

## ASPECTOS TEORICOS

### Ligando: definición y clasificación

En un compuesto de coordinación, el átomo central o el grupo de átomos centrales esta rodeado por aniones o moléculas denominados ligandos. Un ligando es aquella molécula o ion que posee cuando menos un par de electrones que pueda donar. Así el ligando, en el compuesto de coordinación, es una *base de Lewis* o *nucleófilo*. Por otro lado, un ion metálico o una molécula, con capa de valencia incompleta con capacidad de aceptar al par de electrones, es un *ácido de Lewis* o *electrófilo*.

Los ligandos que se coordinan con el ion metálico pueden clasificarse de la siguiente manera:

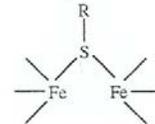
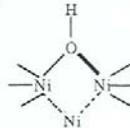
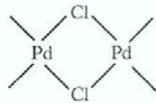
- 1) *Ligandos Monodentados*. Son los que donan sólo un par electrónico (diente) a sólo un ion metálico en un compuesto de coordinación (Tabla 1). Los iones halogenuro, el amoniaco, el agua y el  $PR_3$  (R= grupo alquilo), están dentro de este grupo. Algunos ligandos monodentados pueden tener dos o más sitios donadores. A este tipo de ligandos se les llama *ligantes ambidentados*. Algunos compuestos que están en esta clasificación son el ion tiocianato (M-SCN, M-NCS), ion nitrito (M-NO<sub>2</sub>, M-ONO), ion sulfito (M-SO<sub>3</sub>, M-OSO<sub>2</sub>). También existen monoatómicos que pueden formar dos enlaces con dos átomos metálicos separados y, en consecuencia, actúan como puentes; dichos ligandos son llamados *ligandos puentes*. Dentro de este grupo se encuentran los halogenuros. Esto significa que hay solamente un átomo ligando que forma dos (o mas) enlaces, con diferentes átomos metálicos.
- 2) *Ligandos bidentados*. Son los que poseen dos átomos donadores. Estos pueden ser compuestos neutros (diaminas, difosfinas, disulfuros) o aniones como el oxalato, los carboxilatos, el nitrito, etc.
- 3) *Ligandos polidentados*. En esta clasificación se incluye a compuestos que tienen más de dos átomos donadores formando parte de la molécula, y según el número de

Tabla 1. Clasificación y ejemplos de ligandos.

**Ligandos monodentados.**

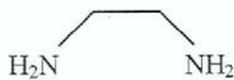
F, Cl, Br, CN, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, OH, CO, RCN.

Ligandos monodentados actuando como puentes

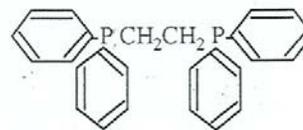


**Ligandos bidentados.**

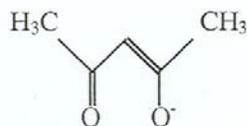
etilendiamina (en)



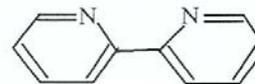
difosfinas



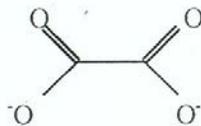
acetilacetonato (acac)



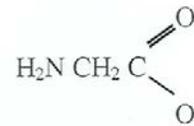
2,2-bipiridina (bpy)



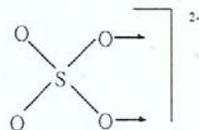
oxalato (ox)



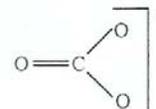
glicinato



sulfato



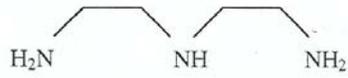
carbonato



Continuación Tabla 1

**Ligandos tridentados.**

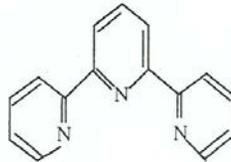
Dietilentriamina (dien)



Iminodiacetato (imda)



Terpiridilo (terpi)



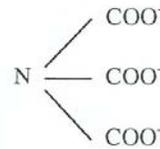
**Ligandos tetradentados.**

a) ligandos de cadena abierta

Trietilentetraamina (trien)



Nitilotriacetato (nta)

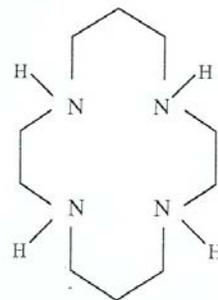


b) ligandos macrocíclicos

porfirina



ciclam





átomos donadores pueden llamarse tridentados, tetradentados, pentadentados o hexadentados [17].

- 4) *Ligandos Macroclíclicos*. Se definen como aquellos compuestos cíclicos con nueve o más miembros (incluyendo todos los átomos presentes) y con tres o más átomos donadores que tiene la función de ligando [18].

### Complejación

Recientemente, se ha intensificado el estudio por conocer cuales son los factores que controlan la selectividad y eficiencia de la complejación. Como resultado de estos estudios se han encontrado relaciones claras y sencillas para comprender los factores estructurales, termodinámicos y cinéticos que dan como resultado complejos estables, destacando por su importancia los conceptos generales de complementariedad de tamaño y forma y la preorganización.

#### Eficiencia de la Complejación

Primeramente definiremos lo que se conoce como *efecto quelato*. Cuando el ligando tiene más de un lugar enlazante (bidentado, tridentado, etc.) puede, sujetar el metal mediante dos o más de sus sitios de coordinación. Este tipo de enlazamiento se llama quelación (del griego: chele <pinza>). La quelación produce, en general, un complejo mucho más estable que el formado por unión con ligandos análogos separados [19].

La estabilidad del complejo por el efecto quelato depende de dos aspectos: (1) el número de anillos de coordinación formados; mientras mayor sea el número de éstos, mayor será la estabilidad del complejo formado (Tabla 2) y (2) la geometría del anillo quelato formado. Los anillos quelato de cinco y seis miembros son los que presentan mayor estabilidad. Se ha observado que cuando incrementa el tamaño del anillo quelato de cinco a seis miembros se produce una estabilización en complejos de iones metálicos de radios iónicos pequeños. Sin embargo, esta estabilización en el complejo se ve reducida con iones metálicos grandes [20], como se puede observar en la tabla 3. En otras palabras, en los anillos quelatos de seis miembros tendrán menor tensión estérica con iones metálicos pequeños de bajo

Tabla 2. Constantes de Estabilidad ( $\log\beta$ )<sup>1</sup> de algunos complejos de ligandos básicos con iones metálicos (II)

No. Anillos formados	Ligando	$\log\beta$				
		Fe (II)	Co(II)	Ni(II)	Cu(II)	Zn(II)
0	NH <sub>3</sub>	3.7	5.3	7.8	12.6	9.1
1	En	7.7	10.9	14.5	20.2	11.2
2	Trien	7.8	11.0	14.1	20.2	12.1
3	Tren	8.8	12.8	14.0	18.3	14.6
5	Penen	11.2	15.8	19.3	22.4	16.2

$$^1 \beta = \frac{[ML_n]}{[M][L]^n}$$

En = etilendiamina

Trien = trietilentetraamina

Tren = triaminoetilamina

Penen = tetrakis(aminoetil)etilendiamina

Fuente: [17]

Tabla 3. Constantes de Formación ( $\log \beta$ ) para EDTA (cinco anillos quelatos) y TMDTA (seis anillos quelatos)

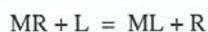
Ion Metálico	Radio Iónico	$\log \beta$	
		EDTA	TMDTA
Cu (II)	0.57	18.70	18.82
Ni (II)	0.69	18.52	18.07
Zn (II)	0.74	16.44	15.23
Cd (II)	0.95	16.36	13.83
Ca (II)	1.00	10.61	7.26
La (III)	1.03	15.46	11.28
Pb (II)	1.18	17.88	13.70

Fuente: [20]

TMDTA = trimetilendiaminatetraacetato

número de coordinación, mientras que los anillos quelato de cinco miembros preferirán iones metálicos grandes de alto número de coordinación. Esto puede explicarse en base a la conformación silla del anillo ciclohexano, situación de mínima tensión en la que todos los ángulos torsionales tienen la medida ideal de  $60^\circ$  y todos los ángulos de enlace son de  $109.5^\circ$  (Figura 2). El anillo quelato de seis miembros adoptará una geometría libre de tensión muy cercana al ciclohexano cuando el ion metálico lo permita. En un anillo quelato de cinco miembros el ion metálico deberá hallarse en la proyección del par electrónico de los átomos donadores (N), requiriendo enlaces M-N más largos y un ángulo de enlace N-M-N más pequeño para adoptar dicha geometría.

Frecuentemente, aunque hay excepciones, los macrocíclicos forman complejos más estables que los complejos formados con ligandos similares de cadena abierta. Este fenómeno fue observado por Cabiness y Margerum en 1969, ellos encontraron que los ligandos macrocíclicos tienen una estabilidad termodinámica mucho mayor cuando se comparan con sus correspondientes ligandos no-cíclicos de estructura semejante; a esta observación se le llamo *efecto macrocíclico* [18]. Este efecto se expresa cuantitativamente por la diferencia de los valores de  $\log K$  (o energía libre de complejación) para los complejos de un compuesto cíclico L y su análogo no-cíclico R. Una alternativa de esta diferencia puede ser expresada como los valores de  $\log K$  de la siguiente reacción de intercambio:



El término *efecto macrocíclico* se ha tratado de explicar desde el punto de vista de la termodinámica estudiando la interacción metal-ligando; aunque en términos cinéticos se considera que este efecto se debe a una disminución en la velocidad relativa de la disociación del complejo con respecto a la velocidad de formación. Los valores absolutos de las velocidades de disociación para los complejos macrocíclicos son típicamente menores que los valores correspondientes para ligandos convencionales [21].

El efecto macrocíclico está bien documentado para los aza y los oxamacrocíclicos. Las poliaminas cíclicas, son las más ampliamente conocidas y las más minuciosamente estudiadas para conocer el efecto macrocíclico. La magnitud del efecto macrocíclico depende de la selección del ligando de cadena abierta utilizado como referencia. Esto se debe a que

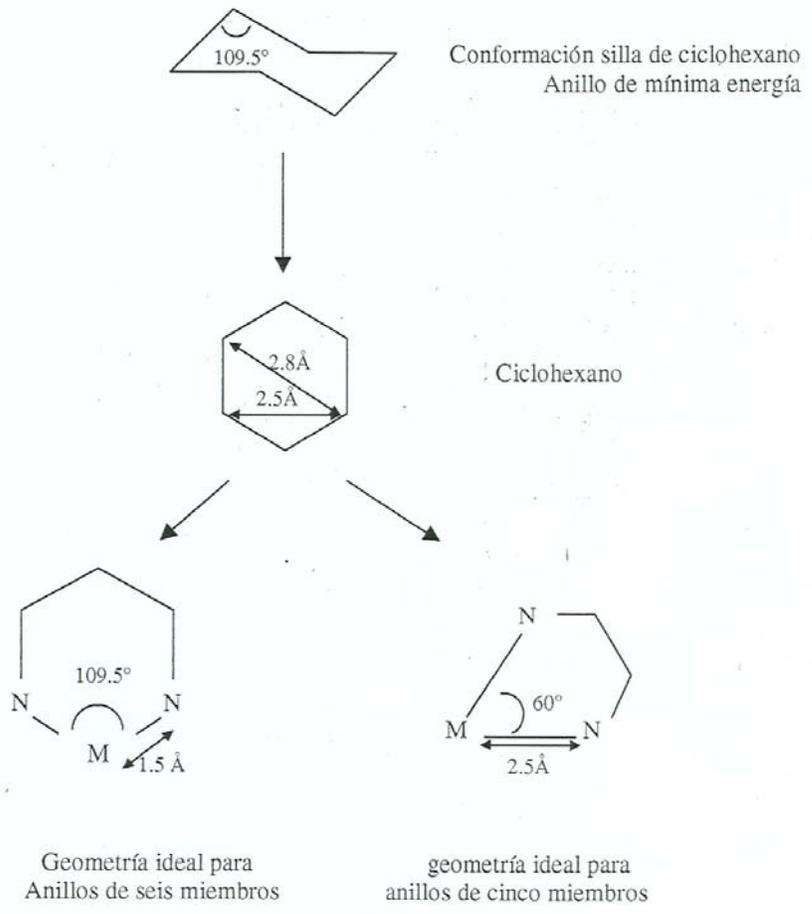


Figura 2. Estabilidad de anillos quelato de cinco y seis miembros en base a la conformación silla del ciclohexano.

Fuente: [20]

típicamente existe más de una manera de romper un macroanillo para formar su análogo de cadena abierta. La magnitud del efecto macrocíclico puede algunas veces cambiar drásticamente con un cambio en el punto de referencia. Esto se puede observar en la tabla 4, donde se muestra los altos valores de las constantes de estabilidad de los complejos de Cu(II), Ni(II) y Zn(II) con los macrocíclicos 14-anoN<sub>4</sub> y 12-anoN<sub>4</sub>, comparándolos con su ligando semejante de cadena abierta [21].

Tanto los términos de entalpía como de entropía pueden contribuir a la estabilidad del complejo. Por ejemplo, los complejos de Ni<sup>2+</sup> de 14-anoN<sub>4</sub> son aproximadamente de cuatro ordenes de magnitud más estables que su complejos análogos de cadena abierta. Estas diferencias se deben al término de entalpía, aunque el factor de entropía del mismo favorece a los compuestos cíclicos. Hinz y Margerum propusieron que el macrocíclico está menos hidratado y tiene una contribución desfavorable en la solvatación y esto se puede manifestar en el efecto macrocíclico. Esta explicación puede ser reafirmada por el factor bien conocido de que los aza macrocíclicos presentan en general valores bajos de basicidad con respecto a las poliaminas de cadena abierta. Por otro lado el trabajo de Fabrizzi y colaboradores ha indicado que el rol de la solvatación de los ligandos en los valores de la entalpía ha sido sobreestimado y que hay que tomar en cuenta otros factores [18].

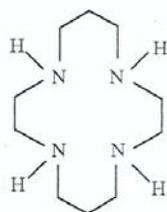
Los macrocíclicos pueden formar enlaces fuertes y esto hace que sean mayores los valores de K. Los complejos de 14-anoN<sub>4</sub> pueden presentar un efecto macrocíclico; la diferencia en los valores de log K, como se mencionó anteriormente, es de aproximadamente cuatro órdenes de magnitud con respecto a sus complejos correspondientes de cadena abierta. La entalpía puede contribuir con dos terceras partes del valor de la constante de estabilidad. Kodama y Kimura reportan, con base a los datos de los espectros de los complejos, que el efecto macrocíclico tiene un efecto marcado sobre la fuerza del campo de ligandos; a medida que aumenta la fuerza del enlace en los complejos, éstos presentan valores mas altos de Dq que los complejos de ligandos convencionales (Tabla 5) [21].

Hancock y Martell [20] han reportado un modelo para explicar la fuerza de los enlaces considerando que aumenta el efecto macrocíclico cuando aumenta el número de átomos de nitrógenos secundarios. En la tabla 6 se puede observar, para la serie de complejos de cobre con poliaminas, el efecto de la basicidad del átomo donador en las entalpías de formación de los complejos y en las energías de las transiciones d-d. Una explicación para las variaciones en

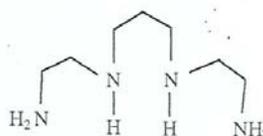
Tabla 4. Efecto macrocíclico. Constantes de estabilidad  $\log K = [ML]/[M][L]$  de complejos de Cu(II), Ni(II) y Zn(II) con ligandos macrocíclicos tetraaminados con sus similares tetraaminas no-cíclicos.

Ligando	Ion Metálico		
	Cu(II)	Ni(II)	Zn(II)
	Log $K$		
14-anoN <sub>4</sub>	26.5	19.4	15.5
2,3,2-tet	23.2	15.9	12.6
12-anoN <sub>4</sub>	23.3	14.4	16.2
2,2,2-tet	20.1	12.1	12.0

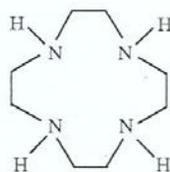
Fuente: [22]



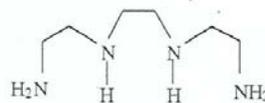
14-anoN<sub>4</sub>



2,3,2-tet



12-anoN<sub>4</sub>



2,2,2-tet

Tabla 5. Efecto de la fuerza de enlace en los valores de  $10Dq$  ( $\text{cm}^{-1}$ )

Ligando	Metal					
	$\text{Co}^{3+}$	$\text{Ni}^{2+}$ ,	$\text{Ni}^{2+}$ ,	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Cr}^{3+}$	$\text{Rh}^{3+}$
		bajo espín	Alto espín			
$14\text{-anoN}_4$	2750	2043	1460	19900	2450	25000
$\text{En}_2$	2530	1961	1150	18180	2200	24630

Fuente: [21]

Tabla 6. Efecto de la basicidad del átomo donador en complejos de cobre.

Tipo de Nitrógeno	Todos amoniaco	primarios	Dos primarios dos secundarios	todos secundarios
$\Delta H^a$ kcalmol <sup>-1</sup>	-22.0	-25.5	-27.7	-32.4
$\nu(d-d)$ cm <sup>-1</sup>	17000	18300	19000	19900

<sup>a</sup> fuerza ionica 0.5M, 25 °C  
Fuente: [20]

el  $\Delta H$  y en las frecuencias de las transiciones (d-d), es que los aumentos son debidos al incremento en la fuerza de los átomos donadores presentes en los complejos. Cuando se reemplaza al nitrógeno del amoníaco, por un nitrógeno primario y después por un nitrógeno secundario, la fuerza del enlace se incrementa. Naturalmente, un efecto inductivo positivo puede hacer que los nitrógenos sean más básicos en cualquier ligando y los enlaces de coordinación más fuertes en cualquier complejo. Aunque en soluciones de compuestos de cadena abierta que son básicos este efecto es anulado por ineficiencia estérica, que es el resultado de lo voluminoso de los centros donadores, y por la solvatación [20].

Debido a la preorganización, el compuesto macrocíclico minimiza la energía necesaria para el arreglo conformacional. Esto es una característica del efecto macrocíclico y es el concepto que mas se aplica para explicar la eficiencia de la complejación [23]. En este caso se considera que la conformación en el estado libre debe ser similar a la conformación que tome el complejo. En general, los macrocíclicos son ligandos más preorganizados que sus análogos de cadena abierta, por esto se piensa que esta razón es la más importante para el efecto macrocíclico.

El papel que tiene la preorganización en el efecto macrocíclico ha sido muy bien estudiado en numerosas estructuras tanto en forma teórica como práctica. Por ejemplo, la unión de Na, K y Ba con 18-corona-6 es de 3-4 órdenes de magnitud más fuerte que su análogo de cadena abierta, la pentaglimida [18].

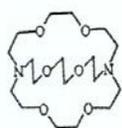
La rigidez del esqueleto del complejo macrocíclico y la inserción de puentes entre los átomos donadores es la estrategia más utilizada para crear ligandos más preorganizados. Hoy en día existe una gran variedad de macrocíclicos preorganizados, entre los que se encuentran los esferandos, compuestos derivados de unidades de anisol; torandos, que son los heterocíclicos pequeños; los criptatos y otros macrocíclicos que contienen puentes a través de nitrógenos. En la tabla 7, se muestran algunos de estos compuestos y como afecta el grado preorganización en la constante de estabilidad de complejos de sodio y potasio.

Un importante hecho es que el incremento de la topología y las restricciones estéricas pueden imponer algunos problemas. Primero, los ligandos muy rígidos frecuentemente muestran muy lenta formación de complejos, y esto obstaculiza los posibles usos analíticos.

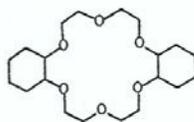
Tabla 7. Constantes de Estabilidad (log K) para complejos de sodio y potasio con macrocíclicos de diferente grado de preorganización.

Ligando	Complejo de Sodio	Complejo de Potasio
A	6.4	8.3
B	10.6	13.2
C	9.9	13.9
D	14.1	4.4
E	14.7	14.3

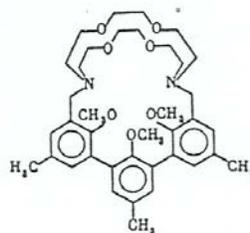
Fuente: [21].



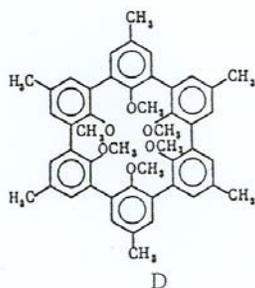
A



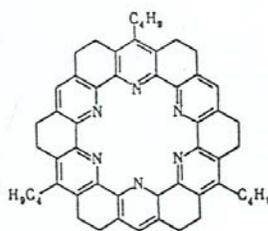
B



C



D



E

Segundo, la introducción de puentes adicionales, que tienen sus propias propiedades estereoquímicas, puede ser desfavorable al alterar las propiedades del ligando.

Otra clase importante de macrocíclicos preorganizados son aquellos a los que se les adicionan brazos. Dentro de esta clase se encuentran los poliazacarboxilatos. Los brazos tienen la característica de ser donadores disponibles que no pueden ser fácilmente incorporados dentro del macroanillo. Los poliazacarboxilatos han sido extensamente utilizados en la química analítica. Estos tipos de ligandos presentan frecuentemente alta eficiencia en la complejación. Por ejemplo, los complejos de calcio con tetraazaciclododecano tetraacetato (DOTA), son uno de los complejos más estables que se han reportado. Este mismo compuesto es también un agente quelante fuerte para gadolinio(III), y es aproximadamente tres órdenes de magnitud más estable que el DTPA.

### Selectividad

Los macrocíclicos no son solo más efectivos en la complejación, sino también son más selectivos que los ligandos de cadena abierta. Para los químicos analíticos, la selectividad es la propiedad más importante.

La base de la selectividad es que los átomos donadores del ligando deben formar una cavidad de tamaño adecuado para contener al ion metálico. El radio de estas cavidades debe ser de una magnitud tal, que permita que se ajusten al radio iónico del catión metálico. Si el catión es chico para la cavidad, la coordinación no será apropiada a todos los átomos donadores. Si el catión es grande, la cavidad no podrá acomodarlo. En cualquiera de los casos anteriores, el complejo resultante será menos estable que aquéllos en los que el catión ajusta adecuadamente en la cavidad, interactuando al máximo con cada átomo donador. En la tabla 8 se muestran los radios iónicos de varios cationes, así como los radios de la cavidad de algunos compuestos macrocíclicos.

Estudios sobre la selectividad en los tetraazamacrocíclicos han demostrado que estos ligandos son mucho más flexibles de lo que se cree. Así, existen al menos tres conformaciones que tienen energía comparable. Estas conformaciones se pueden observar en la figura 3. La conformación que toma el ligando depende del tamaño del ion metálico. La conformación trans-I favorece a iones metálicos grandes coordinándose con ellos en una posición fuera del

Tabla 8. Relación de radio iónico con el tamaño de la cavidad del ligando macrocíclico.

Ligando	Tamaño de la cavidad A°	Metal	Tamaño del radio A°	log K
18-corona-6	2.6-3.2 <sup>a</sup>	K	1.38 <sup>a</sup>	6.10 <sup>a</sup>
		Na	1.02 <sup>a</sup>	4.32 <sup>a</sup>
Dacda (K22DA)	1.7-2.2	Sr <sup>2+</sup>	1.4 <sup>e</sup>	7.31 ± 0.4 <sup>b</sup>
		Eu <sup>3+</sup>	0.947 <sup>c</sup>	11.85 ± 0.11 <sup>b</sup>
		Gd <sup>3+</sup>	0.938 <sup>c</sup>	11.66 ± 0.10 <sup>b</sup>
TETA		Nd <sup>3+</sup>	0.983 <sup>c</sup>	14.51 ± 0.06 <sup>c</sup>
		Eu <sup>3+</sup>	0.947 <sup>e</sup>	15.46 ± 0.02 <sup>c</sup>
		Yd <sup>3+</sup>	0.938 <sup>e</sup>	16.55 ± 0.02 <sup>c</sup>
DOTA		Eu <sup>3+</sup>	0.947 <sup>e</sup>	28.2 ± 0.2 <sup>d</sup>
		Tb <sup>3+</sup>	0.923 <sup>e</sup>	28.6 ± 0.1 <sup>d</sup>
		Lu <sup>3+</sup>	0.861 <sup>e</sup>	29.2 ± 0.2 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>[24]<sup>b</sup> fuerza ionica 0.1 M NaCl, 25 ± 0.1 C° [24]<sup>c</sup> fuerza ionica 1 M NaCl, 80 C°. C [25]<sup>d</sup> [26]

Dacda= 1,10-diaza-4,7,13,16-tetraoxaciclooctadecano-N,N'-diacetato.

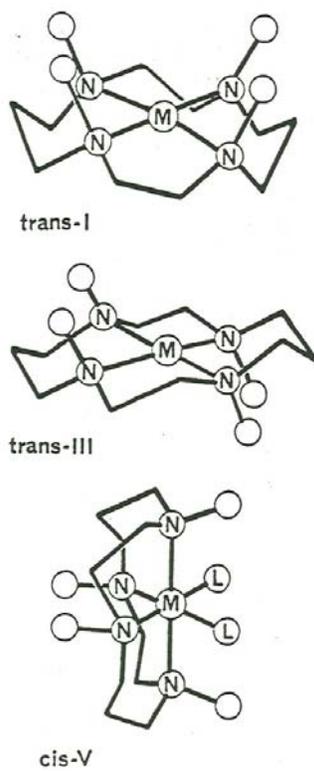


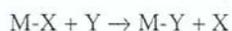
Figura 3. Conformaciones comúnmente encontradas en complejos de tetraazamacrocíclicos. Los círculos abiertos son los hidrógenos de los N-H. Las esferas con N, son los nitrógenos coordinados con el átomo metálico y las esferas con L, son otros átomos donadores, como pueden ser las moléculas del solvente.

Fuente: [20]

plano. En esta situación, los factores que intervienen en la selectividad son muy similares que los ligandos de cadena abierta [20].

### Constantes de Formación

La determinación de las constantes de formación de los complejos con metales siempre se realiza en solución. Las moléculas del solvente compiten con el ligando por el ion metálico central, por lo que la formación del complejo con otro ligando es una reacción de sustitución, una reacción en la que el grupo entrante desplaza a las moléculas del solvente alrededor del metal. Al grupo que desplaza a las moléculas del solvente se le llama grupo entrante y a las moléculas que fueron desplazadas se les llama grupo saliente. A esta reacción de sustitución generalmente se le denota como:



Se admiten dos clases de estabilidades para los complejos: la estabilidad cinética y la termodinámica. La estabilidad termodinámica se ocupa de la energía de enlace, las constantes de estabilidad y los potenciales redox. La estabilidad cinética estudia la rapidez y los mecanismos de las reacciones químicas, la formación de los complejos intermediarios, las energías de activación para los procesos, etc [17].

Un ejemplo de equilibrio de coordinación es la reacción de Ru (III) con el ion Cl<sup>-</sup>



$$K_f = [\text{RuCl}] / [\text{Ru}][\text{Cl}] \quad (2)$$

Donde  $K_f$  es la constante de formación del complejo. La concentración de agua no aparece debido a que se toma como constante en soluciones diluidas [27].

La formación del complejo  $\text{ML}_n$  se plantea de acuerdo con las constantes de formación parciales





Donde  $n$  es el número de coordinación total del metal.

Cuando se quiere calcular la concentración final del complejo  $ML_n$  se puede utilizar la constante de formación total

$$\beta_n = [ML_n]/[M][L]^n \quad (3)$$

y se relaciona con  $K_n$  de acuerdo con

$$\beta_n = K_1 K_2 K_3 \dots K_n \quad (4)$$

El inverso de  $K_f$  es lo que se conoce como constante de disociación  $K_d$ , y ésta también se utiliza con frecuencia:



La  $K_d$  tiene la misma forma que  $K_a$  para los ácidos, para facilitar la comparación entre los complejos del metal y los ácidos de Brønsted. Los valores de  $K_d$  y  $K_a$  se pueden tabular juntos si el protón es considerado como otro catión.

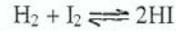
Existe otra forma importante de considerar el equilibrio, donde se utiliza los conceptos de energía libre ( $\Delta G$ ) y de entropía ( $\Delta S$ ). Para que ocurra un cambio espontáneo (a presión y temperatura constantes), la energía libre del sistema debe disminuir. Puesto que un sistema en equilibrio no tiende a cambiar, éste debe de representar un estado en donde la energía libre ha alcanzado un mínimo.

Se define 
$$\Delta G \equiv \Delta H - T\Delta S \quad (6)$$

en donde  $\Delta H$  y  $\Delta S$  son los cambios en la entalpía y en la entropía durante la reacción.

Las reacciones químicas implican mezclas de sustancias. Puesto que las sustancias no son totalmente puras, es preciso tener una forma para describir su tendencia a reaccionar en condiciones no estándar. Esta tendencia relativa se expresa generalmente en términos de actividad química, la cual se define como la razón de la concentración efectiva de una especie respecto a su concentración en un estado de referencia. Para las soluciones líquidas, la actividad de un soluto se expresa generalmente como la concentración molar de soluto presente dividida entre su molaridad (esto es 1 M) en el estado estándar [28].

Si representamos la contribución de energía libre molar en el estado estándar como  $G^\circ_X$ , entonces resulta que  $G_X = G^\circ_X + RT \ln a_X$ . De esta forma  $a_X$ , la actividad del compuesto X, proporciona una medida de la desviación en la contribución de energía libre respecto al valor en el estado estándar. Por ejemplo en la reacción



$\Delta G$  es igual a la energía libre de 2 moles de HI en la mezcla menos las energías libres de 1 mol de  $\text{H}_2$  y un mol  $\text{I}_2$  en la mezcla:

$$\Delta G = 2 G_{\text{HI}} - G_{\text{H}_2} - G_{\text{I}_2} \quad (7)$$

Al sustituir

$$G_{\text{HI}} = 2(G^\circ_{\text{HI}} + RT \ln a_{\text{HI}}) \quad (8)$$

$$G_{\text{H}_2} = G^\circ_{\text{H}_2} + RT \ln a_{\text{H}_2} \quad (9)$$

$$G_{\text{I}_2} = G^\circ_{\text{I}_2} + RT \ln a_{\text{I}_2} \quad (10)$$

Sustituyendo las ecuaciones 8, 9 y 10 en la ecuación 7, obtenemos

$$\Delta G = 2(G^\circ_{\text{HI}} + RT \ln a_{\text{HI}}) - (G^\circ_{\text{H}_2} + RT \ln a_{\text{H}_2}) - (G^\circ_{\text{I}_2} + RT \ln a_{\text{I}_2}) \quad (11a)$$

$$= 2(G^\circ_{\text{HI}}) - (G^\circ_{\text{H}_2}) - (G^\circ_{\text{I}_2}) + RT(2 \ln a_{\text{HI}} - \ln a_{\text{H}_2} - \ln a_{\text{I}_2}) \quad (11b)$$

En lugar de los tres primeros términos  $2(G^\circ_{\text{HI}}) - (G^\circ_{\text{H}_2}) - (G^\circ_{\text{I}_2})$  podemos escribir  $\Delta G^\circ$ , que representa el cambio en la energía libre molar si cada componente de la mezcla estuviera en su estado estándar. Si se tiene en cuenta que  $2 \ln a_{\text{HI}}$  es igual  $\ln a_{\text{HI}}^2$ , podemos escribir

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln (a_{\text{HI}}^2 / a_{\text{H}_2} a_{\text{I}_2}) \quad (12)$$

En el equilibrio, la energía libre total alcanza un mínimo y  $\Delta G = 0$ . En consecuencia, para el equilibrio podemos escribir

$$0 = \Delta G^\circ + RT \ln (a_{\text{HI}}^2 / a_{\text{H}_2} a_{\text{I}_2}) \quad (13)$$

ó

$$\Delta G^\circ = - RT \ln (a_{\text{HI}}^2 / a_{\text{H}_2} a_{\text{I}_2}) \quad (14)$$

La razón de actividad tiene la misma forma de expresión que la constante de equilibrio  $K$  y esto conduce a

$$\Delta G^\circ = - RT \ln K \quad (15)$$

o reemplazando el logaritmo natural por 2.303 multiplicado por el logaritmo de base 10

$$\Delta G^\circ = -2.303 RT \log K \quad (16)$$

La relación final es notable. Establece que el estado de equilibrio final, caracterizado por  $K$ , está relacionado con el cambio en la energía libre desde los reactivos hasta los productos en el estado estándar,  $\Delta G^\circ$ . Así, conoceremos algo acerca del estado de equilibrio, considerando las propiedades de la energía libre en el estado estándar.

Para una ecuación química en general,  $\Delta G^\circ$  puede ser cero, positiva o negativa. Si  $\Delta G^\circ = 0$ , entonces  $K=1$ ; esto significa que el estado final de equilibrio será aquel en el cual los reactivos y los productos contribuyan igualmente a la razón de actividad. Si  $\Delta G^\circ > 0$ , entonces  $K < 1$ ; los productos contribuyen menos que los reactivos a la razón de actividad en el estado de equilibrio. La reacción química ya no se desplazará más de izquierda a derecha. Si  $\Delta G^\circ < 0$ , entonces  $K > 1$ , se favorece la reacción hacia la derecha, y las actividades de los productos predominan en el estado de equilibrio.

#### **Cálculo de la constante de formación por valoraciones potenciométricas.**

Se puede caracterizar una valoración potenciométrica como una en la cual se registra el cambio de la fuerza electromotriz (fem) de una celda galvánica durante una valoración, en función del valorante agregado. La principal meta de este procedimiento es la localización precisa del punto de equivalencia, aunque también puede obtenerse de las curvas de valoración potenciométrica información de índole termodinámica, incluidas las constantes de disociación de ácidos débiles y las constantes de estabilidad de iones complejos.

En comparación con otros métodos para la localización de puntos de equivalencia, la valoración potenciométrica ofrece varias ventajas. Primero, es aplicable a sistemas químicos intensamente coloridos donde serían inútiles los métodos visuales ordinarios para la determinación del punto final. Segundo, una valoración potenciométrica es especialmente útil cuando no se dispone de un indicador interno. Tercero, este método experimental es valioso para valoraciones en medios no acuosos. Cuarto, elimina decisiones subjetivas concernientes a los cambios de color de indicadores del punto final, al igual que la necesidad de correcciones, por valoración en blanco del indicador. Quinto, las valoraciones potenciométricas pueden usarse en reacciones ácido-base, de precipitación, complejométricas y de oxidación-reducción.

La exactitud que puede lograrse en valoraciones potenciométricas es tan buena como la que se consigue con los indicadores de punto final ordinarios y, en ciertas condiciones, puede ser mejor [29].

El equipo necesario para efectuar valoraciones potenciométricas es relativamente simple. Un vaso de valoración, que de ordinario es simplemente un vaso de precipitados abierto, una bureta con el valorante estándar y dos electrodos, uno de referencia y uno indicador, es todo lo que se necesita. Es preferible que la solución esté bien agitada durante el curso de la valoración y para ello es ideal un instrumento de agitación magnética. Para algunas valoraciones, el vaso de valoración ha de estar cerrado, a fin de poder burbujear por la solución un gas inerte, como nitrógeno o argón, para eliminar oxígeno [16].

Cuando se escoge un electrodo indicador para potenciometría directa o para una valoración potenciométrica han de buscarse en él tres propiedades características generales. Primero, el potencial de un electrodo indicador habrá de estar relacionado por la ecuación de Nernst con la concentración (actividad) de la especie que ha de determinarse. Segundo, es de desear que un electrodo indicador responda de modo rápido y reproducible a variaciones en la concentración o actividad de la sustancia que interesa. Tercero, un electrodo indicador ha de poseer una forma física que permita efectuar mediciones con comodidad.

Una de las aplicaciones más útiles y generalizadas de las mediciones de fem es la determinación de constantes de equilibrio de reacciones químicas. De la reacción general



la expresión de la constante de equilibrio es

$$K = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

Por la ecuación de Nernst para esta reacción total es

$$E = E^\circ - \frac{0.059}{n} \log \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

La ecuación de Nernst es rigurosamente una relación termodinámica en la cual E es la fem real para una semireacción o una reacción final en una celda en condiciones de estado normal, 0.059 es la constante válida solo a 25°C, y n es número de electrones involucrados en

la reacción. Para un sistema en equilibrio, las dos últimas reacciones se pueden combinar para obtener

$$E = E^{\circ} - \frac{0.059}{n} \log K$$

Además, si el sistema está en equilibrio  $E = 0$ ; es decir, no hay tendencia de la reacción para proceder en cualquier dirección, así:

$$0 = E^{\circ} - \frac{0.059}{n} \log K$$

despejando  $\log K$  obtenemos

$$\log K = \frac{nE^{\circ}}{0.059}$$

Hasta este punto, solo hemos visto las ventajas de utilizar esta técnica; pero también tiene sus limitaciones y se tienen que considerar dependiendo de los análisis que se deseen realizar. Una de las limitaciones es que los electrodos no son específicos a un ion determinado, sino que exhiben una mayor selectividad hacia dicho ion. Los electrodos miden la actividad de la especie ionizada de interés y no la concentración de ésta, así como tampoco la concentración total. Si en la reacción hay formación de complejos, éstos pueden interferir, ya que disminuye la actividad que se está midiendo. Una limitación importante de esta técnica cuando se utiliza para la determinación de constantes, es que en ciertos sistemas el equilibrio se alcanza muy lentamente. Esto tiene efecto sobre la estabilidad del electrodo y los resultados obtenidos no son muy confiables.

En estos casos, es necesario buscar otros métodos que nos permitan estudiar este tipo de sistemas, como son los métodos que se basan en la interacción de la energía radiante con la materia. El espectro de la energía radiante se divide en varias regiones, los límites de estas regiones están determinados por los límites prácticos de métodos experimentales apropiados, de producción y detección de radiaciones. La diferenciación de las regiones espectrales tiene un significado adicional que se refiere a las interacciones de las radiaciones con los sistemas químicos que siguen diferentes mecanismos y proveen diferentes tipos de información.

Dentro de este tipo de técnicas se encuentran los estudios de los espectros de Ultravioleta-Visible, Fluorescencia, Fosforescencia, RMN, etc.

### **Espectroscopia de Luminiscencia**

La espectroscopia es la rama de la fisicoquímica que se ocupa de la detección y análisis de la radiación electromagnética absorbida o emitida por las especies químicas. Existen diferentes técnicas espectroscópicas, pero todas trabajan bajo el mismo principio básico: bajo ciertas condiciones los materiales tienen capacidad de absorber o emitir energía electromagnética.

En cualquiera de las técnicas espectroscópicas, los resultados experimentales se obtienen en gráficos denominados espectros, los cuales son una representación de la intensidad de la absorción o emisión (eje de las abscisas) en función de la energía de la radiación (eje de las ordenadas). En los espectros la energía puede ser expresada en términos de frecuencia,  $\nu$ , o en términos de longitud de onda,  $\lambda$ , de la radiación; ambos parámetros se relacionan por medio de la ecuación  $E = h\nu = hc/\lambda$ , donde  $h$  es la constante de Planck, y  $c$  es la velocidad de la luz [30].

El espectro electromagnético cubre una enorme cantidad de frecuencias (figura 4); las distintas técnicas espectroscópicas operan de forma diferente, dependiendo de los rangos de frecuencia utilizados, de los cuales dependen los procesos y las magnitudes de los cambios de energía utilizados. Así tenemos, por ejemplo, que la técnica de resonancia magnética nuclear (RMN) se utilizan bajas frecuencias y por lo tanto está asociada con cambios pequeños de energía ( $< 1 \text{ J mol}^{-1}$ ), pero que pueden ser suficientes para cambiar el espín del núcleo o electrón cuando se le aplica un campo magnético. A mayores frecuencias la cantidad de energía asociada con la radiación es más alta, y con radiación en la región del infrarrojo (IR) se pueden alterar los movimientos vibracionales de las moléculas; las regiones ultravioleta y visible se encuentran asociadas a transiciones electrónicas de las capas externas de átomos y moléculas.

Los métodos donde se analiza la luz emitida por la muestra se conoce como métodos luminiscentes, en los cuales los átomos o moléculas excitados regresan al estado fundamental

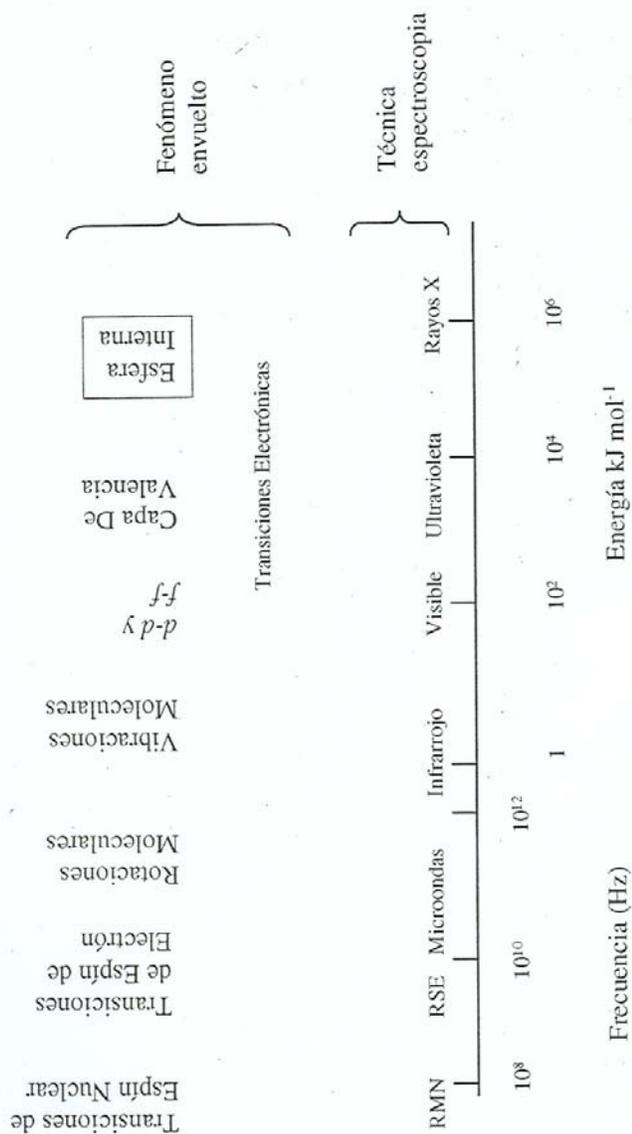


Figura 4. Principales regiones del espectro electromagnético y las técnicas espectroscópicas asociadas.  
Fuente:[30]

emitiendo radiación electromagnética (normalmente en las regiones ultravioleta o visible) que suministra información importante para el análisis cualitativo o cuantitativo.

Las tres manifestaciones de la luminiscencia son la fluorescencia, la fosforescencia y la quimioluminiscencia. En la fluorescencia, la radiación emitida cesa inmediatamente después de que ha concluido la radiación de excitación; en la fosforescencia la emisión puede mantenerse por períodos largos (hasta de horas, pero comúnmente del orden de segundos o fracciones de segundo). Como se revisará con mayor profundidad más adelante, estas características se deben a que la fluorescencia y la fosforescencia difieren en el tipo de transiciones electrónicas: las transiciones responsables de la fluorescencia no implican un cambio de espín del electrón, mientras que las emisiones de fosforescencia sí están acompañadas por un cambio en el espín electrónico. En ambos casos, la luz emitida tiene una longitud de onda mayor que la radiación utilizada para su excitación. El tercer tipo de luminiscencia, la quimioluminiscencia, se basa en el espectro de emisión de una especie excitada que se ha formado en el curso de una reacción química [27].

#### **Teoría de la fluorescencia.**

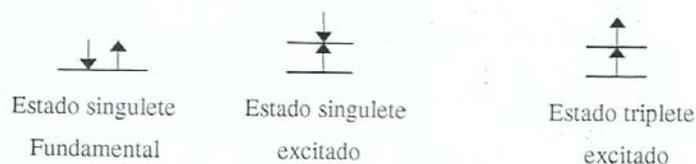
Una comprensión de la diferencia entre los dos fenómenos requiere de una revisión de los conceptos de espín del electrón y estados excitados singlete y triplete.

El principio de exclusión de Pauli postula que en un átomo no puede haber dos electrones con los cuatro números cuánticos iguales. Esta restricción requiere que no haya más de dos electrones en un orbital; además, los dos electrones deben tener los estados de espín opuestos (espines apareados). Una consecuencia del apareamiento de espines es que la mayoría de las moléculas, al no poseer un campo magnético neto, son diamagnéticas. La situación opuesta la presentan los radicales libres, los cuales al contar con electrones desapareados tienen un momento magnético neto y, por lo tanto, son paramagnéticos.

El estado electrónico fundamental para una molécula en el que todos los espines de los electrones están apareados es el estado singlete, denominado así debido a que no se presenta un desdoblamiento de los niveles de energía electrónicos cuando la molécula se expone a un campo magnético. El estado fundamental para un radical libre es el estado de doblete, en el

cual el electrón desapareado puede tomar dos orientaciones en presencia de un campo magnético, ambas con valores de energía ligeramente diferentes.

Cuando uno de los electrones de una molécula es excitado a un nivel de energía superior, la molécula puede pasar a un estado de singulete excitado o a uno de triplete excitado. En el estado de singulete, el espín del electrón promocionado se mantiene apareado con el electrón que permanece en el estado basal; sin embargo, cuando por algún mecanismo el electrón excitado cambia su espín, desapareándose del electrón en el estado fundamental, la molécula pasa al estado de triplete. Estos estados electrónicos pueden representarse como sigue:



Las propiedades de una molécula en el estado excitado de triplete difieren significativamente de las de una molécula en el estado excitado de singulete. Por ejemplo, en el estado singulete la molécula es diamagnética y en el estado triplete es paramagnética. De especial importancia es el hecho de que una transición singulete/triplete (o viceversa) implica un cambio de espín y por lo tanto es significativamente menos probable que la correspondiente transición singulete/singulete. En consecuencia, el tiempo de vida media de un estado de triplete excitado es mucho mayor al de un estado de singulete excitado. Además, la excitación inducida por radiación de una molécula en el estado fundamental a un estado excitado de triplete tiene una muy baja probabilidad de llevarse a cabo y los picos de absorción debidos a este proceso son muy débiles.

### Proceso de desactivación

Una molécula en estado excitado puede volver a su estado fundamental por una combinación de varias rutas mecánicas, dos de las cuales (proceso de fluorescencia y fosforescencia) implican la emisión de radiación electromagnética; todos los demás procesos se presentan sin emisión de fotones. El camino más probable hacia el estado fundamental es

aquel que reduce al mínimo el tiempo de vida del estado excitado. Por tanto, si la desactivación por fluorescencia es rápida con respecto a los procesos sin radiación, se observará tal emisión; por el contrario, si el camino sin radiación tiene una constante de velocidad favorable, la fluorescencia no se presenta o es de poca intensidad.

Dado lo anterior, la fotoluminiscencia se presenta en un número relativamente bajo de compuestos, donde las características estructurales de las moléculas o las condiciones del entorno químico hacen que la velocidad de los procesos de desactivación sin emisión de radiación disminuya a tal grado que el proceso de emisión de radiación pueda competir cinéticamente.

Aunque actualmente no se conocen con la debida profundidad los caminos de relajación no radiantes, la interpretación de la fluorescencia requiere de consideraciones de estas rutas de desactivación de las moléculas excitadas. Para explicar cada uno de estos procesos es muy útil considerar el diagrama típico de los niveles de energía de una molécula fotoluminiscente, el cual se muestra en la figura 5.

*Relajación Vibracional.* Como se indica en la figura 5, una molécula puede ser elevada a cualquiera de varios niveles vibratorios durante el proceso de excitación electrónica. Sin embargo, en solución la energía vibratoria en exceso se pierde inmediatamente a consecuencia de choques entre las moléculas de la especie excitada y las del disolvente; el resultado es una transferencia de energía y un minúsculo aumento de temperatura del disolvente. Este proceso de relajación es tan eficiente que la vida media de una molécula excitada es solo de  $10^{-12}$  segundos o menos, un período significativamente más corto que el tiempo de vida media de un estado excitado electrónicamente. Como consecuencia, la fluorescencia del compuesto en la solución, cuando se presenta, siempre implica transiciones desde el nivel vibracional más bajo de un estado electrónico excitado. Sin embargo, se producen varios picos muy próximos ya que el electrón puede volver a cualquiera de los niveles vibratorios del estado fundamental (figura 5); después caerá rápidamente al estado vibracional más bajo debido a posteriores relajaciones vibratorias.

*Conversión Interna.* Este término describe procesos intermoleculares por los cuales una molécula pasa a un estado electrónico de energía inferior sin emitir radiación. Los procesos no se conocen bien, pero al parecer son muy eficaces ya que relativamente pocos compuestos presentan fluorescencia.

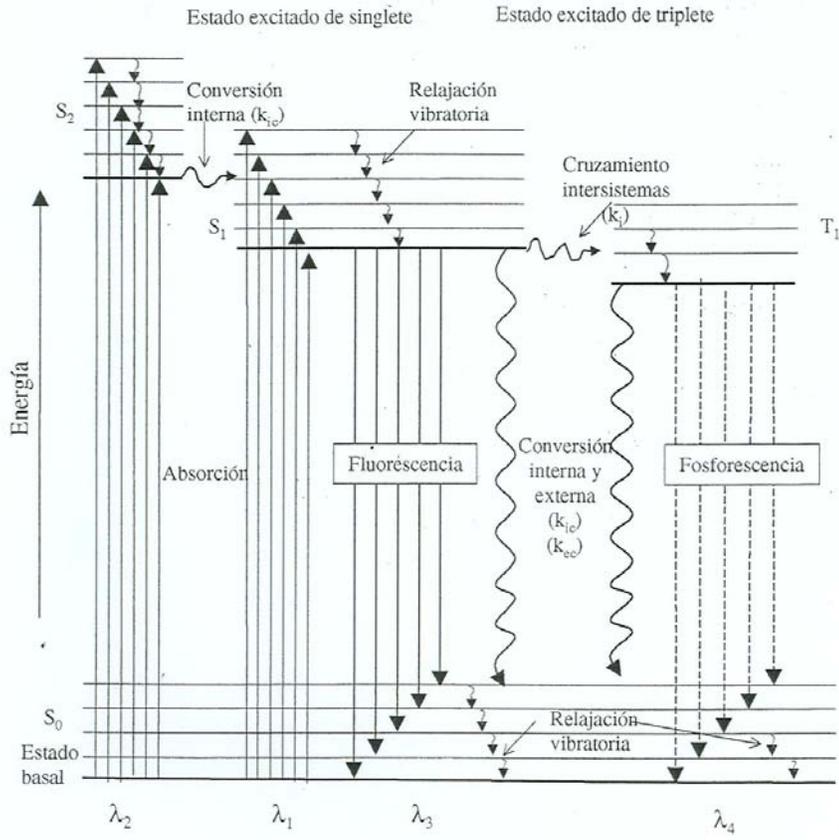


Figura 5. Diagrama de los niveles de energía parciales de un sistema fotoluminiscente  
Fuente: [31]

La conversión interna parece ser particularmente eficiente cuando dos niveles de energía electrónicos se encuentran suficientemente cercanos para que exista un traslape de los niveles vibratorios. Esta situación se describe en la figura 5 para los estados singlete excitado  $S_2$  y  $S_1$ ; como puede apreciarse, las energías potenciales de los dos estados vibracionales (el más bajo de  $S_2$  y el cuarto de  $S_1$ ) son idénticas, lo que permite una transición eficaz. Esta conversión interna a través del traslape de niveles vibracionales es generalmente más probable que la pérdida de energía por fluorescencia desde un estado electrónico excitado alto; de esta manera, refiriéndonos otra vez al diagrama de la figura 5, la fluorescencia tendrá una longitud de onda  $\lambda_3$ , a pesar de que la longitud de onda de excitación haya sido  $\lambda_1$  o  $\lambda_2$ .

Lo anterior debe a que la molécula, excitada por ejemplo al nivel vibracional 3 del estado electrónico  $S_2$  sigue la siguiente ruta de desactivación: primero pasa del nivel vibracional 3 al nivel vibracional más bajo del estado electrónico  $S_2$  a través de procesos de relajación vibracional; después se presenta una conversión interna para llegar al nivel vibracional 4 del estado electrónico excitado  $S_1$ , pasando rápidamente al nivel vibracional más bajo de  $S_1$ . Si la molécula es fluorescente, la desactivación electrónica procederá al volver el electrón a cualquiera de los niveles vibracionales de  $S_0$  mediante el proceso de fluorescencia (pérdida de energía mediante emisión de fotones); por último, la molécula en el estado electrónico fundamental se desactiva vibracionalmente al quedar en el nivel vibracional más bajo mediante relajaciones vibracionales.

El proceso descrito tienen dos consecuencias importantes: (1) la longitud de onda del espectro de emisión es mayor que la longitud de onda del espectro de absorción y (2) la longitud de onda del máximo de emisión siempre es la misma, independientemente de la longitud de onda que se utilice para la excitación.

Por otra parte, cuando se da un proceso de conversión interna entre los estados electrónicos  $S_1$  y  $S_0$ , el resultado es que la molécula no presenta fluorescencia. Este proceso se da en la mayoría de las moléculas y es consecuencia del traslape de los niveles vibracionales del estado electrónico excitado más bajo con los niveles vibracionales del estado electrónico fundamental.

Otra posible consecuencia del proceso de conversión interna es el fenómeno de predissociación. En este caso el electrón se desplaza de un estado electrónico superior a un

nivel vibracional de energía elevada de un estado electrónico más bajo, en el que la energía vibracional es lo suficientemente grande como para provocar la ruptura del enlace. Esto se presenta en moléculas cuya energía de excitación de los cromóforos es mayor que las fuerzas de enlace. Los procesos de disociación también compiten con el proceso de fluorescencia.

*Conversión Externa.* Este proceso implica la desactivación de un estado electrónico excitado mediante la interacción y transferencia de energía entre la molécula excitada y el disolvente u otros solutos. La evidencia de la conversión externa es el marcado efecto sobre la intensidad de la fluorescencia ejercida por el disolvente; además, aquellas condiciones que tienden a reducir el número de colisiones entre las partículas, como la baja temperatura y la elevada viscosidad, generalmente tienden a aumentar la fluorescencia.

Además de las conversiones internas, las conversiones externas son también responsables de los procesos de desactivación sin emisión de radiación, desde los estados excitados de singulete o triplete más bajos al estado fundamental (figura 5).

*Cruzamiento intersistemas.* Este es un proceso en el que el espín del electrón excitado es invertido y da lugar a un cambio en la multiplicidad de la molécula. Al igual que la conversión interna, la probabilidad de esta transición aumenta si los niveles vibracionales se traslapan. La transición singulete/triplete mostrada en la figura 5 es un ejemplo de cruzamiento intersistemas; aquí, el estado vibracional de singulete más bajo se superpone con uno de los niveles vibracionales del estado triplete excitado y así es más probable el cambio de espín.

Este tipo de proceso es más común en moléculas que contienen átomos pesados, como yodo o bromo. Aparentemente las interacciones espín/orbital pueden ser grandes en presencia de tales átomos y entonces es más favorable un cambio en el espín. La presencia de especies paramagnéticas como es el oxígeno molecular en disolución también favorece el cruzamiento entre sistemas y consecuentemente disminuye la fluorescencia.

*Fosforescencia.* Después del cruzamiento intersistemas a un estado de triplete excitado, la desactivación posterior al estado fundamental puede tener lugar tanto por conversión interna o externa como por emisión de radiación (fosforescencia). Sin embargo, una transición triplete/singulete es mucho menos probable que una conversión singulete/singulete y ésta es la razón por la cual tal transición ( y por lo tanto la emisión de radiación) puede persistir cierto tiempo después de haber terminado la irradiación [31].

### Factores que afectan a la luminiscencia

Existen varios factores que son determinantes para que una sustancia presente fluorescencia (o fosforescencia), entre los que están la estructura molecular y el medio ambiente químico. Estos factores también van a influir en la intensidad de la emisión que se produzca. A continuación se explicará brevemente algunas de estas variables.

*Rendimiento cuántico*, o *eficacia cuántica* ( $\phi$ ), se define como la razón de el número de moléculas que emiten luminiscencia respecto al número total de moléculas excitadas. Para moléculas altamente fluorescentes como la fluoresceína, la eficacia cuántica se aproxima a la unidad bajo ciertas condiciones. Las especies químicas que no son fluorescentes de manera apreciable tienen eficacias que se aproximan a cero.

Teniendo en cuenta la figura 5 y la discusión sobre los procesos de desactivación, el rendimiento cuántico para un compuesto se puede calcular a partir de las constantes de velocidad relativas  $k_x$  de los procesos por los que el estado excitado singlete más bajo se desactiva, es decir, fluorescencia ( $k_f$ ), cruzamiento entre sistemas ( $k_i$ ), conversión externa ( $k_{ec}$ ), conversión interna ( $k_{ic}$ ), predisiociación ( $k_{pd}$ ) y disociación ( $k_d$ ). Esta relación se puede expresar por la siguiente ecuación:

$$\phi = \frac{k_f}{k_f + k_i + k_{ec} + k_{ic} + k_{pd} + k_d}$$

Donde los términos  $k$  son las respectivas constantes de velocidad para los diversos procesos antes enumerados.

Esta ecuación permite una interpretación cualitativa de muchos de los factores estructurales y ambientales que influyen en la intensidad de la fluorescencia. Aquellas variables que proporcionan valores altos para la constante de velocidad de la fluorescencia  $k_f$  y valores bajos para los otros términos  $k$  exaltan la fluorescencia. La magnitud de  $k_f$ , la constante de velocidad de predisiociación  $k_{pd}$  y la constante de velocidad de disociación  $k_d$  dependen principalmente de la estructura química; el resto de constantes está fuertemente influenciadas por el entorno y en menor extensión por la estructura [31].

Empíricamente se observa que el comportamiento fluorescente lo presentan con más frecuencia compuestos en los que la transición de más baja energía es del tipo  $\pi, \pi^*$  y no aquellos compuestos en los que la transición de menor energía es del tipo  $n, \pi^*$ ; esto es, la eficacia cuántica es mayor para las transiciones  $\pi^* \rightarrow \pi$ . Esta transición tiene absorptividad molar ordinariamente 100 a 1000 veces mayor que para un proceso  $n \rightarrow \pi^*$ .

*La rigidez de la molécula* es un factor muy importante en la producción de fluorescencia. Se ha observado experimentalmente que las moléculas que poseen estructuras rígidas la favorecen. Se ha involucrado también la influencia de la rigidez para explicar el aumento de fluorescencia de ciertos agentes quelantes orgánicos cuando están formando un complejo con un ion metálico. La falta de rigidez de una molécula produce probablemente un aumento en la velocidad de conversión interna y un consecuente aumento en la probabilidad de desactivación sin radiación. La parte no rígida de una molécula puede experimentar vibraciones de baja frecuencia respecto a sus otras partes y tales movimientos producen indudablemente ciertas pérdidas de energía.

*La temperatura* también es otro factor que afecta la producción de la fluorescencia; en algunas moléculas disminuye la emisión a medida que aumenta la temperatura porque aumenta la frecuencia de choques y como consecuencia aumenta la probabilidad de desactivación por conversión externa. Este mismo efecto se presenta cuando hay una reducción de la viscosidad del solvente.

*Efecto del pH en la fluorescencia.* La fluorescencia de un compuesto aromático con substituyentes ácidos o básicos en el anillo depende generalmente del pH. La longitud de onda y la intensidad de la emisión es probable que sean diferentes en las formas ionizada y no ionizada del compuesto. La fluorescencia de ciertos compuestos en función del pH ha sido utilizada para la detección de puntos finales en valoraciones ácido/base. En los procedimientos analíticos basados en la fluorescencia frecuentemente requieren un control estricto del pH.

*Efecto del oxígeno disuelto.* La presencia del oxígeno disuelto a menudo reduce la intensidad de fluorescencia de una disolución. Este efecto puede ser el resultado de una oxidación inducida fotoquímicamente de las especies fluorescentes. Sin embargo, con mas frecuencia tiene lugar una atenuación (quenching) como consecuencia de las propiedades

paramagnéticas del oxígeno molecular, el cual provoca cruzamiento entre sistemas y conversiones de las moléculas excitadas al estado triplete [31].