h^p b^q c^r \quad [5]$$

Nota: las cargas son omitidas por brevedad

Donde h, b, c son las concentraciones en equilibrio de los reactivos H, B, C, c_{pqr} representa la concentración para un complejo (p, q, r), θ_{pqr} el producto de los coeficientes de actividad para un complejo (p,q,r) y β_{pqr} la constante de equilibrio para un complejo (p,q,r).^{8,79}

Desde hace varios años se ha implementado el uso del método del medio iónico en el estudio de equilibrios de disolución, empleando una disolución concentrada de una sal inerte, como NaCl y mantener la concentración de las especies reaccionantes, y productos (p,q,r) mucho más baja que la de los iones del medio, es decir, Na^+ y Cl^- , entonces es posible emplear concentraciones en lugar de actividades en expresiones termodinámicas como la ley de acción de masas, la ecuación de Nernst.^{79,8}

Aunque no lo parezca, esto es igual de válido que al emplear, ya que la única diferencia radica en que se está utilizando una escala de actividades diferentes. Similarmente al caso del agua como disolvente, la escala de actividades del medio

iónico se define considerando que los coeficientes de actividad se acercan a la unidad, conforme la composición de la disolución se acerca a la del medio iónico en cuestión. Además, se ha demostrado que los coeficientes de actividad permanecen constantes e iguales a la unidad, dentro de los errores experimentales, siempre que las concentraciones de los reactivos y productos se mantengan a un nivel inferior a un 20% de la concentración de los iones del medio.^{8,80}

Cuando se emplea el agua como disolvente, β_{pqr} realmente no se conoce, ya que β° varía considerablemente con la fuerza iónica y, por lo tanto, su valor se calcula extrapolando la fuerza iónica igual a cero. Al utilizar un medio iónico inerte de concentración elevada, se mantienen las concentraciones de reactivos y complejos mucho más bajas que las de los iones del medio, puesto que β_{pqr} se mantiene constante y por definición igual a uno, es decir se cumple la ecuación [6].^{8,81}

$$\log \beta_{pqr} = \log \beta^\circ_{pqr} \quad [6]$$

En contraste al caso de la escala de actividades del agua, β_{pqr} puede considerarse como la constante termodinámica β°_{pqr} en el medio iónico inerte elegido como disolvente, cumpliéndose 6. De aquí la gran ventaja de esta escala de actividades del medio iónico sobre la escala tradicional del agua.^{8,81}

3.3. MEDIDA DE FUERZAS ELECTROMOTRICES

La determinación experimental de las constantes de estabilidad una tarea de gran importancia, que con frecuencia puede resultar complejo. Las constantes de equilibrio pueden medirse experimentalmente por muchos métodos diferentes. El método más adecuado para la determinación de las mismas, es la medida de fuerzas electromotrices, porque determina por los menos una de las concentraciones de las especies iónicas en el equilibrio con muy buena exactitud y sin suposiciones.^{8,82}

La técnica electroanalítica más simple para la determinación de constantes de estabilidad es la que hace uso del electrodo de vidrio. Este electrodo constituye el componente fundamental del aparato para medir el pH en el laboratorio y determinar la actividad de los iones H^+ en disolución⁷⁷. Los métodos potenciométricos se basan en la medida del potencial eléctrico (respecto a una referencia) de un electrodo sumergido en la disolución problema, a partir de la cual es posible establecer la concentración de la misma directa o indirectamente. La concentración de los H^+ en equilibrio h, puede ser determinada empleando una celda como la mostrada en la ecuación [7] donde REF es el electrodo de referencia (KCl 3.0 M / KCl 3.0 M, AgCl / Ag); S es la disolución problema en equilibrio y EV es el electrodo de vidrio.^{8,82}



A 25°C el potencial de la pila [7], puede ser determinado empleando la ecuación de Nernst [8], donde E_o es el potencial normal y J es una constante relacionada con el potencial de difusión de la unión líquida.^{8,82}

$$E = E_o + J h + 59,16 \log h \quad [8]$$

En disoluciones que contengan solo ácido o base fuerte, se cumple el balance de H^+ 9, y a $pH < 7$, $h = H$, por lo tanto, al sustituir este valor en la ecuación 9, se puede comprobar el funcionamiento de la pila [7], valorando una alícuota de la solución {H} por adiciones sucesivas de la solución {OH} para determinar los parámetros E_o y J de la ecuación [8].^{8,82}

$$h = H + K_w h^{-1} \quad [9]$$

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

A continuación, se presenta el procedimiento experimental seguido en el desarrollo experimental de este trabajo. Fueron empleadas diferentes relaciones **R**, metal:ligando:ligando **tabla 9**.

Tabla 9. Relaciones metal:ligando:ligando **R** para los sistemas Zn-His-Glu.

Zn(II)	His	Glu
1	1	1
1	1	2
1	2	1
1	4	1

4.1. REACTIVOS

- HCl 98.9 % Merck
- NaOH p.a % Merck
- NaCl Merck
- Ftalato ácido de potasio ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) Riedel-de-Haën, Sigma-Aldrich
- N_2 libre de CO_2
- Agua tridestilada
- Ácido glutámico p.a Merck
- Histidina p.a Merck
- Cloruro de zinc, p.a Merck
- EDTA, p.a Merck

4.2. PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

- [OH]: (OH^- 0,100 M, NaCl 3,0 M) Se pesó el NaCl seco y se disolvió en agua tridestilada, la cual fue previamente llevada hasta ebullición durante 30 min, posteriormente se pesó el NaOH y se disolvió en agua tridestilada. La solución se aforo en atmosfera inerte de N_2 . Esta solución fue estandarizada frente a ftalato ácido de potasio recristalizado y seco ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$).
- [H^+]: (H^+ 0,100 M, NaCl 3,0 M) fue preparada a partir de un volumen HCl de una disolución madre, disolviendo en el medio NaCl seco y aforando a 1,0L con agua tridestilada. La solución fue valorada frente a la disolución valorada de {OH}.
- [Zn(II)]: (ZnCl_2 B M) fue preparada por pesada del producto seco el cual será disuelto en agua tridestilada. Posteriormente se normalizó frente a una solución de EDTA 0,05 M utilizando como indicador Ditizona.
- [mi]: La disolución de medio iónico 3,0 M se preparó por pesada con NaCl seco el cual fue disuelto en agua tridestilada y se llevó a un aforo de 1,0 L.
- Los aminoácidos: fueron empleados por pesada directa del producto comercial seco.

4.3. INSTRUMENTOS Y EQUIPOS DE MEDIDA

- Material volumétrico previamente calibrado.
- Electrodo de vidrio con referencia interna Radiometer pH2401-8.

- Potenciómetro Orión 420 A+.
- Baño - termostato de agua fabricado en el Centro de Equilibrios en solución (CES).
- Reactor de vidrio Metrohm EA 876-5.
- Balanza Analítica.
- Sistema de agitación.
- Vasos lavadores de Ar.
- Bombona de Ar.

4.4. PROCEDIMIENTO DE MEDIDAS

Las medidas de $emf(H)$, se llevaron a cabo valorando una disolución **S** contenida en el reactor, con alícuotas sucesivas de una disolución **T** añadidas desde una bureta. Se utilizaron un reactor de vidrio Pyrex de paredes dobles, termostatado a 25,0 °C. El reactor estuvo provisto de una tapa con varias bocas disponibles, en las cuáles se colocó el electrodo de vidrio, la bureta, la entrada y la salida de gases.

La disolución del reactor se mantuvo con agitación magnética bajo atmósfera de Ar, libre de CO₂ y O₂, burbujeando el gas a través de una serie de vasos lavadores que contenían disoluciones de V(II) en medio ácido y en presencia de Zn(Hg), HCl 0,1 M, NaOH 0,1M y NaCl 3,0M respectivamente, con el fin de eliminar O₂, impurezas básicas, impurezas ácidas y mantener la presión de vapor del medio iónico. El equipo, también se mantuvo en un ambiente termostatado a 25 °C.

4.4.1. Sistema H⁺-His-Glu

La determinación de la constante de acidez de los aminoácidos, se realizó en dos etapas, en la primera se determinaron los parámetros E₀ y J de la ecuación [8] correspondiente a la pila representada en la ecuación [7], por medio de una titulación con la disolución {OH} de la disolución {H} que estará contenida en el reactor. En la

segunda etapa, culminada la primera etapa y sin remover los electrodos, se agregó una alícuota de solución ácida y se pesó cantidades precisas de cada uno de los aminoácidos, una vez disueltos se titularon con la disolución {OH}, para determinar los valores de las constantes de acidez de esta mezcla ligandos.

4.4.2. Sistema ternario Zn(II)- His-Glu

En el estudio del sistema ternario, después de culminar la etapa uno y sin remover los electrodos (segunda etapa), se agregó una alícuota de la disolución de {H} y una alícuota de solución de Zn(II) al reactor. Seguidamente se añadió una cantidad pesada de cada aminoácido. Se emplearon diferentes relaciones ligando:metal **R**. Una vez disuelto los reactivos y alcanzado el equilibrio se añadieron cantidades sucesivas de la disolución {OH}, con la finalidad de determinar la estequiometria del sistema (p,q,r,s) y las constantes de estabilidad β_{pqrs} de las especies formadas en este sistema de tres componentes.

4.5. TRATAMIENTO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

Los datos fueron analizados empleando la función de formación [10]. La función θ_C por ejemplo, representa el número medio de moles de protones asociados por mol de ligando, mostrada en la ecuación [10], permite manejar e interpretar la data de medidas de fuerzas electromotrices (*emf*) de una forma más sencilla.⁸

$$\theta_C = \frac{H-h+a}{C} \quad [10]$$

Donde h y a representan las concentraciones en el equilibrio de H^+ y OH^- y las letras mayúsculas H y C las concentraciones totales analíticas de protones y ligando.

Diferentes programas computacionales, como el LETAGROP,⁸³ ha sido empleados para la determinación de constantes de equilibrio.

Para determinar los valores de los parámetros Eo y J de la primera etapa, se realiza una titulación ácido – base, los datos obtenidos de esta etapa son analizados empleando el programa LETAGROP,⁸³ minimizando la ecuación [12], empleando el método de mínimos cuadrados.

$$U = \sum (h-H)^2 \quad [12]$$

Los mínimos cuadrados, es una técnica de análisis numérico encuadrada dentro de la optimización matemática, en la que, dados un conjunto de pares (o ternas, etc.), se intenta encontrar la función que mejor se aproxime a los datos (un "mejor ajuste"), de acuerdo con el criterio de mínimo error cuadrático. El *método de los mínimos cuadrados ordinarios* consiste entonces en hacer mínima la suma de los cuadrados residuales, es decir lo que tenemos que hacer es hallar los estimadores que hagan que esta suma sea lo más pequeña posible.⁸³

Ahora bien, si tenemos n conjunto de datos [13], por ejemplo, para un complejo $H_pB_qC_rL_s$.

$$\theta_C(pH, H, B, C, L)_{ns} \quad [13]$$

Se puede suponer entonces un modelo [14] de especies más probable:

$$(p, q, r, s \beta_{pqrs})_{ns} \quad [14]$$

cuyos correspondientes valores calculados del modelo [13] vendrá definido por el siguiente conjunto de datos, que por simplicidad lo llamaremos *modelo*, según [15],⁸

$$\theta_C^*(pH, B, C, L (p,q,r,s \beta_{pqrs}))_{nk} \quad [15]$$

Donde nk representa las nk constantes β_{pqr} . Los errores sistemáticos en Eo, J y en las concentraciones H, B y C los denominaremos nks según la expresión [16].

$$U = U((\beta_{pqr})_{nk}, (ks)_{nks}) \quad [16]$$

Se puede buscar entonces uno que incluya todas las especies razonablemente posibles, variando sistemáticamente la combinación de constantes de equilibrio y errores, hasta alcanzar un valor mínimo de las sumas de mínimos cuadrados U o bien, de las respectivas dispersiones 17, donde ns, es el n° de experimentos y (n = ns.np) el n° de datos en cada uno de ellos, siendo np el número de puntos en cada caso.⁸

$$\sigma(\theta) = \sqrt{\frac{U}{((ns-np)-nk)}} \quad [17]$$

La función que se minimiza en este caso viene dada por la ecuación [18].

$$U_2 = \sum (\theta_c - \theta_c^*)^2 \quad [18]$$

5. RESULTADOS Y ANALISIS

5.1. SISTEMA H^+ -HIS-GLU

Para el estudio de este sistema fueron empleados los datos obtenidos por Nunes ⁸⁴ y Jaramillo, ⁸⁵ los cuales fueron recalculados en el nivel C, la **tabla 10** muestra los valores obtenidos en términos de $\log \beta_{por}$ para los sistemas individuales H^+ -His y H^+ -Glu.

Tabla 10. Valores de las constantes de acidez de los sistemas H^+ -His y H^+ -Glu, en términos de $\log \beta_{por}$ en el nivel C, obtenidas a partir del recalcu de los datos reportados por Nunes ⁸⁴ y Jaramillo ⁸⁵.

Histidina (His)		Ácido glutámico (Glu)	
Recalculo de los datos ref. 84 y 85 (nivel C)			
reacciones	log β _{p0r} (3σ)	Modelo	log β _{p0r} (3σ)
C ⁻ + H ⁺ ⇌ HC	9,32(2)	L ²⁻ + H ⁺ ⇌ HL ⁻	9,70(1)
C ⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ C ⁺	16,01(2)	L ²⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ L	14,08(1)
C ⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ C ²⁺	18,25(3)	L ²⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ L ⁺	16,56(1)
σ (θ _c)	0,04	σ (θ _L)	0,01

Estas constantes fueron empleadas para el estudio del sistema H^+ -His-Glu.

Los datos obtenidos del sistema H^+ -His-Glu fueron tratados con el programa de mínimos cuadrados LETAGROP⁸³ minimizando la función $\theta_c(pH)$. La **tabla 11** muestra los resultados obtenidos en el estudio de este sistema.

Tabla 11. Constante de acidez del sistema H^+ -His-Glu en términos de $\log \beta_{\text{por}}$ en el nivel C.

Modelo	Especie	$\log \beta_{\text{por}} (3\sigma)$
2 1 1	$[\text{H}_2\text{HisGlu}]^-$	22,53(6)
$\sigma (\theta_c)$	0,054	

En la **figura 11** se presentan los valores de $\theta_c(\text{pH})$ para el sistema de H^+ -His-Glu. Los puntos representan los datos experimentales y la curva de trazo continuo el modelo propuesto, se puede apreciar un buen ajuste entre el modelo de especies propuesto y la data experimental obtenida.

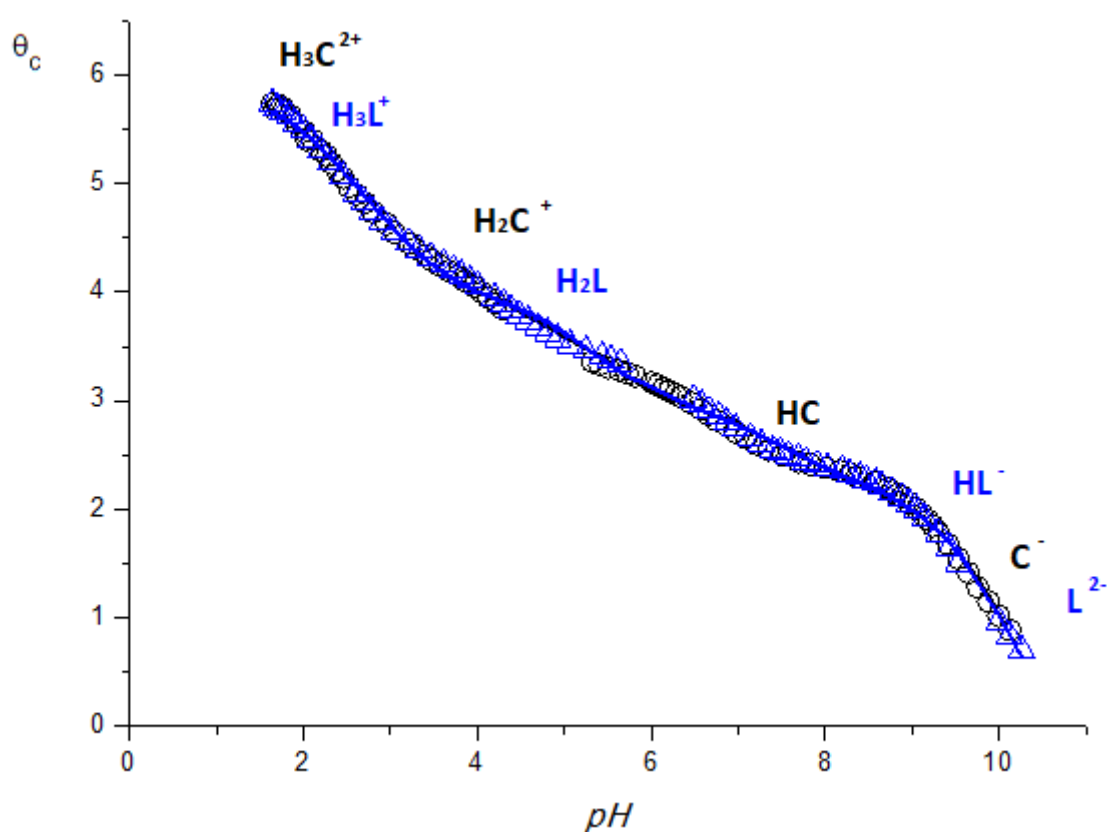


Figura 11. Curva $\theta_c (\text{pH})$, para el sistema H^+ -His-Glu en NaCl 3,0 M, a 25 °C, obtenida mediante medidas de emf (H).

Como se puede apreciar en el grafico anterior que a $pH \leq 2$ y θ_c igual 6, coexisten las especies protonadas H_3C^{2+} y H_3L^+ . En el intervalo $3 \leq pH \leq 5$ se encuentran las especies H_2C^+ y H_2L . Para un $\theta_c \sim 3$ se presenta la especie HC la cual posteriormente pierde su protón para formar la especie C^- de la histidina en el intervalo $9 \leq pH \leq 10$. Por otro lado la especie H_2L pierde de forma consecutiva ambos protones para formar HL^- y L^{2-} a pH más alcalino.

Es interesante ver la influencia que tienen las especies presentes en la mezcla de histidina y de ácido glutámico, en la **tabla 12** se observa los valores de las constantes de protonación de éstos ligandos, cuando son obtenidas de manera independiente y cuando son mezclados ambos aminoácidos.

Tabla 12. Constantes acidez de los ligandos His y Glu, en términos de $\log \beta_{por}$, obtenidas del recalcu de los datos de la literatura en el nivel C y las obtenidas en el análisis de los datos del sistema H^+ -His- Glu.

Histidina (His)		Ácido glutámico (Glu)	
Recalculo de los datos ref. 84 y 85 (nivel C)			
reacciones	log β _{p0r} (3σ)	Modelo	log β _{p0r} (3σ)
C ⁻ + H ⁺ ⇌ HC	9,32(2)	L ²⁻ + H ⁺ ⇌ HL ⁻	9,70(1)
C ⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ C ⁺	16,01(2)	L ²⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ L	14,08(1)
C ⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ C ²⁺	18,25(3)	L ²⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ L ⁺	16,56(1)
σ (θ _c)	0,04	σ (θ _L)	0,01
Valores obtenidos a partir del análisis del sistema H ⁺ -His-Glu (este trabajo)			
Histidina (His)		Ácido glutámico (Glu)	
	log β _{p0r} (3σ)	Modelo	log β _{p0r} (3σ)
C ⁻ + H ⁺ ⇌ HC	9,53(6)	L ²⁻ + H ⁺ ⇌ HL ⁻	max = 9,2
C ⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ C ⁺	14,86(5)	L ²⁻ + 2H ⁺ ⇌ H ₂ L	18,29(5)
C ⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ C ²⁺	17,12(6)	L ²⁻ + 3H ⁺ ⇌ H ₃ L ⁺	21.38(6)
σ (θ _L)	0,054		

Estos resultados están en concordancia a lo reportado en otros sistemas similares, la disociación de los grupos ácidos o básicos de las cadenas laterales de los aminoácidos pueden verse alterados por la influencia de otros grupos ionizables próximos, tal y como se observa en los resultados obtenidos de las constantes dadas en la tabla anterior.

Se obtuvo la especie $[\text{H}_2\text{HisGlu}]^-$, producto de la interacción de la histidina y del ácido glutámico. Se puede pensar que esta especie tiene una estructura, como la propuesta en la **figura 12**.

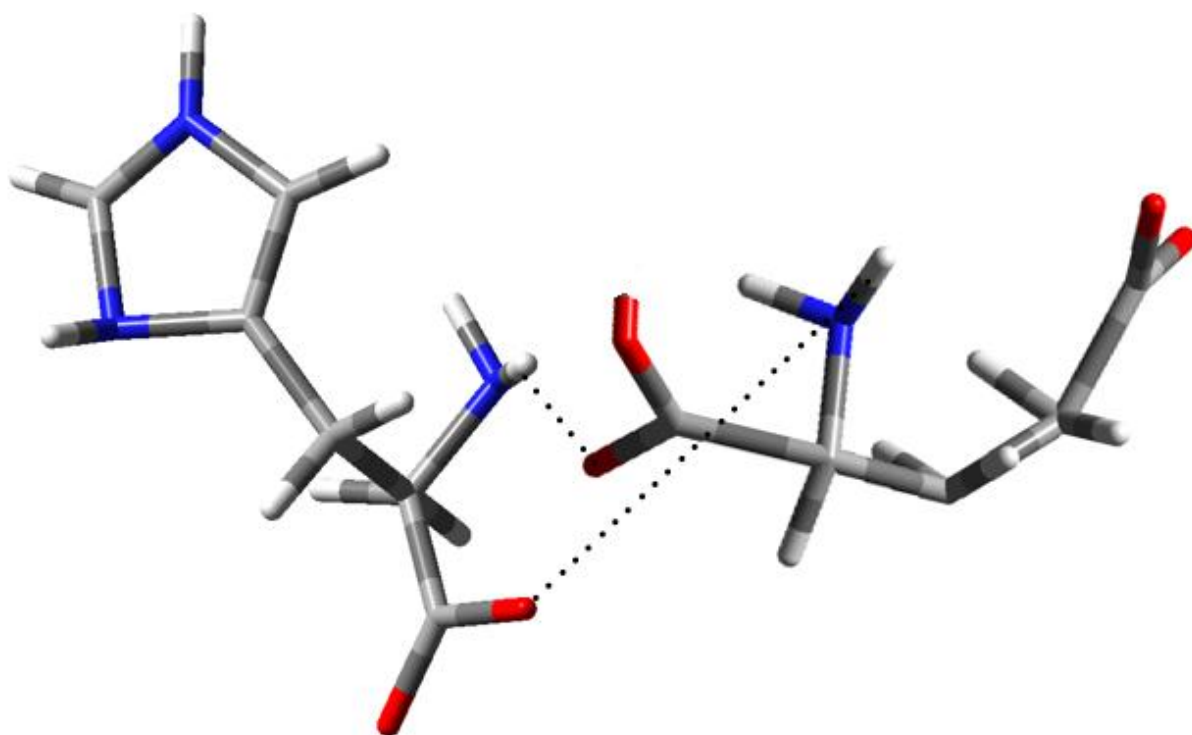


Figura 12. Estructura propuesta de la formación de la especie $[\text{H}_2\text{HisGlu}]^-$.

En la estructura propuesta en la **figura 12**, probablemente la formación de la misma se deba interacciones electrostáticas de los protones de los grupos aminos con los oxígenos del grupo carboxílico.

A partir de las constantes dadas en la **tabla 11** y **12**, fue construido el correspondiente diagrama de distribución de especies de este sistema H^+ -His-Glu, **figura 13**.

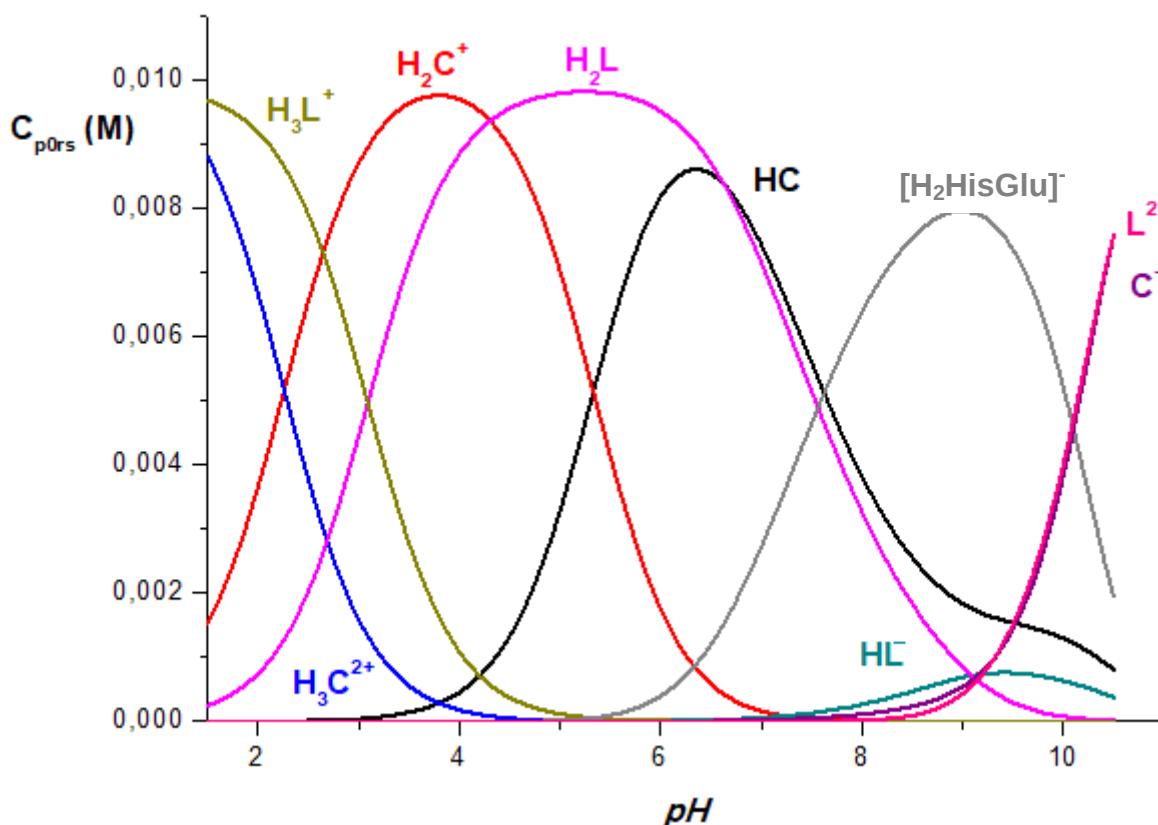


Figura 13. Diagrama de distribución de las especies del sistema H^+ -His-Glu en un medio iónico NaCl 3,0M a 25°C , $\text{emf}(\text{H})$.

En la gráfica anterior se puede evidenciar que en el rango $1,5 \leq \text{pH} \leq 2,5$ se encuentran las especies completamente protonadas de la histidina y del glutámico, H_3C^{2+} y H_3L^+ , para el intervalo $3 \leq \text{pH} \leq 5$ se encuentran las especies H_2C^+ y H_2L . La especie HC presenta su mayor concentración a pH entre 6-7. La presencia de la especie HL^- en un rango de pH de 8 a 10 se encuentra en muy baja concentración en comparación con las especies H_2CL^- , L^{2-} y C^- , en donde las dos últimas comienzan a ser representativas a un pH mayor a 10. La especie $[\text{H}_2\text{HisGlu}]^-$ en el intervalo $8 \leq \text{pH} \leq 10$ es muy abundante.

5.2. SISTEMA TERNARIO Zn(II)-HIS-GLU

Para el análisis de los datos del sistema ternario es necesario conocer la especiación y constantes de acidez y de formación tanto de los ligandos como la de los sistemas binarios. Los datos de los sistemas binarios fueron tomados de los trabajos de Sanabria⁸⁶ y Fernández,⁸⁷ los cuales se están desarrollando en forma simultánea a esta investigación.

La **tabla 13**, muestra la especiación y constantes de formación de los sistemas H^+ -Zn(II)-His y H^+ -Zn(II)-Glu.

Tabla 13. Constantes de estabilidad de los complejos obtenidos para los sistemas H^+ -Zn(II)-His y H^+ -Zn(II)-Glu en un medio iónico de NaCl 3,0M a 25°C.

H^+ -Zn(II)-His complejos	$\log \beta_{pqrs} (3\sigma)$	H^+ -Zn(II)-Glu complejos	$\log \beta_{pqrs} (3\sigma)$
$[ZnL]^+$	10,8(1)	$[ZnL]$	3,5(3)
ZnL_2	20,83(8)	$[ZnL_2]^{2-}$	10,8(2)
$[H_2ZnL]^{3+}$	23,12(5)	-	
$[HZnL]^{2+}$	17,22(8)	$[HZnL]^+$	15,22(1)
	-	$[HZnL_2]^-$	26,90(2)
	-	$[H_2ZnL_3]^{2-}$	7,76(3)
$\sigma (\theta_c)$	0,044	$\sigma (\theta_c)$	0,014
Ref.	86	Ref.	87

Los datos del sistema ternario fueron analizados empleando el programa de mínimos cuadrados LETAGROP⁸³ minimizando la función $\theta_c(pH)$, **figura 14**. Los puntos representan los datos experimentales y la curva de trazo continuo fue calculada con el modelo de especies y sus correspondientes constantes de

formación. El modelo de especies que mejor ajuste se muestra en la **tabla 14**. Fueron empleadas cuatro relaciones metal:ligando:ligando **R**.

Tabla 14. Constantes de estabilidad de los complejos ternarios obtenidos para los sistemas H^+ -Zn(II)-His-Glu en un medio iónico de NaCl 3,0M a 25°C.

H^+ -Zn(II)-His-Glu	$\log \beta_{pqrs} (3\sigma)$
$[ZnCL]^-$	21,8(2)
$HZnCL$	28,9(2)
$[H_2ZnCL]^+$	35,2(2)
$[H_3ZnCL]^{2+}$	40,6(1)
$[H_6ZnC_2L]^{4+}$	64,9 (max = 65,3)
$[H_4ZnC_2L]^{2+}$	54,9 (max = 55,2)
$\sigma (\theta_c)$	0,14

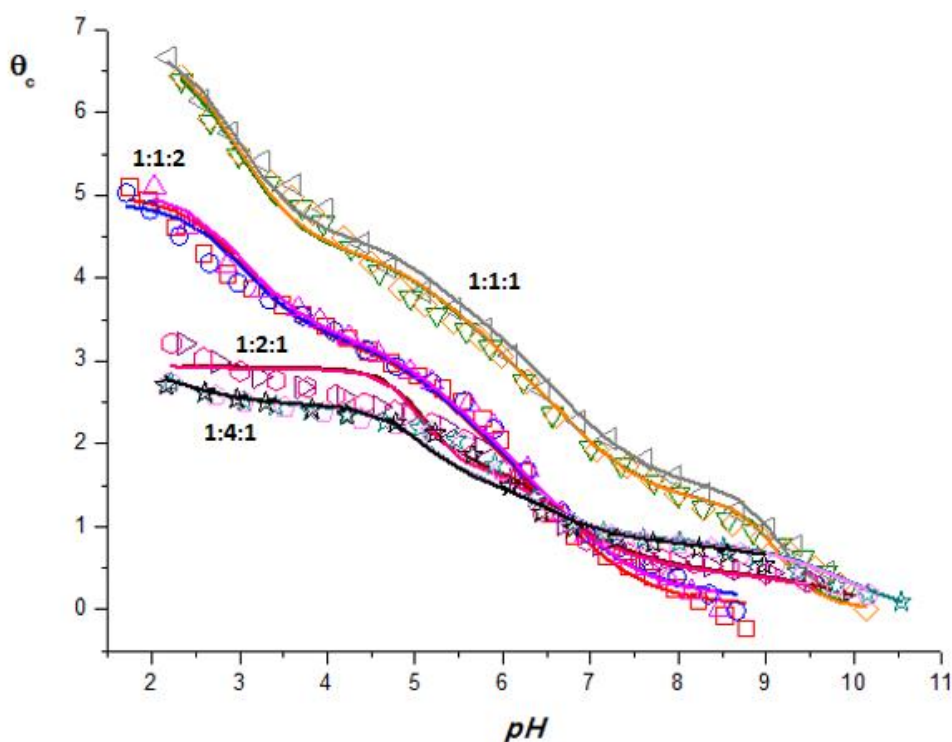


Figura 14. Curva $\theta_c (pH)$, para el sistema Zn(II)-His-Glu en NaCl 3,0 M, a 25 °C, obtenida mediante medidas de $emf (H)$, empleando las relaciones **R** = 1:1:1, 1:1:2, 1:2:1 y 1:4:1.

De la figura anterior se observa dos tipos de curvas una donde se aumenta la proporción de histidina ($R = 1:2:1$ y $1:4:1$) y la otra cuando se aumenta la proporción glutámico ($R = 1:1:1$ y $1:1:2$). Para el primer caso las curvas tienden más o menos a superponerse, y tienden a $\theta_C = 3$. No se observa un buen ajuste de los datos con el modelo propuesto, hasta pH cercanos a 6, después las curvas se cruzan y mejora el ajuste. Si observamos ahora las curvas para las relaciones $R = 1:1:1$ y $1:1:2$ éstas se encuentran separadas en todo el intervalo de pH de trabajo, esta separación puede atribuirse a la gran cantidad de protones involucrados en la formación de los complejos.

A partir de las constantes dadas en la **tabla 14**, fueron construidos los correspondientes diagramas de distribución de especies, para las diversas relaciones R .

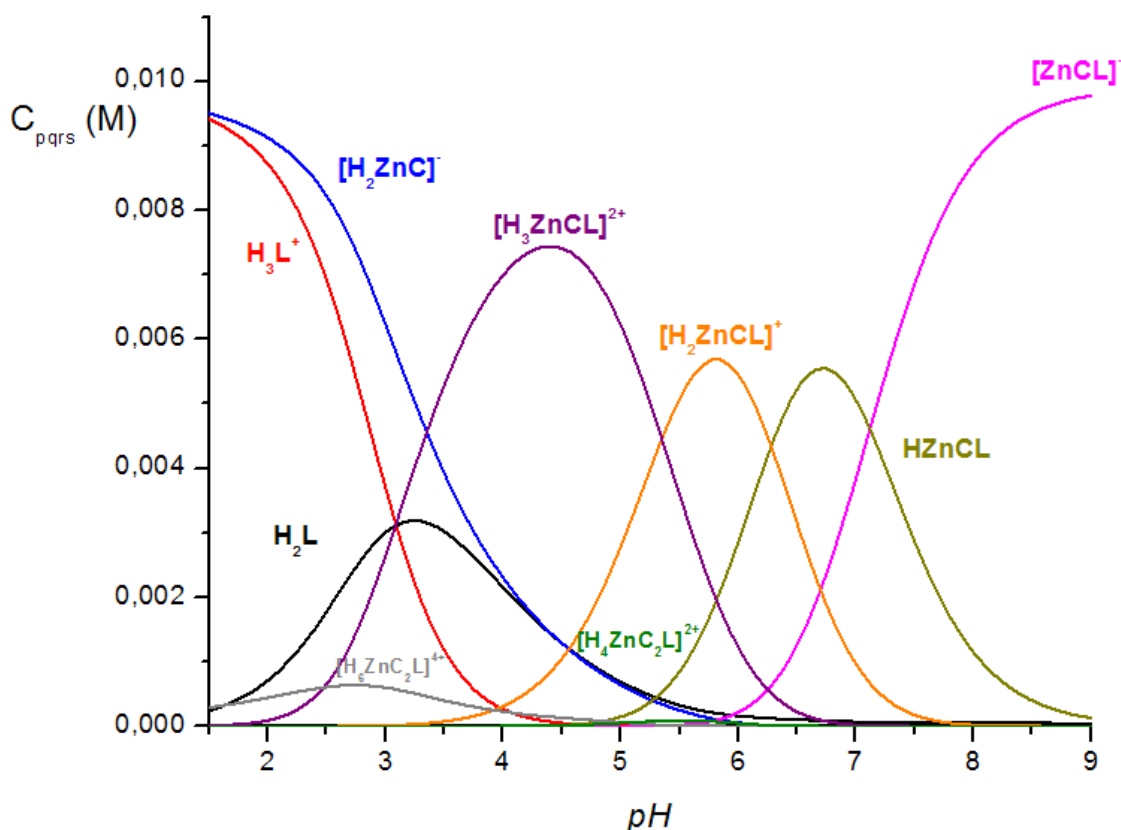


Figura 15. Diagrama de distribución de las especies del sistema Zn(II)-His-Glu, obtenida en medio iónico de NaCl 3,0 M, a 25°C, $emf(H)$ para $R = 1:1:1$.

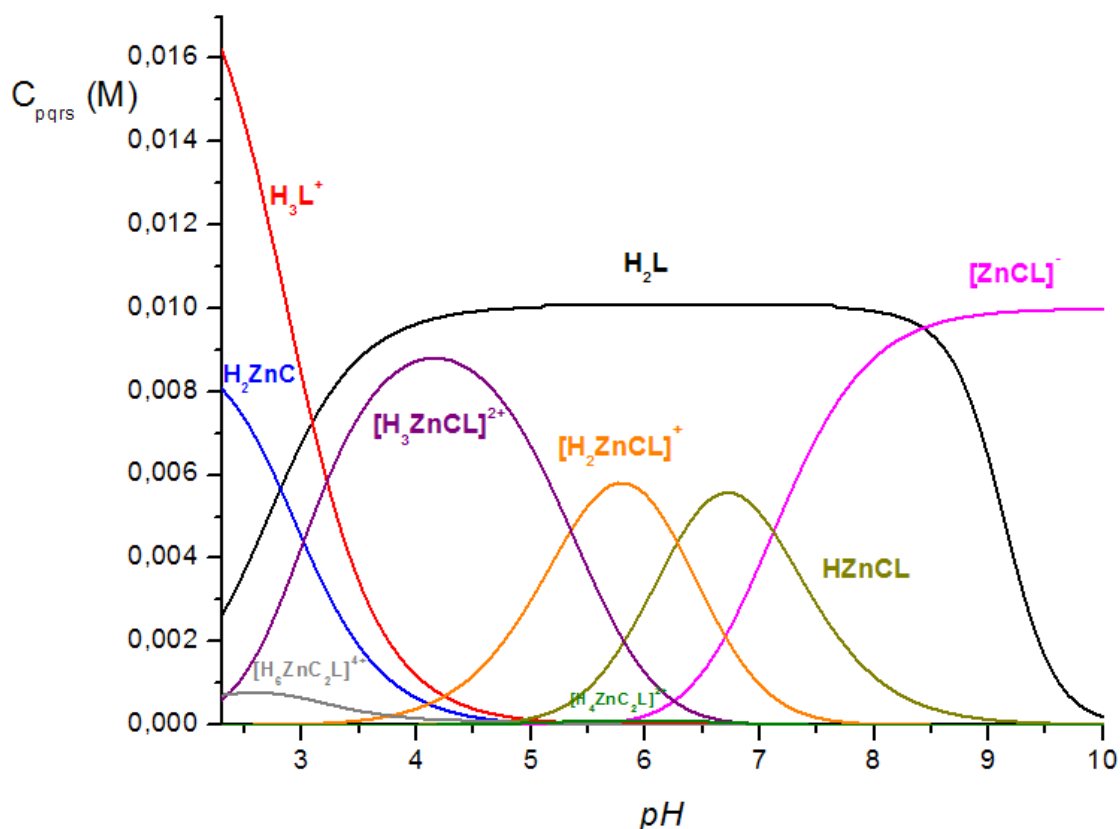


Figura 16. Diagrama de distribución de las especies del sistema Zn(II)-His-Glu, obtenida en medio iónico de NaCl 3,0 M, a 25°C, $emf(H)$ para $R = 1:1:2$.

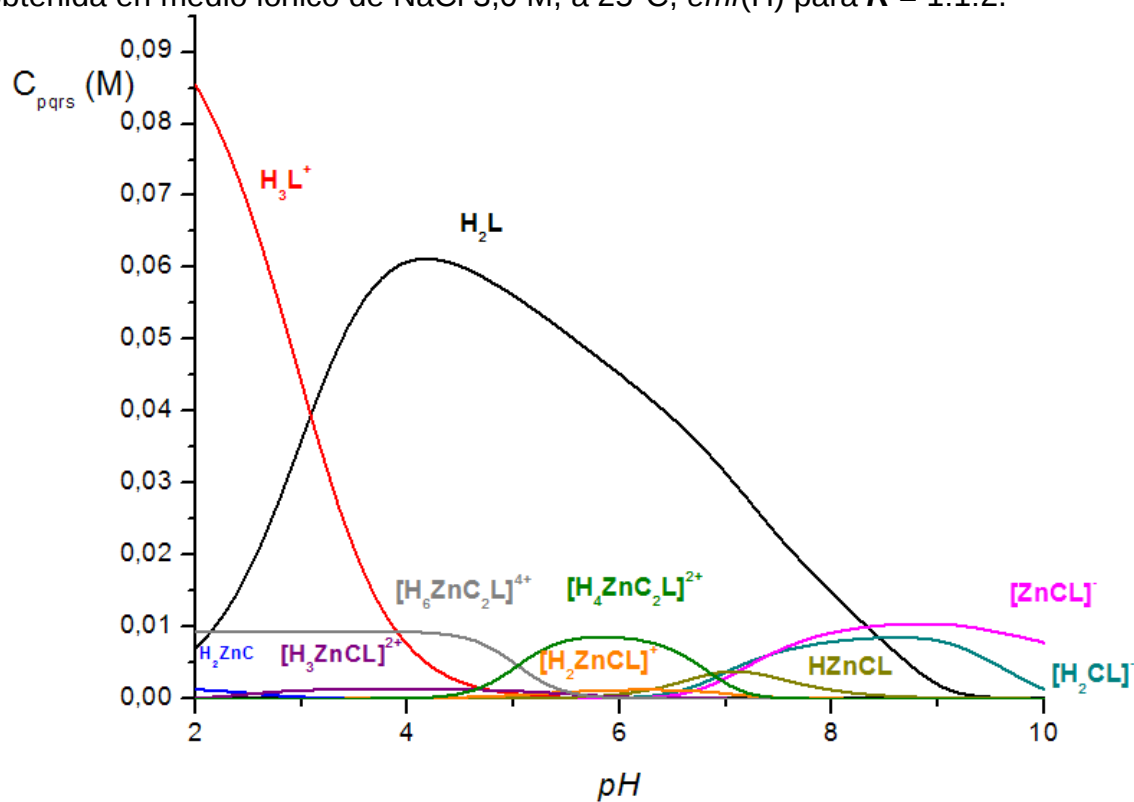


Figura 17. Diagrama de distribución de las especies del sistema Zn(II)-His-Glu, obtenida en medio iónico de NaCl 3,0 M, a 25°C, $emf(H)$ para $R = 1:2:1$.

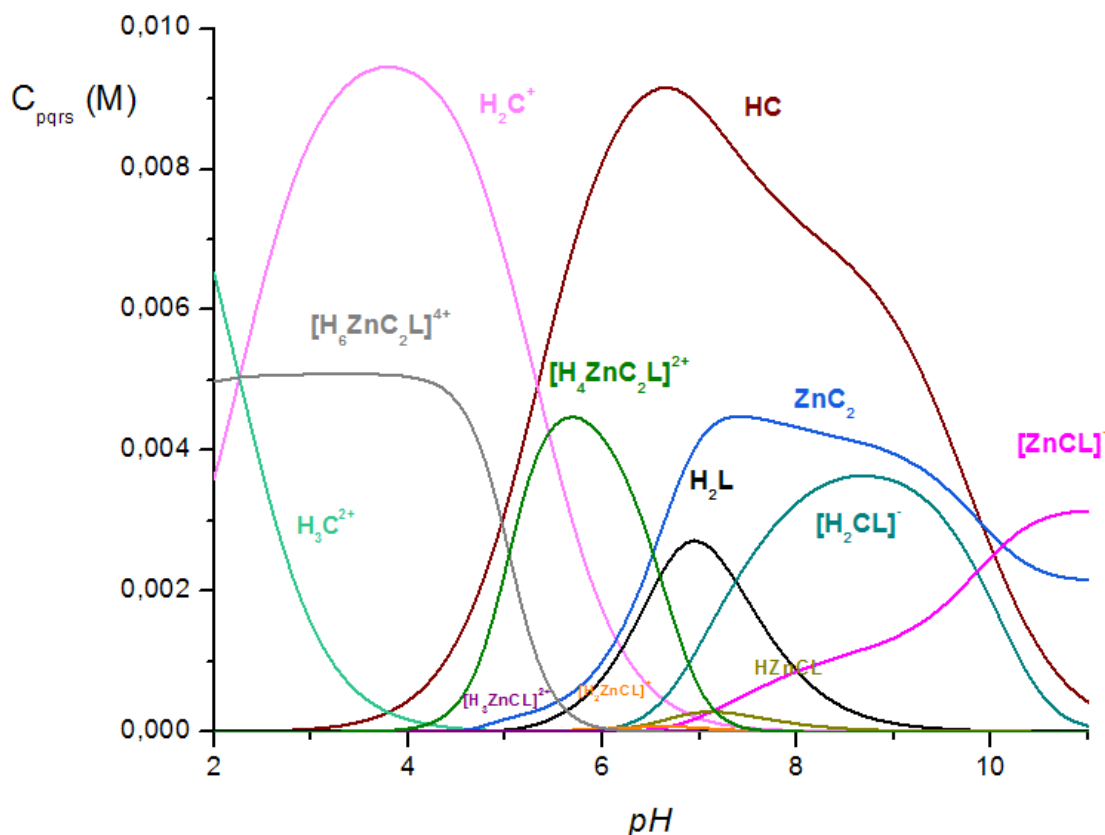


Figura 18. Diagrama de distribución de las especies del sistema Zn(II)-His-Glu, obtenida en medio iónico de NaCl 3,0 M, a 25°C, *emf*(H) para $R = 1:4:1$.

Se puede observar de las figuras anteriores, que la especie $[ZnCL]^-$ predomina en el intervalo $7 \leq pH \leq 11$ con una concentración aproximadamente igual para las relaciones $R = 1:1:1$, $1:1:2$ y $1:2:1$ y disminuye su proporción considerablemente en la relación $R = 1:4:1$. Para la especie ácida neutra $HZnCL$ ésta predomina en el intervalo $5,5 \leq pH \leq 8,5$ con una concentración muy similar para las relaciones $R = 1:1:1$, $1:1:2$ y $1:2:1$, disminuyendo notablemente en la relación $R = 1:4:1$. Para el caso del complejo $[H_2ZnCL]^+$ predomina en el intervalo $4,5 \leq pH \leq 7,5$ no se encuentra favorecida al aumentar R siendo esto más notable en la relación $R = 1:4:1$. La especie $[H_3ZnCL]^{2+}$ se forma en el intervalo $2,5 \leq pH \leq 4$ y aumenta su concentración al aumentar la concentración del ácido glutámico luego disminuye su concentración en las relaciones $R = 1:2:1$ y $1:4:1$, siendo más notable en $R = 1:4:1$. Para el complejo $[H_4ZnC_2L]^{2+}$ aumenta su concentración en la relación $R = 1:2:1$ y

vuelve a disminuir para $R = 1:4:1$. Finalmente el complejo $[H_6ZnC_2L]^{4+}$ tiene una concentración aproximadamente igual para las relaciones $R = 1:1:1$, $1:1:2$ y $1:2:1$, sin embargo para la $R = 1:4:1$ la concentración de este complejo disminuye significativamente. Hay grandes cantidades de ligando libre.

6. CONCLUSIONES

- Se determinaron las constantes de acidez del sistema H^+ -His-Glu en NaCl 3,0 M a 25°C y por medio de medidas de fuerzas electromotrices *emf* (H), obteniendo para la histidina $\log \beta_{\text{p0rs}} = 9,53(6)$, $\log \beta_{\text{p0rs}} = 14,86(5)$ y $\log \beta_{\text{p0rs}} = 17,12(6)$ y para ácido glutámico $\log \beta_{\text{p0rs}} = 9,2$, $\log \beta_{\text{p0rs}} = 18,29(5)$ y $\log \beta_{\text{p0rs}} = 21,38(6)$.
- Fue obtenida la especiación del sistema H^+ -His-Glu en NaCl 3,0 M a 25°C y por medio de medidas de fuerzas electromotrices *emf* (H), donde se formó la especie $[\text{H}_2\text{HisGlu}]^-$ con una constante de acidez de $\log \beta_{\text{por}} = 22,53(6)$.
- La posible estructura $[\text{H}_2\text{HisGlu}]^-$, probablemente se forme a través de interacciones electrostáticas de los protones de los grupos aminos con los oxígenos del grupo carboxílico.
- Se obtuvieron las constantes de formación de los compuestos ternarios obtenidos en el sistema Zn(II)-His-Glu en NaCl 3,0 M a 25°C y por medio de medidas de fuerzas electromotrices *emf* (H), obteniendo $[\text{ZnCL}]^- \log \beta_{\text{pqrs}} = 21,8(2)$, $\text{HZnCL} \log \beta_{\text{pqrs}} = 28,9(2)$, $[\text{H}_2\text{ZnCL}]^+ \log \beta_{\text{pqrs}} = 35,2(2)$, $[\text{H}_3\text{ZnCL}]^{2+} \log \beta_{\text{pqrs}} = 40,6(2)$, $[\text{H}_6\text{ZnC}_2\text{L}]^{4+} \log \beta_{\text{pqrs}} = 64,9(\text{max} = 65,3)$ y $[\text{H}_4\text{ZnC}_2\text{L}]^{2+} \log \beta_{\text{pqrs}} = 54,9(\text{max} = 55,2)$

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Casas J. (2002). *Química Bioinorgánica*. Editorial síntesis. Madrid. pg. 55-80.
2. Habashi, F. (2000). *Discovering the 8th Metal – A History of Zinc*. International Zinc Association (IZA). Bruselas, Bélgica. Consultado en línea en: <https://web.archive.org/web/20100923094850/http://www.iza.com/Documents/Communications/Publications/History.pdf>.
3. Cotton, A. (1969). *Química Inorgánica Avanzada*. Editorial Limusa-Wiley. Primera edición. México. Pg. 631-642.
4. Zinc - Element information, properties and uses | Periodic Table. Consultado en línea en: <https://web.archive.org/web/20170711095949/http://www.rsc.org/periodic-table/element/30/zinc>.
5. Rayner, G. (2000) *Química Inorgánica Descriptiva*, 2° Edición. Editorial Pearson Prentice Hall. México.
6. Schorsch, G. (1964). *Bull. Soc. Chim. France*, 1449, 1456
7. Baes, C., Mesmer, R. (1976). *The Hydrolysis of Cations*, John Wiley and Sons.
8. Jaramillo, J. (2017). *Aporte al estudio de los complejos de Zn(II) con bioligandos de bajo peso molecular*, Proyecto de Tesis Doctoral, Postgrado en Química, Fac. de Ciencias, Esc. Química, UCV.
9. Schorsch, G. (1965). *Bull. Soc. Chim. France*, 988,
10. Perrin, D.D. (1962b). *J. Chem. Soc.*, 4500
11. Bidermann, G. (1962). B.R.L Row, *Proc. 71CC, paper 4A8*, Stockholm.
12. Sekine, T. (1965). *Acta Chem. Scand.*, 19, 1526
13. Gübeli, A.O., Ste-Marie, J. (1967). *Can. J. Chem.*, 45, 827
14. Milic, N.B., R.M. Jelic, J. (1995). *Chem. Soc. Dalton Trans.*, 3597.
15. Zhang, Y., Muhammed M. (2001). *Hydrometallurgy*, 60, 215-236.
16. Hambidge. M. (2000). *The Journal of Nutrition*, Volumen 130, Número 5, 1 de mayo de 2000, páginas 1344S-1349S. Consultado en línea en: <https://academic.oup.com/jn/article/130/5/1344S/4686363>.

17. Williams, RJP. (1989). *Una introducción a la bioquímica del zinc*. Mills, CF eds. Zinc en Biología Humana : 15-31 Springer-Verlag Berlín, Alemania.
18. Nielsen, F. (2012). *Advances in Nutrition* , volumen 3, edición 6, 1 de noviembre de 2012, páginas 783-789. Consultado en línea en: <https://academic.oup.com/advances/article/3/6/783/4557955>.
19. Raulin J. (1869). cliniques sur la vegetation.*Ann Sci Nat Bot Biol Veg Ser* 5.;segundo:93.
20. Bertrand, G., Javillier, M. (1911). *Compt Rend Acad Sci.* 152:900–2.
21. Mazé, P. (1914). *Ann Inst Pasteur.* 28:21–68.
22. Sommer, A., Lipman, C. (1926). *Plant Physiol.* 1:231–49.
23. Prasad, A. (1998) *J Amer Coll Nutr*, 17:542-3.
24. Sandstead, H. (2000). *The Journal of Nutrition*, Volumen 130, Número 2, 1 de febrero de 2000, páginas 496S-502S. Consultado en línea en: <https://academic.oup.com/jn/article/130/2/496S/4686527>
25. Maret, W. (1994) Liberación de metal oxidativo de metalotioneína a través del intercambio de zinc-tiol / disulfuro. *Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos* 91:237-241.
26. Maret, W. (1995) Interacciones metalotioneína / disulfuro, estrés oxidativo y la movilización de zinc celular. *Neurochem. En t.*27:111-117.
27. Bremner, YO. & Davies, Nuevo Testamento (1975) La inducción de metallothionein en hígado de rata por inyección de zinc y restricción de la ingesta de alimentos. *Biochem. J.*149:733-738.
28. Richards, MP & Primos, RJ (1975) Homeostasis de zinc de mamíferos: requisito para la síntesis de ARN y metalotioneína. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 64:1215-1223.
29. Rehder, D. (2014). *Bioinorganic Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, Reino Unido.
30. Gronenborn, A (1992). HIGH-RESOLUTION THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE OF A SINGLE ZINC FINGER FROM A HUMAN ENHANCER BINDING PROTEIN IN SOLUTION.

31. Molecular Basis for Embryonic Development. Consultado en línea en: <https://basicmedicalkey.com/molecular-basis-for-embryonic-development/>.
32. Hambidge, KM, Neldner, KH & Walravens, (1975) Letra: Zinc, acrodermatitis enteropática y malformaciones congénitas. Pensilvania. Lanceta 1:577-578.
33. Ccedil; avdar, AO, Bahceci, METRO., Akar, col. (1988) Estado de zinc en el embarazo y la aparición de anencefalia en Turquía. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 2:9-14.
34. Bahr, P., Acosta, R. (2004). El zinc: la chispa de la vida. *Rev Cubana Pediatr*, 76:4.
35. Huheey, J. (1981). *Química Inorgánica*. Segunda Edición. Pgs 805-808.
36. Cotton, A. (1990). *Química Inorgánica Avanzada*. Editorial Limusa-Wiley. Primera edición. México. Pg. 1587-1591.
37. Klein, D. (2014). *Química Orgánica*. Editorial Médica panamericana. España-Madrid.
38. Carey, F. (2006). *Química Orgánica*. 6ta Edición. McGraw-Hill. México. P.1127.
39. Mathews, C. (2002). *Bioquímica*. 3^{ra} Edición. Editorial Pearson. Addison Wesley. España-Madrid.
40. Ingle, R. (2011). *Histidine Biosynthesis*. American Society of Plant biologists.
41. D. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt *Fundamentos de Bioquímica: La Vida a Nivel Molecular*, 2da Edición. Editorial Panamericana, pg. 80-83 (2002).
42. Kruck, T., Sarkar, B. (1973). *Can. J. Chem.*, 51, 3549; 3555.
43. Dayde, S., Champmartin, D., Rubini, P., Berthon, G. (2002). *Inorg. Chimica Acta*, 339 513-524.
44. Lema, J. (2011). *Estudio de la formación de los complejos de níquel(II) con los aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutámico, histidina y cisteína mediante medidas de emf(H) en NaCl 1,0 M a 25 °C*. TEG, Fac. Ciencias, UCV.
45. Ortega, J. (2011). *Estudio de formación de complejos ternarios de níquel (II) con ácido dipicolínico y los aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutámico, histidina y cisteína mediante medidas de fem(H) en NaCl 1,0 M a 25 °C*, TEG, Fac. de Ciencias, UCV.

46. Centeno, M. (2011). *Especiación de los complejos ternarios de níquel(ii)-ácido picolínico con los aminoácidos ácido aspártico, ácido glutámico, histidina y cisteína estudiados mediante medidas de emf(H) en NaCl 1,0M a 25°C*, TEG, Facultad de Ciencias, UCV.
47. Elvingsson, K., Fritsche, M., Rehder, D. (1994). *Acta Chem.Scand.*, 48, 878.
48. Ismailov, D., Borisova, A., Savich, I. (1972). *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 207, 3, 651.
49. Christie, G., Hughes, M., Rees, S., Williams, D. (1988). *Inorg. Chim. Acta*, 151, 215.
50. Cole, A., Huang, Z. (1985). *Inorg. Chim. Acta*, 108, 165.
51. Soto, L. (2015). Estudio de la formación de complejos de Molibdeno (VI) con aminoácidos. Sistema H⁺-Mo(VI)-histidina (NaCl 1,0M a 25°C), TEG, Facultad de Ciencias, UCV.
52. Blackburn, J., Jones, M. (1973). *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 35, 1605
53. Ambrose, J. Covington, A. Thirsk, H. (1969). *Trans. Faraday Soc.*, 65,1897.
54. Rabenstein, D.L., Greenberg, M.S., Saetre, R. (1977). *Inorg. Chem.*, vol. 16, No. 5, 1241.
55. Sóvágó, I. (1979). *J. Inorg. Nucl. Chem*, 41, 1629-1633.
56. Raju, E., Mathur, M. (1968). *J. Inorg. Nucl. Chem.*,30, 2181.
57. Leberman, R., Rabin, B. (1959). *Trans. Faraday Soc.*, 55, 1660-1670.
58. Stack, W., Skinner, H. (1967). *Trans. Faraday Soc.*, 63,1136.
59. Andrews, A., Zebolsky, D. (1965), *J. of The Chem. Society*, 742.
60. Chakravorty, A., Cotton, F. (1963). *The Journal of Physical Chemistry*, 67(12), 2878-2879.
61. Williams, D. (1970). *J. Chem. Soc. (A)*, 1550.
62. Agarwal, R., Perrin, D. (1975). *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (11), 1045-1048.
63. Ritsma, J. (1976). *J. Inorg. Nucl. Chem.* 38, 907-915.
64. Sóvágó, I., Kiss, T., Gergely, A. (1978). *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 964-968.
65. Giuseppe, A., Cali, R., Cucinotta, V., Musumeci, S., Rizzarelli, E., Sammartano, S. (1984). *J. Chem., Soc. Dalton Trans.* 1651.
66. El-Ezaby, M., Al-Sogair, F. (1982). *Polyhedron*, 1, 11-12, 791-798.
67. Vasil'ev, V., Zaitseva, G., Provora, N. (1979). *Zh. Obsch. Kim*, 49, 2608.

68. Reddy, P., Malleswara, V. (1985). *Polyhedron*. 4, 9, 1603-1609.
69. Koteswar, A., Rao, M., Srinivas M. (1989). *J. Coord. Chem.*, 20, 69-72.
70. Couves, L., Hague, D., Moreton, A. (1992). *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2, 217-223.
71. Albert, A. (1952). *Biochem.J.*, 50, 690.
72. Perkins, D. (1953). *Biochem. J.*, 55, 649.
73. Jokl, V. (1964). *J. Chrom*, 14, 71-78.
74. Happe, J. (1973). *Chem. Info. Dienst*, 4, 47, 6232-6237.
75. Shelke, D. (1979). *J. Inorg. Nucl. Chem*, 41, 1635-1638.
76. Bottari, E. Festa, M. (1997). *Talanta*, 44, 1705.
77. Basolo, R. Johnson, R. (1976). *Química de los Compuestos de Coordinación*, Editorial Reverté.
78. Richens, D. (1976). *The Chemistry of Aqua Ions*, John Willey & Sons, Toronto, p. 235.
79. Ingri, N. y Brito, F. (1959). *Acta Chem. Scand*, 13, 197.
80. Peña, M. (2008). *Estudio de los complejos de Vanadio(V) con el ácido aspártico en KCl 3.0 M a 25 °C*, TEG, Esc. Quím., Fac. Ciencias, UCV.
81. Biederman, G. y Sillén, L. (1952). *Arkiv. Kemi.*, 5, p. 425.
82. Brito, F. Ingri, N. (1959). *An. Fís. Quím.*, 56B, 165
83. Sillén. L.G, Warqvist. B, Arnek. R, Wahlberg. O, Brauner. P, Whiteker. R (1968) *Arkiv Kemi.*, 31, 315, 341, 353, 365 y 377.
84. Nunes, Nathaly (2017). Determinación de las constantes de acidez para el sistema H^+ -HL empleando medidas de emf(H) en NaCl 3.0 M a 25 °C. (HL= Valina, Prolina, Histidina y Ácido Aspártico). Proyecto doctoral en desarrollo.
85. Jaramillo, J (2017). Determinación de las constantes de acidez para el sistema H^+ -HL empleando medidas de emf(H) en NaCl 3.0 M a 25 °C. (HL= Metionina, Cisteína, Lisina y Ácido Glutámico). Proyecto doctoral en desarrollo.
86. Sanabria, A. (2017). APOORTE A LA QUÍMICA DEL Zn(II) EN SOLUCIÓN ACUOSA. SISTEMAS H^+ -Zn(II)-LISINA Y H^+ -Zn(II)-HISTIDINA. Proyecto en curso.

87. Fernandez, K. (2017). APOORTE A LA QUIMICA DE DEL Zn(II) EN SOLUCION ACUOSA. 1. SISTEMAS H^+ -Zn(II)-ASPARTICO Y H^+ -Zn(II)-GLUTAMICO. Proyecto en curso.

8. ANEXOS

8.1. Datos obtenidos para el sistema H^+ -His-Glu.

Experimento N° 1

$H_s = 0,08750$, $C_s = 0,01033$, $L_s = 0,00993$, $H_t = -0,09999$, $V_i = 35,57$, $E_0 = 438,49$, $J_H = 4,51$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
0,00	341,1	1,6480	5,7390	5,6635	-0,0756
0,49	339,8	1,6700	5,6842	5,6540	-0,0302
0,99	337,2	1,7140	5,7234	5,6341	-0,0893
1,49	335,3	1,7460	5,7002	5,6187	-0,0815
1,99	333,3	1,7790	5,6771	5,6018	-0,0753
2,98	329,1	1,8500	5,6230	5,5636	-0,0594
3,98	324,7	1,9240	5,5523	5,5198	-0,0325
4,98	319,7	2,0080	5,4783	5,4660	-0,0124
5,47	317,9	2,0390	5,4037	5,4452	0,0416
5,97	314,0	2,1040	5,4012	5,3983	-0,0029
6,97	307,9	2,2080	5,3009	5,3199	0,0190
7,47	304,4	2,2670	5,2495	5,2724	0,0229
7,97	301,1	2,3230	5,1836	5,2262	0,0426
8,47	297,3	2,3870	5,1200	5,1715	0,0515
8,96	293,2	2,4560	5,0520	5,1110	0,0590
9,46	289,2	2,5240	4,9735	5,0509	0,0774
9,96	284,0	2,6120	4,9016	4,9716	0,0699
10,46	278,5	2,7050	4,8218	4,8869	0,0650
10,96	272,8	2,8010	4,7331	4,7991	0,0660
11,56	263,7	2,9550	4,6282	4,6610	0,0328
11,96	258,3	3,0460	4,5456	4,5817	0,0361
12,45	248,0	3,2200	4,4477	4,4391	-0,0086
12,65	244,6	3,2780	4,4027	4,3952	-0,0076
12,95	236,6	3,4130	4,3396	4,2994	-0,0401
13,15	232,5	3,4820	4,2927	4,2547	-0,0380
13,35	227,4	3,5680	4,2463	4,2033	-0,0430
13,55	221,7	3,6650	4,1989	4,1513	-0,0476
13,75	215,5	3,7700	4,1508	4,1009	-0,0500
13,95	210,7	3,8510	4,1005	4,0657	-0,0348
14,15	204,5	3,9560	4,0501	4,0245	-0,0256
14,35	199,0	4,0490	3,9987	3,9911	-0,0076
14,55	194,3	4,1280	3,9463	3,9642	0,0179

14,75	188,9	4,2190	3,8940	3,9345	0,0405
14,95	184,2	4,2990	3,8409	3,9090	0,0681
16,74	123,7	5,3210	3,3585	3,4481	0,0896
16,84	118,5	5,4090	3,3317	3,3967	0,0650
16,94	112,8	5,5060	3,3046	3,3413	0,0367
17,04	105,2	5,6340	3,2778	3,2706	-0,0072
17,14	99,6	5,7290	3,2506	3,2218	-0,0288
17,24	94,2	5,8200	3,2237	3,1779	-0,0458
17,44	83,5	6,0010	3,1694	3,1004	-0,0689
17,54	79,1	6,0750	3,1422	3,0720	-0,0702
17,64	75,1	6,1430	3,1150	3,0477	-0,0673
17,74	71,6	6,2020	3,0880	3,0274	-0,0607
17,84	67,0	6,2800	3,0608	3,0018	-0,0590
17,94	63,6	6,3370	3,0336	2,9836	-0,0500
18,14	56,6	6,4560	2,9795	2,9473	-0,0322
18,34	49,7	6,5720	2,9253	2,9119	-0,0134
18,54	44,4	6,6620	2,8709	2,8846	0,0137
18,73	39,0	6,7530	2,8167	2,8560	0,0393
18,93	31,7	6,8770	2,7623	2,8156	0,0533
19,13	26,2	6,9700	2,7081	2,7837	0,0756
19,33	19,2	7,0880	2,6539	2,7412	0,0873
19,53	11,7	7,2150	2,5995	2,6934	0,0939
19,73	3,9	7,3470	2,5454	2,6417	0,0963
19,93	-6,3	7,5190	2,4909	2,5723	0,0814
20,13	-16,9	7,6980	2,4368	2,5003	0,0635
20,23	-24,9	7,8330	2,4099	2,4469	0,0370
20,33	-35,0	8,0040	2,3827	2,3820	-0,0007
20,43	-45,0	8,1730	2,3556	2,3209	-0,0347
20,53	-52,0	8,2920	2,3287	2,2797	-0,0491
20,63	-56,2	8,3630	2,3016	2,2553	-0,0462
20,83	-68,3	8,5670	2,2477	2,1841	-0,0635
21,03	-77,8	8,7280	2,1935	2,1231	-0,0705
21,13	-80,1	8,7670	2,1664	2,1070	-0,0594
21,23	-83,3	8,8210	2,1393	2,0834	-0,0560
21,33	-87,0	8,8830	2,1126	2,0541	-0,0585
21,53	-91,9	8,9660	2,0584	2,0116	-0,0468
21,73	-96,9	9,0510	2,0047	1,9636	-0,0411
21,93	-100,9	9,1180	1,9506	1,9216	-0,0289
22,13	-105,0	9,1880	1,8968	1,8755	-0,0213
22,32	-108,4	9,2450	1,8431	1,8349	-0,0082
22,52	-111,9	9,3040	1,7892	1,7910	0,0018

22,92	-118,4	9,4140	1,6817	1,7032	0,0215
23,42	-125,4	9,5320	1,5477	1,5983	0,0505
23,92	-132,2	9,6470	1,4142	1,4834	0,0691
24,42	-138,7	9,7570	1,2810	1,3590	0,0781
24,92	-146,0	9,8810	1,1489	1,2016	0,0526
25,42	-152,8	9,9960	1,0181	1,0391	0,0210
25,91	-160,4	10,1240	0,8895	0,8467	-0,0428

Experimento N° 2

$H_s = 0,08680$, $C_s = 0,01015$, $L_s = 0,00975$, $H_t = -0,09998$, $V_i = 35,54$, $E_0 = 438,43$, $J_H = 1,193$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
0,00	341,3	1,6420	5,7415	5,6620	-0,0795
0,99	337,8	1,7010	5,6990	5,6359	-0,0631
1,99	333,9	1,7670	5,6593	5,6041	-0,0552
2,98	329,6	1,8400	5,6171	5,5655	-0,0516
3,98	325,2	1,9140	5,5505	5,5223	-0,0283
4,98	320,0	2,0020	5,4910	5,4662	-0,0248
5,97	314,6	2,0930	5,4043	5,4027	-0,0017
6,97	308,5	2,1960	5,3066	5,3249	0,0183
7,97	301,5	2,3150	5,1957	5,2291	0,0334
8,96	293,5	2,4500	5,0659	5,1129	0,0470
9,96	284,6	2,6000	4,9108	4,9783	0,0675
10,46	279,1	2,6930	4,8310	4,8938	0,0627
10,96	273,1	2,7950	4,7440	4,8014	0,0574
11,46	266,3	2,9100	4,6526	4,6978	0,0452
11,96	258,4	3,0430	4,5555	4,5809	0,0254
12,45	248,4	3,2120	4,4551	4,4421	-0,0130
12,75	241,3	3,3320	4,3915	4,3521	-0,0394
13,05	233,4	3,4660	4,3249	4,2619	-0,0629
13,35	224,6	3,6150	4,2551	4,1747	-0,0804
13,55	218,2	3,7230	4,2069	4,1197	-0,0872
13,75	212,6	3,8180	4,1567	4,0768	-0,0799
13,95	206,7	3,9170	4,1057	4,0362	-0,0696
14,15	201,4	4,0070	4,0533	4,0029	-0,0505
14,55	190,1	4,1980	3,9475	3,9385	-0,0089
14,75	184,0	4,3010	3,8942	3,9055	0,0113
14,95	178,8	4,3890	3,8400	3,8771	0,0371

15,15	173,4	4,4800	3,7859	3,8466	0,0607
15,35	167,4	4,5820	3,7317	3,8108	0,0791
15,54	160,9	4,6920	3,6771	3,7685	0,0915
15,74	154,0	4,8080	3,6226	3,7191	0,0965
15,94	147,1	4,9250	3,5677	3,6643	0,0967
16,14	138,7	5,0670	3,5130	3,5909	0,0779
16,34	127,7	5,2530	3,4583	3,4860	0,0278
16,54	117,0	5,4340	3,4031	3,3806	-0,0225
16,64	111,2	5,5320	3,3755	3,3247	-0,0507
16,74	104,1	5,6520	3,3482	3,2595	-0,0886
17,94	55,0	6,4820	3,0167	2,9389	-0,0778
18,14	49,3	6,5780	2,9615	2,9099	-0,0516
18,34	43,9	6,6690	2,9064	2,8822	-0,0242
18,54	37,3	6,7810	2,8510	2,8472	-0,0038
18,73	32,0	6,8710	2,7958	2,8180	0,0222
18,93	26,0	6,9720	2,7404	2,7835	0,0431
19,23	16,1	7,1390	2,6575	2,7230	0,0655
19,43	8,8	7,2630	2,6024	2,6759	0,0735
19,63	0,7	7,4000	2,5470	2,6218	0,0749
19,73	-4,4	7,4860	2,5195	2,5872	0,0676
19,83	-9,8	7,5770	2,4918	2,5503	0,0584
19,93	-16,5	7,6900	2,4642	2,5047	0,0406
20,03	-21,7	7,7780	2,4362	2,4699	0,0337
20,13	-29,5	7,9100	2,4091	2,4188	0,0097
20,23	-36,2	8,0230	2,3814	2,3763	-0,0051
20,33	-46,5	8,1980	2,3540	2,3135	-0,0406
20,43	-51,5	8,2820	2,3264	2,2840	-0,0424
20,53	-58,4	8,3990	2,2991	2,2438	-0,0553
20,63	-63,1	8,4780	2,2714	2,2163	-0,0552
20,73	-69,1	8,5800	2,2439	2,1801	-0,0637
20,83	-73,3	8,6510	2,2163	2,1537	-0,0626
21,03	-80,1	8,7660	2,1614	2,1074	-0,0540
21,23	-86,8	8,8790	2,1063	2,0558	-0,0505
21,43	-92,2	8,9700	2,0515	2,0086	-0,0428
21,63	-96,8	9,0480	1,9964	1,9640	-0,0324
21,93	-102,6	9,1460	1,9141	1,9019	-0,0122
22,42	-111,6	9,2980	1,7772	1,7930	0,0158
22,92	-119,2	9,4270	1,6403	1,6893	0,0490
23,42	-125,7	9,5360	1,5038	1,5904	0,0866
25,42	-153,1	10,0000	0,9647	1,0271	0,0624
25,91	-160,3	10,1210	0,8331	0,8445	0,0114

26,41	-168,6	10,2620	0,7057	0,6363	-0,0694
-------	--------	---------	--------	--------	---------

8.2. Datos obtenidos para el Sistema ternario Zn(II)-His-Glu.

8.2.1. Relación 1:1:1.

Experimento N° 1.

$H_s = 0,07290$, $B_s=0,0100$ $C_s=0,01010$, $L_s = 0,00996$, $H_t = -0,100$, $V_i = 39,57$, $E_0 = 438,20$, $J_H = 0,0$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
0,0	330,5	1,7450	5,1074	4,9450	-0,1624
3,0	318,3	1,9510	4,9420	4,9089	-0,0331
6,5	299,9	2,2620	4,6201	4,8114	0,1913
9,0	280,9	2,5840	4,2999	4,6164	0,3166
10,5	264,9	2,8540	4,0605	4,3556	0,2951
11,5	248,9	3,1240	3,8855	4,0424	0,1568
12,5	228,1	3,4760	3,6829	3,6760	-0,0069
13,0	214,1	3,7130	3,5732	3,4912	-0,0820
13,6	198,7	3,9730	3,4310	3,3372	-0,0938
14,2	184,0	4,2220	3,2834	3,2178	-0,0656
14,8	169,6	4,4650	3,1331	3,1068	-0,0263
15,4	154,4	4,7220	2,9814	2,9756	-0,0058
16,0	136,6	5,0230	2,8289	2,7801	-0,0488
16,6	120,0	5,3040	2,6757	2,5501	-0,1256
17,2	106,4	5,5330	2,5222	2,3343	-0,1879
18,0	92,9	5,7620	2,3173	2,1024	-0,2149
19,0	80,7	5,9680	2,0611	1,8812	-0,1799
20,5	65,5	6,2250	1,6766	1,5960	-0,0806
22,5	44,6	6,5780	1,1640	1,2033	0,0393
23,5	31,4	6,8010	0,9076	0,9663	0,0587
24,5	9,8	7,1660	0,6513	0,6242	-0,0271
25,0	-5,5	7,4250	0,5232	0,4355	-0,0876
25,5	-21,2	7,6900	0,3950	0,2957	-0,0993
26,0	-36,7	7,9520	0,2669	0,2050	-0,0620
26,6	-52,3	8,2160	0,1132	0,1479	0,0347
27,3	-70,1	8,5170	-0,0659	0,1076	0,1735
27,9	-84,6	8,7620	-0,2193	0,0833	0,3026

Experimento N° 2

$H_s = 0,07250$, $B_s=0,00998$ $C_s=0,01010$, $L_s = 0,00990$, $H_t = -0,100$, $V_i = 39,67$, $E_0 = 437,40$, $J_H = 0,0$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
0,0	332,1	1,7100	5,0279	4,8670	-0,1609
4,0	316,0	1,9820	4,8223	4,8239	0,0016
7,5	296,4	2,3130	4,5087	4,7190	0,2103
10,0	276,1	2,6570	4,1795	4,5016	0,3221
11,5	256,9	2,9810	3,9422	4,1786	0,2364
12,6	235,7	3,3390	3,7388	3,7969	0,0581
13,5	213,5	3,7150	3,5459	3,4989	-0,0470
14,3	192,0	4,0780	3,3583	3,3078	-0,0505
15,2	171,0	4,4330	3,1371	3,1549	0,0177
16,0	150,2	4,7850	2,9378	2,9721	0,0343
16,8	126,2	5,1910	2,7370	2,6666	-0,0704
17,7	104,3	5,5610	2,5101	2,3317	-0,1784
19,0	84,2	5,9010	2,1818	1,9964	-0,1854
21,0	62,1	6,2740	1,6765	1,5937	-0,0828
23,0	39,2	6,6610	1,1712	1,1754	0,0042
24,0	22,3	6,9470	0,9185	0,8995	-0,0190
24,7	1,4	7,3000	0,7416	0,6210	-0,1206
25,5	-22,5	7,7040	0,5395	0,4068	-0,1327
26,1	-38,9	7,9810	0,3880	0,3162	-0,0718
26,9	-60,5	8,3470	0,1860	0,2382	0,0522
27,7	-79,0	8,6590	-0,0157	0,1881	0,2038

Experimento N° 3

$H_s = 0,07270$, $B_s=0,00998$ $C_s=0,01020$, $L_s = 0,00990$, $H_t = -0,100$, $V_i = 39,67$, $E_0 = 438,60$, $J_H = 0,0$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
4,0	318,3	2,0310	5,0980	4,9530	-0,1450
8,0	296,1	2,4060	4,6227	4,8032	0,1805
11,0	269,5	2,8560	4,1392	4,4205	0,2813
12,5	246,1	3,2510	3,8530	3,9658	0,1128
13,5	221,4	3,6690	3,6365	3,5855	-0,0510
14,1	206,9	3,9140	3,4912	3,4320	-0,0592

14,9	187,3	4,2450	3,2895	3,2710	-0,0185
15,7	167,4	4,5820	3,0831	3,1148	0,0317
16,5	146,0	4,9440	2,8744	2,8981	0,0237
17,0	131,5	5,1890	2,7434	2,7074	-0,0360
18,0	106,3	5,6150	2,4805	2,3180	-0,1626
19,0	90,0	5,8900	2,2172	2,0403	-0,1769
21,0	66,8	6,2820	1,6904	1,6142	-0,0762
23,0	43,6	6,6750	1,1635	1,1845	0,0210
24,0	27,9	6,9400	0,9001	0,9188	0,0187
25,0	2,3	7,3730	0,6366	0,5704	-0,0662
25,5	-13,1	7,6330	0,5049	0,4261	-0,0788
26,0	-28,0	7,8850	0,3732	0,3302	-0,0430
26,6	-43,4	8,1450	0,2153	0,2642	0,0490
27,4	-62,6	8,4700	0,0048	0,2083	0,2035

8.2.2. Relación 1:1:2

Experimento N° 1

$H_s = 0,09320$, $B_s=0,0100$ $C_s=0,01010$, $L_s = 0,02010$, $H_t = -0,100$, $V_i = 39,57$, $E_0 = 439,60$, $J_H = 0,0$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
4,0	304,7	2,3350	6,3897	6,3984	0,0086
7,5	285,0	2,6680	5,8856	6,0228	0,1372
10,0	266,0	2,9890	5,4824	5,5136	0,0313
12,0	245,0	3,3440	5,1340	4,9786	-0,1554
13,5	223,5	3,7080	4,8573	4,6086	-0,2487
14,5	209,0	3,9530	4,6642	4,4518	-0,2124
16,0	190,3	4,2690	4,3675	4,3101	-0,0574
17,5	171,3	4,5900	4,0678	4,1800	0,1123
19,0	150,1	4,9490	3,7665	3,9883	0,2217
20,0	132,6	5,2450	3,5653	3,7728	0,2075
21,0	112,4	5,5860	3,3638	3,4807	0,1169
22,0	96,5	5,8550	3,1620	3,2294	0,0673
24,0	73,9	6,2370	2,7583	2,8419	0,0835
26,0	54,6	6,5630	2,3546	2,4853	0,1307
28,0	28,6	7,0030	1,9508	2,0208	0,0699
29,0	8,4	7,3440	1,7490	1,7357	-0,0133
30,0	-14,1	7,7240	1,5471	1,5160	-0,0312

30,8	-30,4	8,0000	1,3857	1,4106	0,0249
31,6	-46,9	8,2790	1,2243	1,3300	0,1057
32,3	-63,9	8,5660	1,0832	1,2335	0,1503
33,0	-80,5	8,8470	0,9424	1,0475	0,1051
33,8	-98,7	9,1550	0,7820	0,6720	-0,1099
34,6	-114,2	9,4170	0,6223	0,3507	-0,2716
35,5	-129,8	9,6800	0,4439	0,1654	-0,2785
36,5	-144,2	9,9240	0,2476	0,0850	-0,1626

Experimento N° 2

$H_s = 0,09260$, $B_s = 0,0990$ $C_s = 0,00990$, $L_s = 0,0200$, $H_t = -0,100$, $V_i = 39,67$, $E_0 = 440,20$, $J_H = 0,0$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
4,0	304,9	2,3340	6,4311	6,4581	0,0270
7,5	285,3	2,6660	5,9199	6,0784	0,1585
10,0	266,2	2,9880	5,5121	5,5573	0,0451
12,0	244,7	3,3520	5,1600	4,9996	-0,1603
13,0	230,6	3,5900	4,9745	4,7318	-0,2427
14,0	216,3	3,8320	4,7813	4,5402	-0,2411
15,5	195,5	4,1840	4,4829	4,3557	-0,1271
17,0	177,2	4,4930	4,1794	4,2291	0,0497
18,5	157,0	4,8340	3,8742	4,0666	0,1924
19,5	140,9	5,1070	3,6702	3,8917	0,2215
20,5	121,5	5,4350	3,4659	3,6280	0,1621
21,5	103,1	5,7460	3,2613	3,3414	0,0800
22,5	88,8	5,9870	3,0567	3,1009	0,0442
24,0	71,3	6,2830	2,7495	2,7877	0,0382
26,0	51,9	6,6110	2,3400	2,4252	0,0852
28,0	24,9	7,0680	1,9305	1,9549	0,0244
29,0	4,5	7,4120	1,7257	1,6826	-0,0431
29,8	-12,5	7,7000	1,5619	1,5227	-0,0392
30,6	-29,2	7,9820	1,3982	1,4153	0,0171
31,5	-47,4	8,2900	1,2140	1,3291	0,1151
32,4	-66,8	8,6180	1,0300	1,2113	0,1813
33,2	-86,3	8,9470	0,8669	0,9378	0,0709
34,0	-103,6	9,2400	0,7044	0,5416	-0,1628
35,0	-122,0	9,5510	0,5024	0,2172	-0,2852
36,0	-138,7	9,8330	0,3028	0,0887	-0,2140

37,5	-156,7	10,1370	0,0067	0,0345	0,0278
------	--------	---------	--------	--------	--------

Experimento N° 3

$H_s = 0,09260$, $B_s=0,0100$ $C_s=0,00980$, $L_s = 0,01990$, $H_t = -0,100$, $V_i = 39,57$, $E_0 = 436,10$, $J_H = 0,0$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
4,0	306,6	2,1920	6,6645	6,6035	-0,0609
8,0	284,6	2,5640	6,1419	6,2766	0,1347
10,5	265,2	2,8920	5,7563	5,8026	0,0464
12,5	243,4	3,2610	5,4125	5,2306	-0,1820
14,0	221,8	3,6260	5,1321	4,8255	-0,3066
15,5	200,9	3,9790	4,8329	4,5980	-0,2349
17,5	176,1	4,3980	4,4220	4,4261	0,0041
18,9	157,8	4,7080	4,1317	4,2907	0,1590
20,3	134,7	5,0980	3,8404	4,0360	0,1956
21,3	114,3	5,4430	3,6318	3,7556	0,1238
22,5	94,1	5,7850	3,3811	3,4624	0,0813
24,0	76,3	6,0850	3,0676	3,1862	0,1186
26,0	54,4	6,4560	2,6495	2,8078	0,1583
27,8	30,2	6,8650	2,2732	2,3574	0,0842
28,8	9,5	7,2150	2,0641	2,0309	-0,0332
30,0	-15,0	7,6290	1,8132	1,7551	-0,0581
31,0	-34,2	7,9530	1,6042	1,6090	0,0048
32,0	-53,8	8,2850	1,3953	1,5009	0,1056
33,0	-76,1	8,6620	1,1866	1,3454	0,1588
34,0	-96,7	9,0100	0,9784	1,0028	0,0244
35,0	-116,0	9,3360	0,7711	0,5412	-0,2299
36,5	-138,0	9,7080	0,4622	0,2274	-0,2348

8.2.3. Relación 1:2:1

Experimento N° 1

$H_s = 0,09090$, $B_s=0,01080$ $C_s=0,02020$, $L_s = 0,01020$, $H_t = -0,098$, $V_i = 45,47$, $E_0 = 437,90$, $J_H = 9,11$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
6,0	293,3	2,3680	3,2084	2,9531	-0,2553

9,5	270,4	2,7550	2,9892	2,9395	-0,0497
12,0	242,3	3,2300	2,8068	2,9313	0,1245
13,5	213,6	3,7150	2,6822	2,9247	0,2425
14,8	185,5	4,1900	2,5622	2,9021	0,3399
16,0	161,7	4,5930	2,4468	2,8031	0,3563
17,0	141,7	4,9310	2,3495	2,5242	0,1746
18,5	116,8	5,3520	2,2029	1,9916	-0,2113
21,0	92,8	5,7580	1,9579	1,7518	-0,2060
25,0	69,1	6,1580	1,5656	1,5683	0,0027
30,5	37,7	6,6890	1,0262	1,1505	0,1243
33,0	13,5	7,0980	0,7810	0,8471	0,0660
34,5	-18,5	7,6390	0,6340	0,6408	0,0068
35,1	-38,8	7,9820	0,5752	0,5536	-0,0216
35,6	-61,7	8,3690	0,5262	0,4819	-0,0444
36,0	-81,0	8,6960	0,4872	0,4374	-0,0498
36,5	-102,7	9,0620	0,4387	0,3892	-0,0495
37,4	-129,9	9,5220	0,3523	0,3014	-0,0508
38,6	-156,4	9,9700	0,2397	0,1734	-0,0663

Experimento N° 2

$H_s = 0,09060$, $B_s=0,01080$ $C_s=0,02030$, $L_s = 0,0100$, $H_t = -0,098$, $V_i = 45,47$, $E_0 = 438,20$, $J_H = 9,89$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
6,0	295,0	2,2220	3,2103	2,9372	-0,2730
9,5	273,3	2,5880	3,0348	2,9208	-0,1140
12,0	248,5	3,0070	2,8760	2,9112	0,0351
13,5	224,1	3,4190	2,7637	2,9060	0,1424
14,5	203,2	3,7730	2,6784	2,9007	0,2223
15,5	184,0	4,0970	2,5861	2,8876	0,3016
16,5	164,8	4,4220	2,4910	2,8420	0,3509
17,5	144,4	4,7670	2,3947	2,6702	0,2754
19,0	119,5	5,1880	2,2491	2,1430	-0,1061
21,0	97,3	5,5630	2,0542	1,7868	-0,2674
25,0	71,3	6,0020	1,6641	1,5997	-0,0644
30,0	44,0	6,4640	1,1764	1,3058	0,1294
33,5	15,1	6,9520	0,8350	0,9034	0,0684
35,0	-12,6	7,4210	0,6886	0,6823	-0,0064
35,8	-35,8	7,8130	0,6106	0,5696	-0,0410

36,3	-57,5	8,1800	0,5619	0,4918	-0,0702
36,9	-81,6	8,5870	0,5036	0,4312	-0,0724
37,6	-106,2	9,0030	0,4358	0,3790	-0,0568
38,7	-134,2	9,4760	0,3302	0,2958	-0,0344

8.2.4. Relación 1:4:1

Experimento N° 1

$H_s = 0,07567$, $B_s=0,0053$ $C_s=0,02040$, $L_s = 0,0051$, $H_t = -0,098$, $V_i = 37,57$, $E_0 = 438,80$, $J_H = 8,06$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
4,0	293,0	2,2150	2,7374	2,7714	0,0339
6,5	270,3	2,5990	2,6144	2,6473	0,0329
8,1	243,1	3,0580	2,5116	2,5412	0,0295
8,8	222,2	3,4120	2,4557	2,4942	0,0385
9,4	198,8	3,8070	2,3979	2,4593	0,0614
10,0	174,1	4,2250	2,3328	2,4153	0,0825
10,6	148,5	4,6580	2,2644	2,2985	0,0342
11,3	125,0	5,0550	2,1828	2,0355	-0,1473
12,5	100,6	5,4670	2,0421	1,7314	-0,3106
15,0	74,7	5,9050	1,7483	1,5184	-0,2299
18,5	47,7	6,3620	1,3369	1,3148	-0,0221
21,0	21,5	6,8040	1,0430	1,0912	0,0482
22,0	1,0	7,1510	0,9255	0,9717	0,0462
22,6	-25,6	7,6010	0,8550	0,8870	0,0320
23,0	-50,0	8,0130	0,8080	0,8323	0,0242
23,6	-79,6	8,5140	0,7376	0,7750	0,0373
24,5	-102,2	8,8960	0,6322	0,7170	0,0848
26,0	-129,2	9,3520	0,4570	0,5977	0,1407
27,5	-156,0	9,8050	0,2839	0,4088	0,1249
28,4	-176,5	10,1520	0,1844	0,2405	0,0562
29,3	-199,4	10,5390	0,0951	0,0979	0,0028

Experimento N° 2

$H_s = 0,07520$, $B_s=0,0053$ $C_s=0,01995$, $L_s = 0,00490$, $H_t = -0,098$, $V_i = 37,47$, $E_0 = 441,90$, $J_H = 10,67$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
4,0	292,5	2,2110	2,7365	2,7661	0,0296
7,0	261,8	2,7290	2,5801	2,6116	0,0315
8,0	242,6	3,0530	2,5093	2,5462	0,0369
8,8	215,5	3,5110	2,4421	2,4928	0,0508
9,4	189,3	3,9540	2,3782	2,4575	0,0793
10,0	164,0	4,3820	2,3069	2,3992	0,0923
10,6	139,3	4,8000	2,2330	2,2330	0,0000
11,3	116,3	5,1880	2,1456	1,9261	-0,2195
12,5	95,0	5,5490	1,9949	1,6804	-0,3144
15,0	69,0	5,9880	1,6806	1,4784	-0,2022
18,0	44,8	6,3970	1,3034	1,2896	-0,0138
20,0	23,0	6,7660	1,0519	1,0979	0,0460
21,3	-4,8	7,2360	0,8884	0,9381	0,0497
21,8	-26,1	7,5960	0,8256	0,8724	0,0469
22,1	-49,9	7,9980	0,7879	0,8167	0,0288
22,5	-72,0	8,3720	0,7377	0,7732	0,0355
23,0	-91,9	8,7080	0,6750	0,7301	0,0551
24,0	-115,7	9,1100	0,5499	0,6522	0,1023
25,0	-134,8	9,4330	0,4253	0,5534	0,1281
26,1	-155,8	9,7880	0,2898	0,4034	0,1136
27,0	-177,9	10,1620	0,1836	0,2259	0,0423

Experimento N° 3

$H_s = 0,07520$, $B_s=0,0053$ $C_s=0,01990$, $L_s = 0,00490$, $H_t = -0,098$, $V_i = 37,47$, $E_0 = 438,30$, $J_H = 7,98$

V(mL)	E(mV)	pH	θ_L	θ_L^*	$\theta_L^* - \theta_L$
4,5	290,9	2,1610	2,7015	2,7742	0,0726
7,0	264,5	2,6070	2,6165	2,6400	0,0235
8,2	243,2	2,9670	2,5427	2,5609	0,0182
8,8	223,6	3,2980	2,5002	2,5158	0,0156
9,6	192,3	3,8270	2,4196	2,4726	0,0530
10,2	168,8	4,2240	2,3487	2,4329	0,0842
11,0	135,9	4,7810	2,2496	2,2444	-0,0052
12,0	109,5	5,2270	2,1231	1,8831	-0,2401

14,0	84,0	5,6580	1,8691	1,6129	-0,2562
17,0	59,0	6,0810	1,4877	1,4282	-0,0595
19,5	37,3	6,4470	1,1699	1,2517	0,0819
21,0	16,5	6,7990	0,9792	1,0684	0,0892
22,0	-13,1	7,2990	0,8520	0,9087	0,0567
22,4	-37,6	7,7140	0,8012	0,8378	0,0366
22,9	-68,3	8,2330	0,7377	0,7712	0,0334
23,4	-87,6	8,5590	0,6743	0,7326	0,0583
24,5	-112,3	8,9760	0,5349	0,6659	0,1309