

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LOS COEFICIENTES DE  
ACTIVIDAD DE AMINOÁCIDOS EN SOLUCION ACUOSA**

**MARIA EUGENIA GONZALEZ JIMÉNEZ**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS – QUÍMICA  
BOGOTÁ  
2004**

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LOS COEFICIENTES DE  
ACTIVIDAD DE AMINOÁCIDOS EN SOLUCION ACUOSA**

**MARIA EUGENIA GONZALEZ JIMÉNEZ  
CODIGO: 197291**

**Trabajo de grado para optar al título de Magíster en Ciencias- Química**

**DIRECTORA DE TESIS: CARMEN MARIA ROMERO ISAZA**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA  
FACULTAD DE CIENCIAS – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS – QUÍMICA  
BOGOTÁ  
2004**

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor del trabajo expresa los agradecimientos a:

A la profesora Carmen María Romero por su asesoría y orientación durante la Maestría y el desarrollo del trabajo de tesis.

Al cuerpo docente de la Maestría en Ciencias-Química, Luis H. Blanco, Jesús Valencia, Augusto Rivera y Luis Enrique Cuca, por su dedicación y esfuerzo.

Al profesor Carlos Eduardo Orrego por su apoyo, confianza y orientación.

Al profesor Hernán Estrada por su asesoría en el proceso de minimización de los modelos de predicción.

A María Teresa Dávila, quien me acompañó en todo el proceso experimental y quien siempre estuvo abierta a la discusión académica.

A mis compañeros Felipe, Gloria Inés, Adamo, Carolina, Jhon Edwer y Jorge por su colaboración y aporte académico durante el desarrollo de la Maestría.

A mi familia y amigos, especialmente Fabián Darío Pamplona, quienes me brindaron su apoyo y sacrificio durante todo el proceso de desarrollo de esta investigación.

## TABLA DE CONTENIDO

<i>INTRODUCCION</i>	<i>1</i>
<i>1. AGUA Y SOLUCIONES ACUOSAS</i>	<i>3</i>
<i>1.1. ESTRUCTURA DEL AGUA</i>	<i>3</i>
<i>1.2. SOLUCIONES ACUOSAS E INTERACCIONES EN SOLUCIÓN</i>	<i>5</i>
<i>1.3. PRINCIPIO DE ADITIVIDAD Y LAS CONTRIBUCIONES DE GRUPO</i>	<i>7</i>
<i>2. COEFICIENTES DE ACTIVIDAD EN SOLUCIONES ACUOSAS</i>	<i>8</i>
<i>2.1. ACTIVIDAD Y COEFICIENTES DE ACTIVIDAD<sup>19</sup></i>	<i>8</i>
<i>2.2. FUNCIONES DE EXCESO RELACIONADAS CON EL COEFICIENTE DE ACTIVIDAD<sup>19</sup></i>	<i>9</i>
<i>2.3. COEFICIENTE DE ACTIVIDAD DE UN SOLUTO NO VOLATIL Y COEFICIENTE OSMOTICO DEL DISOLVENTE<sup>19</sup></i>	<i>10</i>
<i>2.4. MEDIDAS EXPERIMENTALES DE ACTIVIDAD</i>	<i>13</i>
<i>2.4.1. Métodos de depresión del punto de congelación y aumento en el punto de ebullición<sup>20</sup></i>	<i>13</i>
<i>2.4.2. Método a partir de fuerza electromotriz<sup>21</sup></i>	<i>14</i>
<i>2.4.3. Métodos basados en medidas de presión de vapor<sup>21</sup></i>	<i>14</i>
<i>2.4.4. Método isopiéstico</i>	<i>14</i>
<i>2.5. MODELOS DE PREDICCIÓN DE COEFICIENTES DE ACTIVIDAD</i>	<i>18</i>
<i>2.5.1. Modelo de esferas rígidas perturbadas</i>	<i>18</i>
<i>2.5.2. Ecuación de Wilson</i>	<i>20</i>
<i>2.6. SOLUCIONES ACUOSAS DE AMINOACIDOS</i>	<i>21</i>
<i>3. MATERIALES Y METODOS</i>	<i>24</i>
<i>3.1. REACTIVOS Y PREPARACIÓN DE SOLUCIONES</i>	<i>24</i>
<i>3.1.1. Reactivos</i>	<i>24</i>
<i>3.1.2. Preparación de soluciones</i>	<i>24</i>
<i>3.2. EQUIPOS</i>	<i>24</i>
<i>3.3. PROTOCOLO EXPERIMENTAL</i>	<i>27</i>
<i>3.4. CALIBRACIÓN</i>	<i>30</i>
<i>3.5. COEFICIENTES OSMÓTICOS DE LOS AMINOACIDOS</i>	<i>31</i>

<b>3.6. MODELOS DE PREDICCIÓN DE COEFICIENTES DE ACTIVIDAD DE AMINOACIDOS</b>	<b>31</b>
3.6.1. <i>Modelo de esferas rígidas perturbadas</i>	31
3.6.2. <i>Ecuación de Wilson</i>	32
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
4.1. <b>TIEMPOS DE EQUILIBRIO</b>	<b>33</b>
4.2. <b>COEFICIENTES DE ACTIVIDAD DE SOLUTOS DE REFERENCIA</b>	<b>34</b>
4.3. <b>COEFICIENTES DE ACTIVIDAD DE AMINOACIDOS</b>	<b>37</b>
4.4. <b>MODELOS DE COEFICIENTES DE ACTIVIDAD</b>	<b>47</b>
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>54</b>
<b>6. RECOMENDACIONES</b>	<b>56</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>77</b>

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Celda isopiética	25
Figura 2. Diagrama del equipo	26
Figura 3. Coeficientes de actividad de KCl a 298.15 K	35
Figura 4. Coeficientes de actividad de KCl a 293.15 K	35
Figura 5. Coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 298.15 K	38
Figura 6. Coeficientes de actividad de glicina a 298.15 K	39
Figura 7. Coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$ alanina a 298.15 K	39
Figura 8. Coeficientes de actividad de DL- $\alpha$ alanina a 298.15 K	40
Figura 9. Coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 298.15K	41
Figura 10. Coeficientes de actividad de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 298.15 K	41
Figura 11. Coeficientes de actividad de glicina a 293.15 K	42
Figura 12. Coeficientes de actividad de DL- $\alpha$ alanina a 293.15 K	43
Figura 13. Coeficientes de actividad de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 293.15 K	43
Figura 14. Energía Gibbs molar de exceso para la glicina en solución acuosa	45
Figura 15. Energía Gibbs molar de exceso para la DL- $\alpha$ alanina en solución acuosa	45
Figura 16. Energía Gibbs molar de exceso para el ácido DL- $\alpha$ aminobutírico en solución acuosa	46
Figura 17. Coeficientes de actividad de glicina a 298.15 K	47
Figura 18. Coeficientes de actividad de glicina a 293.15 K	48
Figura 19. Coeficientes de actividad de DL- $\alpha$ alanina a 298.15 K	48
Figura 20. Coeficientes de actividad de DL- $\alpha$ alanina a 293.15 K	49
Figura 21. Coeficientes de actividad de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 298.15 K	49
Figura 22. Coeficientes de actividad de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 293.15 K	50
Figura 23. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para glicina	52
Figura 24. Coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 298.15 K	59
Figura 25. Coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 293.15 K	59
Figura 26. Residuo de los coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 298.15 K y 293.15 K	60
Figura 27. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 298.15 K y 293.15 K	67
Figura 28. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$ alanina a 298.15 K y 293.15 K	67
Figura 29. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 298.15 K y 293.15 K	68
Figura 30. Coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 293.15 K	68
Figura 31. Coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$ alanina a 293.15 K	69
Figura 32. Coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 293.15 K	69
Figura 33. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 298.15K	70

Figura 34. Coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$ alanina a 298.15 K	70
Figura 35. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$ alanina a 298.15K	71
Figura 36. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 298.15K	71
Figura 37. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para glicina	73
Figura 38. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para glicina	73
Figura 39. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para ácido DL- $\alpha$ aminobutírico	74
Figura 40. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para ácido DL- $\alpha$ aminobutírico	74

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 298.15 K	36
Tabla 2. Coeficientes de actividad de KCl a 298.15 K	36
Tabla 3. Coeficientes osmóticos y de actividad de KCl a 293.15 K	37
Tabla 4. Parámetros ajustados para el modelo de esferas rígidas perturbadas y la ecuación de Wilson	50
Tabla 5. Coeficientes de actividad a dilución infinita	53
Tabla 6. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y KCl a 298.15 K	57
Tabla 7. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y KCl a 293.15 K	57
Tabla 8. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 298.15 K	57
Tabla 9. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos a 293.15 K	58
Tabla 10. Actividades del solvente en soluciones de NaCl y KCl a 298.15 K	58
Tabla 11. Actividades del solvente en soluciones de NaCl y KCl a 293.15 K	58
Tabla 12. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y glicina a 298.15 K	61
Tabla 13. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y DL- $\alpha$ alanina a 298.15 K	61
Tabla 14. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 298.15 K	61
Tabla 15. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y glicina a 293.15 K	62
Tabla 16. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y DL- $\alpha$ alanina a 293.15 K	62
Tabla 17. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 293.15 K	62
Tabla 18. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 298.15 K	63
Tabla 19. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$ alanina a 298.15 K	63
Tabla 20. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 298.15 K	63
Tabla 21. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 293.15 K	64
Tabla 22. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$ alanina a 293.15 K	64



Tabla 23. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 293.15 K	64
Tabla 24. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y glicina a 298.15 K	64
Tabla 25. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y DL- $\alpha$ alanina a 298.15 K	65
Tabla 26. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 298.15 K	65
Tabla 27. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y glicina a 293.15 K	65
Tabla 28. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y DL- $\alpha$ alanina a 293.15 K	66
Tabla 29. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y ácido DL- $\alpha$ aminobutírico a 293.15 K	66
Tabla 30. Momentos dipolares de los aminoácidos	72
Tabla 31. Volúmenes Bondi <sup>51</sup>	72
Tabla 32. Desviaciones estándar para diferentes modelos aplicados a aminoácidos	72
Tabla 33. Parámetros ajustables de la Ecuación de Wilson	72

## INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. CALIBRACION METODO ISOPIESTICO	57
ANEXO 2. COEFICIENTES OSMOTICOS Y DE ACTIVIDAD DE AMINOACIDOS	61
ANEXO 3. MODELOS DE COEFICIENTES DE ACTIVIDAD	72
ANEXO 4. MUESTRA DE CÁLCULO	75

## RESUMEN

Los coeficientes osmóticos de las soluciones acuosas de aminoácidos se determinaron por el método isopiéstico a 298.15 K y 293.15 K. A partir de estos se determinaron los coeficientes de actividad de los aminoácidos glicina, DL- $\alpha$  alanina y ácido DL- $\alpha$  aminobutírico y la energía Gibbs molar de exceso. Se trabaja a concentraciones diluidas, debido a que la solubilidad de los aminoácidos estudiados era limitada, por lo que los resultados obtenidos presentan información de la interacción soluto-solvente ya que los efectos soluto-soluto son predominantes en soluciones concentradas. Los coeficientes de actividad se ajustaron a un modelo semiempírico de esferas rígidas perturbadas y a la ecuación de Wilson.

## ABSTRACT

The osmotic coefficients of dilute aqueous solutions of amino acids have been obtained by the isopiestic method at 298.15 K and 293.15 K. Activity coefficients and excess Gibbs energy were calculated with this data for the amino acids glycine, DL - $\alpha$  alanine and acid DL - $\alpha$  aminobutiric. The obtained results show information of solute-solvent interactions because the solute-solute effects are predominant in concentrated solutions. The activity coefficients have been correlated to semiempiric models like perturbed hard-spheres model and the Wilson equation.

## INTRODUCCION

Los crecientes avances en la industria biotecnológica han aumentado el interés para el desarrollo de separaciones eficientes, procesos de concentración y purificación de biomoléculas. En el diseño de equipos y procesos es necesario tener conocimiento de algunas propiedades fisicoquímicas como la solubilidad y coeficientes de actividad de diferente tipo de solutos en solución. En particular, el estudio de soluciones acuosas de aminoácidos son de mucho interés a causa de su simplicidad e importancia para el entendimiento del comportamiento de moléculas más complejas tales como péptidos y proteínas en solución. Es de vital importancia el conocimiento de estas propiedades para determinar las características hidrofóbicas o hidrofílicas y su aplicación en la industria de separación de proteínas y en el uso de enzimas.

Se han realizado estudios de las propiedades fisicoquímicas y volumétricas de las soluciones acuosas de aminoácidos analizando el efecto de la longitud de la cadena y de sustituyentes en el comportamiento de estos sistemas sobre la estructura del agua; la mayoría de las investigaciones se han realizado a 25 °C. Aunque hay una amplia selección de datos volumétricos en función de la temperatura a presión ambiente, los datos de coeficientes de actividad de aminoácidos son extremadamente limitados aun a 25,00°C.

En este trabajo se estudió el efecto de la temperatura sobre los coeficientes de actividad de aminoácidos en solución acuosa. Para ello se determinó el coeficiente de actividad de los aminoácidos glicina, DL- $\alpha$  alanina y ácido DL- $\alpha$  amino butírico a partir de los datos experimentales de coeficientes osmóticos del solvente obtenidos por el método isopiésico y a temperaturas de 293.15 K y 298.15 K. Además, a partir de datos de coeficientes de actividad se calculó la energía Gibbs molar de exceso, y se ajustaron los datos a un modelo semiempírico de esferas rígidas perturbadas y a la ecuación de Wilson.

Los aminoácidos estudiados son de cadena hidrocarburo lineal y la longitud de la misma se incrementa progresivamente con el número de grupos  $\text{CH}_2$ , por lo que se analiza el efecto de la cadena sobre la estructura del agua y se verifica la aplicación de los esquemas de actividad sugeridos por algunos investigadores.

En este trabajo se encontró que el comportamiento de la glicina es diferente al de la DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico, debido probablemente a las diferencias en la estructura. Se plantea que el comportamiento de la glicina es consecuencia de las fuertes atracciones entre el ion dipolar y el agua y el de la DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico cambia debido a la interacción desfavorable entre la cadena apolar del aminoácido y el agua, haciéndose este efecto más notorio al aumentar la longitud de la cadena apolar. Se concluye que la glicina presenta un carácter prácticamente hidrofílico, y mayor al de DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico.

Los modelos estudiados pueden representar bien el comportamiento de los coeficientes de actividad de aminoácidos en solución acuosa teniendo en cuenta el alto momento dipolar de los aminoácidos y su consecuencia en las interacciones dipolo-dipolo y las interacciones físicas entre el aminoácido y el agua. Se encuentra además el coeficiente de actividad a dilución infinita y su variación con la longitud de la cadena lineal del aminoácido.

Este trabajo hace parte del proyecto de investigación “*Estudio Físicoquímico de Interacciones en Solución*” dirigido por la doctora Carmen María Romero Isaza y sus resultados complementan los trabajos realizados anteriormente acerca de las propiedades volumétricas, calorimétricas, viscosimétricas y superficiales de soluciones acuosas de aminoácidos.

## 1. AGUA Y SOLUCIONES ACUOSAS

### 1.1. ESTRUCTURA DEL AGUA

La molécula de agua está formada por dos átomos de H unidos a un átomo de O por medio de dos enlaces covalentes. La distribución de los electrones en el enlace covalente OH no es simétrica, los electrones están más fuertemente atraídos por el átomo de oxígeno que por el de hidrógeno, determinando un ángulo entre los enlaces H-O-H aproximadamente de  $104,5^\circ$ . La molécula presenta una distribución asimétrica de sus electrones, lo que la convierte en una molécula polar, estableciendo interacciones dipolo-dipolo entre las propias moléculas de agua, formándose enlaces o puentes de hidrógeno<sup>1</sup>.

Aunque las interacciones por unión hidrógeno son uniones débiles, el hecho de que alrededor de cada molécula de agua se dispongan otras cuatro moléculas unidas por puentes de hidrógeno permite que se forme en el agua (líquida o sólida) una estructura de tipo reticular, responsable en gran parte de su comportamiento anómalo y de la peculiaridad de sus propiedades fisicoquímicas<sup>1</sup>. Debe considerarse que al fundir, solo se rompen cerca del 15% de las uniones hidrógeno presentes en el hielo.

Las características especiales y distintivas del agua han sido atribuidas a que este líquido muestra una retención parcial de la estructura tetraédrica del hielo, estas son: los altos puntos de fusión y ebullición, la alta capacidad calorífica, el decrecimiento del volumen molar en el punto de fusión, los altos valores para la entalpía y entropía de vaporización en comparación con otros hidruros de mayor peso molecular, la contracción de volumen entre  $0^\circ\text{C}$  y  $4^\circ\text{C}$ , la alta tensión superficial y viscosidad y la baja compresibilidad. Hasta el presente hay muchos estudios que tratan sobre la estructura del agua pero ninguno de ellos puede explicar satisfactoriamente todos los cambios observados en sus propiedades. Adicionalmente, el comportamiento de las soluciones acuosas es complejo especialmente el de las soluciones de hidrocarburos en agua<sup>2,3</sup>.

La estructura del agua, consecuencia de la asociación por puentes de hidrógeno, es un componente vital en el entendimiento de procesos en el agua, incluyendo el origen de las propiedades anómalas, cambios de fase, efectos de orientación, hidratación hidrofóbica, enlaces hidrógeno y puntos de referencia de los modelos del agua<sup>4</sup>.

En el agua líquida, la adherencia estricta a un arreglo hexagonal de oxígenos enlazados por puentes de hidrógeno proporciona movimiento translacional y rotacional al agua y una distribución más ancha de configuraciones de enlaces de hidrógeno, incluyendo una variedad de polígonos de varios tamaños y grados de distorsión, resultando en un arreglo más compacto de las moléculas de agua que el que se presenta en la fase sólida<sup>4</sup>.

La estructura del agua es principalmente determinada a partir de rayos X y dispersión de neutrones. Desde un experimento de dispersión se puede inferir aspectos de las propiedades estructurales de la red tridimensional de agua a través del factor estructural y su relación con las funciones de distribución radial. Estas informan indirectamente de la naturaleza tetraédrica de la red de enlaces de hidrógenos<sup>4</sup>.

Los modelos para predecir la estructura del agua deben abarcar la función de la distribución radial, el comportamiento presión-viscosidad y temperatura-densidad, las propiedades térmicas y los efectos de solutos en solución acuosa, en especial el de hidrocarburos<sup>3</sup>. Hasta el momento, las propiedades del agua pura y de las soluciones acuosas se han explicado con base dos grandes clases de modelos: Los continuos o uniformistas y los de mezcla. Adicionalmente se han desarrollado varios modelos de simulación basados en dinámica molecular.

Los modelos continuos asumen una sola especie molecular en la que el oxígeno central está unido a otros cuatro oxígenos en una estructura de tipo tetraédrica como en el hielo, en la cual los enlaces se distorsionan y la red que forman es irregular y no presenta orden de rango largo. Estos modelos explican muy bien el cambio en algunas propiedades como por ejemplo el aumento de la densidad en la fusión asumiendo que al doblarse las uniones el empaquetamiento molecular es mayor, disminuyendo el volumen y aumentando el número de coordinación. Además, la distribución radial predicha por este modelo coincide con la obtenida por rayos X a diferentes temperaturas y también existe una buena aproximación entre las propiedades dieléctricas predichas por estos modelos y las calculadas experimentalmente. Como desventajas de estos modelos podemos anotar que no contemplan la posibilidad del rompimiento de uniones de H, ni la presencia de varias especies moleculares lo cual contradice evidencias espectroscópicas y tampoco explica el comportamiento de las soluciones acuosas de solutos apolares<sup>2</sup>.

Los modelos de mezcla consideran que el agua está constituida por dos o más especies moleculares diferentes en equilibrio, donde cada una ocupa un nivel discreto de energía y la proporción de especies en cada estado depende de las condiciones de temperatura y presión. En estos modelos se considera que en el proceso de fusión del agua se rompen las uniones hidrogeno y aparecen dos o más especies de agua dando origen a diferentes modelos de mezclas; los más simples son los que consideran dos especies de agua en equilibrio dado por la siguiente relación:



Las especies voluminosas (bulky) se consideran como agregados de moléculas unidas por puentes de hidrogeno, presentando una estructura tetracoordinada y la especie densa tiene un empaquetamiento más cercano y corresponde al agua no asociada<sup>2</sup>. Dicho equilibrio puede ser afectado por ciertos factores como: temperatura, presión, ó por la adición de solutos<sup>5,6</sup>. Si se mantienen constantes la temperatura y la presión y se adiciona un soluto, el



equilibrio podrá ser desplazado hacia la izquierda ó hacia la derecha, teniéndose de esta forma solutos formadores ó disruptores de la estructura del agua<sup>2,7</sup>.

Los modelos de simulación del agua han sido utilizados para predecir la estructura del agua a condiciones ambiente. Las propiedades estructurales, provenientes de experimentación o simulación, juegan un papel importante acerca de la red de enlaces de hidrógeno del agua y su conexión a la termodinámica y cinética a través del diagrama de fases. Las medidas de rayos X, dispersión de neutrones y simulación de computador proporcionan una base parcial de la verdadera naturaleza de la topología de la red de enlaces de hidrógeno<sup>4</sup>.

## 1.2.SOLUCIONES ACUOSAS E INTERACCIONES EN SOLUCIÓN

Actualmente no existe un modelo capaz de interpretar el comportamiento de todas las propiedades termodinámicas de las soluciones acuosas, aunque existen teorías semiempíricas que explican algunas de estas; sin embargo hay otras propiedades cuyo comportamiento no ha sido explicado totalmente como son la alta capacidad calorífica de solución, la entropía parcial negativa y la baja solubilidad en agua de solutos apolares. Cualquier modelo que quiera dar explicación a estos interrogantes debe considerar el efecto que produce el soluto sobre la estructura del agua<sup>2</sup>.

Para aclarar el efecto de diversos solutos sobre el equilibrio antes mencionado, Rowlinson y Franks, dividen los solutos no electrolíticos en dos clases: “típicamente acuosos” y “típicamente no acuosos”. Los solutos agrupados bajo el nombre “típicamente acuosos” o hidrofóbicos son aquellos que exhiben en solución las propiedades termodinámicas anómalas encontradas solo en sistemas acuosos y se caracterizan porque la magnitud del término entrópico domina sobre el entálpico, y se dividen en dos clases, solutos apolares y solutos mixtos. Estos últimos, presentan un comportamiento similar al de los solutos apolares cuando la interacción entre el grupo apolar de la molécula y el agua predomina sobre la interacción entre el grupo o grupos polares y el agua polar<sup>2</sup>.

Cuando la siguiente relación se cumple, se dice entonces que el soluto tiene un carácter hidrofóbico:

$$|T\Delta S| > |\Delta H| \quad (2)$$

Los solutos “típicamente no acuosos” tienen propiedades de solución similares a las de soluciones no acuosas normales donde el término entálpico domina sobre el entrópico; en estos solutos el comportamiento debido a la interacción hidrofílica entre el grupo o grupos polares y el agua predomina sobre la interacción entre el grupo apolar y el agua.<sup>2,3</sup> En este caso, se cumple que:

$$|T\Delta S| < |\Delta H| \quad (3)$$

El estudio sistemático reciente de las propiedades fisicoquímicas de los solutos apolares en agua tiene su origen en Kauzmann, quien revisa la importancia del efecto de las interacciones apolares con relación a la estabilidad y plegamiento de las proteínas en 1959. La hipótesis básica, considera que los efectos hidrofóbicos serían la interacción dominante en los fenómenos de “autoorganización” en soluciones acuosas de solutos apolares. De otra parte, el trabajo de Tanford<sup>8</sup>, y de membranas biológicas, constituye un aporte conceptual a la interpretación de la hipótesis de modificación de estructura en soluciones acuosas. Dentro de esta perspectiva, J. Slusher y P. Cummings<sup>9</sup>, consideran que la importancia del efecto estructural en soluciones acuosas de solutos apolares estaría relacionada con el desarrollo de la ingeniería de proteínas, la formación de micelas, el reconocimiento molecular y las modificaciones en la estructura del agua entre otras.

Entre de los conceptos relacionados con las modificaciones de la estructura del agua, están la interacción hidrofóbica y la hidratación hidrofóbica. El primer término se refiere a la tendencia a agregarse que presentan las especies no polares en solución acuosa, dando lugar a la interacción soluto-soluto apolar. Este tipo de interacción se considera como entrópicamente dominado y se presenta a concentraciones moderadas y altas<sup>10</sup>.

El concepto de hidratación hidrofóbica se refiere a la interacción de algunos solutos apolares con el agua, fenómeno que está relacionado con la modificación de la estructura del agua. El efecto de estructuración se producirá por no compensación entre los cambios entálpicos y entrópicos durante el proceso, el cual a su vez, es dependiente de la temperatura. Como resultado de la hidrofobicidad, de acuerdo a una de las definiciones más aceptadas, el cambio en la energía libre durante el proceso de transferencia del soluto hidrofóbico de una fase no acuosa a una fase acuosa está dominado por los efectos entrópicos a bajas temperaturas y por los efectos entálpicos a altas temperaturas. Esta interacción es dominante a bajas concentraciones de soluto<sup>11</sup>.

Las propiedades de solución que caracterizan la hidratación hidrofóbica incluyen volúmenes molares parciales de exceso negativos  $V_2^E$  y capacidad calorífica molar parcial de exceso positiva  $C_2^E$ , pero el criterio mas usado para caracterizar la hidratación hidrofóbica es el de la segunda derivada del volumen con respecto a la temperatura  $\partial V_2^E / \partial T_2^3$ .

El estudio de las soluciones de solutos apolares en agua, es bien atractivo en razón a que su naturaleza puede suministrar más información que otros compuestos sobre las interacciones soluto- agua y soluto-soluto en presencia de agua. La razón es que los solutos apolares a diferencia de los solutos iónicos, no presentan interacciones electrostáticas en agua las cuales por su magnitud enmascaran los demás efectos presentes. Sin embargo, dicho estudio no está suficientemente desarrollado debido por una parte a las dificultades experimentales provenientes de su baja solubilidad y a que no existe un modelo general de solución que permita interpretar las propiedades termodinámicas que presentan estos sistemas. En tal sentido se han propuesto una serie de teorías semiempíricas de solución, de acuerdo con las propiedades observadas en las soluciones acuosas<sup>2</sup>. Interés especial

presentan los solutos mixtos constituidos por una cadena apolar y un grupo polar como son los alcoholes, aminoácidos etc.

### 1.3.PRINCIPIO DE ADITIVIDAD Y LAS CONTRIBUCIONES DE GRUPO

Se ha encontrado que los volúmenes molares parciales tienen una correlación lineal con el número de átomos de carbono que conforman la molécula de una serie homóloga y que esta contribución es aproximadamente constante en varias series homólogas<sup>12-15</sup>. Esto es lo que muchos investigadores han llamado carácter aditivo de las contribuciones de grupos, que ha sido seriamente cuestionado por otros. Lilley<sup>16</sup> por ejemplo, no está de acuerdo con esta afirmación. En el estudio desarrollado por Romero y Munar<sup>17</sup>, se encontró que la contribución del grupo apolar es aditiva en la serie de los  $\alpha$ -aminoácidos, pero que depende de la naturaleza de los grupos polares vecinos.

Para Abrosimov<sup>13</sup>, cuando hay un número de átomos de carbono mayor que dos aparece una contribución complementaria al volumen molar parcial que aumenta con el incremento de la longitud de la cadena principal. Gianni Paolo<sup>18</sup> plantea que el carácter aditivo sobre el volumen con el incremento de la cadena principal se basa en la suposición de que un grupo (-CH<sub>2</sub>-) interactúa con el solvente independientemente de los demás grupos metilénicos. Por lo tanto no es sorprendente que en las series homólogas, el primer término muestra mayor desviación que la predicha por la aditividad simple.

La dependencia del volumen molar con el número de grupo -CH<sub>2</sub>- se explica considerando que las características de los efectos de solvatación en las soluciones de aminoácidos se pueden determinar por la presencia de dos zonas de hidratación: una zona hidrofílica y otra hidrofóbica que pueden solaparse al ser suficientemente pequeña la molécula del aminoácido. Las zonas de solapamiento no son grandes y por esta razón la acción de diversos grupos funcionales está suficientemente localizada. Esto permite tratar la acción de los factores distintos sobre los efectos de solvatación como una superposición de estos en las zonas de hidratación polar y no polar.

Para otros autores como Abrosimov<sup>13</sup> la estructura del agua en la cercanía de grupos no polares se diferencia muy poco de la que presenta en el resto de la solución. Aquí tienen lugar únicamente impedimentos de configuración, relacionados con la presencia limitada de vecinos capaces de formar puentes de hidrógeno. Una consecuencia de esto es que la movilidad de las moléculas de grupos no polares disminuye, lo cual microscópicamente se plasma en el aumento aparente de la fuerza de enlace de hidrógeno.

En todos esos estudios se ha concluido que el principio de aditividad se cumple para el volumen molar parcial y a 298.15 K. Son muy pocos los estudios que se han realizado sobre la aditividad en otras propiedades y a diferentes temperaturas.

## 2. COEFICIENTES DE ACTIVIDAD EN SOLUCIONES ACUOSAS

### 2.1. ACTIVIDAD Y COEFICIENTES DE ACTIVIDAD<sup>19</sup>

La actividad del componente  $i$ , a una temperatura, presión y composición dadas, se define como la relación de la fugacidad de  $i$  en esas condiciones con respecto a la fugacidad de  $i$  en el estado estándar, que es un estado a la misma temperatura que la mezcla y a las condiciones específicas de presión y composición:

$$a_i(T, P, x) = \frac{f_i(T, P, x)}{f_i(T, P^\circ, x^\circ)} \quad (4)$$

donde  $P^\circ$  y  $x^\circ$  son la presión del estado estándar y la composición arbitrariamente especificada, respectivamente.

El coeficiente de actividad  $\gamma_i$  es la relación de la actividad de  $i$  con respecto a alguna expresión conveniente de la concentración de  $i$ , generalmente la fracción molar:

$$\gamma_i = \frac{a_i}{x_i} \quad (5)$$

Es conveniente definir la actividad de forma que su valor sea igual a la fracción molar cuando la disolución es ideal, o, lo que es equivalente, que el coeficiente de actividad sea igual a la unidad. Puesto que se han establecido dos tipos de idealidad (uno basado en el modelo de la solución ideal o perfecta y el otro con referencia al modelo de solución ideal diluida), los coeficientes de actividad deben normalizarse de dos formas diferentes.

Si los coeficientes de actividad se definen con referencia a una disolución ideal en el sentido de la ley de Raoult, la normalización para cada componente  $i$  es:

$$\gamma_i \rightarrow 1 \quad \text{cuando} \quad x_i \rightarrow 1 \quad (6)$$

Puesto que esta normalización se cumple para soluto y disolvente, se denomina criterio simétrico de normalización.

Sin embargo, si los coeficientes de actividad se definen con referencia a una disolución diluida ideal en el sentido de la ley de Henry, entonces:

$$\gamma_1 \rightarrow 1 \quad \text{cuando} \quad x_1 \rightarrow 1 \quad (7)$$

$$\gamma_2^* \rightarrow 1 \quad \text{cuando} \quad x_2 \rightarrow 0 \quad (8)$$

Como el soluto (2) y el disolvente (1) no están normalizados de la misma manera, se denomina criterio asimétrico de normalización y se representa con un asterisco (\*).

En mezclas binarias, los coeficientes de actividad definidos con el criterio simétrico se relacionan fácilmente con los coeficientes de actividad normalizados asimétricamente, así:

$$\frac{\gamma_2}{\gamma_2^*} = \lim_{x_2 \rightarrow 0} \gamma_2 \quad (9)$$

$$\frac{\gamma_2^*}{\gamma_2} = \lim_{x_2 \rightarrow 1} \gamma_2^* \quad (10)$$

Las ecuaciones (9) y (10) relacionan entre sí los dos coeficientes de actividad del soluto, uno normalizado con el criterio simétrico y el otro con el asimétrico. Pero la ecuación (9) es más útil que la (10) porque el límite del segundo miembro de la Ecuación (9) corresponde a una situación físicamente posible, mientras que, en el segundo caso, el límite corresponde a una situación hipotética siempre que el componente 2 no pueda existir como líquido puro a la temperatura de la disolución.

## 2.2.FUNCIONES DE EXCESO RELACIONADAS CON EL COEFICIENTE DE ACTIVIDAD<sup>19</sup>

Las funciones de exceso son la diferencia entre el valor de una propiedad termodinámica para una disolución y el valor de esa misma propiedad para una disolución ideal, en las mismas condiciones de temperatura, presión y composición. En una disolución ideal, todas las funciones de exceso son cero.

La relación entre la energía Gibbs de exceso molar parcial y los coeficientes de actividad se obtiene recurriendo a la definición de fugacidad. A temperatura y presión constantes, se puede escribir, para el componente i de la disolución,

$$\bar{g}_{i(real)} - \bar{g}_{i(ideal)} = RT[\ln f_{i(real)} - \ln f_{i(ideal)}] \quad (11)$$

A continuación, se introduce la función de exceso molar parcial:

$$\bar{g}_i^E = \bar{g}_{i(real)} - \bar{g}_{i(ideal)} \quad (12)$$

Sustituyendo se obtiene:

$$\bar{g}_i^E = RT \ln \frac{f_{i(real)}}{f_{i(ideal)}} \quad (13)$$

$$\bar{g}_i^E = RT \ln \frac{f_i}{\mathfrak{R}x_i} \quad (14)$$

Como una disolución ideal es aquella cuya actividad es igual a la fracción molar, y estableciendo que la fugacidad en el estado estándar  $f_i^0$  es igual a  $\mathfrak{R}_i$  se tiene:

$$a_i = \gamma_i x_i = \frac{f_i}{\mathfrak{R}_i} \quad (15)$$

Reemplazando se obtiene:

$$\bar{g}_i^E = RT \ln \gamma_i \quad (16)$$

y por lo tanto la energía Gibbs molar de exceso para una disolución ideal o diluida ideal es:

$$g^E = RT \sum_i x_i \ln \gamma_i \quad (17)$$

Las derivada del coeficiente de actividad con respecto a la temperatura está dada por la ecuación:

$$\left( \frac{\partial \ln \gamma_i}{\partial T} \right)_{P,x} = \frac{h_{ipuro} - \bar{h}_i}{RT^2} - \frac{\bar{h}_i^E}{RT^2} \quad (18)$$

Por lo tanto, si se conocen los coeficientes de actividad se obtiene la energía Gibbs molar de exceso y si se conoce los coeficientes de actividad en función de la temperatura se halla la entalpía de exceso molar parcial. Finalmente, al conocer la energía Gibbs de exceso y la entalpía de exceso se encuentra la entropía de exceso por la ecuación:

$$G^E = H^E - TS^E \quad (19)$$

### 2.3. COEFICIENTE DE ACTIVIDAD DE UN SOLUTO NO VOLATIL Y COEFICIENTE OSMOTICO DEL DISOLVENTE<sup>19</sup>

La actividad  $a_i$  y el coeficiente de actividad  $\gamma_i$  del componente i a una cierta temperatura, presión y composición, están relacionados con el potencial químico  $\mu_i$  por:

$$\mu_i = \mu_i^0 + RT \ln a_i = \mu_i^0 + RT \ln(\gamma_i \xi_i) \quad (20)$$

donde  $\mu_i^0$  es el potencial químico de  $i$  en un estado estándar convenientemente definido y  $\xi$  es una medida adecuada de la concentración (fracciones molares, fracciones en volumen, molalidad).

Para una mezcla que contiene un soluto no volátil en un disolvente se utilizará la ecuación anterior para el disolvente, escogiendo como estado estándar el líquido  $i$  puro, a la temperatura y presión del sistema. Sin embargo, para un soluto no volátil, no se puede usar el mismo estado estándar que para el disolvente ya que en la mayor parte de los casos, a temperaturas y presiones normales, el soluto puro no volátil no puede existir como líquido. El potencial químico del soluto disuelto se escribe como:

$$\mu_i = \mu_i^* + RT \ln a_i = \mu_i^* + RT \ln(\gamma_i \xi_i) \quad (21)$$

donde  $\mu_i^*$  es el potencial químico de  $i$  en el estado estándar, que es independiente de la composición pero depende de la temperatura, de la presión, y de la naturaleza del soluto y disolvente.

Usando la escala de molalidad,  $\xi_i = m_i$ :

$$\mu_i = \mu_i^* + RT \ln(\gamma_i^{(m)} m_i) \quad (22)$$

donde  $\gamma_i^{(m)}$  es el coeficiente de actividad en la escala de molalidades. El estado estándar es el estado hipotético, de la disolución ideal, 1 molal de soluto  $i$  en el disolvente  $j$ . En la disolución real,  $\gamma_i^{(m)} \rightarrow 1$  cuando  $m_i \rightarrow 0$ .

En una disolución dada, el potencial químico del disolvente y del soluto no se modifican por la elección de la escala de composición, pero la actividad y el coeficiente de actividad depende no sólo de la elección del estado estándar, sino también de la elección de la escala de concentración. Para una mezcla binaria de un soluto (2), no disociado, en el disolvente (1), el coeficiente de actividad en la escala de fracciones molares  $\gamma_i^{(x)}$  y el coeficiente de actividad en la escala de molalidades  $\gamma_i^{(m)}$  es:

$$\gamma_2^{(x)} = \gamma_2^{(m)} (1 + 0.001 M_1 m_2) \quad (23)$$

donde  $M_1$  es la masa molar del disolvente.

En una mezcla, las propiedades molares parciales de los componentes se relacionan entre sí mediante la ecuación de Gibbs-Duhem. Esta ecuación establece que a temperatura y presión constante,

$$\sum_i x_i d\bar{m}_i = 0 \quad (24)$$

donde  $\bar{m}_i$  puede ser cualquier propiedad molar parcial. La anterior ecuación es válida tanto para disoluciones ideales como reales y puede ser aplicada a las propiedades parciales de exceso:

$$\sum_i x_i d\bar{m}_i^E = 0 \quad (25)$$

La ecuación anterior puede ser usada para calcular los coeficientes de actividad de un componente a partir de los coeficientes de actividad del otro componente, en el mismo intervalo de concentración.

Aunque la ecuación de Gibbs-Duhem es aplicable a todas las propiedades parciales de exceso, es más útil para la energía Gibbs molar parcial de exceso que se relaciona directamente con los coeficientes de actividad. Por lo tanto la ecuación expresada en función de los coeficientes de actividad es:

$$\sum_i x_i d \ln \gamma_i = 0 \quad (26)$$

Aplicando la definición de los coeficientes de actividad en escala de molalidades, la ecuación de Gibbs-Duhem se escribe:

$$\ln a_1 = -\frac{M_1}{1000} m_i - \frac{M_s}{1000} \int_0^{m_i} m_i \left( \frac{\partial \ln \gamma_i^{(m)}}{\partial m_i} \right)_{T,P} dm_i \quad (27)$$

La presión osmótica  $\pi$  de la disolución viene dada por:

$$\pi = -\frac{RT}{v_1} \ln a_1 \quad (28)$$

El coeficiente osmótico  $\phi$  es la relación  $\pi(\text{real})/\pi(\text{ideal})$ . Reemplazando la ecuación (27) en (28):

$$\phi^{(m)} = \frac{\pi(\text{real})}{\pi(\text{ideal})} = \frac{\ln a_1(\text{real})}{\ln a_1^{(m)}(\text{ideal})} = 1 + \frac{1}{m_i} \int_0^{m_i} m_i \left( \frac{\partial \ln \gamma_i^{(m)}}{\partial m_i} \right)_{T,P} dm_i \quad (29)$$

Para representar los datos experimentales de disoluciones diluidas, los coeficientes osmóticos son más adecuados que los coeficientes de actividad, porque son más sensibles a la concentración.



La Ecuación (28) da lugar a una expresión útil para el coeficiente osmótico que sustituye a la ecuación (29), teniendo en cuenta la definición del coeficiente osmótico y que para una disolución ideal, el segundo sumando del segundo miembro de la ecuación (27) se hace cero:

$$\phi^{(m)} = -\frac{1000}{M_1 m_i} \ln a_1 \quad (30)$$

Uno de los métodos experimentales para la determinación de coeficientes de actividad, como es el método isopiético, se basa en el uso del coeficiente osmótico del solvente para calcular los coeficientes de actividad de los solutos. Los coeficientes de actividad se relacionan con los coeficientes osmóticos por la siguiente ecuación:

$$d \ln \gamma = d\phi + (\phi - 1)dm / m \quad (31)$$

El coeficiente de actividad del soluto será obtenido por integración de la ecuación anterior:

$$\ln \gamma_{2,m}^* = \phi_2 - 1 + \int_0^m (\phi_2 - 1) d \ln m_2 \quad (32)$$

donde el subíndice 2 se refiere al soluto. El coeficiente de actividad del soluto obtenido por este método se basa en la convención asimétrica (a un estado estándar de dilución infinita) y sobre la base de molalidad.

Para una disolución de electrolito, el integrando  $(\phi-1)/m$  tiende a  $-\infty$  cuando  $m \rightarrow 0$ . Este problema se resuelve cambiando la variable independiente, de  $m$  a  $m^{1/2}$ . Entonces, la ecuación anterior se transforma en:

$$\ln \gamma_{\pm}^{(m)} = \phi - 1 + 2 \int_0^m \frac{\phi - 1}{m^{1/2}} dm^{1/2} \quad (33)$$

## 2.4.MEDIDAS EXPERIMENTALES DE ACTIVIDAD

Las propiedades de equilibrio de las soluciones pueden ser estudiadas experimentalmente por medio de medidas electroquímicas, depresión del punto de congelación y elevación del punto de ebullición, determinación de solubilidades y presiones de vapor.

### 2.4.1.Métodos de depresión del punto de congelación y aumento en el punto de ebullición<sup>20</sup>

El método de determinación de actividades a partir de medidas experimentales de los puntos de congelación de las disoluciones se basa fundamentalmente en la determinación

de la actividad del disolvente y a partir de ella, se determina la del soluto. En el punto de congelación de cualquier disolución, suponiendo que se separa disolvente puro, la fugacidad del sólido será idéntica a la del disolvente en la disolución, ya que el sistema está en equilibrio. El método para la determinación de actividades a partir de medidas del punto de ebullición es análogo al dado para el método anterior de los puntos de congelación de las disoluciones. En el punto de ebullición, las fases líquida y gaseosa están en equilibrio y, por consiguiente, la actividad del disolvente en la fase líquida será igual a la actividad del disolvente en la fase gaseosa. Estos métodos determinan la actividad del solvente como una función de la composición, pero cada valor es a una temperatura diferente.

#### **2.4.2.Método a partir de fuerza electromotriz<sup>21</sup>**

Los métodos descritos anteriormente están basados en medidas de actividad del disolvente, mientras que el método de determinación a partir de fuerza electromotriz (f.e.m) da directamente los coeficientes de actividad iónica media del electrolito y hace uso de pilas galvánicas adecuadas que contienen disoluciones de la sustancia que se desea estudiar. La fuerza electromotriz de una pila galvánica reversible está relacionada con el cambio de energía libre del proceso que tiene lugar en la pila y este cambio de energía libre, a su vez, está relacionado con las actividades de las sustancias que toman parte en la reacción de la pila. Para el uso de este método es necesario conocer el valor de  $E^{\circ}$  del estado estándar, para lo cual se debe extrapolar los resultados a dilución infinita, obteniéndose unos valores de coeficientes de actividad que son función directamente de la precisión de la extrapolación.

#### **2.4.3.Métodos basados en medidas de presión de vapor<sup>21</sup>**

Los métodos más generales de determinación de actividades del solvente involucra la medida de la presión de vapor de los componentes volátiles de una solución. La determinación directa de la presión de vapor del solvente en la solución, se puede hacer por un método estático o un método dinámico. En el método estático se hace uso de un isotenisco, donde a una temperatura determinada se ajusta la presión exterior que es igual a la presión del vapor en el isotenisco. En el método dinámico se mide la variación del punto de ebullición con la presión externa aplicada.

#### **2.4.4.Método isopiéstico**

El término isopiéstico significa igual compresibilidad o igual presión y el método se basa en la comparación de presiones de vapor. La determinación de actividades por el método isopiéstico es uno de los métodos más sencillos para obtener actividades de solutos no volátiles, siempre que las soluciones no sean demasiado diluidas (menores a 0.1 mol/kg). Si se colocan en un espacio vacío dos o más soluciones de solutos diferentes en el mismo solvente, la solución de mayor presión de vapor, esto es, la de actividad más elevada de solvente, destilará sobre la de menor presión de vapor hasta que se haya alcanzado el equilibrio y todas tengan la misma presión de vapor y fugacidad. En la práctica, una de las soluciones contiene una sustancia de referencia, a la cual se le han determinado

previamente los coeficientes de actividad para una serie de molalidades por un método apropiado, siendo posible calcular los coeficientes de actividad en soluciones de otros solutos. Este método proporciona datos directos de actividad del solvente e indirectamente se calculan los valores de coeficientes de actividad del soluto<sup>22</sup>.

Las mediciones isopiésticas tienen numerosas ventajas como son la posibilidad de trabajar con una solución con uno o varios solutos e incluso con mezclas de solventes, y aunque la determinación final de los datos puede requerir de varios días o semanas, se pueden hacer numerosas mediciones en una misma determinación experimental. Esta técnica requiere que exista un buen control de temperatura garantizado por un termostato, que los materiales utilizados en la construcción de las celdas tengan una excelente conductividad térmica y resistencia a la corrosión y un excelente trabajo de pesada. Sin embargo, no es afectada notablemente por la desgasificación incompleta, es más se puede trabajar sin hacer vacío<sup>22</sup>.

### *Antecedentes del método isopiéstico*

Bousfield<sup>23</sup> en 1917, fue el primero en describir la técnica experimental que es conocida como método isopiéstico. El equipo utilizado por Bousfield consistió en una serie de cilindros de vidrio que contenían las sales secas sobre una lámina de estaño, posteriormente añadió agua y desgasificó dentro de un desecador a 291 K. A intervalos de 2 a 4 días midió la relación isopiéstica y encontró que el equilibrio se había alcanzado. Sin embargo, D. A. Sinclair<sup>24</sup>, encontró que al usar cilindros de vidrio con muy baja conductividad térmica y la ausencia de un medio que facilite la homogenización de la temperatura, el equilibrio se alcanzaba muy lentamente y con un margen de error muy elevado de aproximadamente el 10 %.

La conclusión básica propuesta por Bousfield<sup>23</sup> y Sinclair<sup>24</sup>, está relacionada con la importancia de obtener temperaturas iguales entre las soluciones examinadas. Más aún, cuando se instala el desecador con las celdas dentro del termostato y posteriormente, se hace vacío en el desecador es muy posible que se generen pequeños gradientes de temperatura, que deberían ser eliminados si realmente se quería obtener unas condiciones de equilibrio.

Mason<sup>25</sup> introduce el uso de cámaras de equilibrio metálicas plata-cobre, logrando mejorar la transferencia de calor entre el portamuestra y la solución y disminuyendo los tiempos de equilibrio en un 50%. Sin embargo, algunas soluciones de electrolitos producían corrosión de los metales utilizados.

Scatchard y colaboradores<sup>26</sup> realizaron varias modificaciones a la técnica isopiéstica; usaron portamuestras de platino, los cuales son más resistentes químicamente pero de más baja conductividad térmica. Adicionalmente, inclinaron la cámara a un ángulo de 45° en el baño a temperatura constante y la mantenían rotando de tal forma que las soluciones se mantuvieran bien mezcladas. El problema de evacuar el aire del recipiente isopiéstico, puede traer la formación de burbujas de aire o producir salpicaduras, para resolver esta dificultad Scatchard y su grupo utilizaron un recipiente auxiliar, en el cual se hacía vacío

primero; posteriormente se abría lentamente la llave con la línea al desecador para remover el aire.

El equipo utilizado por Gordon, A. R.<sup>27</sup> en experimentos isopiésticos con soluciones de NaCl y KCl consistía en una celda de vidrio dentro de un termo, el cual estaba dentro de un desecador. Algunos de sus experimentos fueron muy exitosos, otros presentaron un error de 0.6 %.

Uno de los primeros trabajos reportados en un amplio rango de temperatura es el de R. A. Robinson<sup>28</sup>, sin embargo, los datos de coeficientes de actividad reportados corresponden a los valores obtenidos por ajuste de una ecuación de mínimos cuadrados para valores predeterminados de molalidad. Otro trabajo en el que se ha utilizado el método isopiéstico a temperaturas distintas a 25 °C, es el realizado en el Oak Ridge Nacional Laboratory (ORNL)<sup>29</sup> determinando coeficientes osmóticos de soluciones de NaCl entre 373 y 438 K.

En la literatura existe información sobre distintos modelos de celda isopiéstica construidos en vidrio como los propuestos por Thiessen, D. y Wilson<sup>30</sup>, A., Dong-Qiang Lin et al.<sup>31</sup> y L. Ochs et. al<sup>32</sup>. Desde el primer modelo de una celda de tres brazos en vidrio dada por Thielsen y Wilson<sup>30</sup> y posteriormente ampliada a un modelo de 9 celdas utilizadas para determinar actividades de solvente en soluciones de polímeros a 25 °C, se llegó a una celda de 12 terminales con agitación permanente de las soluciones debido a la rotación de celda y a la presencia de perlas de vidrio dentro de las cápsulas, descrita por E. Amado<sup>33,34</sup>. En todos estos trabajos se pretendió solucionar el problema de los largos tiempos necesarios para alcanzar el equilibrio isopiéstico entre las soluciones sin que la precisión disminuyera.

### ***Sustancias de referencia***

El método isopiéstico requiere de sustancias de referencia con alta calidad en los datos de actividad determinados por técnicas diferentes, como f.e.m., medidas de depresión del punto de congelación y aumento en el punto de ebullición combinadas con entalpías de dilución y capacidades caloríficas, y medidas directas de presión de vapor<sup>22</sup>.

Las sustancias de referencia más usadas para soluciones acuosas en el método isopiéstico son NaCl, KCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y CaCl<sub>2</sub>. Ambas NaCl y KCl son las más escogidas debido a que son económicas, se encuentran disponibles en alta pureza, es fácil trabajar con ellas y no requieren manipulación especial. Sin embargo, a causa de la limitada solubilidad, el NaCl y KCl están disponibles para medidas de actividad de agua moderada y alta, y las otras sustancias son utilizadas para actividades de agua más bajas, especialmente el ácido sulfúrico<sup>22</sup>.

De las cuatro sustancias mencionadas como estándares de referencia para soluciones acuosas, el NaCl es el único con una amplia cantidad de datos de actividad del solvente para temperaturas desde el punto de congelación de las soluciones hasta 373.15 K<sup>35-37</sup>. Datos de las otras sustancias existen a otras temperaturas y composiciones<sup>36,38</sup>, pero no son comparables con la precisión de los datos obtenidos para NaCl.

Muy pocas medidas isopiésticas han sido realizadas para electrolitos en solventes no acuosos. Platford<sup>39</sup> estudió soluciones de  $\text{AgClO}_4$  en benceno a 293 K, sin embargo los coeficientes osmóticos no fueron tabulados. Bonner<sup>40</sup> reportó datos isopiésticos para  $\text{LiCl}$ ,  $\text{NaNO}_3$  y urea en metanol a 298.15 K, usando soluciones de  $\text{NaI}$  como estándar primario de referencia y 1,3 dimetilurea como estándar secundario. Los datos de los coeficientes osmóticos para los estándares de referencia no se encuentran disponibles para la mayoría de solventes no acuosos.

### ***Equilibrio termodinámico***

El método isopiéstico es un método esencialmente gravimétrico, en donde a partir de concentraciones de equilibrio y el conocimiento de los coeficientes osmóticos de soluciones de referencia se determinan los coeficientes osmóticos de las soluciones problema. El conocimiento del coeficiente osmótico de la solución lleva a la determinación de los coeficientes de actividad.

El método isopiéstico se basa en obtener el equilibrio termodinámico entre las soluciones, una de referencia y la solución problema<sup>41</sup>:

$$\nu_r m_r \phi_r = \nu_p m_p \phi_p \quad (34)$$

Donde:

$m_r, m_p$ : molalidad solución de referencia y solución problema, respectivamente

$\phi_r, \phi_p$ : Coeficiente osmótico solución de referencia y solución problema, respectivamente.

$\nu_r, \nu_p$ : Número estequiométrico de iones del soluto de referencia y soluto problema, en solución, respectivamente.

El coeficiente osmótico de la solución problema se obtiene a partir de<sup>41</sup>:

$$\phi_p = \frac{\nu_r m_r \phi_r}{\nu_p m_p} \quad (35)$$

donde la relación ( $m_r/m_p$ ) es llamada relación isopiéstica.

El coeficiente de actividad del soluto será obtenido por la siguiente ecuación<sup>19</sup>:

$$\ln \gamma_{2,m}^* = \phi_2 - 1 + \int_0^m (\phi_2 - 1) d \ln m_2 \quad (36)$$

donde el subíndice 2 se refiere al soluto. Para una disolución de electrolito, la ecuación anterior se transforma en<sup>19</sup>:

$$\ln \gamma_{\pm}^{(m)} = \phi - 1 + 2 \int_0^m \frac{\phi - 1}{m^{1/2}} dm^{1/2} \quad (37)$$

El coeficiente de actividad del soluto obtenido por este método se basa en el sistema asimétrico de referencia (el estado estándar del soluto a dilución infinita) y sobre la base de molalidad.

## 2.5.MODELOS DE PREDICCIÓN DE COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

Se han propuesto muchas ecuaciones para expresar la relación entre los coeficientes de actividad y la fracción molar. Estos modelos intentan explicar la no idealidad de las disoluciones en función de las fuerzas intermoleculares físicas que reflejan el tamaño de las moléculas y las fuerzas físicas que operan entre ellas. Entre las ecuaciones más estudiadas se encuentran la ecuación de Wilson, NRTL, UNIQUAC, UNIFAC, el modelo de esferas rígidas perturbadas, entre otros<sup>19</sup>.

De los estudios realizados sobre predicción de coeficientes de actividad de aminoácidos de cadena alifática en solución acuosa<sup>42-44</sup>, el modelo de esferas rígidas perturbadas y la ecuación de Wilson pueden aplicarse a estos sistemas. Los modelos de UNIQUAC y UNIFAC convencionales también han sido estudiados, pero el comportamiento está muy alejado de los datos experimentales.

Los modelos de esferas rígidas perturbadas presentan buena correlación de los datos experimentales con pocos parámetros ajustables sobre un amplio rango de concentraciones y temperaturas. El buen ajuste de los datos experimentales a estos modelos se debe a que las interacciones dipolo-dipolo afectan significativamente el potencial químico, debido a un alto momento dipolar de los aminoácidos.

La ecuación de Wilson representa las interacciones físicas entre el aminoácido y el agua, teniendo en cuenta los volúmenes Bondi y dos parámetros de interacción ajustables.

### 2.5.1.Modelo de esferas rígidas perturbadas

Para modelar los coeficientes de actividad de aminoácidos en solución acuosa, la teoría de perturbación en una forma primitiva ha sido empleada. El modelo implica que el solvente en el sistema es tratado como un dieléctrico continuo y el sistema soluto/agua es reducido al tratamiento de un sistema de un componente simple. En esta teoría el potencial químico de un soluto  $\mu_i$  se compone de una contribución de un sistema de referencia y un término perturbado<sup>44</sup>:

$$\mu_i = \mu_i^{Ref} + \mu_i^{Per} \quad (38)$$

Donde Ref denota la contribución del sistema de referencia y Per del término de perturbación, respectivamente. La contribución del sistema de referencia al potencial químico es representado por una ecuación de estado para esferas rígidas propuesto por Mansoori y colaboradores<sup>45</sup>:

$$\frac{\mu_i^{hg} - \mu_i^{hg,ig}}{kT} = \frac{8\xi - 9\xi^2 + 3\xi^3}{(1-\xi)^3} \quad (39)$$

Con

$$\xi = \frac{\pi}{6} \rho \sigma^3 \quad (40)$$

Donde  $\sigma$  es el parámetro de tamaño,  $\rho$  es la densidad numérica del componente, T es la temperatura absoluta, k es la constante de Boltzmann, y hs e ig denotan la esfera rígida y estado de gas ideal, respectivamente.

La contribución del término perturbado al potencial químico del sistema es representado por una expresión basada en la teoría de perturbación Barker-Henderson<sup>46</sup> truncada después del primer término de perturbación:

$$\mu_i^{Per} = 4\pi\rho \int_0^{\infty} u(r) g^{hs}(r) r^2 dr \quad (41)$$

Donde  $u(r)$  es la energía de interacción como función de la distancia intermolecular, r, y  $g^{hs}(r)$  representa la función de distribución radial del término de referencia. Las energías de interacción de perturbación incluyen el efecto de dispersión, dipolo, cuadrupolo y fuerzas de inducción. Debido a la naturaleza primitiva del modelo empleado y al gran momento dipolar de los aminoácidos, solo las contribuciones de dispersión e interacciones dipolo-dipolo son consideradas. Las fuerzas de dispersión son representadas por un modelo Lennard-Jones<sup>47</sup>:

$$\mu^{L-J}(r) = 4\varepsilon \left( \frac{\sigma^{12}}{r^{12}} - \frac{\sigma^6}{r^6} \right) \quad (42)$$

Donde  $\varepsilon$  es la profundidad del pozo del potencial de acuerdo al modelo Lennard-Jones. Las interacciones dipolo-dipolo son representadas por un modelo de interacciones Keesom<sup>47</sup>:

$$\mu^{D-D}(r) = -\frac{D^4}{3(4\pi\varepsilon_0\varepsilon_r)^2 kTr^6} \quad (43)$$

donde D denota el momento dipolar del componente,  $\varepsilon_0$  es la permitividad en el vacío y  $\varepsilon_r$  es la constante dieléctrica del medio. En principio, la función de distribución radial usada en el término perturbado podría ser la misma que la usada en el término de esfera rígida.

Siguiendo el método propuesto por Reed y Gubbins<sup>48</sup>, la función de distribución radial uniforme en el término perturbado es asumida como:

$$g^{Per}(r) = \begin{cases} 0 & r < \sigma \\ 1 & r > \sigma \end{cases} \quad (44)$$

donde  $g^{Per}(r)$  denota la función de distribución radial usada en el término perturbado.

El coeficiente de actividad asimétrico de un soluto,  $\gamma_i$ , es relacionado al potencial químico por la siguiente relación termodinámica<sup>19</sup>:

$$\mu_i - \mu_i^{id} = kT \ln \gamma_i \quad (45)$$

El término  $\mu_i^{id}$  es el potencial químico del componente i en una solución ideal a la misma composición y temperatura del sistema. En este modelo, como el solvente actúa como un dieléctrico continuo, el comportamiento de la solución ideal corresponde a un estado de gas ideal de esfera rígida. En este límite, todas las energías de atracción entre las moléculas de soluto son cero y la contribución del término perturbado al potencial químico como gas ideal es nulo. Entonces, el coeficiente de actividad del soluto es normalizado a la unidad respecto al estado de referencia de dilución infinita. Combinando las ecuaciones (38-45) se obtiene el coeficiente de actividad del soluto normalizado asimétricamente<sup>44</sup>:

$$\ln \gamma_i^* = \frac{8\xi - 9\xi^2 + 3\xi^3}{(1-\xi)^3} - \frac{4\pi\rho}{kT} \left\{ \frac{8}{9} \varepsilon \sigma^3 + \frac{D^4}{9(4\pi\varepsilon_0\varepsilon_r)^2 kT\sigma^3} \right\} \quad (46)$$

### 2.5.2. Ecuación de Wilson

Wilson (1964)<sup>49</sup> presentó la siguiente expresión para la energía Gibbs de exceso de una mezcla binaria, basada en consideraciones moleculares:

$$\frac{g^E}{RT} = -x_1 \ln(x_1 + \Lambda_{12}x_2) - x_2 \ln(x_2 + \Lambda_{21}x_1) \quad (47)$$

Los coeficientes de actividad a partir de esta ecuación son:

$$\ln \gamma_1 = -\ln(x_1 + \Lambda_{12}x_2) + x_2 \left( \frac{\Lambda_{12}}{x_1 + \Lambda_{12}x_2} - \frac{\Lambda_{21}}{\Lambda_{21}x_1 + x_2} \right) \quad (48)$$



$$\ln \gamma_2 = -\ln(x_2 + \Lambda_{21}x_1) - x_1 \left( \frac{\Lambda_{12}}{x_1 + \Lambda_{12}x_2} - \frac{\Lambda_{21}}{\Lambda_{21}x_1 + x_2} \right) \quad (49)$$

La energía Gibbs de exceso se define con referencia a una disolución ideal en el sentido de la ley de Raoult. La ecuación de Wilson tiene dos parámetros ajustables  $\Lambda_{12}$  y  $\Lambda_{21}$ , que en la deducción de Wilson se relacionan con los volúmenes molares de los componentes puros y con unas diferencias de energías características:

$$\Lambda_{12} = \frac{v_2}{v_1} \exp\left(-\frac{\lambda_{12} - \lambda_{11}}{RT}\right) \quad (50)$$

$$\Lambda_{21} = \frac{v_1}{v_2} \exp\left(-\frac{\lambda_{21} - \lambda_{22}}{RT}\right) \quad (51)$$

donde  $v_i$  es el volumen molar del líquido puro  $i$ , y las  $\lambda$  son energías de interacción entre las moléculas designadas por los subíndices.

Como el volumen molar del componente líquido puro  $i$  no tiene significado para los aminoácidos, Nass (1988)<sup>50</sup> propone hacer  $v_j / v_i$  igual a la razón de los volúmenes Bondi (1968)<sup>51</sup> de las especies  $i$  y  $j$ , los cuales son constantes relativas a la estructura molecular de los componentes puros y dependen del tamaño molecular. Las diferencias en los parámetros energéticos de interacción ( $G_{12}$ ,  $G_{21}$ ) son tratados como parámetros ajustables, y la ecuación de Wilson aplicada a sistemas de aminoácidos en solución acuosa es:

$$\Lambda_{12} = \frac{r_2}{r_1} \exp(-G_{12}) \quad (52)$$

$$\Lambda_{21} = \frac{r_1}{r_2} \exp(-G_{21}) \quad (53)$$

## 2.6.SOLUCIONES ACUOSAS DE AMINOACIDOS

El estudio de los aminoácidos en agua permite interpretar su comportamiento en términos de las interacciones que ocurren en este medio y de su efecto sobre la estructura del agua, de allí la importancia de estudiar las propiedades fisicoquímicas. Estas propiedades termodinámicas de los aminoácidos en soluciones acuosas han sido estudiadas por muchos autores<sup>17,52-56</sup> debido a que estas sustancias juegan un papel importante en la determinación de las propiedades de las proteínas. La interacción del grupo apolar de las proteínas con el agua en soluciones acuosas es un factor importante para mantener la estructura nativa de la proteína. En consecuencia la caracterización de las propiedades termodinámicas de

hidratación de solutos modelo como los aminoácidos, puede ayudar a entender la estabilidad funcional e interpretar el comportamiento de las proteínas en agua.

Las propiedades termoquímicas y volumétricas de sistemas de aminoácidos acuosos han sido estudiadas por varios autores y se cree que son sensitivas a la naturaleza de la hidratación. Un número de datos experimentales de volúmenes molares parciales, compresibilidades isentrópicas y adiabáticas, capacidades caloríficas, densidades y expansibilidades de aminoácidos en soluciones acuosas han sido reportados<sup>12,17,52,54</sup> como función de la temperatura y la concentración. La mayoría de las medidas de propiedades para estos aminoácidos se ha llevado a cabo a concentraciones superiores a 0.01m. Se ha asumido que el comportamiento observado en esta región de concentración depende fundamentalmente de la hidratación hidrofílica debida a la interacción entre el grupo polar y el agua y que dicho interacción también predomina a concentraciones inferiores y en consecuencia los valores de las propiedades pueden ser extrapolados a dilución infinita.

Sin embargo a través de estudios realizados en el proyecto de Investigaciones de estudios Fisicoquímicos de soluciones acuosas en sistemas de interés Biológico<sup>17,54</sup> se ha encontrado que a concentraciones inferiores a 0.01 molal se presentan desviaciones importantes al comportamiento observado a concentraciones superiores, indicando un cambio en las interacciones dominantes a muy baja concentración (0.005 molal). La tendencia mencionada se presenta en el volumen molar aparente, la viscosidad y la tensión superficial de soluciones acuosas de aminoácidos.

Los datos de solubilidad en función de la temperatura de algunos aminoácidos en agua son recopilados por Seidell<sup>57</sup>, sin embargo, la mayoría de los estudios se han realizado a 25 °C<sup>55,58-60</sup>. El comportamiento general de la solubilidad de aminoácidos en soluciones neutras como función de la temperatura es conocido: la solubilidad se incrementa cuando se incrementa la temperatura<sup>57,59,60</sup>.

Cuando los aminoácidos son disueltos en agua, muestran una alta energía libre de exceso indicando que existen cambios en la estructura del agua. Los coeficientes de actividad de soluciones de aminoácidos muestran evidencia de esos cambios y de la asociación entre moléculas de soluto. Los coeficientes de actividad y osmóticos están registrados en la literatura para varios aminoácidos, entre los estudios más interesantes están los que involucran los efectos de incrementar la longitud y complejidad de la cadena de carbón alifática y el efecto del incremento de la distancia dipolar entre los grupos funcionales<sup>61-65</sup>. Estos estudios utilizan el método isopiéstico para la determinación de la actividad del solvente y cubren todo el rango de solubilidad de los aminoácidos y la temperatura de trabajo es de 25 °C.

También se han realizado estudios por otros métodos para determinar los coeficientes de actividad de aminoácidos. En uno de ellos se midieron presiones de vapor de soluciones acuosas de L-alanina, L-valina y L-serina por un método de presión diferencial para obtener los coeficientes de actividad de agua; los cuales fueron ajustados por UNIQUAC y calculado los coeficientes de actividad del soluto<sup>66</sup>. En otro estudio se determinó la

actividad del agua en soluciones acuosas de aminoácidos y se ajustaron los datos por el modelo UNIFAC, pero no se reportan los datos de coeficientes de actividad de los solutos<sup>67</sup>. En general, los datos experimentales reportados se encuentran a 25 °C y concentraciones mayores a 0.1 m, por lo tanto no existe información sobre coeficientes de actividad de aminoácidos a diferentes temperaturas ni a concentraciones inferiores a 0.1m; esta información es fundamental para ver el efecto de la cadena apolar sobre la estructura del solvente acuoso, ya que es en la región diluida en donde se manifiestan las interacciones soluto-solvente.

Utilizando el método de fuerza electromotriz<sup>68</sup>, se han encontrado coeficientes de actividad de aminoácidos en soluciones acuosas de electrolitos como los reportados por Vera y Khoshkbarchi a 25°C.

En la última década varios estudios han sido realizados sobre correlación y predicción de coeficientes de actividad de aminoácidos en agua. Nass<sup>50</sup> primero propuso el modelo de coeficientes de actividad para tres aminoácidos basado sobre la ecuación de Wilson<sup>49</sup>, y aplicada esta a la descripción de la solubilidad de aminoácidos en agua. Chen et al.<sup>42</sup> desarrollaron un nuevo modelo de coeficientes de actividad (modelo NTRL para electrolitos) usando la ecuación para electrolitos de Pitzer – Debye –Huckel<sup>41</sup> y la ecuación de Born hasta obtener una ecuación NTRL modificada<sup>69</sup>. Esto fue correlacionado para cada aminoácido separadamente sobre la base de su solubilidad en varias clases de solventes, los resultados calculados muestran buena concordancia con los coeficientes de actividad experimentales y las solubilidades.

En 1990, Gupta y Heidemann<sup>70</sup> redujeron los coeficientes de actividad de aminoácidos en agua al modelo UNIFAC modificado<sup>71</sup>. Los resultados no fueron muy buenos para aminoácidos conteniendo grupos metil y metileno en una cadena pero fueron buenos para glicina y serina. En trabajos más recientes, Pinho et al.<sup>43</sup> presentaron un modelo para aminoácidos y péptidos usando la ecuación UNIFAC<sup>72</sup> con la ecuación Debye-Huckel. La influencia del pH y la temperatura sobre la solubilidad de un aminoácido en agua ha sido representada con satisfacción. Sin embargo, este no proporciona buenos resultados para coeficientes de actividad de aminoácidos hidrofóbicos en agua.

Khoshkbarchi y Vera<sup>44</sup> desarrollaron un modelo simplificado de esferas rígidas perturbadas para determinar los coeficientes de actividad de aminoácidos y péptidos en solución acuosa. En este modelo las energías de interacción para el término perturbado fueron consideradas debidas a las fuerzas de dispersión, representadas por la expresión de Lennard-Jones y las interacciones dipolo-dipolo en la forma de la ecuación de Keesom. Luego Ghotbi y Vera<sup>73</sup> propusieron una nueva ecuación de esferas rígidas y recientemente Mortazavi-Manesh, et. al.<sup>74</sup> utilizaron esta ecuación y trabajos anteriores para correlacionar los coeficientes de actividad de aminoácidos y péptidos simples en solución acuosa y la solubilidad de estos a varias temperaturas.

### 3.MATERIALES Y METODOS

#### 3.1.REACTIVOS Y PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

##### 3.1.1.Reactivos

- Aminoácidos: glicina, DL- $\alpha$  alanina y ácido DL- $\alpha$  amino butírico, grado analítico SIGMA. Se utilizaron directamente después de haber sido almacenados en atmósfera seca por un tiempo superior a 48 horas.
- Cloruro de sodio (NaCl) y cloruro de potasio (KCl) grado analítico CARLO ERBA, los cuales se secaron a 105 °C por 72 horas y luego se almacenaron en atmósfera seca.
- El agua utilizada fue doblemente destilada y tratada de acuerdo con las recomendaciones de la literatura<sup>75</sup>, para obtener un agua libre de materia orgánica, con conductividad inferior a 2 $\mu$ S/cm. Además se usó recién destilada para eliminar los gases disueltos.
- Grasa de alto vacío DOW CORNING de 7g/L.
- Acetona J. T. BAKER
- Éter de petróleo 35-60 °C, J. T. BAKER
- Helio grado analítico (Grado 5)

##### 3.1.2.Preparación de soluciones

Las soluciones se prepararon por pesada, utilizando una balanza analítica con una precisión de  $\pm 1 \times 10^{-4}$  g. El rango de concentración de las soluciones de todos los solutos estuvo comprendido entre 0,1 y 1,0 m, a cada una de las temperaturas seleccionadas.

#### 3.2. EQUIPOS

- Balanza: Balanza analítica OHAUS Explorer Modelo E12140, de precisión  $\pm 1 \times 10^{-4}$  g y capacidad máxima de 210 g.
- Bomba de vacío: Bomba de vacío marca W. M. Welch Serie 26996-5.
- Conductímetro: SCHOTT de precisión 0.1  $\mu$ S/cm
- Sensor de presión: Sensor de presión de gas Vernier de rango 0-210 kPa, precisión 0.05 kPa, acoplado a una calculadora Texas Instruments TI-83 Plus.
- Equipo isopiéstico: El equipo isopiéstico consta de la celda isopiéstica y los termostatos con los controles de temperatura, ambos se muestran en las figuras 1 y 2.
  - Celda isopiéstica: La celda isopiéstica múltiple como la descrita por E. Amado<sup>33</sup>, se construyó a partir de un balón de 4000 ml, el cual se cortó en su base para colocar un fondo cóncavo y 14 terminales tipo macho para ubicar los balones portamuestra

(25 ml) uniformemente distribuidos. Las uniones de todas las terminales se hicieron en vidrio esmerilado al igual que los cuellos de los balones.

El eje de la celda se selló y se reforzó en vidrio para que funcionara como soporte y unión al eje del motor. En la parte lateral superior de la celda se colocó una llave de paso para hacer vacío, de largo suficiente para que quedara ubicada por encima del nivel del agua del termostato y de forma que se pudiera realizar vacío tanto a la llave como a la cámara de vapor. La celda isopiéstica se muestra a continuación:

**Figura 1. Celda isopiéstica**



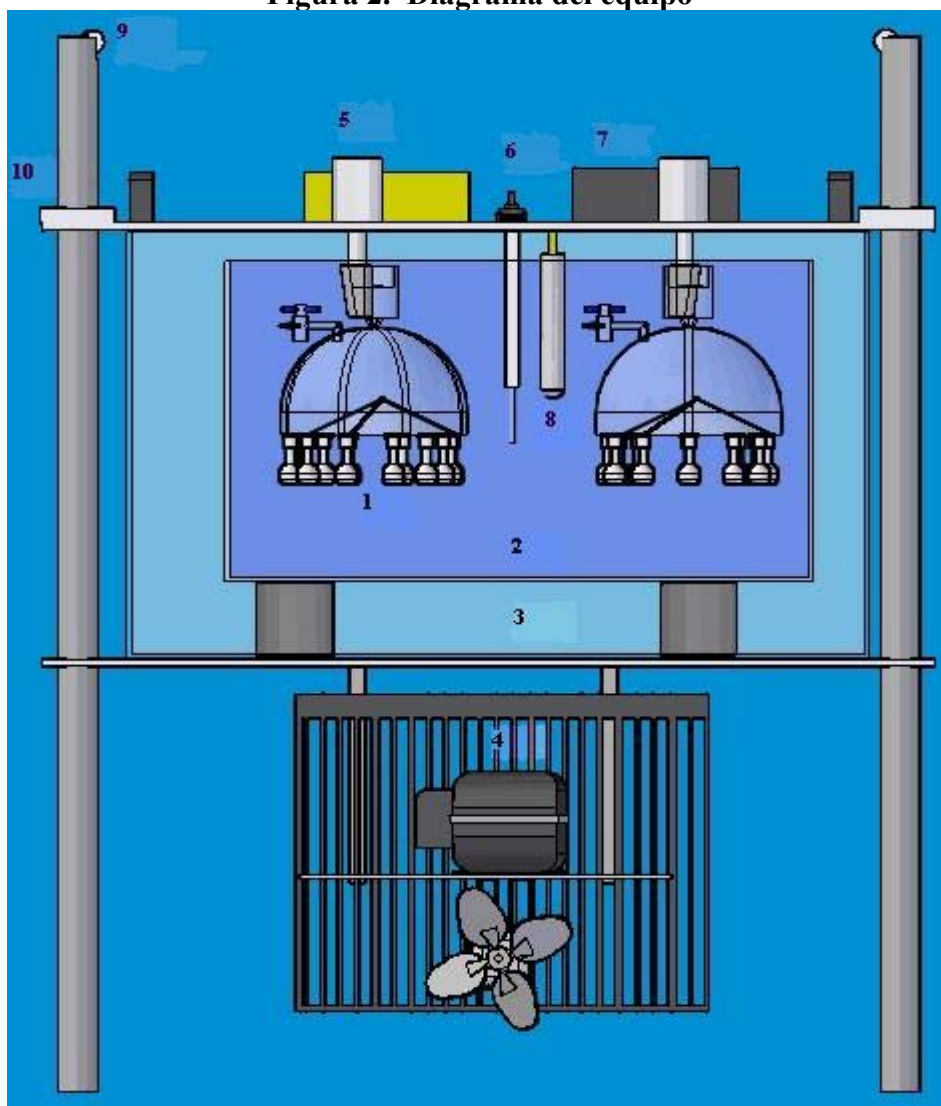
- **Termostato principal:** El termostato principal tiene las siguientes dimensiones 72.5 cm de largo, 41 cm de ancho y 40 cm de alto construido en acrílico de 10 mm. Se encuentra soportado dentro del termostato externo por medio de 5 bases cilíndricas, de 9 cm de diámetro y 6 cm de alto. En el termostato principal se ubicaron dos celdas isopiésticas, y se compone de las siguientes partes:

*Control de temperatura:* El control de temperatura se realizó mediante el sistema termocontacto-relevo, utilizando un termómetro de contacto marca GDR/Bestell de escala 10 a 30 °C. Como el termostato principal se encuentra dentro del termostato auxiliar que está a una temperatura inferior a la temperatura de trabajo, el sistema de calentamiento se compone de una resistencia de 100  $\Omega$ . Este sistema permite obtener un control de temperatura de  $\pm 0.01$  °C.

*Medición de temperatura:* Todas las temperaturas se midieron con termómetros calibrados contra un termómetro certificado por la NITS y las variaciones de temperatura se midieron con un termistor y un multímetro digital Hewlett Packard 34401.

*Sistema de agitación:* Cada celda se une a través de su eje con un motor que gira entre 30 y 35 rpm. Este sistema permite una homogeneidad de la temperatura del agua dentro del termostato principal.

**Figura 2. Diagrama del equipo**



1. Celda isopiética
2. Termostato principal
3. Termostato externo
4. Sistema de enfriamiento
5. Motor
6. Termómetro de contacto
7. Relevo de temperatura
8. Resistencia
9. Soporte
10. Cubierta superior

- Termostato externo: El termostato externo tiene las siguientes dimensiones 89.5 cm de largo, 56 cm de ancho y 57.5 cm de alto, construido en acrílico de 10 mm. Las partes del termostato externo son las siguientes:

*Sistema de enfriamiento:* Como sistema de enfriamiento se utilizó una unidad de refrigeración para mantener la temperatura de trabajo por debajo de la temperatura ambiente, y como líquido de refrigeración se usó Freón 12. La potencia del compresor es de 1/8 hp.

*Soporte de los termostatos:* El sistema celda-termostatos está soportado sobre una estructura metálica.

- Accesorios:

*Cubierta superior:* El termostato externo se cubre con una tapa en fórmica de 15 mm de espesor, la cual tiene una doble función:

- Aislamiento de los termostatos del ambiente
- Sistema de desplazamiento vertical para la introducción o remoción de las celdas isopiéticas del baño termostatado. Este sistema funciona mediante un mecanismo de contrapesos que permite que las celdas permanezcan fijas en la parte superior.

### 3.3.PROTOCOLO EXPERIMENTAL

El proceso de optimización del método isopiético se realizó en un tiempo aproximado de 5 meses y comprendió los siguientes pasos:

- Chequeo de fugas en la celda: El primer paso para empezar los experimentos isopiéticos es verificar la hermeticidad de la celda, es decir que los balones portamuestras queden perfectamente acoplados a la celda, de tal forma que no entre agua a ésta y la llave de paso quede cerrada para conservar el vacío.

Para cumplir con este requisito se ensayó con Parafilm, Cristaflex cubriendo externamente los cuellos de los balones y cinta teflón en las uniones macho de la celda, sin resultados satisfactorios.

Posteriormente, se utilizó grasa de alto vacío en los cuellos esmerilados de los balones y en la llave de vacío, y se realizó un seguimiento de la presión en función del tiempo por medio de un sensor de presión acoplado a la calculadora Texas Instruments; se encontró este recurso como solución óptima.

Como el método isopiético es esencialmente gravimétrico, se buscó el mejor solvente que removiera la grasa de los cuellos de los balones sin causar cambios significativos en la masa de los mismos. Se realizaron ensayos con hexano, acetona y éter de petróleo;

llegando a la conclusión de que la menor diferencia entre las masas de los balones inicialmente limpios y los balones después de su limpieza con el solvente para la remoción de la grasa, se conseguía con el éter de petróleo.

- Cantidades óptimas de solución para obtener el equilibrio entre la fase gas-líquido del solvente: Se hicieron ensayos con 2 y 10 g de solución, para encontrar un bajo tiempo de equilibrio con una masa confiable, donde los cambios de ésta fueran significativos para el cálculo de las molalidades. Se encontró que con 2 g de solución la cantidad total de solvente por transferir de un balón a otro es menor que con 10 g, y por lo tanto los tiempos de equilibrio son menores.
- Concentraciones óptimas de solución para obtener el equilibrio entre la fase gas-líquido del solvente: Se realizaron corridas del método isopiéstico utilizando diferentes concentraciones de solutos. En un primer intento se tomaron concentraciones de soluciones de NaCl y KCl entre 0.1 y 1.0 m, luego en dos rangos diferentes de molalidades y por último se experimentó con una concentración de equilibrio cercana a la esperada (10%)<sup>22</sup>. Además, en algunos arreglos se incluyeron dos balones con agua para que sirviera como reserva. El mejor arreglo se encontró para concentraciones similares de los diferentes solutos en todos los balones, ya que con los demás arreglos no se conseguía el equilibrio en tiempos aproximados de 2 semanas y no se utilizó agua como reserva debido a que las soluciones eran muy diluidas.
- Atmósfera óptima para alcanzar el equilibrio: Según varios autores (ref), el método isopiéstico se puede trabajar con diferentes atmósferas inertes, con vacío o sin él. Por lo tanto, se realizaron experimentos con helio, aire y diferentes niveles de vacío (entre 20 y 40 mm Hg), con el fin de encontrar la atmósfera adecuada que facilitara el equilibrio. Finalmente se utilizó vacío y la celda fue evacuada hasta eliminar el aire disuelto y alcanzar la presión de vapor del agua. Este se realizó lentamente para prevenir la salpicadura de las soluciones.
- Agitación de las soluciones: Para favorecer el equilibrio, se realizaron ensayos con perlas de vidrio y agitadores magnéticos, de tal forma que las soluciones permanecieran constantemente agitadas durante el tiempo total de equilibrio. Las perlas de vidrio agitaban la solución debido al movimiento de rotación de la celda y los agitadores magnéticos permanecían en movimiento por la acción de cuatro imanes externos a la celda. Se utilizó las perlas de vidrio ya que los agitadores magnéticos producían problemas con la balanza utilizada.
- Gradientes de temperatura: El alcance del equilibrio depende de un buen control de temperatura en el termostato principal, y una temperatura homogénea dentro de la celda. Por esto, la celda debe mantenerse sumergida completamente y en permanente rotación, ya que si la celda está parcialmente sumergida se producirán gradientes de temperatura y existirá condensación en la parte superior de ésta.



- Tiempo de equilibrio: Para determinar los tiempos de equilibrio óptimos se tuvieron en cuenta todas las variables anteriormente expuestas. Después de haber aclarado la influencia de cada una de ellas en el equilibrio, se procedió a variar el tiempo de verificación por ensayo y error, entre 4 y 15 días dependiendo de la temperatura y concentraciones trabajadas. Se encontró 11 días de equilibrio para 25 °C y 15 días de equilibrio para 20 °C con el siguiente procedimiento:

Se empezó trabajando con soluciones de 0.1 m en todos los solutos problema y con 0.05m en las soluciones de referencia y chequeo. Se ubicaron celdas con concentraciones iguales en los termostatos a la temperatura de trabajo y se pusieron a equilibrar por diferentes tiempos. La primera celda se retiró del termostato a los cuatro días y se determinaron las molalidades isopiésticas y la relación isopiéstica entre la sustancia de referencia y la sustancia problema ( $m_{ref}/m_{soluta}$ ). La segunda celda se bajó a los ocho días, y se comparó la relación isopiéstica con la celda que se bajó a los cuatro días, si la relación isopiéstica era constante, el equilibrio se había conseguido y por lo tanto las demás soluciones estaban en equilibrio entre si. De otra forma, se siguió variando el tiempo hasta alcanzar un valor constante en la relación isopiéstica. En ese momento se dice que el tiempo alcanzado es el tiempo de equilibrio para la temperatura hallada, y se toma para todas las concentraciones debido a que la menor concentración es la que tomará mayor tiempo en equilibrarse.

Como segunda forma de seguridad de haber alcanzado el equilibrio, se encontraban los coeficientes osmóticos para el KCl utilizando NaCl como sustancia de referencia. Estos coeficientes osmóticos debían coincidir con los reportados en la literatura.

- Aire seco: Cuando el equilibrio fue alcanzado, se inyectó aire seco a la cámara de vapor, a la temperatura de trabajo, para prevenir condensación de vapor de agua al entrar aire húmedo a una temperatura diferente. Para conseguir aire en estas condiciones se hizo pasar aire húmedo por una atmósfera seca durante un tiempo de residencia alto antes de su entrada a la cámara.

Después de optimizar el proceso, el procedimiento que se sigue para la determinación de coeficientes osmóticos de las soluciones de aminoácidos es el siguiente:

- Obtener la temperatura de trabajo dentro de los termostatos manipulando los controles de temperatura.
- Determinar el peso de los balones vacíos con tapa y perlas de vidrio, después de mantenerlos en un desecador.
- Preparar las soluciones e introducir dos gramos en los balones por duplicado.
- Ensamblar las celdas utilizando grasa de alto vacío en los cuellos de los balones y en la llave de paso.
- Realizar vacío a la llave de paso y a la cámara de vapor lentamente hasta la eliminación del aire disuelto y evitar la salpicadura de las soluciones.

- Introducir las celdas en el baño termostataado y ponerla a girar entre 30 y 35 revoluciones por minuto.
- Esperar el tiempo de equilibrio determinado para la temperatura de trabajo.
- Inyectar aire seco a la cámara de vapor.
- Remover los balones y limpiar los cuellos de estos con éter de petróleo para remover la grasa de alto vacío y tapar los balones.
- Colocar los balones con sus respectivas tapas en un desecador dos horas aproximadamente antes de ser pesadas.
- Pesar los balones y determinar la masa ganada o perdida de agua.

### 3.4.CALIBRACIÓN

Después de tener el proceso óptimo para determinar los coeficientes osmóticos, se procedió a realizar las medidas experimentales con los aminoácidos y sustancias de referencia y chequeo. Se montaron en una misma corrida los aminoácidos con las sustancias de referencia por duplicado. A cada temperatura y concentración se realizó el proceso isopiéstico utilizando NaCl como solución patrón, KCl como solución de chequeo y los aminoácidos como solución problema.

El primer paso era comprobar el equilibrio obtenido con las soluciones de NaCl y KCl. El rango de concentraciones fue entre 0.1m y 0.6m, debido a que el número estequiométrico de iones de todas las sustancias problema trabajadas es 1 y el de los solutos de referencia es 2. El cálculo de la incertidumbre en la pesada para la molalidad de la solución se determina mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta m = \frac{\partial m}{\partial W_{STO}} \Delta W_{STO} + \frac{\partial m}{\partial W_{STE}} \Delta W_{STE} \quad (54)$$

En el procedimiento de calibración se obtienen las molalidades experimentales de NaCl y KCl al alcanzar el equilibrio. Los valores de coeficiente osmótico del NaCl o patrón primario de referencia, se obtuvieron mediante el software para la ecuación de correlación de D. Archer-Pitzer. El coeficiente osmótico del KCl y la incertidumbre absoluta en el cálculo de este se encuentra a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\phi_{KCl} = \frac{m_{NaCl} \phi_{NaCl}}{m_{KCl}} \quad (55)$$

$$\Delta \phi = \frac{\partial \phi}{\partial m_{NaCl}} \Delta m_{NaCl} + \frac{\partial \phi}{\partial m_{KCl}} \Delta m_{KCl} \quad (56)$$

Para comprobar el equilibrio alcanzado a través de la fase gaseosa del solvente, se comparaban los valores obtenidos de la actividad promedio del solvente tanto en la

solución de NaCl como en la solución de KCl por medio de la ecuación (30). Para evaluar los datos de calibración se comparan los coeficientes osmóticos y de actividad del KCl (Ecuación 37) contra datos de literatura a las temperaturas de trabajo.

### 3.5. COEFICIENTES OSMÓTICOS DE LOS AMINOACIDOS

Después de chequear el método isopiéstico con la solución de KCl y comprobar el equilibrio termodinámico obtenido a la temperatura y concentración de trabajo, se calculaban los coeficientes osmóticos de las soluciones de aminoácidos en el equilibrio a partir de:

$$\phi_{AMINOACIDO} = \frac{2m_{NaCl}\phi_{NaCl}}{m_{AMINOACIDO}} \quad (57)$$

Las soluciones de aminoácidos se prepararon con concentraciones entre 0.1 y 1.0 m a 20 y 25°C. En cada corrida del método, se montaron concentraciones similares para todos los solutos.

Al igual que con la calibración, se compararon los valores de la actividad del solvente tanto en la solución de NaCl como en las soluciones de aminoácido, para verificar que las soluciones habían alcanzado el equilibrio.

Los coeficientes de actividad se determinaron al ajustar una ecuación al comportamiento del coeficiente osmótico en función de la molalidad y realizar la integración propuesta en la Ecuación (36). Una muestra de cálculo se observa en el Anexo 4.

### 3.6. MODELOS DE PREDICCIÓN DE COEFICIENTES DE ACTIVIDAD DE AMINOACIDOS

#### 3.6.1. Modelo de esferas rígidas perturbadas

Para correlacionar los coeficientes de actividad de los aminoácidos en solución acuosa usando un modelo de esferas rígidas perturbadas simplificado (Ecuación 46), es necesario evaluar el parámetro de tamaño ( $\sigma$ ), la profundidad del pozo del potencial de acuerdo al modelo Lennard-Jones ( $\epsilon$ ) y el momento dipolar (D).

Los momentos dipolares de aminoácidos, debido a su alta naturaleza polar, lo cual los hace insolubles en solventes orgánicos, no se pueden medir experimentalmente. Por lo tanto, los momentos dipolares de los aminoácidos fueron calculados desde una aproximación mecánica cuántica usando el software de modelamiento molecular Hyperchem. Los momentos dipolares encontrados no son parámetros ajustables.

El parámetro de tamaño y la profundidad del pozo del potencial de acuerdo al modelo Lennard-Jones para cada aminoácido son considerados parámetros ajustables y fueron calculados a partir de los datos experimentales. Para todos los aminoácidos, para evaluar  $\sigma$  y  $\varepsilon$  se minimizó por medio de Solver (Excel) la siguiente función objetivo:

$$FO = \sum_i (\gamma_i^{EXP} - \gamma_i^{CAL})^2 \quad (58)$$

Para cada sistema aminoácido-agua, el modelo simplificado de esferas rígidas perturbadas contiene solo dos parámetros ajustables: el parámetro de tamaño y la profundidad del pozo del potencial.

El coeficiente de actividad obtenido por el modelo está en base de fracción mol  $\gamma_i^{(x)}$  y los coeficientes reportados en la literatura están en base molal  $\gamma_i^{(m)}$ , por lo tanto los coeficientes de actividad experimentales fueron convertidos a escala de fracciones molares para poder llevar a cabo el proceso de minimización por medio de la ecuación (23).

### 3.6.2. Ecuación de Wilson

Para predecir los coeficientes de actividad de los aminoácidos en solución acuosa a partir de la ecuación de Wilson (Ecuación 49) es necesario conocer los volúmenes Bondi y los parámetros de interacción  $G_{12}$  y  $G_{21}$ . Los volúmenes Bondi están reportados en la literatura<sup>50,76</sup> para cada uno de los aminoácidos y para el agua; para determinar los parámetros de interacción se minimiza por medio de Solver (Excel) la función objetivo (Ecuación 58) con los datos experimentales de coeficientes de actividad de aminoácidos.

El coeficiente de actividad obtenido por esta ecuación está en base de fracción mol  $\gamma_2^{(m)}$  y de solución ideal en el sentido de la ley de Raoult. Como los coeficientes de actividad experimentales están reportados en base molal y convención asimétrica  $\gamma_{2,m}^*$ , es necesario realizar el cambio de base para poder realizar el proceso de minimización por medio de la ecuación (9) y (23).

El coeficiente a dilución infinita  $\gamma_2^\infty$  se obtiene por extrapolación de los datos de coeficientes de actividad calculados en función de la concentración.

## 4.RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1.TIEMPOS DE EQUILIBRIO

El proceso de calibración del método isopiéstico se llevó a cabo con el fin de obtener el tiempo de equilibrio óptimo para las temperaturas de trabajo. Para 298.15 K se obtuvo 11 días de equilibrio y para 293.15 K se obtuvo un tiempo de 15 días para las soluciones de trabajo. Los tiempos de equilibrio encontrados son menores que los reportados por muchos autores<sup>63,77</sup>, debido a factores como estabilidad de temperatura, la remoción del aire de las soluciones, la cantidad y concentración óptima de solución, la agitación permanente de las celdas y de las soluciones.

El tiempo de equilibrio aumenta cuando se disminuye la temperatura y la concentración, esto es debido a que la fuerza impulsora que lleva las soluciones a alcanzar el equilibrio por el transporte de solvente a través de la fase de vapor, es pequeña a bajas molalidades pero mucho mayor a altas molalidades.

Algunos autores, han planteado que la celda isopiéstica en vidrio podría encontrar tiempos de equilibrio mayores debido a la transferencia de calor en un material diferente a los tradicionales metálicos. No obstante, se ha demostrado que factores como la agitación permanente debido a la rotación de la celda y la agitación de las soluciones han optimizado el proceso.

Otros autores han planteado la posibilidad de trabajar el método isopiéstico con o sin vacío, o en una atmósfera inerte. Sin embargo, el aire residual es un factor importante para el proceso de equilibrio debido a que si la presión parcial del aire en una solución excede a la diferencia de la presión de vapor saturado entre dos balones, no habrá transferencia de solvente hasta que el aire se difunda. De igual forma al utilizar el helio, el equilibrio no se alcanzaba debido a que debía primero difundirse el helio en las soluciones antes de alcanzar el equilibrio.

La agitación de las soluciones durante el equilibrio es otro factor importante. Si no existía esta no se alcanzaba el equilibrio termodinámico, ya que la evaporación o condensación causaba la concentración del soluto en la superficie, siendo diferente al del resto de la solución.

La cantidades óptima de solución para obtener el equilibrio entre la fase gas-líquido del solvente fue de 2g, ya que se encontró que la cantidad total de solvente por transferir de un balón a otro era menor que con 10 g. Las concentraciones óptimas de solución para obtener el equilibrio es utilizando una concentración de aproximadamente 10 % de diferencia con respecto a la concentración esperada de equilibrio.

## 4.2. COEFICIENTES DE ACTIVIDAD DE SOLUTOS DE REFERENCIA

Las molalidades isopiésticas promedio de las soluciones de NaCl y KCl, el coeficiente osmótico del NaCl calculado a partir de la correlación de Archer-Pitzer y el coeficiente osmótico de KCl calculado a partir de las condiciones de equilibrio a 298.15 K y 293.15 K se muestran en las tablas 6 y 7 del Anexo 1.

En las tablas 8 y 9 (Anexo 1) se presentan las incertidumbres absolutas para la molalidad y el coeficiente osmótico. El valor de la incertidumbre en el coeficiente osmótico varía entre  $\pm 0.0002$  y  $\pm 0.0018$  a 298.15 K y entre  $\pm 0.0001$  y  $\pm 0.0005$  a 293.15 K, lo que sugiere que la incertidumbre debida a la pesada de las soluciones de referencia y problema afecta el valor del coeficiente osmótico de la solución problema en la cuarta cifra decimal y en la concentración más baja en la tercera cifra decimal.

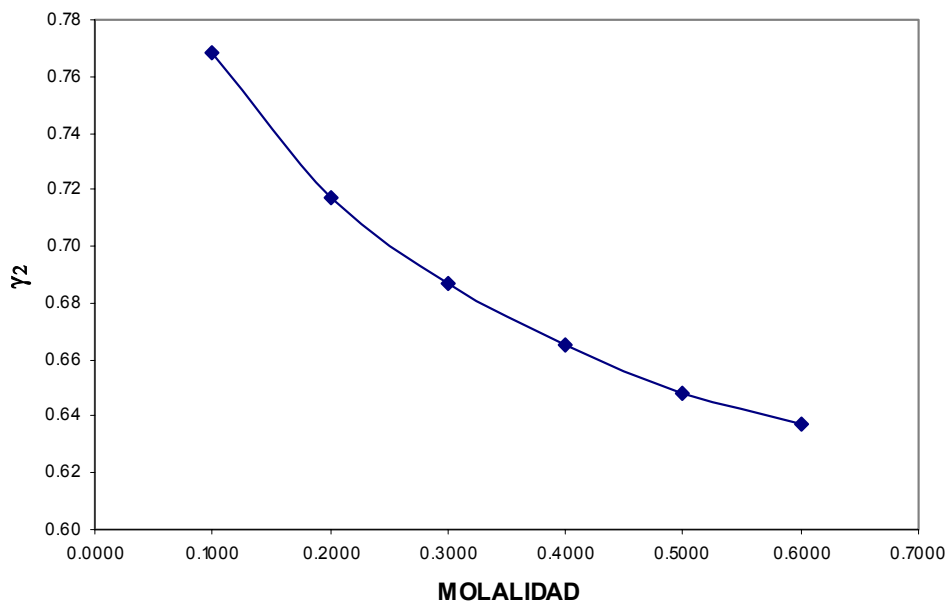
La actividad promedio del solvente para la solución de NaCl (referencia) y la solución de KCl se encuentran en las tablas 10 y 11 (Anexo 1). De acuerdo con los valores obtenidos del error relativo de las actividades se observa que se había alcanzado el equilibrio y que existe una diferencia máxima entre las actividades del solvente de 0.0002% a 298.15 K y 0.0003% a 293.15 K. Esto indica que el error máximo relativo en la actividad está en la sexta cifra decimal, y que dado que los coeficientes osmóticos se reportan con cuatro cifras significativas este error no afecta la calidad de la información obtenida.

Los coeficientes osmóticos de las soluciones de KCl encontrados a las dos temperaturas de trabajo se muestran en las figuras 24 y 25. El comportamiento es muy similar a ambas temperaturas, el valor del coeficiente osmótico se incrementa con el aumento de la temperatura y disminuye al aumentar la concentración.

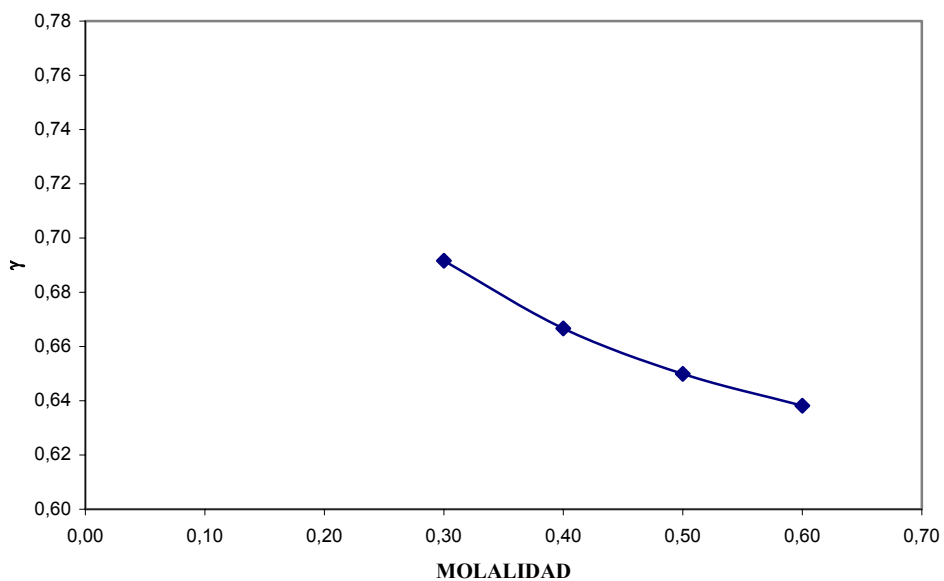
Los datos de literatura y los datos obtenidos en la calibración de coeficientes osmóticos son reportados a valores de concentración predeterminados, para ello se ajustan los datos encontrados experimentalmente y se realizan las respectivas interpolaciones. Estos coeficientes se ajustaron a ecuaciones polinomiales y para evaluar la auto-consistencia de los datos se calculó el residuo (Figura 26), obteniendo valores entre -0,0012 a 0,0009 para 298.15 K y entre -0,0004 a 0,0008 para 293.15 K. Es decir, la incertidumbre para el coeficiente osmótico ajustado se encuentra en la tercera cifra decimal para 298.15 K a bajas concentraciones y en la tercera cifra decimal para 293.15 K.

Los coeficientes de actividad del KCl se calcularon a partir de los coeficientes osmóticos y las gráficas se muestran a continuación:

**Figura 3. Coeficientes de actividad de KCl a 298.15 K**



**Figura 4. Coeficientes de actividad de KCl a 293.15 K**



En las gráficas se observa que los coeficientes de actividad del KCl presentan un comportamiento similar al de los coeficientes osmóticos (Figuras 24 y 25), disminuyendo con el aumento de la concentración pero encontrando valores muy similares a las dos temperaturas de trabajo debido a la falta de datos en la región más diluida.

Los coeficientes osmóticos y de actividad del KCl obtenidos de la calibración se compararon contra datos de literatura a las dos temperaturas estudiadas. A 298.15 K se encontraron datos de literatura de Amado (2002), Hamer y Wu (1972), Robinson y Stokes (1959), Scatchard, Hamer y Wood (1938) y Archer (1992) por el método isopiéstico y de Harned y Cook (1937) por celdas galvánicas, por lo que no se reportan los datos de coeficientes osmóticos:

**Tabla 1. Coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 298.15 K**

$m_{\text{KCl}}$	$\phi^a$	$\phi^{33,34}$	$\phi^{37}$	$\phi^{36}$	$\phi^{26}$	$\phi^{78}$
0.1	0.9270	0.9266	0.9266	0.9266	0.9264	0.9261
0.2	0.9129	0.9139	0.9132	0.9130	0.9131	0.9128
0.3	0.9063	0.9054	0.9065	0.9063	0.9063	0.9061
0.4	0.9018	0.9010	0.9025	0.9017	0.9023	0.9024
0.5	0.8985	0.8991	0.8986	0.8989	0.9000	0.9002
0.6	0.8999	0.8978	0.8976	0.8976	0.8987	0.8990

a. Este trabajo

**Tabla 2. Coeficientes de actividad de KCl a 298.15 K**

$m_{\text{KCl}}$	$\gamma^a$	$\gamma^{33,34}$	$\gamma^{37}$	$\gamma^{36}$	$\gamma^{26}$	$\gamma^{78}$	$\gamma^{79}$
0.1	0.7687	0.766	0.767	0.767	0.770	0.767	0.769
0.2	0.7171	0.715	0.716	0.716	0.719	0.715	0.719
0.3	0.6867	0.684	0.685	0.685	0.688	0.685	0.688
0.4	0.6649	0.662	0.664	0.663	0.667	0.664	NR
0.5	0.6481	0.646	0.648	0.647	0.651	0.648	0.651
0.6	0.6372	0.633	0.635	0.634	0.638	0.635	NR

a. Este trabajo NR. No reportan datos a esas concentraciones

Los datos de coeficientes osmóticos obtenidos para el KCl a 298.15 K coinciden dentro del error experimental con los datos de literatura, aunque existen algunas variaciones. Los valores de coeficientes de actividad coinciden notablemente con los datos reportados por otros autores comprobando el equilibrio alcanzado en las soluciones y la precisión del método utilizado.

A 293.15 K existen muy pocos datos reportados, se muestran datos de Amado (2002) por el método isopiéstico y Harned y Cook (1937) por celdas galvánicas:



**Tabla 3. Coeficientes osmóticos y de actividad de KCl a 293.15 K**

$m_{\text{KCl}}$	$\phi^a$	$\gamma^a$	$\phi^{33,34}$	$\gamma^{33,34}$	$\gamma^{79}$
0.3	0.9036	0.6919	0.9024	0.684	0.688
0.4	0.8957	0.6667	0.8972	0.660	NR
0.5	0.8939	0.6499	0.8951	0.644	0.651
0.6	0.8950	0.6382	0.8948	0.631	NR

a. Este trabajo NR. No reportan datos a esas concentraciones

Al igual que a 298.15 K los coeficientes de actividad se acercan bastante a los datos de literatura, demostrando el equilibrio conseguido para las soluciones de NaCl y KCl a 293.15 K.

En general, los datos obtenidos de KCl a las dos temperaturas de trabajo indican que el tiempo obtenido de 11 días para 298.15 K y 15 días para 293.15 K fue suficiente para alcanzar el equilibrio y que el procedimiento de calibración realizado con el equipo isopiéstico es consistente y apropiado para obtener coeficientes osmóticos como función de la temperatura.

#### **4.3. COEFICIENTES DE ACTIVIDAD DE AMINOACIDOS**

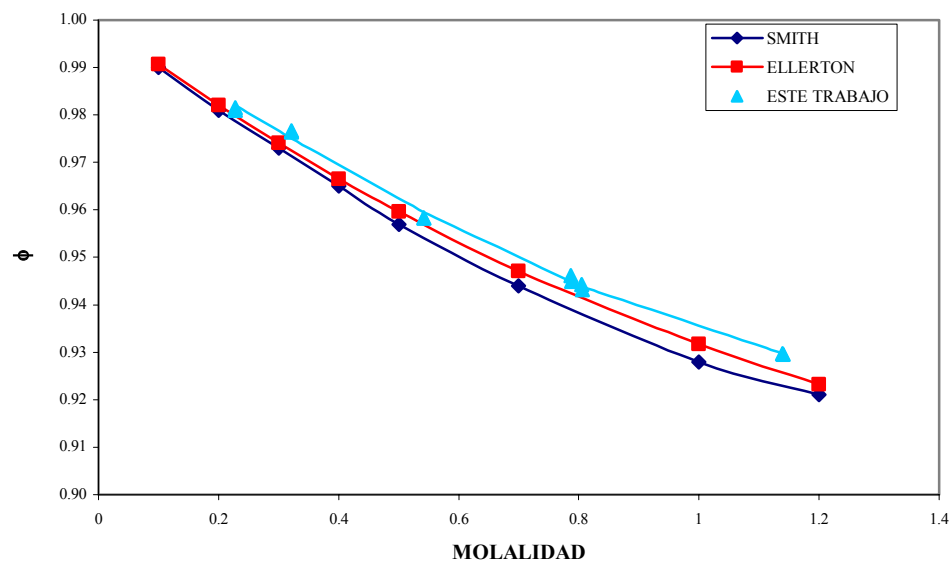
Los datos correspondientes a las molalidades isopiésticas de las soluciones de NaCl y los aminoácidos, el coeficiente osmótico del NaCl calculado a partir de la correlación de Archer-Pitzer y los coeficientes osmóticos de los aminoácidos calculados a partir de las condiciones de equilibrio a 298.15 K y 293.15 K se muestran en las tablas 12 a 17 del Anexo 2.

Para evaluar la propagación del error en la pesada sobre el valor final del coeficiente osmótico, se determinaron las incertidumbres absolutas para la molalidad y el coeficiente osmótico y se presentan en las tablas 18-23 (Anexo 2). El valor de la incertidumbre en la pesada de todas las soluciones tiene un valor máximo de 0.0002 y el valor de la incertidumbre en el coeficiente osmótico tiene un valor máximo para todas las soluciones de 0.0006 a 298.15 K y de 0.0004 a 293.15 K, lo que sugiere que la incertidumbre en la molalidad de todas las soluciones afecta el valor del coeficiente osmótico de los aminoácidos en la cuarta cifra decimal.

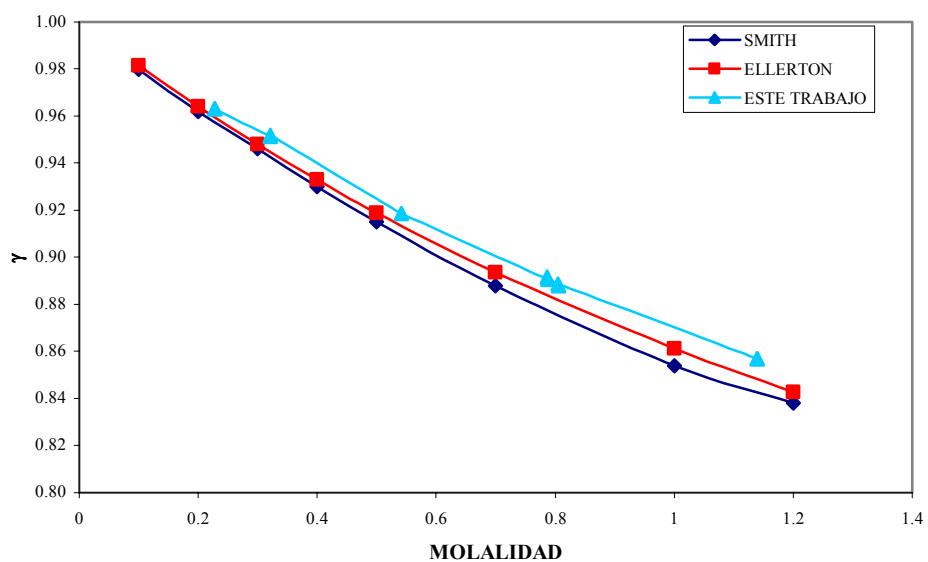
Para evaluar si se alcanzó el equilibrio, se comparó la actividad promedio del solvente para la solución de NaCl (referencia) y el promedio de la actividad del solvente de todas las soluciones de aminoácidos, los datos correspondientes se encuentran en las tablas 24 a 29. De igual forma que con el KCl las soluciones de aminoácidos presentan una diferencia máxima de las actividades del solvente con respecto a las soluciones de NaCl de 0.0018 % a 298.15 K y 0.0006 % a 293.15 K, por lo que este error no afectaría los coeficientes osmóticos obtenidos.

Los coeficientes osmóticos y de actividad de glicina en función de la concentración obtenidos en este trabajo y los datos de literatura de Smith y Smith (1937) y Ellerton et. al. (1964) a 298.15 K se muestran en las Figuras 5 y 6. Se observa que los coeficientes osmóticos y de actividad de la glicina disminuyen al aumentar la concentración, presentando una desviación negativa al comportamiento de una disolución diluida ideal. Además, los datos encontrados en este trabajo poseen un comportamiento similar al mostrado en los trabajos reportados, pero difieren un poco de los datos de Ellerton et. al.<sup>64</sup>. y más aún de los datos de Smith et. al.<sup>61</sup>; hallando diferencias significativas debido a los ajustes utilizados para representar el comportamiento del coeficiente osmótico en función de la molalidad. Para la glicina, la ecuación ajustada en este trabajo es de tipo polinomial y los residuos obtenidos con respecto al coeficiente osmótico experimental están entre -0.0017 y 0.0011 (Figura 27). Al comparar los datos de coeficientes osmóticos de Smith et. al.<sup>61</sup> y Ellerton et. al.<sup>64</sup> se observa una diferencia debido a que la ecuación ajustada por ellos posee residuos entre -0.0095 y 0.0072 para Smith et. al.<sup>61</sup> y entre -0.0037 y 0.0080 para Ellerton et. al.<sup>64</sup>, lo que explica la incertidumbre en la tercera cifra decimal (Figura 33). Los valores encontrados para coeficientes de actividad de glicina se acercan más a los valores reportados que los coeficientes osmóticos.

**Figura 5. Coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 298.15 K**

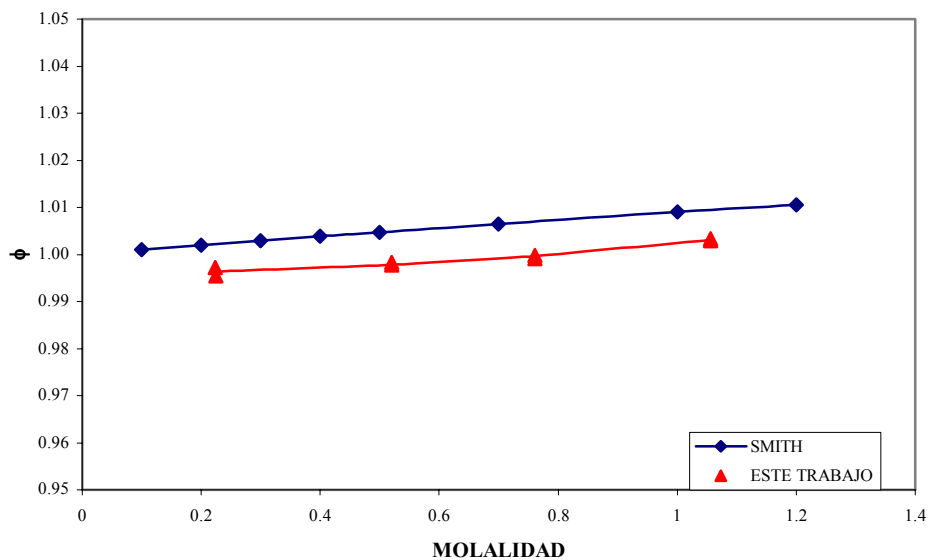


**Figura 6. Coeficientes de actividad de glicina a 298.15 K**

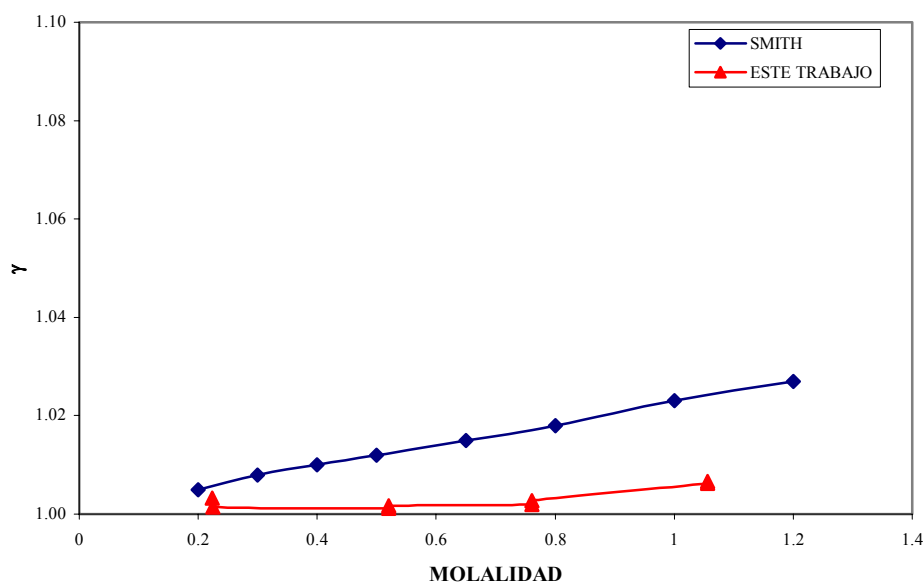


Para la DL- $\alpha$  alanina se encontraron los siguientes gráficos de coeficientes osmóticos y de actividad en función de la concentración a 298.15 K:

**Figura 7. Coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$  alanina a 298.15 K**



**Figura 8. Coeficientes de actividad de DL- $\alpha$  alanina a 298.15 K**



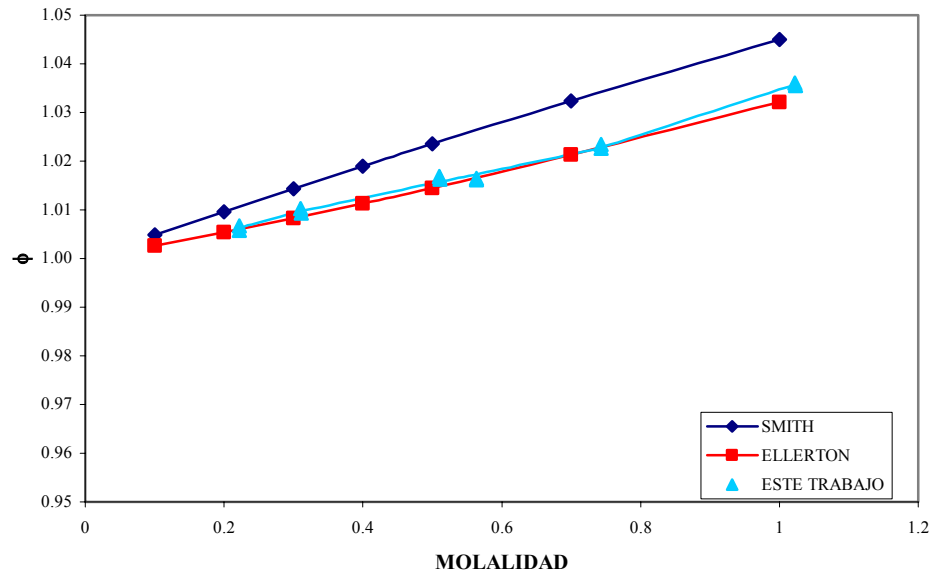
Para la DL- $\alpha$  alanina se observa un comportamiento diferente al de la glicina, ya que los coeficientes osmóticos y de actividad aumentan con la concentración. La tendencia muestra los coeficientes de actividad mayores que uno y una desviación positiva con respecto al comportamiento ideal.

Al comparar los coeficientes osmóticos obtenidos con los datos de Smith et. al.<sup>63</sup> (Figura 8), se encontraron grandes diferencias en los valores reportados. Por lo tanto, se realizó el cálculo con los valores experimentales reportados por ellos y se trabajó con el ajuste de segundo orden propuesto, encontrando que dicho ajuste no representa el comportamiento de los valores experimentales (Figura 34) y que se obtienen residuos entre -0.011 a 0.001 (Figura 35) para los coeficientes osmóticos. Estos residuos tan altos se deben a que se realizaron dos ajustes de los datos experimentales para determinar los datos de coeficientes osmóticos reportados y por lo tanto la propagación del error es alta. No se encuentran más datos de coeficientes osmóticos y de actividad para poder comparar los resultados obtenidos en este trabajo.

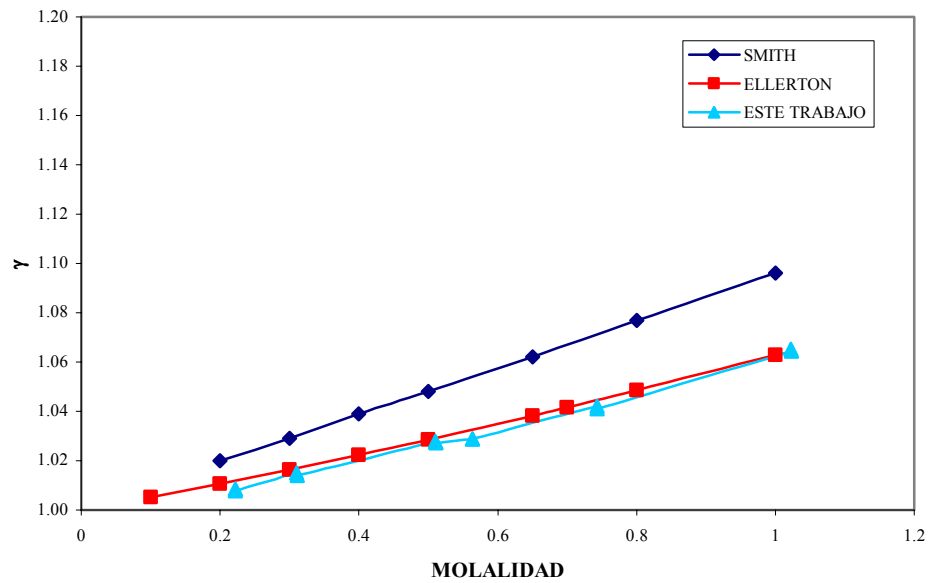
Con la ecuación ajustada en este trabajo se obtuvieron residuos entre -0.0008 y 0.0010 (Figura 28), encontrando incertidumbre en la cuarta cifra decimal del coeficiente osmótico y de actividad. La dispersión en los datos de coeficientes osmóticos reportados por Smith et. al.<sup>63</sup> es muy superior a la encontrada en este trabajo.

Los coeficientes osmóticos y de actividad en función de la concentración a 298.15 K para el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico son:

**Figura 9. Coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 298.15K**



**Figura 10. Coeficientes de actividad de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 298.15 K**

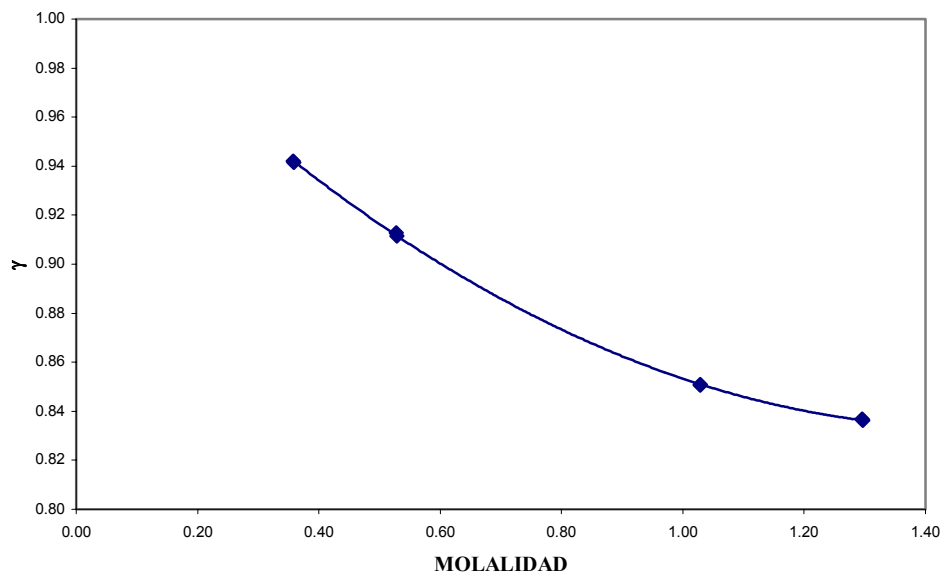


Para el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico se encuentra que el coeficiente osmótico y de actividad aumenta en función de la concentración, al igual que la DL- $\alpha$  alanina pero con una pendiente mayor.

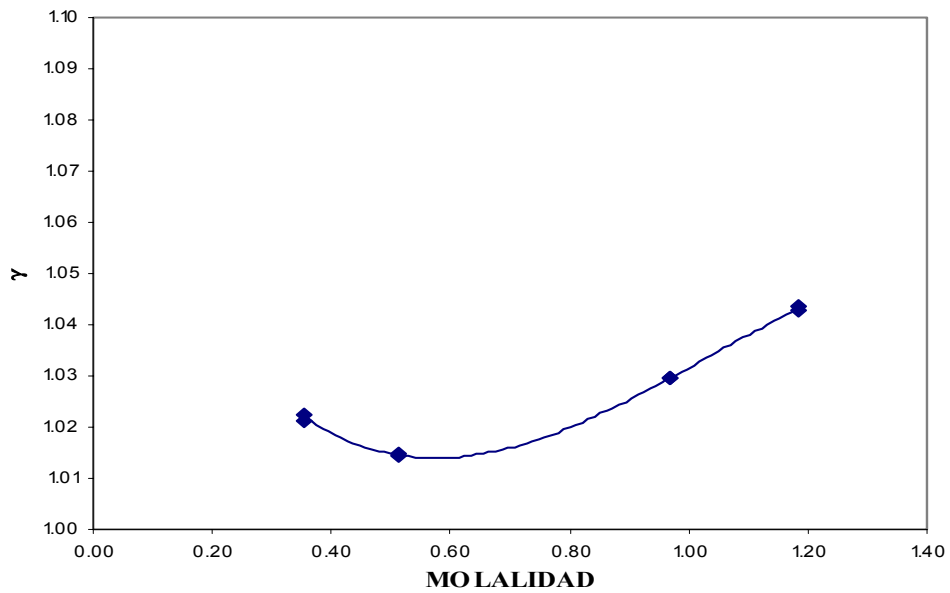
El ajuste encontrado representa bien el comportamiento del coeficiente osmótico en función de la concentración, presentando residuos entre -0.0015 a 0.0011 (Figura 29). Al comparar los datos de coeficientes osmóticos con datos reportados por Smith et. al.<sup>63</sup> y Ellerton et. al.<sup>64</sup> se observa un comportamiento muy similar, los residuos encontrados con respecto al coeficiente osmótico para los trabajos de Smith et. al.<sup>63</sup> están entre -0.002 a 0.003, y para Ellerton et. al.<sup>64</sup> entre -0.004 a 0.002 (Figura 36). Los valores de coeficientes de actividad encontrados presentan similitud con los datos reportados en la literatura.

Para todos los aminoácidos se presentan las siguientes gráficas de coeficientes de actividad a 293.15 K a partir de los datos de coeficientes osmóticos (Figura 30-32).

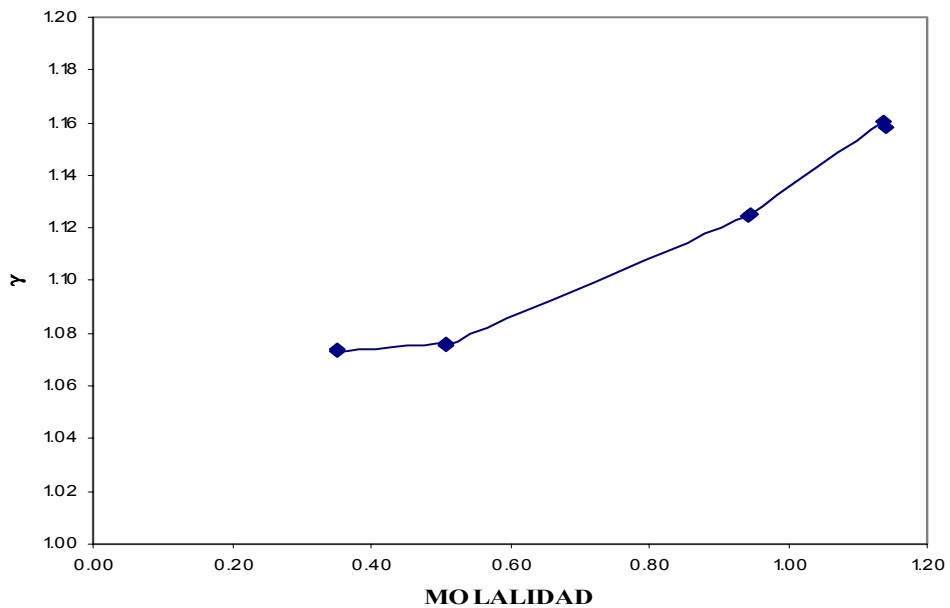
**Figura 11. Coeficientes de actividad de glicina a 293.15 K**



**Figura 12. Coeficientes de actividad de DL- $\alpha$  alanina a 293.15 K**



**Figura 13. Coeficientes de actividad de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 293.15 K**



El comportamiento de los aminoácidos a 293.15 K es similar al de 298.15 K. El coeficiente osmótico y de actividad de la glicina disminuye al aumentar la concentración y al disminuir la temperatura. Para la DL- $\alpha$  alanina y ácido DL- $\alpha$  aminobutírico los coeficientes

osmóticos aumentan con la concentración y con la temperatura, pero los coeficientes de actividad aumentan con la concentración y disminuyen con la temperatura.

Este comportamiento se confirma al observar las gráficas de energía Gibbs molar de exceso (Figuras 14-16) donde se observa que las soluciones de aminoácidos se comportan más idealmente a 298.15 K que a 293.15 K. Además, se muestra una desviación negativa para la glicina y una desviación positiva para la DL- $\alpha$  alanina y ácido DL- $\alpha$  aminobutírico con respecto a una disolución diluida ideal.

Los valores de los coeficientes osmóticos y de actividad usualmente se incrementan con cada grupo metileno adicional. Las diferencias en la actividad encontradas son probablemente asociadas con diferencias en la estructura.

Como en el caso de muchos electrolitos los coeficientes de actividad de la glicina son menores que la unidad, este efecto se le atribuye al momento dipolar de la molécula. Los coeficientes de actividad de la DL- $\alpha$  alanina son mayores que la unidad y aunque los momentos dipolares son casi idénticos a los de la glicina, el volumen de la molécula es más grande y el centro del dipolo es presumiblemente más lejano, por lo que la posible explicación es la gran fuerza repulsiva debido a sus grupos no polares en solución acuosa, entrando el residuo apolar a jugar un papel importante. Este efecto es mucho más grande si la longitud de la cadena de un  $\alpha$ -aminoácido es un grupo etil, como el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico, donde se confirma el efecto de la longitud de la cadena alifática sobre la estructura del agua.

La energía Gibbs molar de exceso se calculó para cada uno de los aminoácidos y a cada temperatura de trabajo en función de la concentración, las gráficas se muestran a continuación:



Figura 14. Energía Gibbs molar de exceso para la glicina en solución acuosa

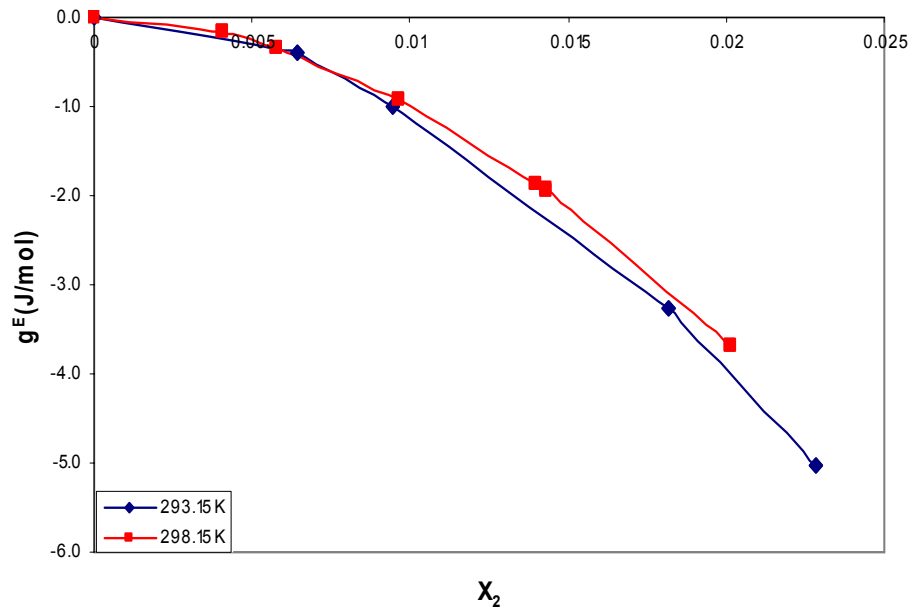
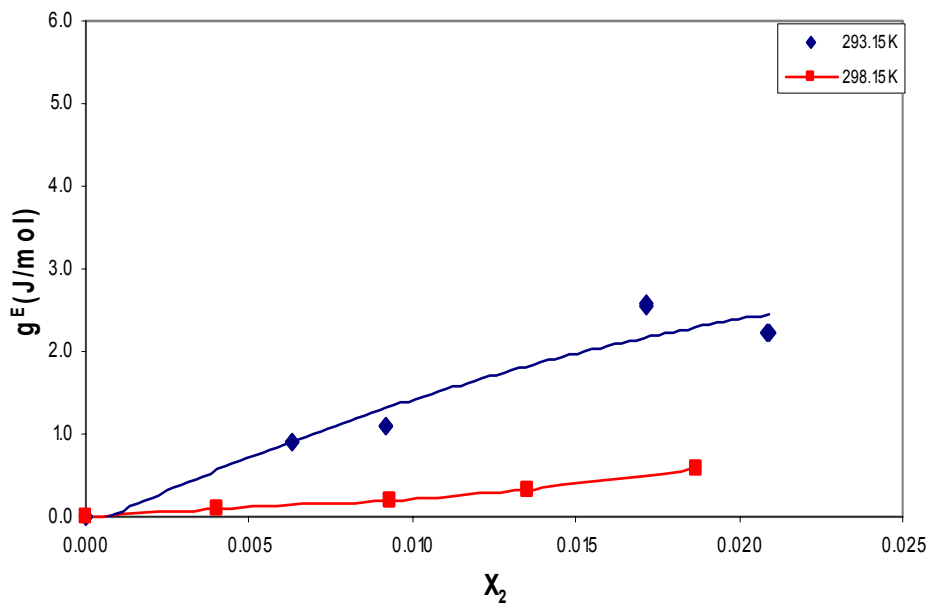
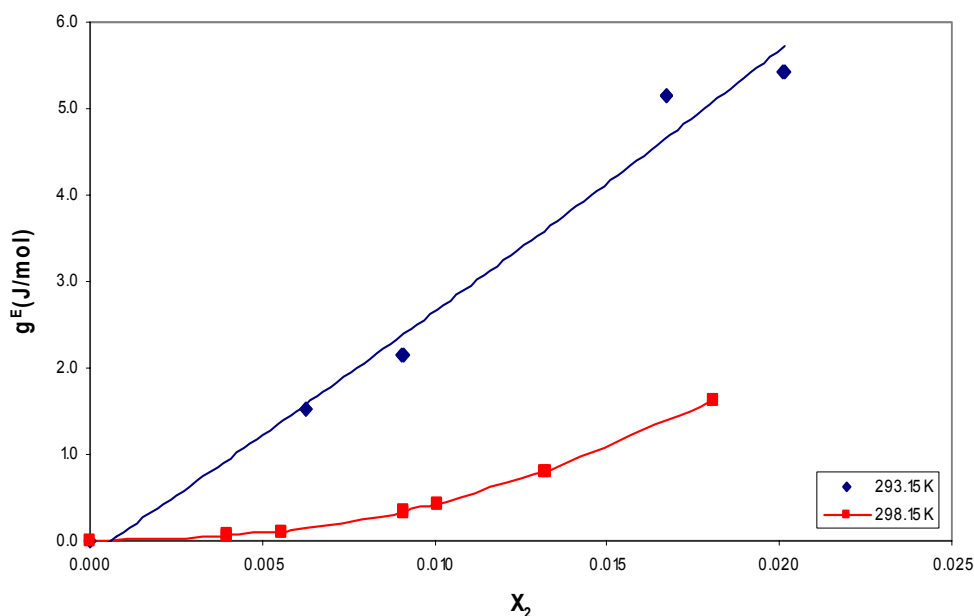


Figura 15. Energía Gibbs molar de exceso para la DL- $\alpha$  alanina en solución acuosa



**Figura 16. Energía Gibbs molar de exceso para el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico en solución acuosa**



En las gráficas de energía Gibbs molar de exceso se aprecia para la glicina valores negativos a las temperaturas trabajadas, lo que señala que el proceso de mezcla real es más espontáneo que el que ocurriría idealmente, lo cual puede ser debido a las fuertes atracciones entre el ion dipolar y el agua.

En el caso de la DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico ocurre lo contrario, la mezcla real es menos espontánea debido a la interacción desfavorable entre la cadena apolar del aminoácido y el agua. Este efecto se hace más notorio al aumentar la longitud de la cadena apolar.

Lo anterior también se manifiesta en el efecto de la temperatura sobre la energía Gibbs molar de exceso para el caso de la DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico, donde la energía Gibbs de exceso disminuye al aumentar la temperatura, pues las interacciones térmicas al ser mayores entran a compensar las interacciones desfavorables y el comportamiento real se hace más cercano al ideal.

En este orden de ideas, se puede proponer que, la glicina presenta un carácter prácticamente hidrofílico, y aunque el coeficiente de actividad no se ha planteado como criterio de formación de estructura o de hidrofobicidad, el comportamiento observado es coincidente con los encontrados al estudiar otras propiedades.

Es de vital importancia analizar que este efecto se observa tanto en el coeficiente osmótico como de actividad y en la energía Gibbs molar de exceso a las dos temperaturas de trabajo. Esto permite afirmar que el coeficiente de actividad es una propiedad de las soluciones

acuosa sensible a la hidrofobicidad del soluto. Asimismo, puede entonces decirse que la glicina manifiesta en realidad un carácter mucho menos hidrofóbico, o mejor, mucho más hidrofílico que sus compañeros de serie. En consecuencia los solutos estudiados pueden ser ordenados de acuerdo con su carácter hidrofílico así:

Glicina > DL- $\alpha$  alanina > ácido DL- $\alpha$  aminobutírico

De acuerdo con lo que se observa en este trabajo, es posible que el cambio en la pendiente  $\partial\gamma/\partial m$  pueda ser usado como criterio para establecer el efecto del soluto sobre la estructura del agua, pero para confirmarlo se requiere estudios adicionales con más solutos.

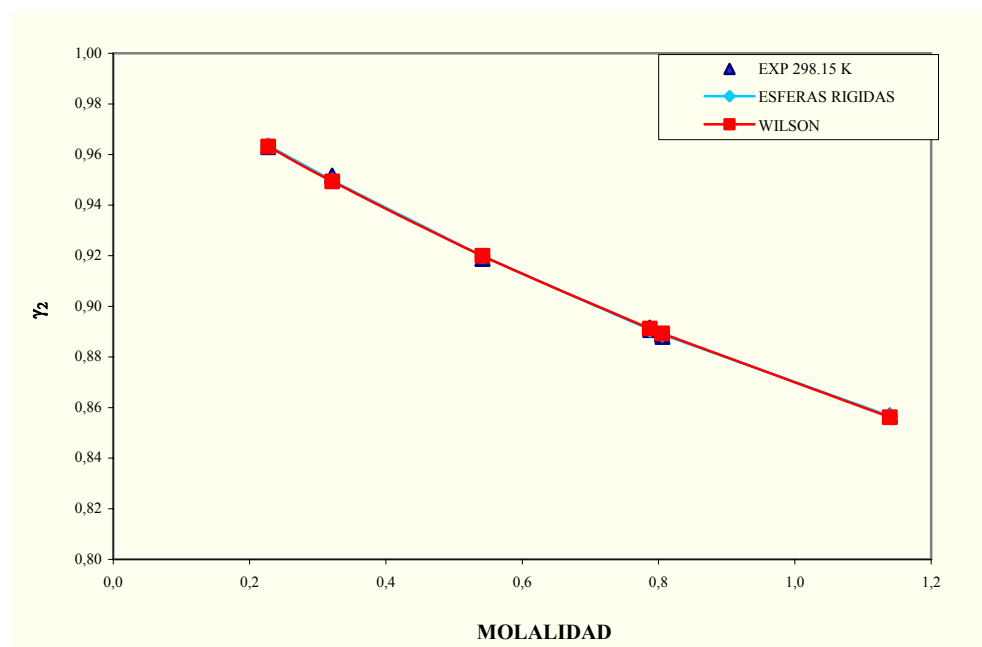
#### 4.4. MODELOS DE COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

Para aplicar el modelo de esferas rígidas perturbadas a los sistemas de aminoácidos en solución acuosa, es necesario conocer los momentos dipolares de los aminoácidos. Los valores de estos se calcularon por medio del software de modelamiento molecular Hyperchem, los datos se encuentran en la tabla 30 del Anexo 3.

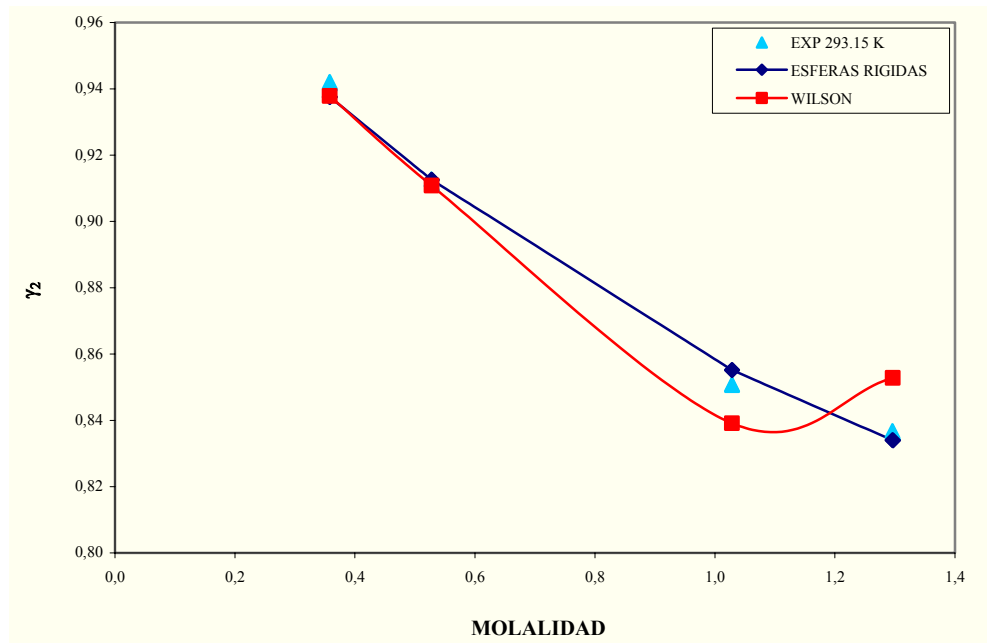
De igual forma para utilizar la ecuación de Wilson es necesario conocer los volúmenes Bondi, los cuales se reportan en la literatura y se muestran en la tabla 31.

Las figuras 17 y 18 muestran los resultados de la correlación de los coeficientes de actividad de la glicina por ambos modelos, como función de la molalidad:

**Figura 17. Coeficientes de actividad de glicina a 298.15 K**

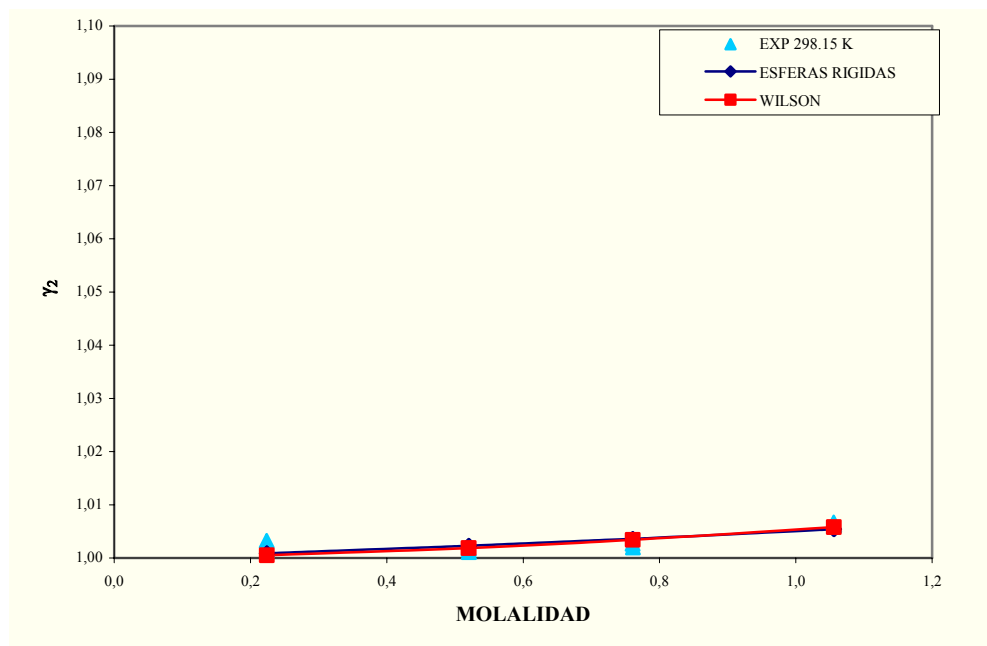


**Figura 18. Coeficientes de actividad de glicina a 293.15 K**

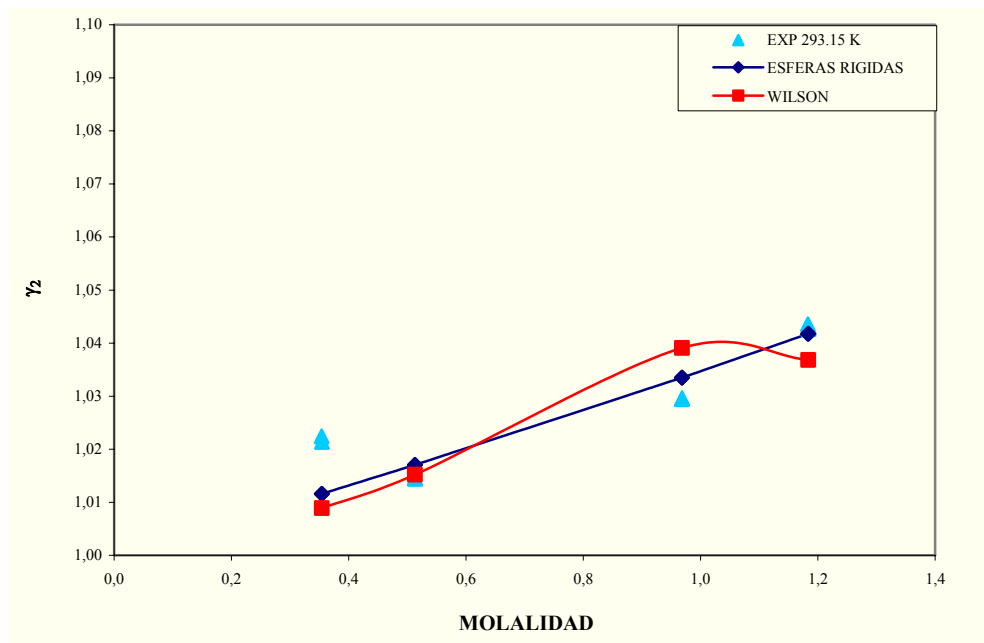


Para la DL- $\alpha$  alanina las gráficas 19 y 20 muestran la comparación de los modelos ajustados con los datos experimentales:

**Figura 19. Coeficientes de actividad de DL- $\alpha$  alanina a 298.15 K**

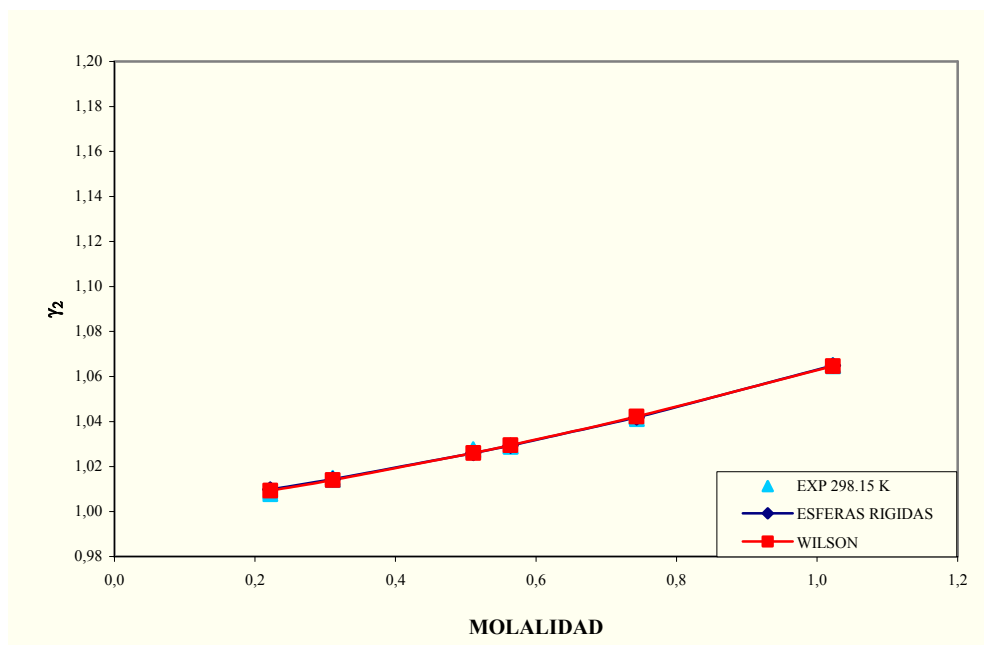


**Figura 20. Coeficientes de actividad de DL- $\alpha$  alanina a 293.15 K**

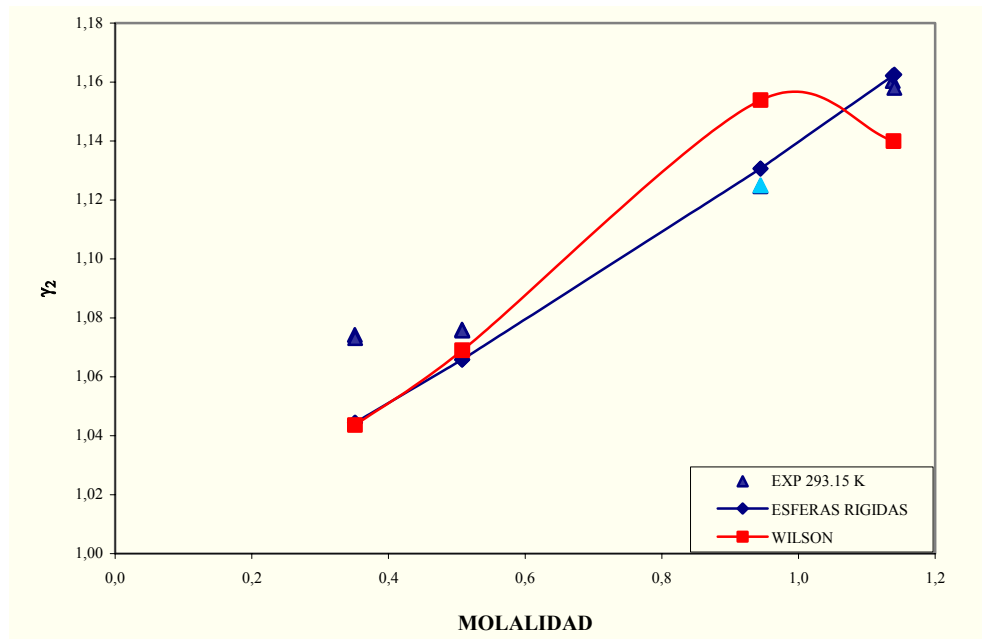


Para el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico la gráfica de coeficientes de actividad estimados por los dos modelos se muestra a continuación:

**Figura 21. Coeficientes de actividad de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 298.15 K**



**Figura 22. Coeficientes de actividad de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 293.15 K**



Los valores de los parámetros ajustados para la ecuación de esferas rígidas perturbadas, el parámetro de tamaño,  $\sigma$ , y la profundidad del pozo del potencial,  $\epsilon$ ; y los parámetros de interacción  $\Lambda_{12}$  y  $\Lambda_{21}$  para la ecuación de Wilson se muestran a continuación para cada aminoácido:

**Tabla 4. Parámetros ajustados para el modelo de esferas rígidas perturbadas y la ecuación de Wilson**

AMINOACIDO	MODELO	ESFERAS RIGIDAS			WILSON		
		$\sigma \cdot 10^{10}$	$\epsilon/k$ (K)	rmsd (%)	$\Lambda_{12}$	$\Lambda_{21}$	rmsd (%)
Glicina	298.15 K	5,14	157,94	0,10	3,34	0,10	0,12
	293.15 K	5,41	155,95	0,38	0,87	0,18	1,21
DL- $\alpha$ alanina	298.15 K	3,08	16,93	0,13	3,60	0,16	0,11
	293.15 K	3,38	18,97	0,56	5,15	0,08	0,84
Ácido DL- $\alpha$ aminobutírico	298.15 K	4,88	86,08	0,10	5,36	0,07	0,09
	293.15 K	4,31	26,90	1,46	6,72	0,05	2,10

Como se puede ver en las figuras, los modelos pueden representar bien el comportamiento de los coeficientes de actividad de aminoácidos en solución acuosa como función de la molalidad, encontrando pequeñas diferencias entre los valores experimentales y estimados a 298.15 K, y un poco más altas para 293.15 K. Se observa que los valores de los parámetros son sensibles a la temperatura y que el modelo de esferas rígidas perturbadas puede ser aplicable a otras temperaturas. La Ecuación de Wilson no representa bien el

comportamiento a 293.15 K debido posiblemente a los pocos datos experimentales y a la sensibilidad del modelo a los datos experimentales.

Los parámetros ajustables tanto de la Ecuación de Wilson como del modelo de esferas rígidas perturbadas difieren bastante entre los aminoácidos y entre temperaturas. Sin embargo, los datos encontrados a 293.15 K son muy pocos para poder dar una explicación válida a la diferencia de los parámetros con la temperatura.

A 298.15 K podemos observar que tanto el parámetro de tamaño como la profundidad del pozo del potencial son menores para la DL- $\alpha$  alanina y ácido DL- $\alpha$  aminobutírico y más altos para la glicina, y que las diferencias entre la glicina y los otros dos aminoácidos estudiados son grandes. Esto es debido al carácter hidrofílico de la glicina y a las interacciones entre la cadena apolar del aminoácido y el agua para el caso de la DL- $\alpha$  alanina y ácido DL- $\alpha$  aminobutírico.

En el caso de la Ecuación de Wilson las diferencias en los parámetros de interacción son posiblemente debidas a los volúmenes de las moléculas involucradas y la interacción de los grupos CH<sub>2</sub> con el agua, ya que los volúmenes de Bondi utilizados son la suma de los volúmenes de los subgrupos encontrados en cada aminoácido, por lo que la única diferencia entre ellos es la cantidad de grupos CH<sub>2</sub> y los responsables de la interacción con el agua. Sin embargo, el estudio realizado debe ampliarse para poder encontrar una conclusión válida de los parámetros ajustables en cada modelo utilizado.

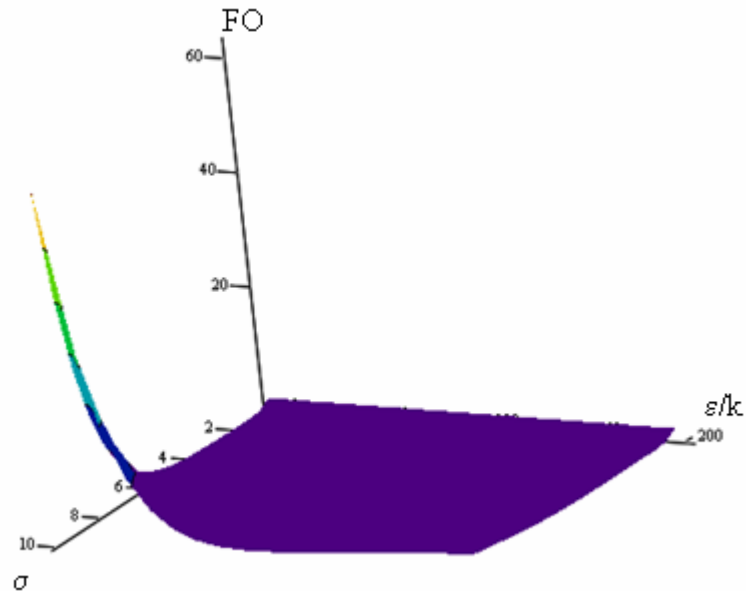
Los valores de la desviación estándar obtenidos para la Ecuación de Wilson y el modelo de esferas rígidas perturbadas se compararon con los obtenidos por otros modelos que utilizaron datos experimentales de Smith et. al. y Ellerton et. al., como los reportados por Chen et. al. (1989), Gupta y Heidemann (1990), Pinho et. al. (1994), Khoshkbarchi y Vera (1996 y 1998) y Mortazavi-Manesh et. al. (2003) y se encuentran disponibles en la tabla 28 del anexo 3. De esta comparación se observa, que la ecuación de Wilson y los modelos de esferas rígidas perturbadas aplicados a aminoácidos presentan mejores correlaciones que otros modelos como el UNQUAC y UNIFAC.

El modelo de esferas rígidas perturbadas presenta buena correlación de los datos experimentales con pocos parámetros ajustables, debido a que este modelo tiene en cuenta el alto momento dipolar de los aminoácidos en las interacciones dipolo-dipolo que afectan significativamente el potencial químico. La ecuación de Wilson representa las interacciones físicas entre el aminoácido y el agua, teniendo en cuenta los volúmenes Bondi y las energías de interacción características.

No obstante, el modelo de esferas rígidas perturbadas estudiado en este trabajo presenta problemas con el proceso de minimización. Durante el proceso de optimización, la función objetivo minimizada presentaba muchos parámetros ajustados donde el modelo de esferas estimaba correctamente los valores experimentales. Al graficar la función objetivo contra

el parámetro de tamaño,  $\sigma$ , y la profundidad del pozo de potencial ( $\epsilon$ ) se encuentra un plano como se observa en la siguiente gráfica:

**Figura 23. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para glicina**



Al reducir las escalas y tratar de encontrar el verdadero mínimo (figuras 37 y 38), se observa que existe un rango muy amplio de  $\epsilon/k$  y  $\sigma$  donde el modelo propuesto presenta valores muy bajos de la función objetivo. En este trabajo se reportan los valores positivos de los parámetros ajustados donde la función objetivo presenta el mínimo valor.

El mismo problema se presenta con todos los aminoácidos estudiados (figuras 39 y 40), por lo que el problema podría radicar en que el modelo es muy sensible a la incertidumbre experimental de los coeficientes de actividad, y por lo tanto deben realizarse estudios adicionales.

Los coeficientes de actividad en función de la concentración proporcionan datos de coeficientes de actividad a dilución infinita. Los datos experimentales de coeficientes de actividad están dados por el sistema asimétrico, por lo que en todos los casos el coeficiente de actividad a dilución infinita tiende a uno. Por lo tanto, los coeficientes de actividad a dilución infinita deben obtenerse según el sistema simétrico, sin embargo, los datos experimentales no se pueden pasar del sistema asimétrico al simétrico debido a que el soluto no puede existir como líquido puro a la temperatura de la disolución.



Como la ecuación de Wilson presentó muy buena concordancia de los valores de coeficientes de actividad calculados y experimentales, y sabiendo que trabaja con el sistema simétrico se pudieron encontrar los coeficientes de actividad a dilución infinita para cada aminoácido y a cada temperatura. Los valores se encuentran en la siguiente tabla:

**Tabla 5. Coeficientes de actividad a dilución infinita**

AMINOACIDO	$\gamma^\infty$	
	298.15 K	293.15 K
Glicina	1.0019	6.2739
DL- $\alpha$ alanina	0.4797	0.2027
Ácido DL- $\alpha$ aminobutírico	0.1718	0.0654

Se observa que los coeficientes de actividad a dilución infinita disminuyen con la temperatura. Para analizar el efecto de grupos apolares, la tabla muestra que el coeficiente de actividad a dilución infinita disminuye con el aumento del número de grupos  $-\text{CH}_2-$  en forma lineal para 298.15 K con pendiente negativa y que la pendiente se hace mucho menor para 293.15 K, por lo cual se podría pensar que el aporte de cada grupo  $-\text{CH}_2-$  al  $\gamma^\infty$  es aditivo. Sin embargo deben realizarse otros estudios que permitan verificar este comportamiento con aminoácidos de cadena apolar más larga y a otras temperaturas.

## 5.CONCLUSIONES

- El equipo isopiéstico construido con base en el equipo propuesto por Amado<sup>33</sup>, permitió obtener datos de coeficientes osmóticos con excelente reproducibilidad y precisión a las dos temperaturas de trabajo, con incertidumbre en la cuarta cifra decimal. Se logró obtener tiempos de equilibrio de 11 y 15 días para 298.15 K y 293.15 K, inferiores a los reportados por la mayoría de los investigadores, debido a modificaciones en el diseño inicial y a factores como estabilidad de temperatura, la remoción del aire de las soluciones, la cantidad y concentración óptima de solución, la agitación permanente de las celdas y de las soluciones.
- El procedimiento de calibración realizado con el equipo isopiéstico para alcanzar el equilibrio es consistente y apropiado para obtener coeficientes osmóticos como función de la temperatura.
- La glicina presenta un comportamiento de los coeficientes de actividad en función de la concentración diferente al de la DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico. La tendencia del coeficiente de actividad de la glicina al disminuir con la concentración se asemeja a la de los electrolitos, lo que es consecuente con la estructura de este aminoácido. El comportamiento diferente de la DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico se le atribuye al efecto de la cadena apolar sobre la estructura del agua, el cual es más marcado a medida que aumenta la longitud como se aprecia en la mayor pendiente positiva de  $\partial\gamma/\partial m$  para el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico.
- La energía Gibbs molar de exceso para la glicina señala que el proceso de mezcla real es más espontáneo que el que ocurriría idealmente debido posiblemente a las fuertes atracciones entre el ion dipolar y el agua. En el caso de la DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico, la mezcla real es menos espontánea debido a la interacción desfavorable entre la cadena apolar del aminoácido y el agua.
- Al aumentar la temperatura disminuye la energía Gibbs molar de exceso para el caso de la glicina, DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico, acercándose al comportamiento ideal debido a que las interacciones térmicas compensan las interacciones desfavorables entre la cadena apolar del aminoácido y el agua.
- El coeficiente de actividad es sensible a la hidrofobicidad del soluto en solución acuosa y se puede plantear la pendiente  $\partial\gamma/\partial m$  como criterio de hidrofobicidad. De acuerdo a esto, la glicina presenta un carácter hidrofílico mayor al de la DL- $\alpha$  alanina y el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico.

- El modelo de esferas rígidas perturbadas y la ecuación de Wilson presentan buena correlación de los datos experimentales con pocos parámetros ajustables sobre un amplio rango de concentraciones y a las dos temperaturas de trabajo. El buen ajuste de los datos experimentales a estos modelos se debe a la contribución de las interacciones dipolo-dipolo de los aminoácidos y las interacciones físicas aminoácido-agua al potencial químico.
- Los valores de los parámetros ajustables de tamaño,  $\sigma$ , y la profundidad del pozo de potencial ( $\epsilon$ ) para el modelo de esferas rígidas perturbadas, y  $\epsilon$ ; y los parámetros de interacción  $\Lambda_{12}$  y  $\Lambda_{21}$  para la ecuación de Wilson son sensibles a la temperatura.
- El modelo de esferas rígidas perturbadas para aminoácidos en solución acuosa muestra problemas al encontrar los parámetros ajustables de tamaño y la profundidad del pozo de potencial por medio de la minimización de una función de los coeficientes de actividad experimentales y calculados, posiblemente por ser muy sensible a la incertidumbre experimental.
- El coeficiente de actividad a dilución infinita puede mostrar aditividad de grupos  $\text{CH}_2$  para el caso de aminoácidos de cadena lineal, sin embargo faltan estudios con aminoácidos de longitud de cadena mayor.

## 6.RECOMENDACIONES

- Estudiar los coeficientes osmóticos y de actividad de los aminoácidos en un rango de temperaturas menor al trabajado para poder comparar los datos con los del presente trabajo, y obtener información adicional para estudiar mejor el efecto del soluto sobre la estructura del agua.
- Verificar los coeficientes de actividad de aminoácidos con longitud de cadena apolar más grande, de tal forma que se pueda observar una contribución del grupo CH<sub>2</sub> al coeficiente de actividad a dilución infinita.
- Determinar los coeficientes de actividad de otros solutos para ver si se puede plantear la pendiente  $\partial\gamma/\partial m$  como criterio de hidrofobicidad. Esto se puede empezar a realizar con solutos donde sea conocido el carácter hidrofóbico y los coeficientes de actividad ya estén reportados en la literatura.
- Estudiar el efecto del incremento de la distancia dipolar entre los grupos funcionales de los aminoácidos sobre los valores de los coeficientes de actividad y la consecuencia sobre la estructura del agua.
- Realizar un estudio sistemático del modelo de esferas rígidas perturbadas planteado en este trabajo y con otras ecuaciones similares, con el fin de verificar si el problema de minimización es por la sensibilidad de la ecuación a la incertidumbre experimental.
- Estudiar las propiedades calorimétricas de las soluciones con el fin de tener un mayor entendimiento del efecto de los solutos sobre la estructura del agua.
- Ampliar el rango de concentración para confirmar las tendencias observadas de coeficientes osmóticos y de actividad para los distintos sistemas estudiados.
- Estudiar modelos de predicción de coeficientes de actividad de aminoácidos aplicables en un rango amplio de temperatura.
- Aplicar los conceptos de hidrofobicidad de aminoácidos en agua a partir de datos de coeficientes de actividad y los modelos de contribución de grupos al estudio de separación de proteínas y al uso de enzimas.

## ANEXO 1. CALIBRACION METODO ISOPIESTICO

**Tabla 6 . Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y KCl a 298.15 K**

Ensayo No.	$m_{NaCl}$	$\phi_{NaCl}$	$m_{KCl}$	$\phi_{KCl}$
1	0,0521	0,9427	0,0523	0,9391
	0,0521	0,9427	0,0523	0,9391
2	0,1201	0,9295	0,1210	0,9222
	0,1201	0,9295	0,1208	0,9237
3	0,1696	0,9252	0,1715	0,9149
	0,1696	0,9252	0,1712	0,9165
4	0,2818	0,9210	0,2863	0,9066
	0,2818	0,9210	0,2858	0,9082
5	0,4128	0,9207	0,4221	0,9005
	0,4128	0,9207	0,4230	0,8986
6	0,5736	0,9233	0,5890	0,8992
	0,5736	0,9233	0,5885	0,9000

**Tabla 7. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y KCl a 293.15 K**

Ensayo No.	$m_{NaCl}$	$\phi_{NaCl}$	$m_{KCl}$	$\phi_{KCl}$
1	0,1853	0,9241	0,1836	0,9327
	0,1853	0,9241	0,1832	0,9346
2	0,2706	0,9208	0,2747	0,9068
	0,2706	0,9208	0,2745	0,9076
3	0,5139	0,9208	0,5290	0,8944
	0,5139	0,9208	0,5292	0,8941
4	0,6471	0,9234	0,6668	0,8962
	0,6471	0,9234	0,6661	0,8970

**Tabla 8. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 298.15 K**

Ensayo No.	$m_{NaCl}$	$\phi_{NaCl}$	$m_{KCl}$	$\phi_{KCl}$
1	$0,0521 \pm 0,0002$	0,9427	$0,0523 \pm 0,0001$	$0,9391 \pm 0,0018$
	$0,0521 \pm 0,0002$	0,9427	$0,0523 \pm 0,0001$	$0,9391 \pm 0,0018$
2	$0,1201 \pm 0,0002$	0,9295	$0,1210 \pm 0,0001$	$0,9222 \pm 0,0008$
	$0,1201 \pm 0,0002$	0,9295	$0,1208 \pm 0,0001$	$0,9237 \pm 0,0008$
3	$0,1696 \pm 0,0002$	0,9252	$0,1715 \pm 0,0001$	$0,9149 \pm 0,0005$
	$0,1696 \pm 0,0002$	0,9252	$0,1712 \pm 0,0001$	$0,9165 \pm 0,0005$
4	$0,2818 \pm 0,0002$	0,9210	$0,2863 \pm 0,0001$	$0,9066 \pm 0,0003$
	$0,2818 \pm 0,0002$	0,9210	$0,2858 \pm 0,0001$	$0,9082 \pm 0,0003$

5	0,4128±0,0002	0,9207	0,4221±0,0001	0,9005±0,0002
	0,4128±0,0002	0,9207	0,4230±0,0001	0,8986±0,0002
6	0,5736±0,0001	0,9233	0,5890±0,0001	0,8992±0,0002
	0,5736±0,0001	0,9233	0,5885±0,0001	0,9000±0,0002

**Tabla 9. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos a 293.15 K**

Ensayo No.	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{KCl}}$	$\phi_{\text{KCl}}$
1	0,1853±0,0002	0,9241	0,1836±0,0001	0,9327±0,0005
	0,1853±0,0002	0,9241	0,1832±0,0001	0,9346±0,0005
2	0,2706±0,0002	0,9208	0,2747±0,0001	0,9068±0,0003
	0,2706±0,0002	0,9208	0,2745±0,0001	0,9076±0,0003
3	0,5139±0,0001	0,9208	0,5290±0,0001	0,8944±0,0002
	0,5139±0,0001	0,9208	0,5292±0,0001	0,8941±0,0002
4	0,6471±0,0001	0,9234	0,6668±0,0001	0,8962±0,0001
	0,6471±0,0001	0,9234	0,6661±0,0001	0,8970±0,0001

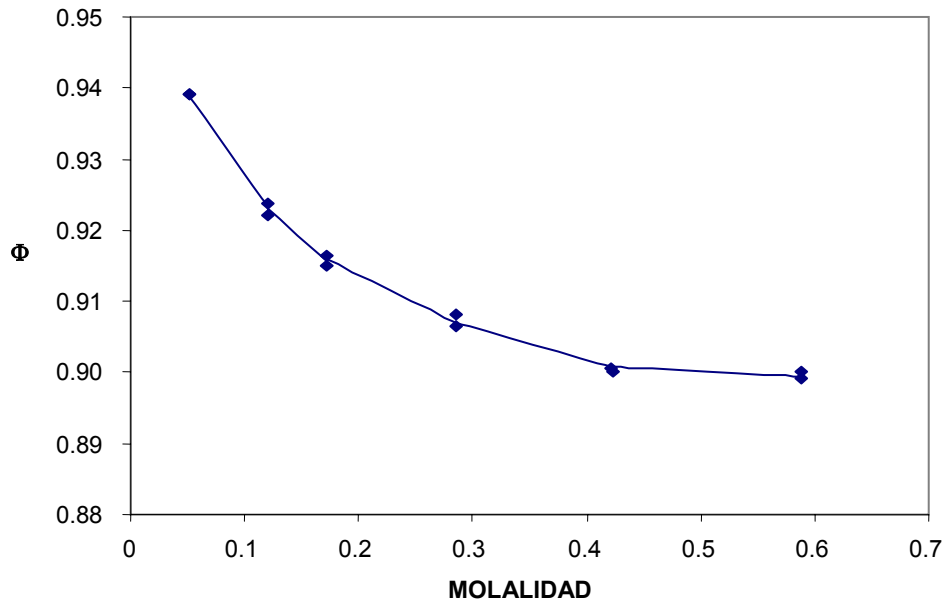
**Tabla 10. Actividades del solvente en soluciones de NaCl y KCl a 298.15 K**

Ensayo No.	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$a_r$	$m_{\text{KCl}}$	$\phi_{\text{KCl}}$	$a_1$	$(a_r - a_1)\%$
1	0,0521	0,9427	0,998232	0,0523	0,9391	0,998232	0,0000
	0,0521	0,9427	0,998232	0,0523	0,9391	0,998232	0,0000
2	0,1201	0,9295	0,995986	0,1210	0,9222	0,995988	-0,0002
	0,1201	0,9295	0,995986	0,1208	0,9237	0,995988	-0,0002
3	0,1696	0,9252	0,994362	0,1715	0,9149	0,994363	-0,0001
	0,1696	0,9252	0,994362	0,1712	0,9165	0,994363	-0,0001
4	0,2818	0,9210	0,990692	0,2863	0,9066	0,990692	0,0000
	0,2818	0,9210	0,990692	0,2858	0,9082	0,990691	0,0000
5	0,4128	0,9207	0,986399	0,4221	0,9005	0,986398	0,0001
	0,4128	0,9207	0,986399	0,4230	0,8986	0,986398	0,0001
6	0,5736	0,9233	0,981099	0,5890	0,8992	0,981098	0,0001
	0,5736	0,9233	0,981099	0,5885	0,9000	0,981097	0,0002

**Tabla 11. Actividades del solvente en soluciones de NaCl y KCl a 293.15 K**

Ensayo No.	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$a_r$	$m_{\text{KCl}}$	$\phi_{\text{KCl}}$	$a_1$	$(a_r - a_1)\%$
1	0,1853	0,9241	0,993849	0,1836	0,9327	0,993849	0,0000
	0,1853	0,9241	0,993849	0,1832	0,9346	0,993850	-0,0001
2	0,2706	0,9208	0,991062	0,2747	0,9068	0,991065	-0,0003
	0,2706	0,9208	0,991062	0,2745	0,9076	0,991064	-0,0002
3	0,5139	0,9208	0,983094	0,5290	0,8944	0,983097	-0,0003
	0,5139	0,9208	0,983094	0,5292	0,8941	0,983096	-0,0002
4	0,6471	0,9234	0,978700	0,6668	0,8962	0,978699	0,0001
	0,6471	0,9234	0,978700	0,6661	0,8970	0,978702	-0,0002

**Figura 24. Coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 298.15 K**



**Figura 25. Coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 293.15 K**

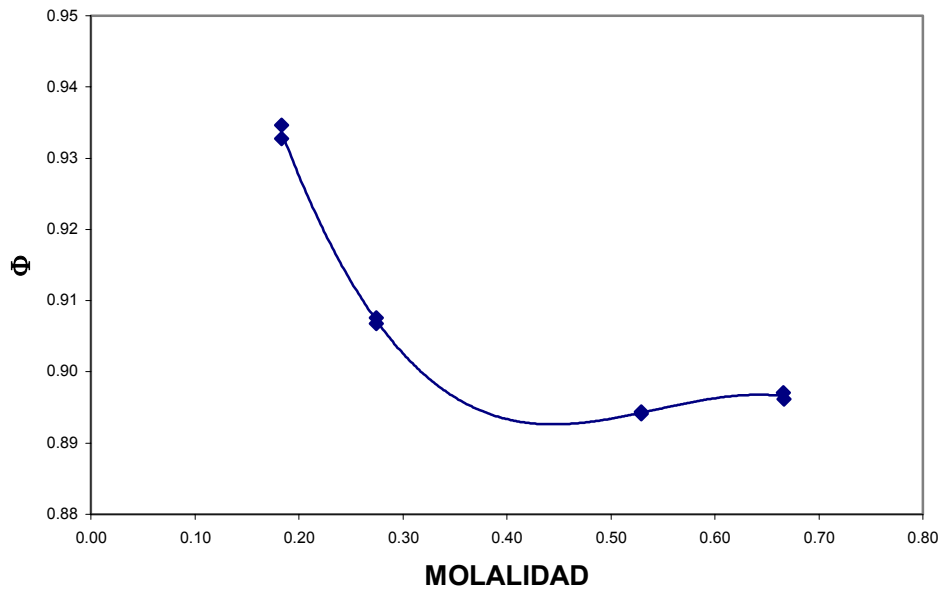
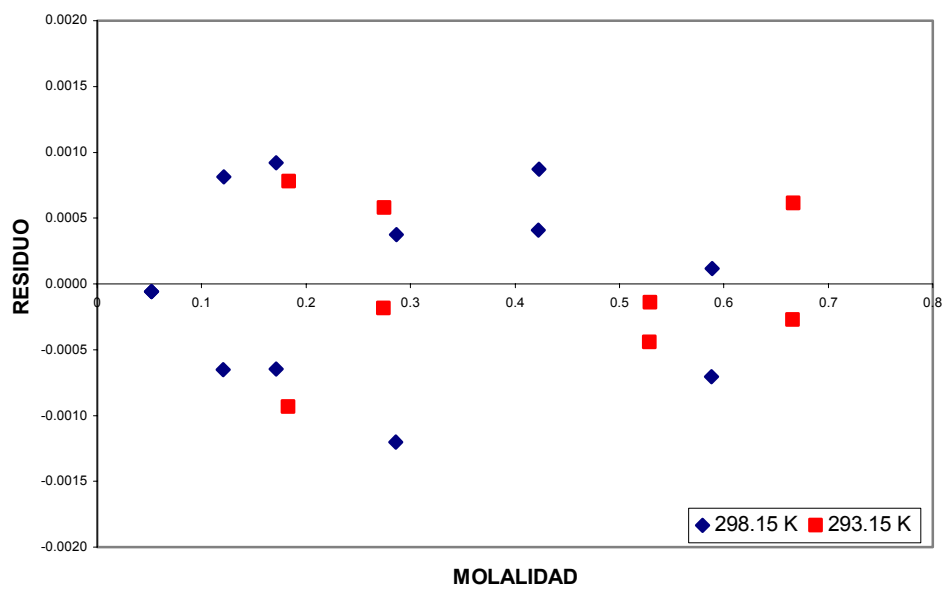


Figura 26. Residuo de los coeficientes osmóticos de soluciones de KCl a 298.15 K y 293.15 K





**ANEXO 2. COEFICIENTES OSMÓTICOS Y DE ACTIVIDAD DE AMINOACIDOS**

**Tabla 12. Molalidades isopiécticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y glicina a 298.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$
1	0,1201	0,9295	0,2274	0,9815
	0,1201	0,9295	0,2276	0,9810
2	0,1696	0,9252	0,3214	0,9764
	0,1696	0,9252	0,3213	0,9767
3	0,2818	0,9210	0,5417	0,9583
	0,2818	0,9210	0,5417	0,9583
4	0,4044	0,9206	0,7878	0,9450
	0,4044	0,9206	0,7869	0,9461
5	0,4128	0,9207	0,8059	0,9432
	0,4128	0,9207	0,8048	0,9442
6	0,5736	0,9233	1,1397	0,9295
	0,5736	0,9233	1,1393	0,9297

**Tabla 13. Molalidades isopiécticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y DL- $\alpha$  alanina a 298.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$
1	0,1201	0,9295	0,2238	0,9972
	0,1201	0,9295	0,2243	0,9954
2	0,2818	0,9210	0,5203	0,9977
	0,2818	0,9210	0,5200	0,9983
3	0,4128	0,9207	0,7609	0,9991
	0,4128	0,9207	0,7604	0,9998
4	0,5736	0,9233	1,0562	1,0029
	0,5736	0,9233	1,0557	1,0034

**Tabla 14. Molalidades isopiécticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 298.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$
1	0,1201	0,9295	0,2217	1,0067
	0,1201	0,9295	0,2219	1,0058
2	0,1696	0,9252	0,3106	1,0103
	0,1696	0,9252	0,3109	1,0093
3	0,2818	0,9210	0,5105	1,0168
	0,2818	0,9210	0,5108	1,0163

4	0,3111	0,9207	0,5636	1,0164
	0,3111	0,9207	0,5637	1,0162
5	0,4128	0,9207	0,7428	1,0234
	0,4128	0,9207	0,7434	1,0226
6	0,5736	0,9233	1,0229	1,0355
	0,5736	0,9233	1,0223	1,0361

**Tabla 15. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y glicina a 293.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$
1	0,1853	0,9241	0,3580	0,9568
	0,1853	0,9241	0,3582	0,9563
2	0,2706	0,9208	0,5277	0,9443
	0,2706	0,9208	0,5284	0,9430
3	0,5139	0,9208	1,0284	0,9202
	0,5139	0,9208	1,0286	0,9200
4	0,6471	0,9234	1,2970	0,9214
	0,6471	0,9234	1,2960	0,9221

**Tabla 16. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y DL- $\alpha$  alanina a 293.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$
1	0,1853	0,9241	0,3544	0,9665
	0,1853	0,9241	0,3540	0,9675
2	0,2706	0,9208	0,5131	0,9711
	0,2706	0,9208	0,5130	0,9713
3	0,5139	0,9208	0,9686	0,9972
	0,5139	0,9208	0,9680	0,9970
4	0,6471	0,9234	1,1842	1,0092
	0,6471	0,9234	1,1831	1,0101

**Tabla 17. Molalidades isopiésticas (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de las soluciones de NaCl y ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 293.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$
1	0,1853	0,9241	0,3509	0,9762
	0,1853	0,9241	0,3512	0,9752
2	0,2706	0,9208	0,5078	0,9853
	0,2706	0,9208	0,5080	0,9850
3	0,5139	0,9208	0,9443	1,0258
	0,5139	0,9208	0,9445	1,0261
4	0,6471	0,9234	1,1380	1,0501
	0,6471	0,9234	1,1403	1,0480

**Tabla 18. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 298.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$
1	0,1201±0,0002	0,9295	0,2274±0,0001	0,9815±0,0006
	0,1201±0,0002	0,9295	0,2276±0,0001	0,9810±0,0006
2	0,1696±0,0002	0,9252	0,3214±0,0001	0,9764±0,0004
	0,1696±0,0002	0,9252	0,3213±0,0001	0,9767±0,0004
3	0,2818±0,0002	0,9210	0,5417±0,0001	0,9583±0,0003
	0,2818±0,0002	0,9210	0,5417±0,0001	0,9583±0,0003
4	0,4044±0,0002	0,9206	0,7878±0,0001	0,9450±0,0002
	0,4044±0,0002	0,9206	0,7869±0,0001	0,9461±0,0002
5	0,4128±0,0002	0,9207	0,8059±0,0001	0,9433±0,0002
	0,4128±0,0002	0,9207	0,8048±0,0001	0,9433±0,0002
6	0,5736±0,0001	0,9233	1,1397±0,0001	0,9295±0,0001
	0,5736±0,0001	0,9233	1,1393±0,0001	0,9297±0,0001

**Tabla 19. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$  alanina a 298.15 K**

Ensayo .No.	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$
1	0,1201±0,0002	0,9295	0,2238±0,0001	0,9972±0,0006
	0,1201±0,0002	0,9295	0,2243±0,0001	0,9950±0,0006
2	0,2818±0,0002	0,9210	0,5203±0,0001	0,9977±0,0003
	0,2818±0,0002	0,9210	0,5200±0,0001	0,9983±0,0003
3	0,4128±0,0002	0,9207	0,7609±0,0001	0,9991±0,0002
	0,4128±0,0002	0,9207	0,7604±0,0001	0,9998±0,0002
4	0,5736±0,0001	0,9233	1,0562±0,0001	1,0029±0,0001
	0,5736±0,0001	0,9233	1,0557±0,0001	1,0034±0,0001

**Tabla 20. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 298.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$
1	0,1201±0,0002	0,9295	0,2217±0,0001	1,0067±0,0006
	0,1201±0,0002	0,9295	0,2219±0,0001	1,0058±0,0006
2	0,1696±0,0002	0,9252	0,3106±0,0001	1,0103±0,0004
	0,1696±0,0002	0,9252	0,3109±0,0001	1,0093±0,0004
3	0,2818±0,0002	0,9210	0,5105±0,0001	1,0168±0,0003
	0,2818±0,0002	0,9210	0,5108±0,0001	1,0163±0,0003
4	0,4044±0,0002	0,9207	0,5636±0,0001	1,0164±0,0002
	0,4044±0,0002	0,9207	0,5637±0,0001	1,0162±0,0002
5	0,4128±0,0002	0,9207	0,7428±0,0001	1,0234±0,0002
	0,4128±0,0002	0,9207	0,7434±0,0001	1,0226±0,0002
6	0,5736±0,0001	0,9233	1,0229±0,0001	1,0355±0,0001
	0,5736±0,0001	0,9233	1,0223±0,0001	1,0361±0,0001

**Tabla 21. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 293.15 K**

Ensayo No.	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$
1	0,1853±0,0002	0,9241	0,3580±0,0001	0,9568±0,0004
	0,1853±0,0002	0,9241	0,3582±0,0001	0,9563±0,0004
2	0,2706±0,0002	0,9208	0,5277±0,0001	0,9443±0,0003
	0,2706±0,0002	0,9208	0,5284±0,0001	0,9430±0,0003
3	0,5139±0,0001	0,9208	1,0284±0,0001	0,9202±0,0001
	0,5139±0,0001	0,9208	1,0286±0,0001	0,9200±0,0001
4	0,6471±0,0001	0,9234	1,2970±0,0001	0,9214±0,0001
	0,6471±0,0001	0,9234	1,2960±0,0001	0,9221±0,0001

**Tabla 22. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$  alanina a 293.15 K**

Ensayo No.	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$
1	0,1853±0,0002	0,9241	0,3544±0,0001	0,9665±0,0004
	0,1853±0,0002	0,9241	0,3540±0,0001	0,9675±0,0004
2	0,2706±0,0002	0,9208	0,5131±0,0001	0,9711±0,0003
	0,2706±0,0002	0,9208	0,5130±0,0001	0,9713±0,0003
3	0,5139±0,0001	0,9208	0,9686±0,0001	0,9972±0,0001
	0,5139±0,0001	0,9208	0,9680±0,0001	0,9970±0,0001
4	0,6471±0,0001	0,9234	1,1842±0,0001	1,0092±0,0001
	0,6471±0,0001	0,9234	1,1831±0,0001	1,0101±0,0001

**Tabla 23. Incertidumbre experimental para las molalidades (mol soluto/kg solvente) y coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 293.15 K**

Ensayo No.	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$m_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$
1	0,1853±0,0002	0,9241	0,3509±0,0001	0,9762±0,0004
	0,1853±0,0002	0,9241	0,3512±0,0001	0,9752±0,0004
2	0,2706±0,0002	0,9208	0,5078±0,0001	0,9853±0,0003
	0,2706±0,0002	0,9208	0,5080±0,0001	0,9850±0,0003
3	0,5139±0,0001	0,9208	0,9443±0,0001	1,0258±0,0001
	0,5139±0,0001	0,9208	0,9445±0,0001	1,0261±0,0001
4	0,6471±0,0001	0,9234	1,1380±0,0001	1,0501±0,0001
	0,6471±0,0001	0,9234	1,1403±0,0001	1,0480±0,0001

**Tabla 24. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y glicina a 298.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$a_r$	$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$	$a_1$	$(a_r - a_1)\%$
1	0,1201	0,9295	0,995986	0,2274	0,9815	0,995987	-0,0001
	0,1201	0,9295	0,995986	0,2278	0,9797	0,995988	-0,0002
2	0,1696	0,9252	0,994362	0,3214	0,9764	0,994363	-0,0001
	0,1696	0,9252	0,994362	0,3213	0,9767	0,994363	-0,0001

3	0,2818	0,9210	0,990692	0,5417	0,9583	0,990692	0,0000
	0,2818	0,9210	0,990692	0,5417	0,9583	0,990692	0,0000
4	0,4044	0,9206	0,936675	0,7878	0,9450	0,936678	-0,0003
	0,4044	0,9206	0,936675	0,7869	0,9461	0,936677	-0,0002
5	0,4128	0,9207	0,986399	0,8059	0,9433	0,986398	0,0001
	0,4128	0,9207	0,986399	0,8048	0,9433	0,986417	0,0018
6	0,5736	0,9233	0,981099	1,1397	0,9295	0,981097	0,0002
	0,5736	0,9233	0,981099	1,1393	0,9297	0,981099	0,0000

**Tabla 25. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y DL- $\alpha$  alanina a 298.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$a_r$	$m_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$	$a_1$	$(a_r - a_1)\%$
1	0,1201	0,9295	0,995986	0,2238	0,9972	0,995988	-0,0002
	0,1201	0,9295	0,995986	0,2243	0,9950	0,995987	-0,0001
2	0,2818	0,9210	0,990692	0,5203	0,9977	0,990692	0,0000
	0,2818	0,9210	0,990692	0,5200	0,9983	0,990692	0,0000
3	0,4128	0,9207	0,986399	0,7609	0,9991	0,986398	0,0001
	0,4128	0,9207	0,986399	0,7604	0,9998	0,986397	0,0002
4	0,5736	0,9233	0,981099	1,0562	1,0029	0,981098	0,0001
	0,5736	0,9233	0,981099	1,0557	1,0034	0,981098	0,0001

**Tabla 26. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 298.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$a_r$	$m_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$	$a_1$	$(a_r - a_1)\%$
1	0,1201	0,9295	0,995986	0,2217	1,0067	0,995987	-0,0001
	0,1201	0,9295	0,995986	0,2225	1,0030	0,995988	-0,0002
2	0,1696	0,9252	0,994362	0,3106	1,0103	0,994363	-0,0001
	0,1696	0,9252	0,994362	0,3109	1,0093	0,994363	-0,0001
3	0,2818	0,9210	0,990692	0,5099	1,0180	0,990692	0,0000
	0,2818	0,9210	0,990692	0,5108	1,0163	0,990691	0,0000
4	0,3111	0,9207	0,989733	0,5636	1,0164	0,989733	0,0000
	0,3111	0,9207	0,989733	0,5637	1,0162	0,989733	0,0000
5	0,4128	0,9207	0,986399	0,7428	1,0234	0,986399	0,0000
	0,4128	0,9207	0,986399	0,7434	1,0226	0,986399	0,0000
6	0,5736	0,9233	0,981099	1,0229	1,0355	0,981099	0,0000
	0,5736	0,9233	0,981099	1,0223	1,0361	0,981099	0,0000

**Tabla 27. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y glicina a 293.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$a_r$	$m_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2}$	$a_1$	$(a_r - a_1)\%$
1	0,1853	0,9241	0,993849	0,3580	0,9568	0,993848	0,0001
	0,1853	0,9241	0,993849	0,3582	0,9563	0,993848	0,0001
2	0,2706	0,9208	0,991062	0,5277	0,9443	0,991063	-0,0001
	0,2706	0,9208	0,991062	0,5284	0,9430	0,991063	-0,0001

3	0,5139	0,9208	0,983094	1,0284	0,9202	0,983096	-0,0002
	0,5139	0,9208	0,983094	1,0286	0,9200	0,983096	-0,0002
4	0,6471	0,9234	0,978700	1,2970	0,9214	0,978701	-0,0001
	0,6471	0,9234	0,978700	1,2960	0,9221	0,978701	-0,0001

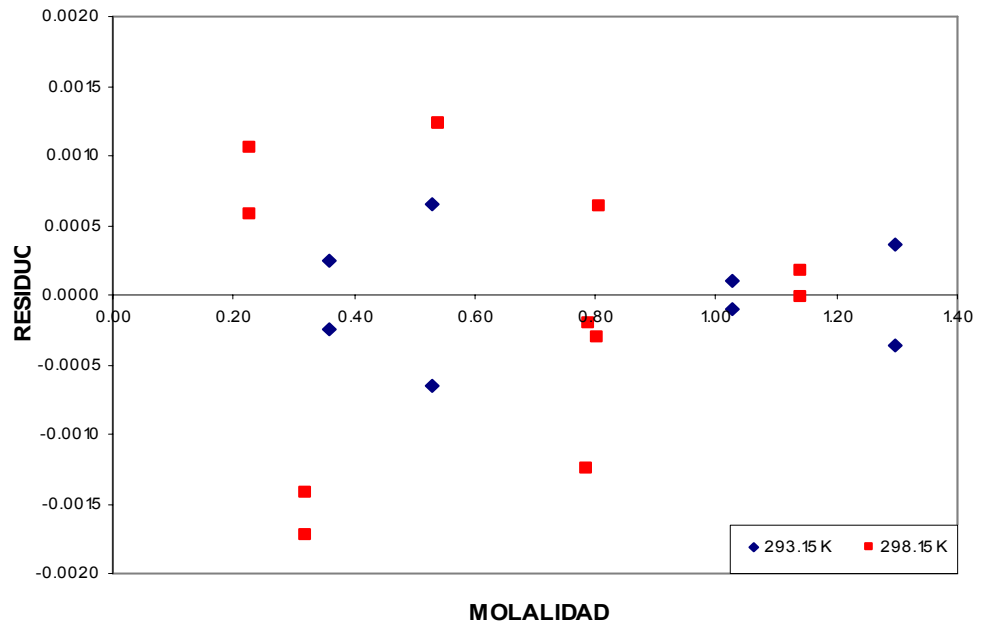
**Tabla 28. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y DL- $\alpha$  alanina a 293.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$a_r$	$m_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2}$	$a_1$	$(a_r - a_1)\%$
1	0,1853	0,9241	0,993849	0,3544	0,9665	0,993848	0,0001
	0,1853	0,9241	0,993849	0,3540	0,9675	0,993848	0,0001
2	0,2706	0,9208	0,991062	0,5131	0,9711	0,991064	-0,0002
	0,2706	0,9208	0,991062	0,5130	0,9713	0,991064	-0,0002
3	0,5139	0,9208	0,983094	0,9686	0,9972	0,983090	0,0004
	0,5139	0,9208	0,983094	0,9680	0,9970	0,983090	0,0004
4	0,6471	0,9234	0,978700	1,1842	1,0092	0,978700	0,0000
	0,6471	0,9234	0,978700	1,1831	1,0101	0,978701	-0,0001

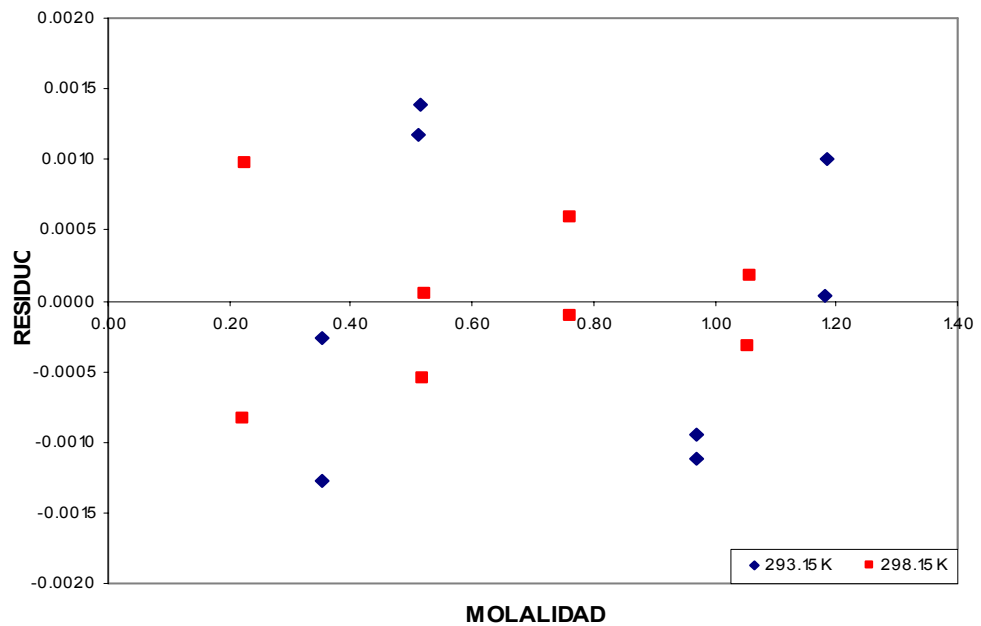
**Tabla 29. Actividades de solvente de soluciones de NaCl y ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 293.15 K**

Ensayo	$m_{\text{NaCl}}$	$\phi_{\text{NaCl}}$	$a_r$	$m_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$	$\phi_{\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2}$	$a_1$	$(a_r - a_1)\%$
1	0,1853	0,9241	0,993849	0,3509	0,9762	0,993848	0,0001
	0,1853	0,9241	0,993849	0,3512	0,9752	0,993849	0,0000
2	0,2706	0,9208	0,991062	0,5078	0,9853	0,991057	0,0005
	0,2706	0,9208	0,991062	0,5080	0,9850	0,991056	0,0006
3	0,5139	0,9208	0,983094	0,9443	1,0258	0,983101	-0,0007
	0,5139	0,9208	0,983094	0,9445	1,0261	0,983092	0,0002
4	0,6471	0,9234	0,978700	1,1380	1,0501	0,978702	-0,0002
	0,6471	0,9234	0,978700	1,1403	1,0480	0,978701	-0,0001

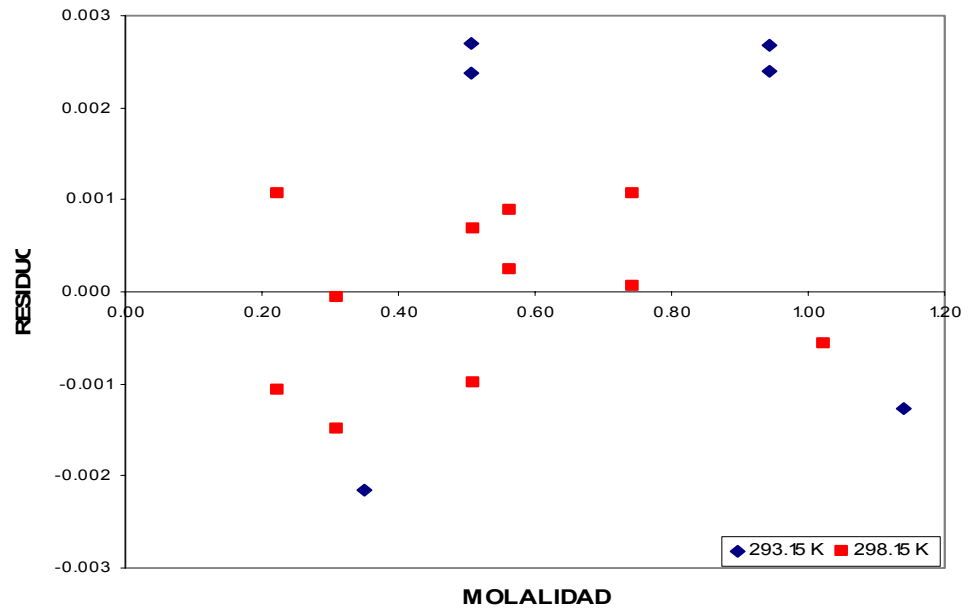
**Figura 27. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 298.15 K y 293.15 K**



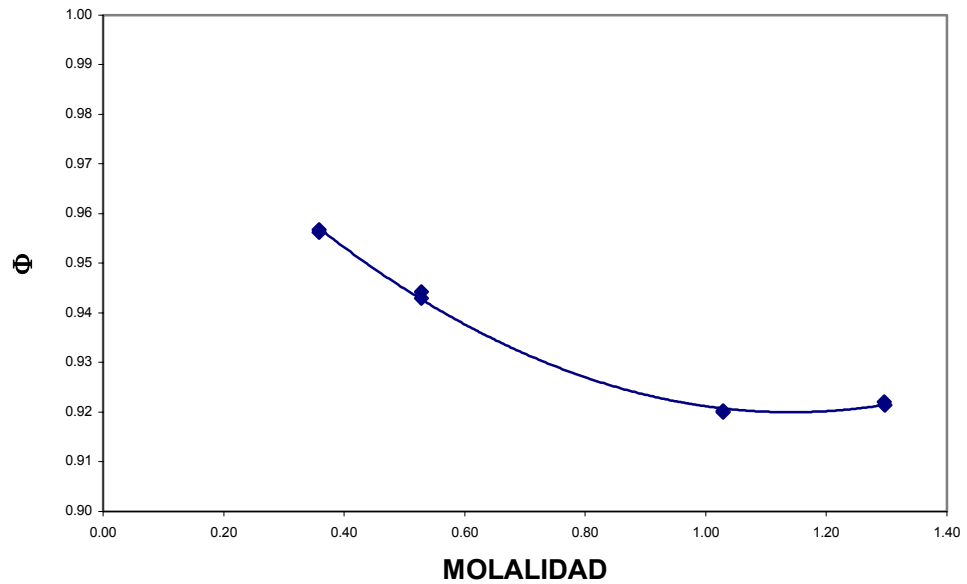
**Figura 28. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$  alanina a 298.15 K y 293.15 K**



**Figura 29. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 298.15 K y 293.15 K**

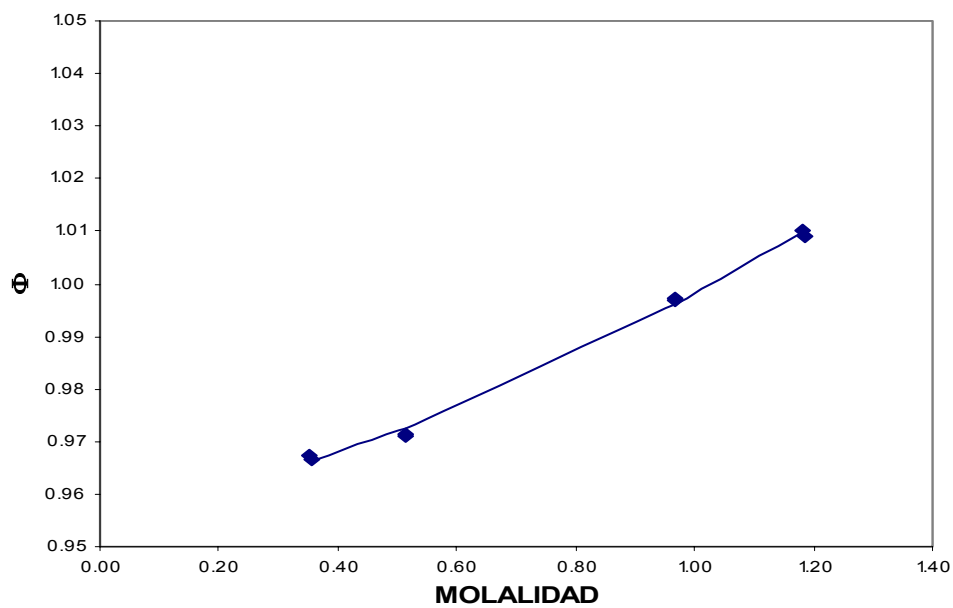


**Figura 30. Coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 293.15 K**





**Figura 31. Coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$  alanina a 293.15 K**



**Figura 32. Coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 293.15 K**

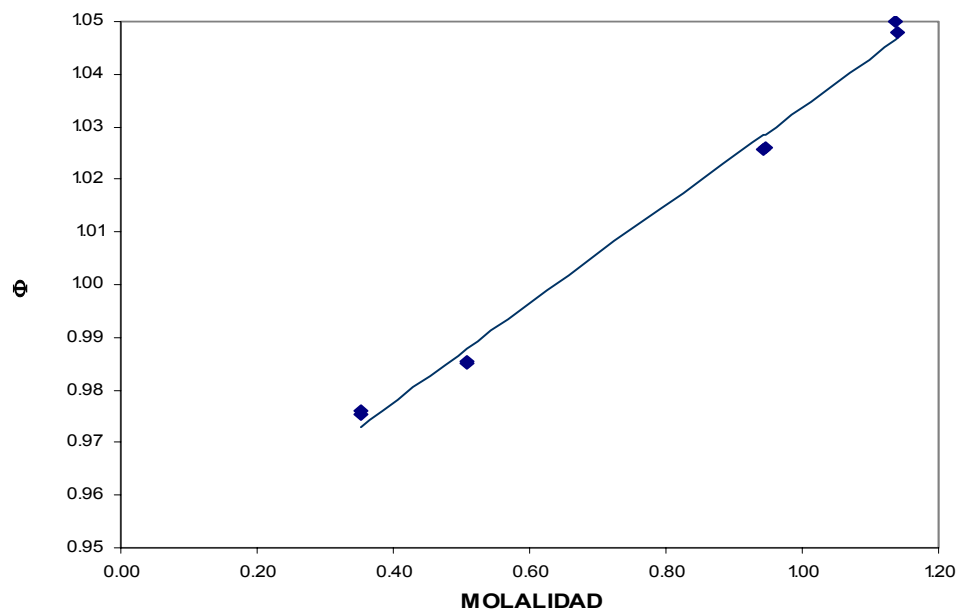


Figura 33. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de glicina a 298.15K

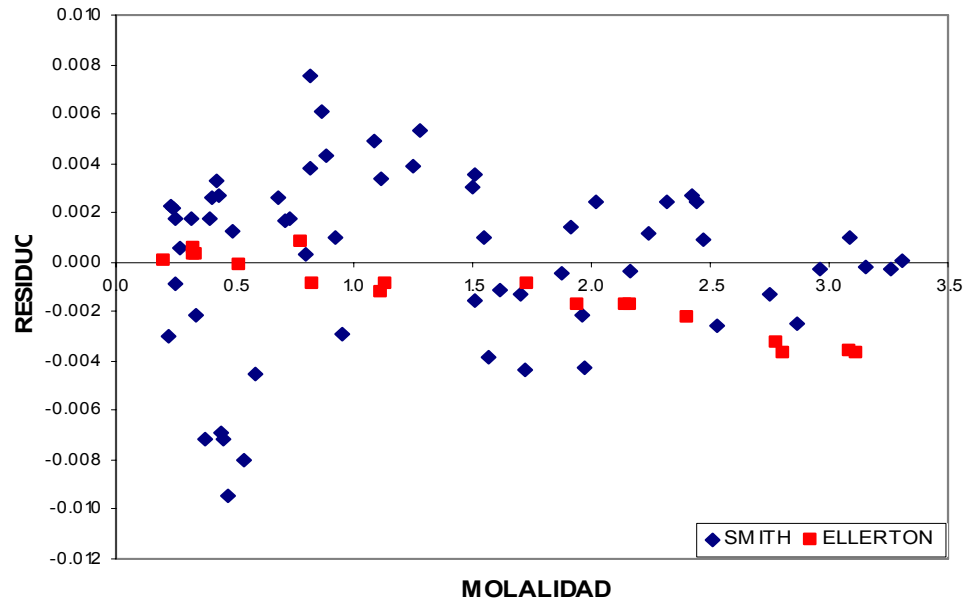
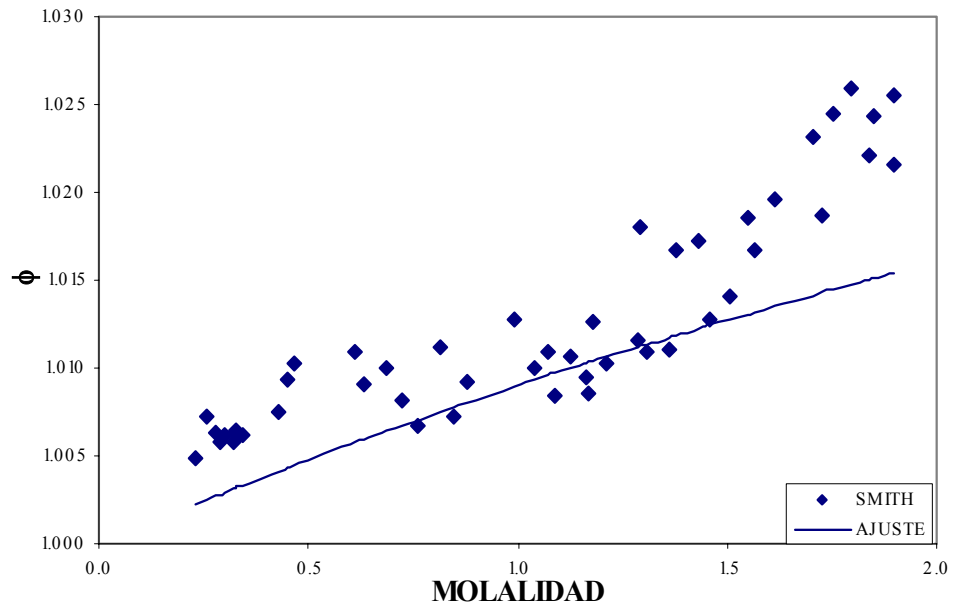
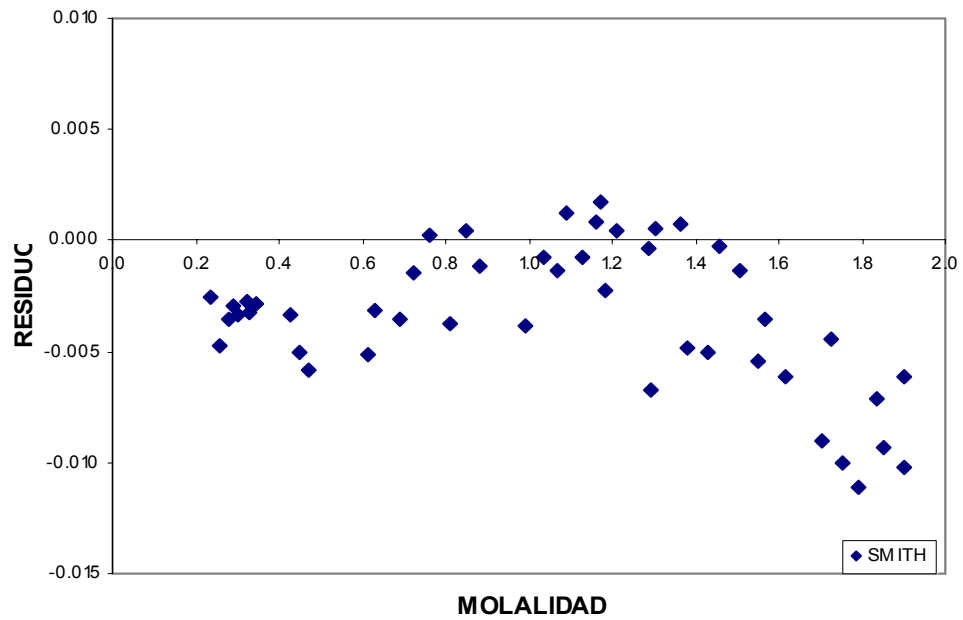


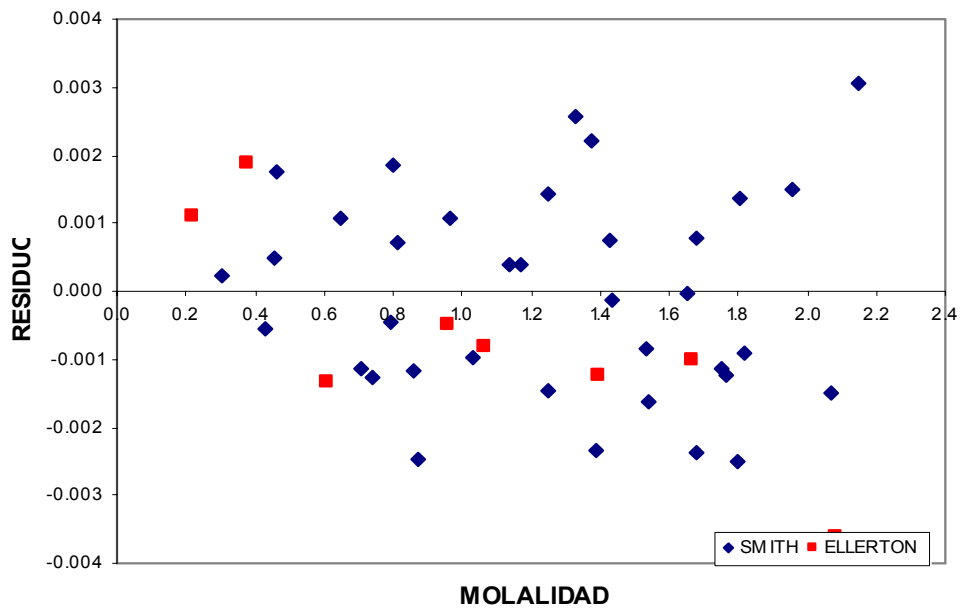
Figura 34. Coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$  alanina a 298.15 K



**Figura 35. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de DL- $\alpha$  alanina a 298.15K**



**Figura 36. Residuos de los coeficientes osmóticos de soluciones de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 298.15K**



### ANEXO 3. MODELOS DE COEFICIENTES DE ACTIVIDAD

**Tabla 30. Momentos dipolares de los aminoácidos**

AMINOACIDO	D(Debye)
Glicina	11,642
DL- $\alpha$ alanina	11,002
Ácido DL- $\alpha$ aminobutírico	10,961

**Tabla 31. Volúmenes Bondi<sup>51</sup>**

AMINOACIDO	$r_i$
Glicina	2,6705
DL- $\alpha$ alanina	4,4998
Ácido DL- $\alpha$ aminobutírico	4,0316
Agua	0,9200

**Tabla 32. Desviaciones estándar para diferentes modelos aplicados a aminoácidos**

AMINOACIDO	Glicina	DL- $\alpha$ alanina	Ácido DL- $\alpha$ aminobutírico
rmsd <sup>a</sup> (%)	0,12	0,11	0,09
rmsd <sup>b</sup> (%)	0,10	0,13	0,10
rmsd <sup>74</sup> (%)	0,66	0,03	NR
rmsd <sup>42</sup> (%)	2,07	0,04	0,32
rmsd <sup>70</sup> (%)	4,20	8,97	17,34
rmsd <sup>43</sup> (%)	1,67	0,19	17,84
rmsd <sup>44</sup> (%)	0,86	0,33	0,37
rmsd <sup>80</sup> (%)	0,84	0,51	NR

a. Ecuación Wilson

b. Modelo de esferas rígidas perturbadas

NR. No se estudio el ácido DL- $\alpha$  aminobutírico

**Tabla 33. Parámetros ajustables de la Ecuación de Wilson**

AMINOACIDO	TEMPERATURA	$G_{12}$	$G_{21}$	$\Lambda_{12}$	$\Lambda_{21}$
Glicina	298,15 K	-0,14	1,28	3,34	0,10
	293,15K	1,21	0,64	0,87	0,18
DL- $\alpha$ alanina	298,15 K	0,31	0,27	3,60	0,16
	293,15K	-0,05	0,97	5,15	0,08
Ácido DL- $\alpha$ aminobutírico	298,15 K	-0,20	1,12	5,36	0,07
	293,15K	-0,43	1,52	6,72	0,05

Figura 37. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para glicina

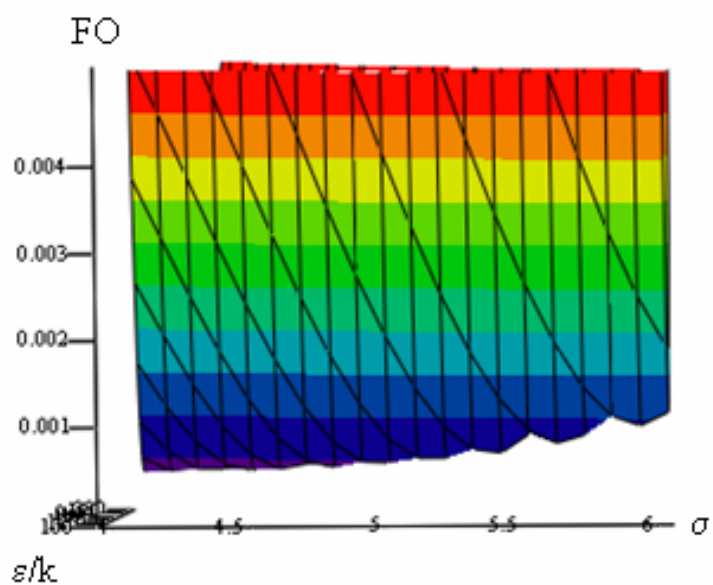
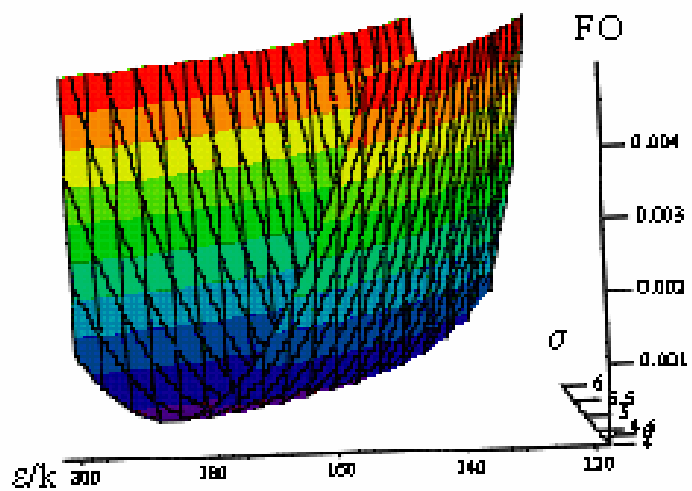
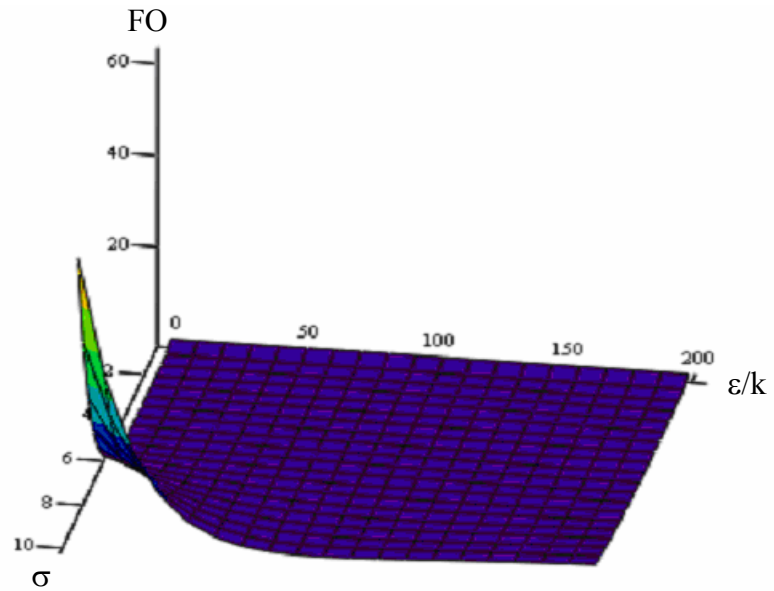


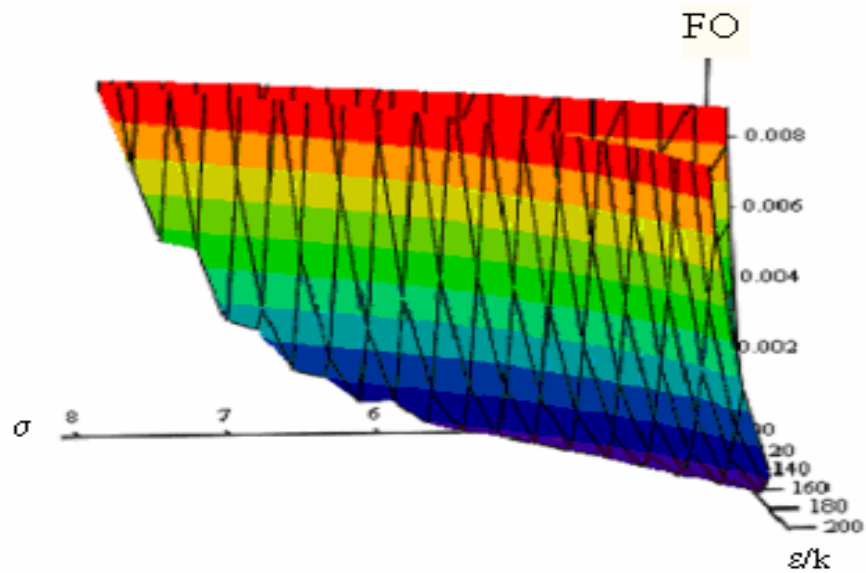
Figura 38. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para glicina



**Figura 39. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para ácido DL- $\alpha$  aminobutírico**



**Figura 40. Minimización del modelo de esferas rígidas perturbadas para ácido DL- $\alpha$  aminobutírico**



## ANEXO 4. MUESTRA DE CÁLCULO

A continuación se mostrarán los cálculos para la determinación de los coeficientes de actividad de ácido DL- $\alpha$  aminobutírico a 298.15 K.

### *Coefficientes osmóticos y de actividad*

Los coeficientes osmóticos se determinaron por medio de las molalidades isopiéticas (Tabla 14) y la ecuación (57). Para el primer punto tenemos:

Las molalidades obtenidas en la parte experimental:

$$m_{NaCl} = 0,1201 \quad m_{C_4H_9NO_2} = 0,2217$$

El coeficiente osmótico de la solución de NaCl obtenido a partir del software para la ecuación de correlación de D. Archer Pitzer:

$$\phi_{NaCl} = 0,9295$$

Por lo tanto el coeficiente osmótico obtenido es:

$$\phi_{C_4H_9NO_2} = \frac{2 * m_{NaCl} * \phi_{NaCl}}{m_{C_4H_9NO_2}} = \frac{2 * 0,1201 * 0,9295}{0,2217} = 1,0067 \quad (59)$$

Para cada concentración de equilibrio se realizó el procedimiento anterior y la tabla (14) muestra los resultados. Se graficó los coeficientes osmóticos obtenidos contra la molalidad (Figura 9) y se ajustó a una ecuación polinomial utilizando el programa Table Curve. La ecuación ajustada de segundo orden es la siguiente:

$$\phi = 1,001843 + 0,019789 * m_{C_4H_9NO_2} + 0,012878 * m_{C_4H_9NO_2}^2 \quad (60)$$

Para determinar los coeficientes de actividad se integra una función de los coeficientes osmóticos aplicando la ecuación (32):

$$\ln \gamma_{2,m}^* = \phi_2 - 1 + \int_0^m (\phi_2 - 1) d \ln m_2 \quad (61)$$

$$\ln \gamma_{2,m}^* = 1,0067 - 1 + \int_0^m \left( \frac{(1,001843 - 1)}{m_{C_4H_9NO_2}} dm + \frac{0,019789 * m_{C_4H_9NO_2}}{m_{C_4H_9NO_2}} dm + \frac{0,012878 * m_{C_4H_9NO_2}^2}{m_{C_4H_9NO_2}} dm \right) \quad (62)$$

$$\ln \gamma_{2,m}^* = 1.0067 - 1 + (1,001843 - 1) * \ln(m_{C_4H_9NO_2}) + 0,019789 * m_{C_4H_9NO_2} + \frac{0,012878 * m_{C_4H_9NO_2}^2}{2} \quad (63)$$

Para 0.2217 m:

$$\ln \gamma_{2,m}^* = 0,0067 + 0,001843 * \ln(0,2217) + 0,019789 * 0,2217 + \frac{0,012878 * 0,2217^2}{2} = 0,008627 \quad (64)$$

$$\gamma_{2,m}^* = e^{0,008627} = 1,0087 \quad (65)$$

Se realizaron los mismos cálculos para todas las demás concentraciones y los resultados se muestran en la figura 10. Para la detrmnación de los coeficientes de actividad a partir del modelo de esferas rígidas perturbadas y la ecuación de Wilson se minimizó la ecuación con la ayuda de una herramienta de Excel denominada Solver.

### ***Energía Gibbs molar de exceso***

Con los valores de coeficientes de actividad de soluto y solvente se determinaron las energías Gibbs molar de exceso por la ecuación (17). Los coeficientes de actividad del solvente se determinaron a través de la actividad del solvente, así:

Para  $m_{C_4H_9NO_2} = 0,2217$  y  $\gamma_{2,m}^* = 1,0087$ , la actividad del solvente obtenida de la tabla (26) es  $a_1 = 0,995987$ . Para calcular el coeficiente de actividad del solvente se encuentran las fracciones mol y posteriormente se calcula con la actividad del solvente:

$$x_2 = 0,0040 \quad x_1 = 0,9960$$

$$\gamma_1 = \frac{a_1}{x_1} = \frac{0,995987}{0,9960} = 1,0000 \quad (66)$$

La energía Gibbs molar de exceso es:

$$g^E = RT \sum_i x_i \ln \gamma_i = RT(x_1 \ln \gamma_1 + x_2 \ln \gamma_2) \quad (67)$$

$$g^E = 8.314J / molK * 298.15K * (0,9960 * \ln(1,0000) + 0,0040 * \ln(1,0087)) = 0.0378 \quad (68)$$

Los resultados de las otras concentraciones se muestran en la figura (16).



## BIBLIOGRAFIA

- (1) Chumaevskii, N. A.; Rodnikova, M. N. *Journal of Molecular Liquids* **2003**, *106*, 166.
- (2) Franks, F. *Water a Comprehensive Treatise*; Plenum Press: New York, 1978; Vol. 1.
- (3) Franks, F. *Water a matrix of life*, 2 ed.; The Royal Society of Chemistry, 2000.
- (4) Hura, G.; Gordon, T. H. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2651.
- (5) Frank, H. S.; Wen, W. V. *Faraday Society* **1957**, *24*, 133.
- (6) Nemethy, G.; Scheraga, H. A. *Journal of Chemical Physics* **1945**, *13*, 507.
- (7) Ben-Naim, A. *Hydrophobic Interactions*; Plenum Press: New York, 1980.
- (8) Tanford, C. *The hydrophobic Effect: Formation of micelles and biological membranes*; A Wiley Interscience Publication: New York, 1980.
- (9) Slusher, J.; Cummings, P. J. *Phys. Chem.* **1997**, *101*, 3818.
- (10) Ben-Naim, A. *Solvation thermodynamics*; Plenum Press: New York, 1987.
- (11) Rao, M. V. R.; Atreyi, M.; Rajeswari, M. R. *Journal of Physical Chemistry* **1984**, *88*, 3129.
- (12) Chalikian, T. V.; Sarvazyan, A. P.; Breslauer, K. J. *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 1301.
- (13) Abrosimov, V. K.; Chumakova, R. V. *Zhurnal Fizicheskoi Khimii* **1998**, *72*, 994.
- (14) Millero, F. J.; Lo Surdo, A.; Shin, C. *Journal of Physical Chemistry* **1978**, *82*, 784.
- (15) Mishra, A. K.; Prasad, K. P.; Ahluwalia, J. C. *Biopolymers* **1983**, *22*, 2397.
- (16) Lilley, T. H. *Chemistry and Biochemistry of Aminoacids*; C. Barret. Chapman, Hall-Methuen: London, 1985.
- (17) Romero, C. M.; Munar, R. *Phys and Chem of Liq* **1998**, *36*, 83.
- (18) Gianni, P.; Lepori, L. *Journal of Solution Chemistry* **1996**, *25*, 1.
- (19) Prausnitz, J. M.; Lichtenthaler, R. N.; Gomes, E. *Termodinámica molecular de los equilibrios de fases*; Prentice Hall: Madrid, 2000.
- (20) Daniels, F. *Experimental Physical Chemistry*; Mc Graw-Hill, 1970.
- (21) Shoemaker, D.; Garland, C. *Experiments in Physical Chemistry*; McGraw-Hill: New York, 1968.
- (22) Pitzer, K. S. *Activity Coefficients in Electrolyte Solutions*; CRC Press, 1991.
- (23) Bousfield, W. R. *Trans. Faraday Soc.* **1917**, *13*, 401.
- (24) Sinclair, J. D.; Hyytia, P.; Nurmi, M. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.) FIELD Publication Date: 1992 Sep-Oct*, *9*, 441.
- (25) Mason, C. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 1638.
- (26) Scatchard, G.; Hamer, W.; Wood, S. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 3061.
- (27) Gordon, A. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 221.
- (28) Robinson, R. A. *Trans. Faraday Soc.* **1939**, *35*, 1222.
- (29) Rard, J. A.; Platford, R. F. *Experimental Methods*.
- (30) Thiessen, D. B.; Wilson, A. J. *AIChE Journal* **1987**, *33*, 1926.
- (31) Lin, D.-Q.; Mei, L.-H.; Zhu, Z.-Q.; Han, Z.-X. *Fluid Phase Equilibria* **1996**, *118*, 241.
- (32) Ochs, L. R.; Kabiri-Badr, M.; Cabezas, H. *AIChE Journal* **1990**, *36*, 1908.

- (33) Amado, E. Estudio del efecto de la temperatura en el comportamiento de soluciones acuosas de bromuros asimétricos y simétricos de tetra-alquil-amonio mediante el análisis de los coeficientes de actividad. Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Colombia, 2002.
- (34) Amado, E.; Blanco, L. H. *Fluid Phase Equilibria* **2003**.
- (35) Gibbard, H. F.; Scatchard, G.; Rousseau, R.; Creek, J. *J. Chem. Eng. Data* **1974**, *19*, 281.
- (36) Robinson, R. A.; Stokes, R. H. *Electrolyte Solutions*; Butterworths: London, 1959.
- (37) Hamer, W. J.; Wu, J. C. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1972**, *1*, 1047.
- (38) Rard, J. A.; Habenschuss, A.; Spedding, F. *J. Chem. Eng. Data* **1976**, *21*, 374.
- (39) Platford, R. F. *J. Chem. Eng. Data* **1979**, *24*, 70.
- (40) Bonner, O. D. *J. Solution Chem.* **1987**, *16*, 307.
- (41) Pitzer, K. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 2902.
- (42) Chen, C. C.; Zhu, Y.; Evans, L. B. *Biotechnol. Prog.* **1989**, *5*, 111.
- (43) Pinho, S. P.; Silva, C. M.; Macedo, E. A. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **1994**, *33*, 1341.
- (44) Khoshkbarchi, M. K.; Vera, J. H. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **1996**, *35*, 4319.
- (45) Mansoori, G. A.; Carnahan, N. F.; Starling, K. E.; Leland, T. W. *J. Chem. Phys.* **1971**, *54*, 1523.
- (46) Barker, J. A.; Henderson, D. *J. Chem. Phys.* **1967**, *47*, 4714.
- (47) Maitland, G. C.; Rigby, M.; Smith, E. B.; Wakeham, W. A. *Intermolecular Forces*; Clarendon Press: Oxford, 1981.
- (48) Reed, T. M.; Gubbins, K. E. *Applied Statistical Mechanics*; Mc Graw-Hill: New York, 1973.
- (49) Wilson, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 127.
- (50) Nass, K. K. *AIChE Journal* **1988**, *34*, 1257.
- (51) Bondi, A. *Physical Properties of Molecular Crystals, Liquids and Glasses*; Wiley: New York, 1968.
- (52) Yasuda, Y.; Tochio, N.; Sakurai, M.; Nitta, K. *Journal of Chemical and Engineering Data* **1998**, *43*, 205.
- (53) Clarke, R. G.; Hnedkovsky, L.; Tremaine, P. R.; Majer, V. *Journal of Physical Chemistry B* **2000**, *104*, 11781.
- (54) Romero, C. M.; Moreno, E.; Rojas, J. L. *Thermochimica Acta* **1999**, *328*, 33.
- (55) Cohn, E. J.; McMeekin, T. L.; Edsall, J. T.; Weare, J. H. *Journal of the American Chemical Society* **1934**, *56*, 2270.
- (56) Cohn, E. J.; McMeekin, T. L.; Ferry, J. D.; Blanchard, M. H. *Journal of Physical Chemistry* **1939**, *43*, 169.
- (57) Seidell, A. *Solubilities of organic compounds*; D. Van Nostrand Company: New York, 1943.
- (58) Cohn, E. J. *Naturwissenschaften* **1932**, *20*, 663.
- (59) Orella, C. J.; Kirwan, D. J. *Biotechnology Progress* **1989**, *5*, 89.
- (60) Ramasami, P. *Journal of Chemical and Engineering Data* **2002**, *47*, 1164.
- (61) Smith, E. R. B.; Smith, P. K. *Journal of Biological Chemistry* **1937**, *117*, 209.
- (62) Smith, E. R. B.; Smith, P. K. *Journal of Biological Chemistry* **1940**, *132*, 47.
- (63) Smith, P. K.; Smith, E. R. B. *Journal of Biological Chemistry* **1937**, *121*, 607.

- (64) Ellerton, H. D.; Reinfelds, G.; Mulcahy, D. E.; Dunlop, P. J. *J. Phys. Chem.* **1964**, *68*, 398.
- (65) Hutchens, J. O.; Figlio, K. M.; Granito, S. M. *J. Biol. Chem.* **1963**, *238*, 1419.
- (66) Kuramochi, H.; Noritomi, H.; Hoshino, D.; Nagahama, K. *Journal of Chemical and Engineering Data* **1997**, *42*, 470.
- (67) Ninni, L.; Meirelles, A. J. *Biotechnology progress FIELD Publication Date: 2001 Jul-Aug* **2001**, *17*, 703.
- (68) Khoshkbarchi, M. K.; Vera, J. H. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **1996**, *35*, 2735.
- (69) Renon, H.; Praustniz, J. M. *AIChE Journal* **1968**, *14*, 135.
- (70) Gupta, R. B.; Heidemann, R. A. *AIChE Journal* **1990**, *36*, 333.
- (71) Larsen, B. L.; Rasmussen, O.; Fredenslund, A. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1987**, *26*, 2274.
- (72) Kikic, I.; Alessi, P.; Rasmussen, P.; Fredenslund, A. *Can. J. Chem. Eng.* **1980**, *58*, 253.
- (73) Ghotbi, C.; Vera, J. H. *Can. J. Chem.* **2001**, 678.
- (74) Mortazavi-Manesh, S.; Ghotbi, C.; Taghikhani, V. *Journal of Chemical Thermodynamics* **2003**, *35*, 101.
- (75) Weissberg, A.; Rossiter, B. *Physical methods of chemistry*; Willey-Interscience: New York, 1957.
- (76) Peres, A. M.; Macedo, E. A. *Chemical Engineering Science* **1994**, *49*, 3803.
- (77) Albright, J. G.; Rizzo, P.; Rard, J. A. *J. Chem. Thermodynamics* **1998**, *30*, 327.
- (78) Archer, D. G. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1992**, *21*, 793.
- (79) Harned, H. S.; Cook, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, *59*, 1290.
- (80) Khoshkbarchi, M. K.; Vera, J. H. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1998**, 3052.