



Casa abierta al tiempo



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

División de Ciencias Básicas e Ingeniería

Posgrado en Química

Determinación de la constante de formación del complejo Cu-Q

Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias

Que presenta:

Lic. en Q. Juan Carlos Ruiz Pineda

Bajo la dirección de:

Dra. María Teresa Ramírez Silva UAM-Iztapalapa, México

Junio 2021

1. Tabla de contenido

Dedicatorias.....	5
Agradecimientos.....	6
Resumen.....	7
1. Marco teórico.....	8
1.1 Introducción General.....	8
1.2 Antecedentes.....	10
1.2.1 Flavonoides.....	10
1.2.2 Uso de los antioxidantes.....	11
1.2.3 Flavonoides como prooxidantes.....	13
1.2.4 Quercetina (Q)	13
1.2.5 El Cobre.....	15
1.2.6 Cobre como antiséptico y antiviral	17
2. Objetivo general	19
3. Hipótesis.....	19
4. Estudio de la Q	19
4.1 Introducción.....	19
4.2 Diagrama de distribución de especies para Q.....	20
4.3 Estudios Experimentales de quercetina.....	23
4.3.1 Objetivos	23

4.3.2	Reactivos y soluciones.....	23
4.3.3	Soluciones preparadas.....	23
4.3.4	Instrumentación.....	24
4.3.5	Manejo de las soluciones.....	24
4.3.6	Procedimiento experimental.....	24
4.3.7	Variación de la Concentración de Q utilizando Uv-Vis.....	25
4.3.8	Estabilidad de la Q.....	26
4.3.9	Discusión de resultados.....	28
4.3.10	Conclusión.....	28
5.	Cobre.....	29
5.1	Introducción.....	29
5.2	Uso del software Hydra-Medusa para el estudio del comportamiento de ion metálico Cu^{+2}	30
5.2.1	Objetivos.....	30
5.3	Metodología.....	31
5.4	Resultados Estudio teórico de las sales de Cobre.....	31
5.4.1	Acetato de Cobre ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$).....	31
5.4.2	Nitrato de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$).....	33
5.4.3	Cloruro de Cobre (CuCl_2).....	34
5.5	Conclusiones.....	36
6.	Complejo $\text{Cu}_x\text{-Q}$	37
6.1	Introducción.....	37
6.2	Objetivos generales.....	38
6.3	Hipótesis.....	38
6.4	Metodología, reactivos y materiales.....	38

6.4.1	Metodología	38
6.4.2	Reactivos	39
6.4.3	Equipos y Materiales.....	39
6.5	Estudios de los complejos Cu-Q.....	40
6.5.1	Condiciones generales de los experimentos.....	40
6.5.2	Preparación de soluciones:	41
6.5.3	Condiciones generales de los estudios de estabilidad, variación de pH y relaciones molares.	41
6.6	Resultados de los complejos de Cu ²⁺ -Q.....	43
6.6.1	Complejo Cu _{(CH₃OO)₂-Q}	43
6.6.2	Complejo Cu _{(NO₃)₂-Q}	7
6.6.3	Complejo Cu _{Cl₂-Q.....}	19
Conclusiones.....		32

Dedicatorias

La presente Tesis está dedicada a mi madre y a mi familia que siempre he recibido su apoyo en todo momento.

A mi asesora de tesis María Teresa Ramírez Silva, que me ha brindado su apoyo para concluir esta investigación, otorgando el tiempo adecuado para la revisión del trabajo y a todos aquellos momentos que fueron complicados, pero siempre con su sabiduría y experiencia ha encontrado las palabras adecuadas para motivarme.

A mi compañera Ángela Gabriela y María de los Ángeles que me ayudaron a la revisión de mis faltas ortográficas, así como su apoyo en esos momentos cuando ya no sabía qué hacer y por todas esas grandes ideas que se le ocurrían dándome aliento a continuar.

Agradecimientos

Son varias las personas que han contribuido al proceso y conclusión de este trabajo. En primer lugar, quiero agradecer a la Dra. María Teresa Ramírez Silva, directora de esta tesis y una excelente maestra, fue la primera persona que creyó en mí y situó paciencia en sus enseñanzas desde el primer momento de manera personal e institucional y me alentó para que concluyera esta investigación.

Al Dr. Alberto Rojas, fue un maestro importante en esta etapa de mi vida ya que me enseñó la importancia de la química analítica en sus cursos muy especializados que realiza, además del apoyo que nos brinda a todos en el laboratorio y por su esfuerzo en todo momento.

A CONACYT por el apoyo brindado en este proyecto. Finalmente agradezco a quien lee este apartado, por permitir adquirir la experiencia, la investigación y conocimiento e incurrir dentro de su repertorio de información mental.

Gracias a mis compañeros de laboratorio, en especial a Julio Alva Ensategui que es un buen compañero, Brisa Verastegui con sus buenas pláticas y actitudes, Dafne con sus consejos de manejo de los equipos.

Gracias a dios por permitirme estar aquí y darme la oportunidad de cumplir mis metas.

Gracias a CONACyT por el apoyo otorgado con el número de becario 508396.

1. Resumen

En este trabajo se realizó un estudio para determinar las condiciones de la formación del complejo **Cu_x-Q** (x = (CH₃COO)₂, (NO₃)₂, Cl₂) además de calcular la constante de formación aparente **K_{ap}** de acuerdo Benesi and Hildebrand, Ec. 1, debido a la complicación del sistema no se obtuvieron las constantes de formación usando el método computacional SQUAD.

$$\frac{[Lo]}{(A-A_0)} = \frac{1}{(\epsilon_{ML}-\epsilon_L)} + \frac{1}{(\epsilon_{ML}-\epsilon_L) K_{ap} [M_0]} \quad \text{Ec. 1}^1$$

A partir de los datos reportados por Álvarez-Diduk (2014), se realizaron los DEP (Diagramas de especies de predominio) para la **Q**; los datos que se obtenidos fueron usados para realizar estudios espectrofotométricos UV-Vis determinando la estabilidad y solubilidad en ClO₄⁻. Mientras que para el metal de transición **Cu(II)** se realizó un estudio de DZP's (diagramas de zonas de predominio) a bajas concentraciones con ayuda de la herramienta computacional HYDRA-MEDUSA. ²

Las condiciones obtenidas anteriormente se usaron para la formación del Complejo Cu_x-Q analizándolo en un pH de 4.500 a 6.230 (aproximadamente) por espectroscopia de UV-Vis, con concentraciones de Cu²⁺ de 4.5 x 10⁻⁵ M hasta 4.88 x 10⁻³ M y una concentración de 4.5 x 10⁻⁵ M para la Q, la banda de absorción de 370 nm a 550 nm fue asignada al complejo.

2. Marco teórico

2.1 Introducción General

La ingesta de frutas y verduras que contienen cantidades importantes de compuestos con actividad biológica benéfica para la salud son los compuestos polifenólicos, éstos tienen actividad antioxidante además son especies reactivas al oxígeno, reaccionan con radicales libres y presentan reacciones de quelación con metales de transición. Un grupo importante de este tipo de compuestos son los flavonoides, su consumo en la dieta ayuda a disminuir efectos negativos en la salud, por ejemplo, en las enfermedades relacionadas con estrés oxidativo como son las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la diabetes, enfermedades neurodegenerativas, Alzheimer, Parkinson, entre otras.^{3,4,5} Los flavonoides pertenecen a una gran cantidad de componentes fenólicos de las plantas y se presentan como derivados de la 2-fenil-benzo- γ -pirona. Los átomos de carbono en las moléculas de flavonoides se ensamblan en dos anillos de benceno, comúnmente denominados A y B, que están conectados por un anillo de pireno que contiene un oxígeno, anillo C. Una parte común en la estructura química de todos los flavonoides es el esqueleto de carbono basado en el sistema flavánico (C6-C3-C6) (Figura 1).^{6,7,8,9}

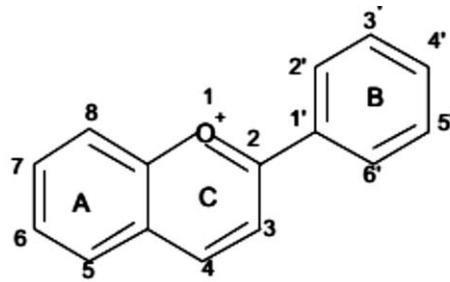


Figura 1 esqueleto de los flavonoides.

Debido a las diferencias en la estructura, los flavonoides se clasifican en flavonoides, flavanonas, flavonoles, isoflavonas, flavonas y antocianinas.

Su capacidad actividad antioxidante y la capacidad de formar complejos con metales de transición de los flavonoides, es lo que los hace importantes en la industria alimenticia y farmacológica.^{10 11}

Los complejos con metales de transición, también es considerado como un antioxidante, esta cualidad la poseen los flavonoides, aunque no se conoce con exactitud el mecanismo de reacción por el cual llevan a cabo la quelación de los iones metálicos.¹²

Muchas de las técnicas usadas para determinar propiedades de los complejos de flavonoides con metales de transición son RMN, Espectroscopia IR, Uv-Vis, esta última está basada en el proceso de absorción de la radiación ultravioleta-visible (radiación con longitud de onda comprendida entre los 160 y 780 nm) por una molécula. La absorción de esta radiación causa la promoción de un electrón a un estado excitado. Los electrones que se excitan al absorber radiación de esta frecuencia son los electrones de enlace de las moléculas, por lo que los picos de absorción se pueden correlacionar con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto. Debido a ello, la espectroscopía UV-Vis se utiliza para la identificación de los grupos funcionales presentes en una molécula. Las

bandas que aparecen en un espectro UV-Vis son anchas debido a la superposición de transiciones vibracionales y electrónicas.

2.2 Antecedentes

2.2.1 Flavonoides

En las plantas se encuentran presentes los polifenoles y se pueden dividir en: flavonoides, flavanonas, flavonoles, isoflavonas, flavonas y antocianinas. Flavonoide es el nombre genérico de un grupo de moléculas generado por el metabolismo secundario de los vegetales, tienen propiedades organolépticas, efectos promotores de la salud.¹³

Los efectos que se les atribuyen a los flavonoides se ven sobretodo en funciones específicas del organismo mejorando el estado de salud, es que poseen propiedades antitumorales, antiinflamatorias, antioxidantes, farmacológicas, antialérgicos, antivirales, anticancerígenas, así como, inhibición de enzimas que producen la oxidación, terapéuticas, citotóxicas, actividad vascular, evitando problemas asociados a los radicales libres, los cuales en su mayoría se derivan del oxígeno; además de que se ha encontrado que los flavonoides poseen una gran capacidad para reducir problemas de la enfermedad coronaria.^{14,15,16,17}

El creciente interés en el estudio de los flavonoides se debe a sus beneficios que se han mencionado anteriormente y se han descrito para estudios que se realizaron para enfermedades como la diabetes mellitus, alergia, cáncer, enfermedades coronarias del corazón, infecciones virales e inflamaciones.

7

Las constantes de disociación de flavonoides se han vuelto fundamentales para entender su comportamiento en aplicaciones en los estudios

bioclínicos y farmacológicos. Estos compuestos presentan varios grupos hidroxilo ionizables con valores de pKa relativamente cerca uno del otro y por lo tanto, la determinación precisa de estas constantes de disociación altamente alcalina es una tarea difícil. 18

2.2.2 Uso de los antioxidantes

El oxígeno es un compuesto esencial en el metabolismo de todos los organismos aerobios, ya que participa en diversas reacciones de oxidación, incluyendo la respiración. Durante estos procesos el oxígeno molecular se reduce, dando origen a las llamadas especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), que en su mayoría son radicales libres, éstos pueden generarse también a partir de fuentes exógenas, como las radiaciones ionizantes, ultravioleta, la visible o térmica, drogas antitumorales, algunos productos químicos carcinogénicos, agentes contaminantes, pesticidas y humo del cigarro; varios estudios han asociado las ROS a enfermedades como cáncer, problemas cardiacos o al natural envejecimiento humano. 19 20

La oxidación causada por los radicales libres puede ser neutralizada mediante el uso de antioxidantes naturales o sintéticos. 19

Una serie de estudios científicos se han enfocado en los beneficios de la implementación de antioxidantes para la salud humana en procesos como el estrés, el envejecimiento, la apoptosis y las enfermedades neurológicas, además se ha demostrado una disminución dramática en las lesiones en atletas con la simple adición de un buen complejo antioxidante en los suplementos deportivos.

Muchos antioxidantes son usados en la industria de alimentos, por su capacidad conservadora aplazando el desarrollo del olor rancio, disminuyendo la posibilidad de generación de compuestos tóxicos, evitan la decoloración de los pigmentos, cambios en la textura, disminución en la pérdida de valor nutricional causada por la degradación de los ácidos grasos esenciales y por la destrucción de las vitaminas A, E y D. 22 23

Los vegetales poseen una variedad de compuestos químicos que tienen propiedades antioxidantes, entre los que destacan los polifenoles, antocianinas, carotenos, flavonoides entre otros, que pueden ser inocuos para la salud. Estos últimos se han estudiado como antivirales, más notablemente para el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) el agente causante de SIDA, algunos flavonoides parecen tener actividad directa de inhibición en los virus, esto es aparentemente verdad para Baicalin (5,6,7-Trihidroxiflavona-7-glucurónido) del *Scutellaria baicalensis*. 21

Otros flavonoides son inhibidores de las enzimas requeridas para la replicación viral, dos biflavonas han mostrado tener esta actividad, Robustablafona e hinokiflavona, los cuales son activos contra la transcriptasa reversible VIH-1. También la quercetina aislada, es activo contra VIH. 21,23

La quercetina y otros flavonoides interfieren en un claro evento en el ciclo de vida de los virus. 21,24

2.2.3 Flavonoides como prooxidantes

Los flavonoides tienen propiedades prooxidantes sólo a concentraciones muy altas, debido a las características estructurales de algunos flavonoides, como las antocianidina dando lugar a bajos potenciales de oxidación que les permite reducir el Fe^{3+} y el Cu^{2+} para sufrir una autooxidación o incluso involucrarse en un proceso redox, actuando de esta manera como agentes prooxidantes, lo que explica los efectos mutagénicos y genotóxicos de algunos flavonoides. Algunos de estos mecanismos incluyen la reducción temporal de Cu (II) a Cu (I), la autooxidación del radical aroxilo genera el anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), siguiendo su secuencia en la generación del dañino radical hidroxilo (HO^{\cdot}). Lo que determina el carácter antioxidante o prooxidante, es la estabilidad/labilidad redox del compuesto para formar radicales a partir del flavonoide original. 25

2.2.4 Quercetina (Q)

La quercetina es un flavonol ubicuo en plantas comestibles y ha sido objeto de una investigación detallada con respecto a sus propiedades antioxidantes y otras propiedades biológicas.

Las reacciones que involucran al flavonoide quercetina han mostrado diferentes productos de oxidación, lo cual es un problema en un organismo; a cantidades adecuadas en la dieta nutrimental en los seres vivos pueden actuar como antioxidantes teniendo en cuenta que se le puede sumar la actividad quelante de los flavonoides, ayudando a disminuir la concentración de los metales pesados en el organismo y

evitando las ROS. Se ha encontrado que el producto de oxidación de la quercetina es el heterodimero de quercetina que se muestra en la **Figura 2** y **Figura 3** este posee menor capacidad antioxidante que la molécula de quercetina. **26,27**

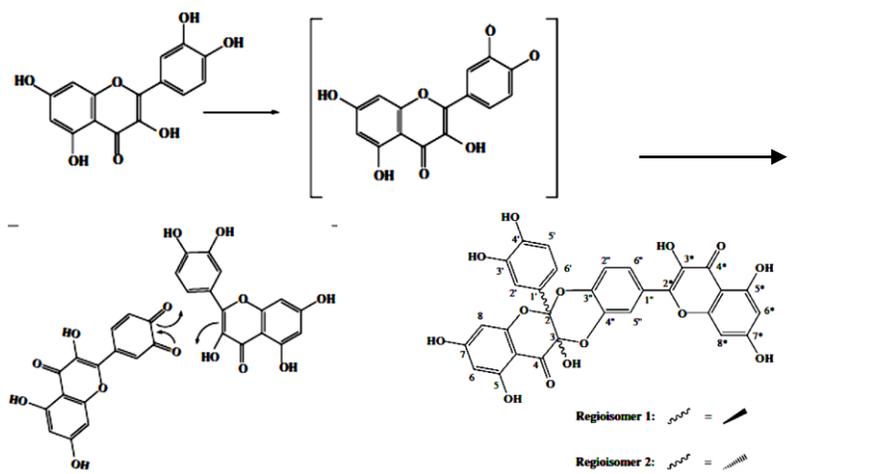


Figura 2. Mecanismo de oxidación de la Q

En la cebolla roja seca, la concentración de quercetina se encontró que era tan alta como 2.1% w/w. El contenido total de quercetina en cebolla es 300 mg / kg, que es considerablemente mayor que en muchas otras frutas y verduras. **28**

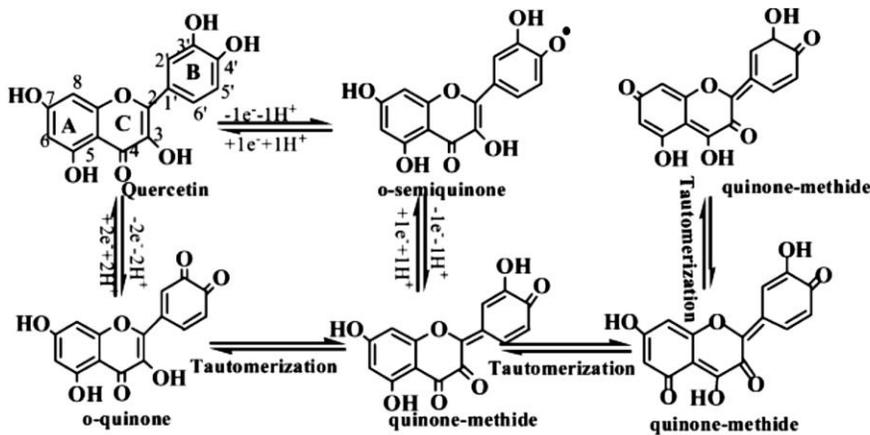


Figura 3. Mecanismo de oxidación de la Q.²⁹

2.2.5 El Cobre

2.2.5.1 El cobre en los alimentos

El cobre lo necesitamos para el buen funcionamiento del cuerpo. La mayoría de lo que requerimos de este metal es proporcionada por los alimentos, en la ingesta de agua se aporta una buena fracción y otra parte es aportada por el consumo de suplementos minerales.³⁰ El contenido de cobre de los alimentos varía según el tipo y el procesamiento de éstos. Los cereales procesados tienen un menor contenido de cobre que los integrales.³¹ En las plantas y animales hay variaciones en su contenido de cobre, relacionado con la especie, así como las condiciones en que crecen y se desarrollan. En las plantas influyen las condiciones del suelo y el tipo de fertilizante utilizado, mientras que en los animales el contenido de este mineral depende, en parte, de la dieta que éstos consuman. En la **Tabla 1** se muestra los alimentos que contienen una mayor cantidad de Cobre.³²

Tabla 1. Cantidad de cobre en los alimentos.

Mariscos	Vísceras	Legumbres
<ul style="list-style-type: none"> • Ostras • Almejas • Camarones • Jaibas • Otros crustáceos 	<ul style="list-style-type: none"> • Hígado • Riñones • Cerebro 	<ul style="list-style-type: none"> • Lentejas • Garbanzos • Soya
Hongos	Semillas	Otros
<ul style="list-style-type: none"> • Champiñones 	<ul style="list-style-type: none"> • Nueces • Maní • Almendras • Girasol 	<ul style="list-style-type: none"> • Huevos • Cereales integrales • Frutas secas • Papas • Chocolate

2.2.5.2 Metabolismo del Cobre

Empieza con la ingesta de alimentos que van directo al estómago, este tiene un ambiente ácido que favorece la liberación del cobre desde el agua y los alimentos. La absorción ocurre principalmente en el intestino delgado. La cantidad de cobre absorbido depende en parte de la cantidad total contenida en la dieta y de los componentes que lo acompañan. Por ejemplo, hay sustancias que favorecen su absorción, como las carnes; en cambio, la leche, algunos azúcares y otros minerales (zinc) la disminuirán. Cuando el cobre se absorbe en el intestino es llevado al hígado, donde se almacena y se entrega de manera muy regulada a los distintos sistemas que lo necesitan. El cobre que se libera siempre va unido a alguna proteína y es eliminado a través de la bilis que se deposita nuevamente en el intestino y eliminado por las deposiciones.[33](#), [34](#), [35](#), [36](#), [37](#)

2.2.5.3 Cobre en el agua potable

Las aguas superficiales y subterráneas contienen cobre ya que se encuentra depositado en los minerales. El agua al ser transportada por tuberías de cobre puede aumentar el contenido, por la corrosión de la tubería. Algunos factores que aumentan la solubilidad del Cobre metálico es usando aguas ácidas o blandas y con el aumento de la temperatura. Las aguas potables tienen un contenido de cobre bastante bajo, (menor de 0.1 mg por litro). La forma en que el cuerpo regula el cobre depende de la cantidad contenida en el agua, por ejemplo, si tiene una concentración inferior a 0.1 mg de cobre por litro, el aporte de cobre en los alimentos representa el 90% (es decir 0.8 mg) de las necesidades del adulto.³⁸

2.2.6 Cobre como antiséptico y antiviral

Se han reportado tres funciones principalmente importantes que tiene el cobre sobre los microorganismos para inhibir sus funciones:

1. El cobre inhibe o altera la síntesis de proteínas, con lo que impide que efectúe procesos claves del metabolismo (actividad bacteriostática).³⁹
2. El cobre puede alterar la permeabilidad de la membrana celular de los microorganismos, causando la peroxidación ya que induce el daño oxidativo de los lípidos, que son clave en el intercambio de moléculas del medio intracelular al extracelular y viceversa (actividad bacteriostática).⁴⁰
3. El cobre destruye o altera los ácidos nucleicos (DNA) de bacterias y virus, pero no es mutagénico. Su acción provoca que los

microorganismos pierdan su capacidad de multiplicarse (actividad bactericida).⁴¹

2.2.6.1 Cobre es esencial en la vida diaria

El cobre es indispensable en los organismos vivos para un normal crecimiento y desarrollo, así como para desempeñar adecuadamente sus funciones biológicas, este elemento es esencial porque forma parte de algunas proteínas que se necesitan para llevar a cabo procesos indispensables para mantener vivo al organismo. El cobre se encuentra dentro de los organismos como iones Cu (II) y Cu (I), los cuales se encuentran quelados por grupos que contienen átomos de N, S y O. En la **Tabla 2** se pueden apreciar algunas de las enzimas que necesitan de este elemento para su correcto funcionamiento.

Tabla 2. Principales enzimas que requieren cobre y sus funciones	
Enzima	Función
Superoxido dismutasa	Estrés oxidativo
Lisil oxidasa	Metabolismo del colágeno y elastina
Ceruloplasmina	Metabolismo del hierro
Dopamina monooxigenasa	Producción de catecolaminas, hormonas y neurotransmisores
Tirosinasa	Síntesis de melanina (coloración a la piel y pelo)

Un exceso de cobre puede ser citotóxico, ya que puede producir radicales hidroxilos libres altamente perjudiciales por las reacciones de Fenton o de Haber-Weiss. Su toxicidad se debe a la acumulación de cobre en exceso en

los órganos del cuerpo, incluyendo el hígado y el cerebro, las enfermedades que se han reportado por un exceso de este metal son la enfermedad de Wilson (WD) y la enfermedad de la cirrosis infantil de la India. ⁴²

2.2.6.2 Importancia del cobre en química.

En química se puede acceder fácilmente a los diferentes estados de oxidación del cobre y se pueden obtener desde Cu^0 , Cu^+ , Cu^{2+} hasta Cu^{3+} y que le permite llevar procesos de oxidación o reducción. Además, los diferentes estados de oxidación de cobre asociados bien con un gran número grupos funcionales diferentes a través de interacciones de ácidos de Lewis o coordinación π , le confieren una muy amplia gama de actividades que permiten al cobre catalizar la oxidación y unión oxidativa de muchos sustratos. ⁴³

3. Objetivo general

- Estudiar la formación del complejo $\text{Cu}_x\text{-Q}$ en medio ácido y calcular la constante de formación del complejo $\text{Cu}_x\text{-Q}$ usando SQUAD.

4. Hipótesis

Se asume que las constantes de formación del complejo no variarían si cambia el tipo de sal de Cu II .

5. Estudio de la Q

5.1 Introducción

En la actualidad es bien conocido que los compuestos fenólicos son los principales responsables de los beneficios derivados del consumo de alimentos de origen natural. Estos alimentos juegan un papel clave como antioxidantes debido a la presencia de grupos hidroxilo y a su estructura aromática, esta forma estructural les confiere la capacidad de reaccionar con radicales libres. En los sistemas biológicos se encuentran presentes los radicales libres y las especies reactivas de oxígeno (ROS); especies como el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) o el radical hidroxilo ($OH\cdot$) son moléculas inestables que pueden dañar a las células por reacciones químicas en cadena. Compuestos como ácidos fenólicos, polifenoles y flavonoides actúan como agentes reductores que evitan la reacción oxidante atrapando las ROS antes de que causen daño. ⁴⁴

La mayoría de los compuestos antioxidantes provienen de fuentes naturales como son los granos, frutas y vegetales; mientras que algunos también son sintetizados artificialmente como las vitaminas C, E y carotenos.

Un ejemplo de flavonoide que tiene las características antes mencionadas, es la quercetina, sin embargo, se puede observar que un exceso de éste tiene un efecto perjudicial, ya que puede actuar como prooxidante, ⁴⁵ por ello es importante el estudio de su comportamiento, una de las técnicas usadas es la espectroscopia UV-Vis ya que es reproducible, además de que el tiempo en el cual se analiza es breve y accesible. Para mejorar la obtención de datos de los espectros se usan los DZP's, para determinar la especie que predomina a diferentes pH's.

5.2 Diagrama de distribución de especies para Q

La realización de los DZP's para Q, se realizó de acuerdo a Alvarez-Diduk (2013). La forma más estable para un intervalo de pH se puede mostrar en la **Figura 4**. Este comportamiento de desprotonación también lo podemos obtener no solo con el pH, sino también con la presencia de diferentes compuestos como el oxígeno molecular, CO₂, o presencia de metales.

Se realiza un estudio de diagramas de distribución de especies para quercetina, lo cual nos permite conocer los protones que tiene la Q según el pH en el que se encuentra.

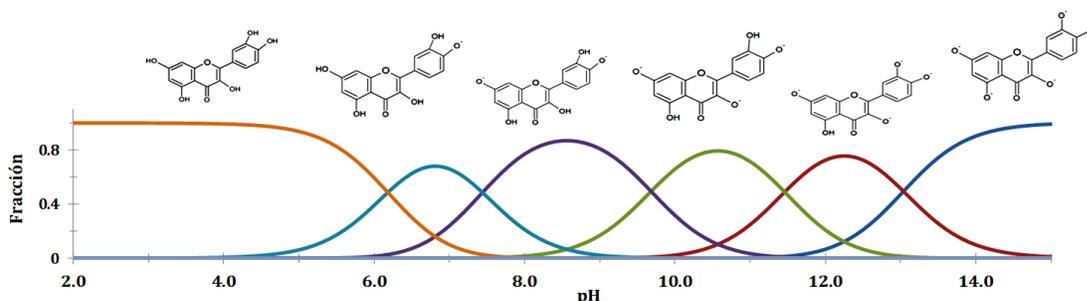


Figura 4. Diagramas de distribución de especies para Q.

La **Q** presenta 6 estructuras que se han reportado por Alvarez-Diduk (2013), estas formas estructurales nos dan la importancia que tiene la variación de pH en la solución en la que se pretende realizar el estudio de este trabajo.

Cuando se va modificando el pH en la solución vemos que los grupos hidroxilo sufran desprotonaciones, en el intervalo de pH entre 2 a 4.5, hay sólo una especie que predomina, todos los grupos hidroxilo se encuentran completamente protonados, en el intervalo de pH 4.5 a 6 vemos que ya hay una mezcla de dos formas estructurales de la quercetina, en este intervalo

podemos decir que la reacción que se lleva a cabo es el mostrado en la **Figura 5:**

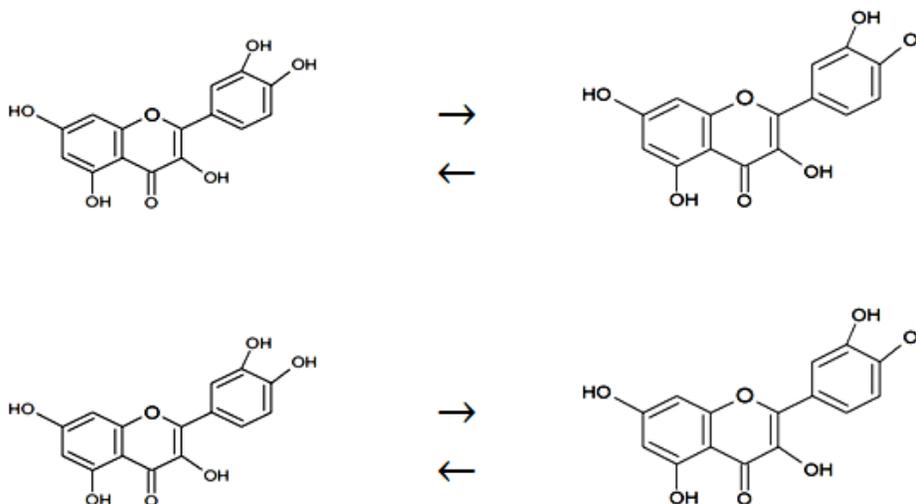


Figura 5. Primera desprotonación de la Q. 46

La estabilidad de la **Q** a pH ácido es mayor, debido a que no reacciona rápidamente, los productos de auto-oxidación dependen del pH, siendo pH's mayores que 6 en donde se presentan más dificultades para analizar, con forme va aumentando el pH de la solución, éste presenta mayor facilidad de autooxidación.

5.3 Estudios Experimentales de quercetina

5.3.1 Objetivos

1. Determinar el intervalo de concentración a la cual la señal de la Q es detectable.
2. Determinar la cantidad de Q en la que su concentración tiene un comportamiento lineal.

5.3.2 Reactivos y soluciones

- Quercetina al 98%, 2-(3,4-Dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxi-4-1-benzopirán-4-ona dihidrato, 3,3',4',5,7-Pentahidroxi flavona dihidrato (338.27 g mol⁻¹) de sigma-aldrich.
- Ácido Perclórico HClO₄ al 72% (100.46 g mol⁻¹) que es obtenido de J.T. Baker.
- Metanol al 99.99% de J.T. Baker.
- NaOH 98 % de J.T. Baker
- Agua desionizada obtenida de un equipo Millipore Milli-Q de resistividad de 18.2 MΩ·cm. Se Burbujea con N₂↑ (1 minuto por cada mililitro).

5.3.3 Soluciones preparadas

- Quercetina 10⁻³ M en metanol 47
- HClO₄ 0.1 M en agua desionizada.
- NaOH de: 0.01 M, 0.02 M, 0.050 M, 0.10 M, 0.50 M, 1.00 M y 2.00 M

5.3.4 Instrumentación

Las mediciones se realizaron utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Lambda de Perkin-Elmer y celdas de cuarzo de 1.0 ml. Se utiliza un pH-metro marca Elmer Toledo 281.

5.3.5 Manejo de las soluciones

- El agua utilizada debe estar libre de carbonatos y de CO₂, incluso después de haberla tomado del equipo Millipore.
- Para disminuir la oxidación de la Q en condiciones de temperatura ambiente 20 °C, es la temperatura a la cual se encuentra generalmente el laboratorio. Para asegurar que al mezclar dos sustancias tengan la misma temperatura, se llevó a cabo en una celda de vidrio.
- Se mantuvieron tapadas todas las soluciones cubriéndolas para que no fueran irradiadas con luz proveniente de las lámparas del laboratorio, la Quercetina reacciona muy rápido y genera productos de auto-oxidación como los dimeros y la quercetina oxidada. 48

5.3.6 Procedimiento experimental

De los diagramas de distribución de especies químicas se eligió un pH para estudiar la quercetina, se analizó su comportamiento a un pH de 4.50 a diferentes concentraciones.

La solución de ClO_4^- 0.1 M fue ajustada al pH deseado con soluciones de NaOH.

5.3.7 Variación de la Concentración de Q utilizando Uv-Vis

Con la finalidad de conocer la cantidad de quercetina que se podía trabajar sin que presentara precipitación en la solución de ClO_4^- 0.1 M se realizó un estudio de concentraciones de quercetina, este estudio es mostrado en los espectros de Uv-Vis de la **Figura 6**, dando como resultado los siguientes datos: el intervalo de concentraciones a las cuales se pueden trabajar sin presentar precipitación es de $(0.61 \pm 0.01) \times 10^{-5}$ M hasta $(7.17 \pm 0.09) \times 10^{-5}$ M. También se muestran los máximos de absorción a la longitud de onda de 368 nm, estos datos obtenidos son ajustados a una regresión lineal cuya pendiente es 0.0157 ± 0.0002 ($\times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$), Ordenada al origen 0.018 ± 0.001 , el límite de detección y de cuantificación son $\text{LOD} = 3.2333 \times 10^{-6}$ M y $\text{LOQ} = 6.6302 \times 10^{-6}$ M, respectivamente.

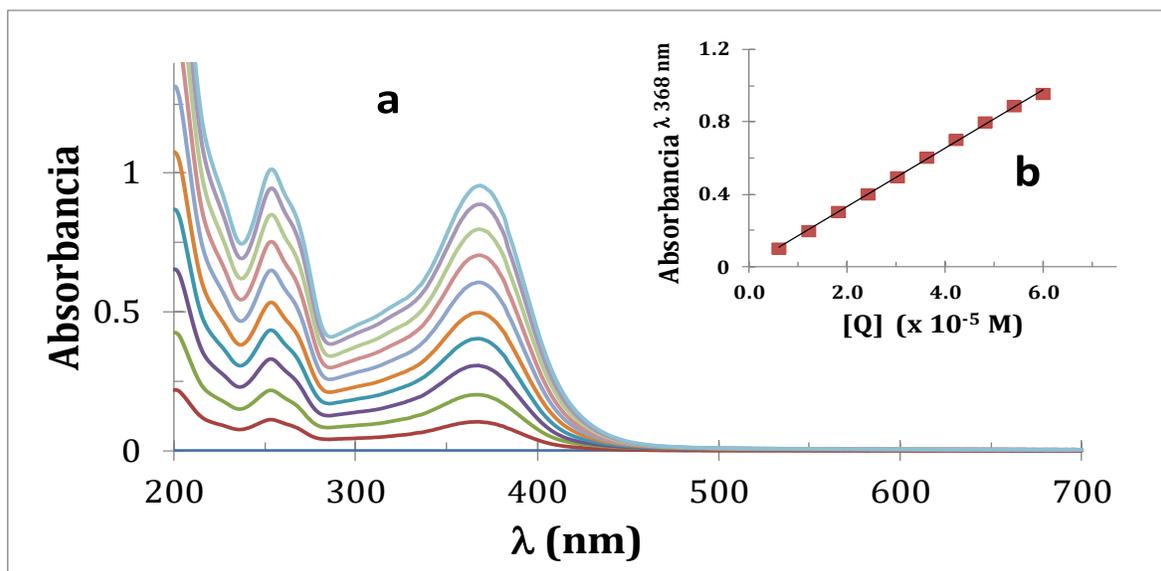


Figura 6. Curva de calibración de la Quercetina en ClO_4^- 0.100 ± 0.001 M, $\text{pH}=4.50$, concentraciones de Quercetina de 0.611 ± 0.01 ($\times 10^{-5}$) M hasta 6.00 ± 0.07 ($\times 10^{-5}$) M.

5.3.8 Estabilidad de la Q

Se analizó el comportamiento de la solución de **Q** a las condiciones antes mencionadas de este estudio, se pretendió conocer si existe una autooxidación de la **Q**, estos resultados fueron utilizados posteriormente en el estudio de interacción con cobre (II).

En la **Figura 7** se analiza el comportamiento de la **Q**, se elige $\text{pH}=4.5$ se observa que las dos bandas que se muestran, están asociadas al grupo catecol y otra al grupo cinamoil, disminuyen casi a la misma velocidad, esto se debe a que la interacción de la luz proveniente del equipo hace que se autooxide y su comportamiento es lineal.

Adicionalmente se puede observar que el tiempo en el que se mantiene la solución es de 9.83 minutos, después se presenta una precipitación color amarillo, como se muestra en la **Figura 7B**.

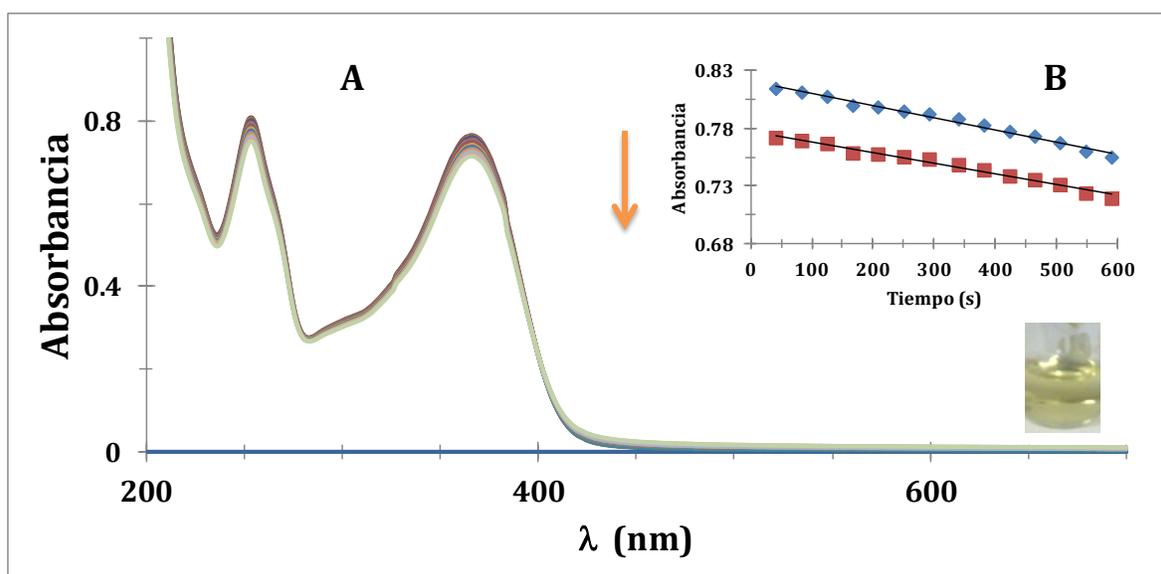


Figura 7.A) Estabilidad de la quercetina pH 4.5 sin tratamiento térmico del agua. B) comportamiento de los dos máximos de absorción de la quercetina, 253 puntos en azul y 368 nm puntos en rojo.

En la **Figura 8** se muestra el análisis del comportamiento de la solución de **Q** con agua desionizada adicionando un calentamiento de 85°C a 90 °C, esto después del tratamiento del agua que se describió en el manejo de las soluciones, esto con la finalidad de que se eliminen restos de CO₂ que se absorbe rápidamente al sacarla del equipo de Millipore, ya que el agua desionizada rápidamente se carbonata aunque sea un poco y eso hace que la solución de **Q** se vea afectada por la oxidación y se puede apreciar que la solución se mantiene más estable.

Las ecuaciones que representan la estabilidad para la quercetina son $A = -4 \times 10^{-5} t + 0.801403$ y un R² de 0.889 para el máximo de absorción de 253 nm y para el de 366 nm la ecuación es de $A = -4 \times 10^{-5} t + 0.7614$ y una R² de 0.8811.

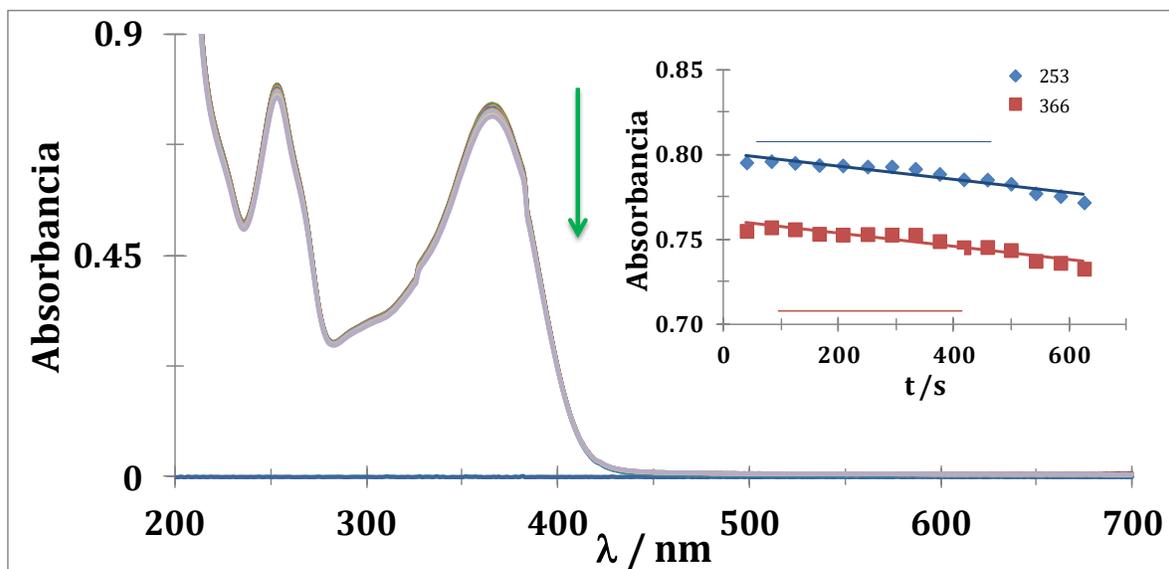


Figura 8. Comportamiento de la quercetina con tratamiento para eliminar pequeñas cantidades de interferentes (calentamiento del agua a 85 a 95 °C).

5.3.9 Discusión de resultados

En el estudio realizado para determinar la cantidad de **Q** que se utilizará, se puede apreciar que el comportamiento a pH =4.5 es lineal hasta las concentraciones que se manejaron, sin embargo, el aumento en la concentración de quercetina hace que precipite, formando una mezcla heterogénea de color amarillo. Con lo cual el intervalo de concentraciones para la quercetina que se elige es de $0.611 \pm 0.01 \times 10^{-5}$ M hasta $7.17 \pm 0.09 \times 10^{-5}$ M.

El análisis de la solución de quercetina que se disolvió en agua desionizada presenta un comportamiento lineal de la disminución de la absorbancia, para los dos máximos de absorción, además se aprecia una mayor velocidad de autooxidación, por otra parte la solución de quercetina que se trató con agua desionizada, seguida de la eliminación de CO₂ por calentamiento del agua, presenta una mejor estabilidad, sin embargo la linealidad se ve afectada, debido a que ya no hay control de los iones libres.

5.3.10 Conclusión

Se ha determinado el intervalo de concentraciones de **Q** de que se usarán en estudios posteriores, así como su tiempo en el cual es estable; todo esto es de gran interés para la formación del complejo, debido a que los tiempos o las concentraciones que se manejan no pueden ser las correctas afectaran en los espectros.

6. Cobre

6.1 Introducción

El cobre tiene una amplia utilidad, desde tuberías, monedas, circuitos electrónicos, dentro de la industria farmacéutica entre otras aplicaciones.⁴⁹ Aunque se conoce el cobre desde la Antigüedad y ha sido ampliamente utilizado por el hombre, además de ser uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre en forma de sulfuros, óxidos, carbonatos, etc., es un metal de transición considerado como un elemento traza,⁵⁰ indispensable para el funcionamiento neuronal. En promedio la concentración de cobre neuronal es de 0.1 mM y es superada por la cantidad que se almacena en el hígado. Por otra parte el Cu (II) ha sido

ampliamente estudiado en la formación de complejos, sirviendo en la química computacional para dar la formación y estructuras posibles en análisis computacionales. 51

Los diagramas de zonas de predominancia de pH son una representación de las regiones de estabilidad termodinámica de las especies en los sistemas metal-electrolito acuoso en función del pH para cada uno de los estados de oxidación de las especies. Estos diagramas pueden ser útiles para la construcción posterior de los diagramas de Pourbaix (diagramas potencial-pH) 52 53 54

6.2 Uso del software Hydra-Medusa para el estudio del comportamiento de ion metálico Cu²⁺.

6.2.1 Objetivos

1. Determinar la cantidad y el intervalo de pH para el cual el Cu²⁺ se mantiene como Cu²⁺ en la solución.
2. Analizar el comportamiento para tres diferentes sales de Cu²⁺.
3. Elegir cuál de las sales es la mejor para este trabajo.

Los complejos de Cobre son muy bastos y dependen de la cantidad de Cu²⁺ en solución, con la finalidad de determinar cuál de las sales presentan

menos complejos en diferentes zonas de pH se analizarán tres diferentes sales de cobre.

6.3 Metodología

Se analizó el comportamiento del ion Cu^{2+} , utilizando una herramienta computacional, el programa Hydra-Medusa. 55

Para un diagrama de zonas de predominio en un sistema cobre-agua se debe de considerar en total nueve especies de cobre, las cuales deben de agrupar por estados de oxidación:

Cuatro especies acuosas:

Estado de oxidación 1: Cu^+ .

Estado de oxidación 2: Cu^{2+} , $-\text{HCuO}_2$ y $2-\text{CuO}_2$.

Cuatro especies sólidas:

Estado de oxidación 0: Cu .

Estado de oxidación 1: Cu_2O .

Estado de oxidación 2: CuO y $\text{Cu}(\text{OH})_2$.

Una especie gaseosa:

Estado de oxidación - 1: CuH .

6.4 Resultados Estudio teórico de las sales de Cobre

6.4.1 Acetato de Cobre ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$)

Se analizó el comportamiento del ion Cu^{2+} en solución, para esto, como primer paso se realizó el diagrama de zonas de predominio para la sal de

$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en Acetato de Sodio (NaCH_3COO) 0.1 M, **Figura 9**. El ion Cu^{2+} no debería formar complejos en una solución de Acetatos 0.1 M. Las especies que se consideraron en el software de Hydra-Medusa fueron:

$$[\text{Cu}^{2+}] = 4.77 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{CH}_3\text{COO}^-] = 9.54 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{Na}^+] = 0.666 \text{ M}$$

Fuerza iónica de 0.1 M

6.4.1.1 Resultados

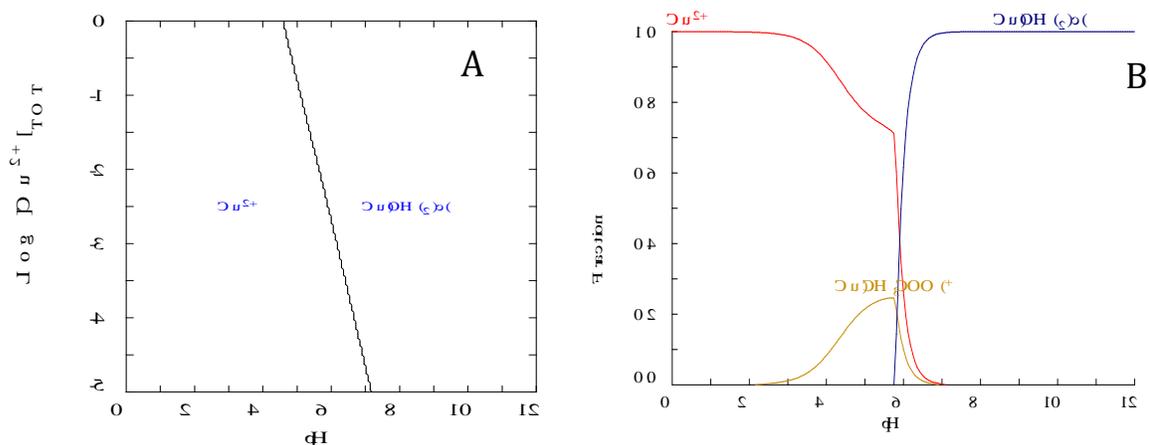


Figura 9. A) Diagrama de zonas de predominio y B) Diagrama de fracciones Molares para la sal $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$.

En el diagrama de zonas de predominio de la **Figura 9A** se observa que hay dos especies que predominan Cu^{2+} y $\text{Cu}(\text{OH})_2 \downarrow$. Se puede observar que el intervalo de trabajo para el Cu^{2+} es desde el $\text{pH} = 1$ hasta $\text{pH} = 6.5$ para las concentraciones que se dan. Sin embargo en el diagrama de fracciones molares (**Figura 9B**) podemos ver que el Cu^{2+} predomina de $\text{pH} = 0$ hasta $\text{pH} = 2.3$, y conforme el pH aumenta se muestran dos especies químicas, por un lado el Cu^{2+} y por otro, la formación de un complejo $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})^+$. A $\text{pH} = 4$ tenemos una fracción de 0.1 y para $\text{pH} = 5.9$ se tiene una fracción

de 0.25 mayoritariamente de la especie Cu^{2+} . Para pH's mayores que 6 se puede observar la precipitación de la especie $\text{Cu}(\text{OH})_2$.

6.4.2 Nitrato de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$)

Se analizó el comportamiento del ion Cu^{2+} en solución, para esto se realizó el diagrama de zonas de predominio para la sal de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ en ClO_3^{-1} 0.1

M. **Figura 10.**

Las especies que se consideraron en el software de Hydra-Medusa fueron:

$$[\text{Cu}^{2+}] = 1.14 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{NO}_3] = 2.28 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{Na}^+] = 0.666 \text{ M}$$

Fuerza iónica de 0.1 M

6.4.2.1 Resultados

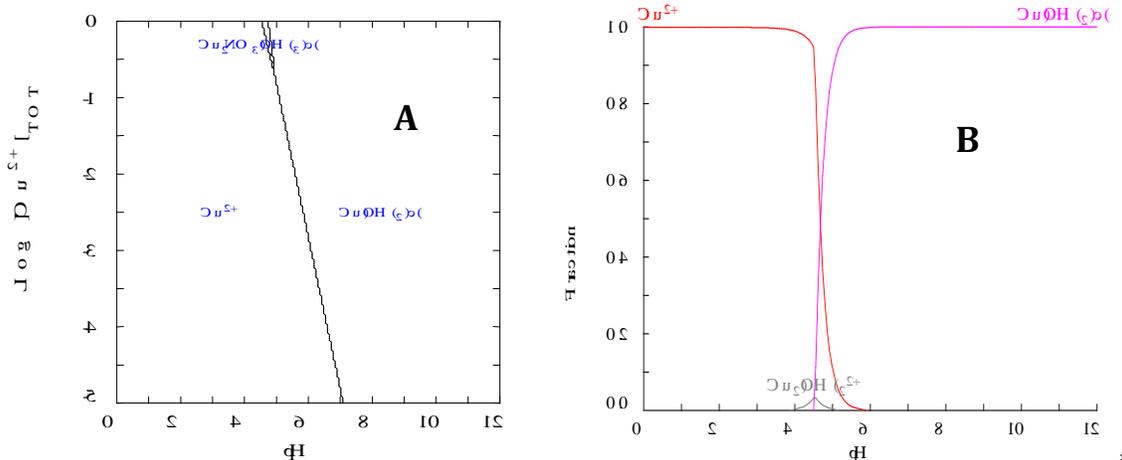


Figura 10 A) Diagrama de zonas de predominio y B) Diagrama de fracciones Molares para

El diagrama de zonas de predominio de la **Figura 10A**, se observa que hay dos especies que predominan Cu^{2+} para el pH de 1 a 7 y $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ↓ para pH mayor a 7, para concentraciones de $1 \times 10^{-5} \text{ M}$; a concentraciones mayores de 0.1 M vemos que se puede obtener un complejo con NO_3^- , el

$\text{Cu}_2\text{NO}_3(\text{OH})_3 \downarrow$. El intervalo de trabajo para el ion Cu^{2+} es desde el $\text{pH}=1$ hasta $\text{pH}=6.5$ para una concentración de 1×10^{-5} M, conforme va aumentando la concentración, el valor de pH va disminuyendo considerablemente hasta que a la concentración de 1×10^{-1} M el pH en donde se mantiene la especie $\text{Cu}(\text{II})$ es de 4.5. Por otro lado, en el diagrama de fracciones molares (**Figura 10B**) podemos ver que el Cu^{2+} predomina de $\text{pH}=1$ hasta $\text{pH} = 4.5$, después de este pH se muestra el predominio de la especie $\text{Cu}(\text{OH})_2 \downarrow$.

Dado estos resultados, el intervalo de pH que se utilizó para los experimentos posteriores, considerando únicamente el predominio de la especie Cu^{2+} , sin que tengamos mezclas de compuestos es de 1 a 4.5.

6.4.3 Cloruro de Cobre (CuCl_2)

Se analizó el comportamiento del ion $\text{Cu}(\text{II})$ en solución, para esto se realizó el diagrama de zonas de predominio para la sal de CuCl_2 en ClO_3^- 0.1 M, **Figura 11**.

Las especies que se consideraron en el software de Hydra-Medusa fueron:

$$[\text{Cu}^{2+}] = 4.32 \times 10^{-2} \text{ M}$$

$$[\text{Cl}^-] = 8.64 \times 10^{-2} \text{ M}$$

$$[\text{Na}^+] = 0.666 \text{ M}$$

Fuerza iónica de 0.1 M

6.4.3.1 Resultados

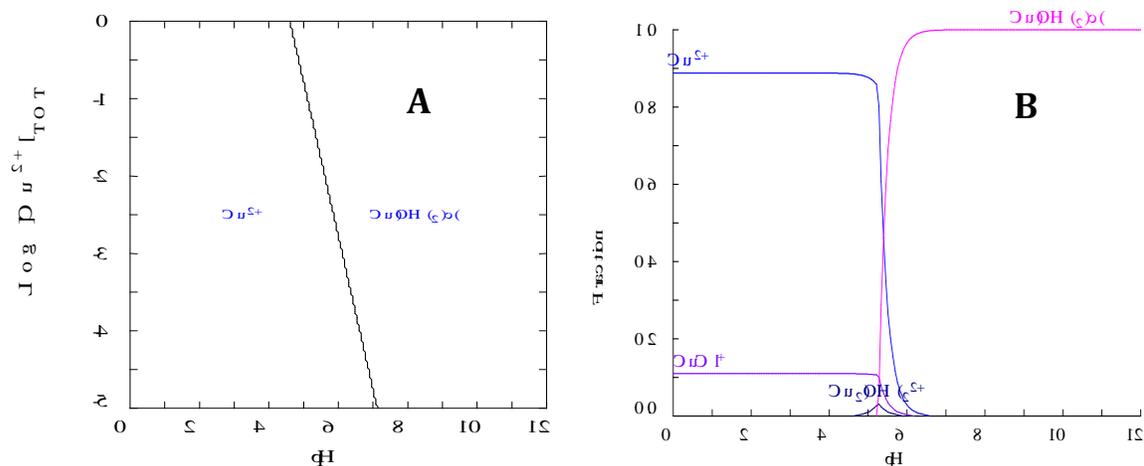


Figura 11 A) Diagrama de zonas de predominio y B) Diagrama de fracciones Molares para la sal CuCl_2 .

El diagrama de zonas de predominio, se observa que hay dos especies que predominan Cu^{2+} para el pH de 1 a 7 y $\text{Cu(OH)}_2 \downarrow$ para pH mayor a 7, para concentraciones de 1×10^{-5} M; a concentraciones mayores de 0.1 M vemos que el intervalo de pH se reduce hasta 4.7 por que empieza a presentarse el complejo de $\text{Cu(OH)}_2 \downarrow$. Utilizando el diagrama de fracciones molares se pueden observar la formación de de un complejo de cobre el CuCl^+ en equilibrio con Cu^{2+} , el intervalo de trabajo para el ion Cu^{2+} es desde el pH = 1 hasta pH= 5.5 para las concentraciones que se pretende trabajar en el experimento, después de este pH se muestra el predominio de la especie $\text{Cu(OH)}_2 \downarrow$.

Las condiciones de trabajo que se encontraron a partir de estos análisis del ion Cu^{2+} sin que tenga interferencia de precipitación y se mantenga siempre en solución se generalizan en tres intervalos mostrados en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Intervalos de trabajo para las soluciones de Cu(II)

Sales	Intervalo de Concentraciones	Intervalo de Ph
	$[1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3}]$	[1 - 7]
Cu(CH₃OO)₂	$[1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-2}]$	[1 - 6]
	$[1 \times 10^{-5} - 1]$	[1 - 4.5]
	$[1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3}]$	[1 - 7]
Cu(NO₃)₂	$[1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-2}]$	[1 - 6]
	$[1 \times 10^{-5} - 1]$	[1 - 4.5]
	$[1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3}]$	[1 - 7]
CuCl₂	$[1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-2}]$	[1 - 5.5]
	$[1 \times 10^{-5} - 1]$	[1 - 4.5]

6.5 Conclusiones

Se hizo un análisis de las especies solubles tomando en cuenta su concentración y los complejos que predominan con la variación de pH, para ello se usó el programa computacional Hydra-medusa, se analizaron tres sales del ion Cu⁺². En la base de datos de este programa se eligieron las condiciones que más se asemejan al experimento, aunque para las sales de Cu(NO₃)₂ y CuCl₂ la especie como solvente que se manejó es ClO₃⁻, el cual se puede aproximar para el uso en el estudio de formación del complejo en el capítulo siguiente.

7. Complejo Cu_x-Q

7.1 Introducción

Los complejos de cobre tienen una aplicación muy fuerte dentro de la vida diaria y en muchas áreas tales como electrónica, biología, química.⁵⁶

Complejos basados en cobre han sido investigados en el supuesto de que pueden disminuir la toxicidad al interactuar con células normales con respecto a las células cancerosas.⁵⁷

La búsqueda de complejos de cobre que sean amigables con células normales ha llevado al uso de antioxidantes, como son los flavonoides, que presentan grupos hidroxil y oxo, estos tienen la habilidad para formar complejos con varios iones metálicos llamado quelación. La quelación de metales es considerada como otro mecanismo para la actividad antioxidante de los flavonoides. En una reciente investigación se ha probado que el complejo de **Cu (II)-Q** tiene mayor poder de captación de radicales libres y mejor efecto de supresión contra las células de cáncer de próstata humanas (PC3) en comparación con la quercetina.^{59 59}

Actualmente se hacen estudios de complejos de quercetina con tierras raras lo cual han demostrado tener actividad antioxidante y antitumoral.⁶⁰

La importancia de comprender mejor la formación y estabilidad de los compuestos de cobre con los flavonoides es lo que ha motivado la investigación en este proyecto.

7.2 Objetivos generales

1. Observar el comportamiento de la quercetina en presencia de un ion metálico **Cu (II)**.
2. Determinar la constante de formación del complejo.

7.3 Hipótesis

Suponiendo que el cambio de sales para el ion metálico permitirá que interactúe mejor con la quercetina a un pH ácido permitiendo la formación del complejo **Cu_x-Q**

7.4 Metodología, reactivos y materiales

7.4.1 Metodología

Se realizó un estudio de interacción del ion de **Cu(II)** con el flavonoide quercetina (**Q**), utilizando diferentes sales de este ion para la formación del complejo de **Cu_x-Q**, se utilizaron los datos reportados de los capítulos anteriores para establecer las condiciones adecuadas para poder realizar los experimentos de este capítulo.

7.4.2 Reactivos

- Quercetina dihidratada al 98%, 2-(3,4-Dihidroxifenil)-3, 5, 7-trihidroxi-4-1-benzopiran-4-ona dihidrato, 3, 3', 4', 5, 7-Pentahidroxi-4-1-benzopiran-4-ona dihidrato (338.27 g mol⁻¹) (Sigma-Aldrich).
- Ácido Perclórico HClO₄, 72% de pureza, (100.46 g mol⁻¹) (J.T. Baker).
- Metanol, 99.99% de pureza (J.T. Baker).
- NaOH, 98 % de pureza (J.T. Baker)
- Nitrato de cobre trihidratado, 99.999% de pureza (Sigma Aldrich).
- Acetato de Cobre trihidrato, 99.999% de pureza (Sigma Aldrich).
- Cloruro de Cobre, 99.999% de pureza (Merck Index)
- Agua desionizada obtenida de un equipo Millipore Milli-Q de resistividad de 18.2 MΩ·cm. Se Burbujea con N₂↑ (1 minuto por cada mililitro).
- Soluciones buffer de pH 4.00, 7.00 y 10.00

7.4.3 Equipos y Materiales

- Equipo Perkin Elmer lambda 20 y el software utilizado es UvWin Lab.
- Las celdas son de cuarzo de pasó óptico de 1.00 cm.
- Un pH metro de la marca Elmer Toledo MP 230

- Balanza analítica OAHOUS
- Recirculador de agua Cole-Parmer
- Electrodo de vidrio combinado Ag/AgCl₂ de la marca Mettler Toledo InLab 413 SG (intervalo de pH 0-14)
- Celda termostatada
- Micropipeta de 10-100 μL
- Micropipeta de 100-1000μL
- 10 Vasos de precipitados de 10 mL
- Matraz aforado de 10 mL
- Matraz aforado de 50 mL
- Matraz aforado de 100 mL
- Microespátula
- Agitadores magnéticos de 1 mm x 1 mm, 3 mm x 1 mm, 6 mm x 2 mm.

7.5 Estudios de los complejos Cu-Q

7.5.1 Condiciones generales de los experimentos

Los espectros de absorción de cada solución fueron tomados en un intervalo de 700 nm a 200 nm, excepto para las soluciones en donde se siguió la señal del ion **Cu²⁺** que es en el intervalo de 1000 nm a 300 nm; se mantuvo una atmósfera inerte con N₂ y con agitación constante. Para todos los estudios se tuvo cuidado de que al pasar de la agitación al transvase y a la toma del espectro de la muestra sea de manera rápida evitando la interacción de la luz que proviene del medio ambiente. Para los estudios de

estabilidad y de pH, la concentración que se manejó fue de 4.45×10^{-5} M para la **Q** y de allí sus múltiplos de esta cantidad, tanto de **Cu²⁺** como de **Q**.

7.5.2 Preparación de soluciones:

NaOH_x: Soluciones de NaOH_{x=0.01 M, 0.02 M, 0.05 M, 0.1 M, 0.5 M y 1.0 M}, para ajustar pH.

Sol_Q: Solución de Quercetina dihidratada en metanol a $(3.06 \pm 0.01) \times 10^{-3}$ M.

Sol_{AA}: Solución de acetatos 0.1 M

Sol_{Cu(CH₃OO)2}: Solución de Acetato de Cobre (II) trihidratado a $(1.20 \pm 0.01) \times 10^{-3}$ M.

Sol_{ClO₄}: Solución de ClO₄⁻ (0.100 ± 0.001) M.

Sol_{Cu(NO₃)2}: Solución de Nitrato de Cobre (II) a $(1.20 \pm 0.01) \times 10^{-3}$ M.

Sol_{CuCl₂}: Solución de Cloruro de Cobre (II) a $(1.20 \pm 0.01) \times 10^{-3}$ M.

7.5.3 Condiciones generales de los estudios de estabilidad, variación de pH y relaciones molares.

7.5.3.1 Estudio de estabilidad

Se tomó un espectro cada 2 minutos y la relación molar que se manejó es 1:1 para los complejos **Cu(CH₃OO)₂-Q** y **Cu(NO₃)₂-Q**, sólo para el complejo de **CuCl₂-Q** se manejó diferentes relaciones molares de **Cu²⁺:Q** (1:3, 1:2, 1:1).

7.5.3.2 Estudio de variación de pH

7.5.3.2.1 Complejo **Cu(CH₃OO)₂-Q**

Se mantuvo la relación 1:1 de $\text{Cu}^{+2}:\text{Q}$, la concentración de la quercetina que se usó fue de 4.45×10^{-5} M, inmediatamente se midió su espectro de absorción, el intervalo de pH fue de 3.10 hasta 5.75, los espectros experimentales se corrigieron por dilución, solo en caso de que fuera necesario.

7.5.3.2.2 Complejo $\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}\text{-Q}$

Se usó la relación molar 1:1 del complejo $\text{Cu}^{+2}:\text{Q}$, el espectro de absorción se midió para la solución $\text{Sol}_{\text{ClO}_4}$, Sol_{Q} y también para la solución que contenía el complejo $\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}\text{-Q}$. La concentración de Q fue de 4.45×10^{-5} M, los intervalos de pH trabajados para el complejo de $\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}\text{-Q}$ fueron de 1.62 hasta 5.82. Los espectros experimentales son corregidos por dilución en caso que sea necesario.

7.5.3.2.3 Para el complejo $\text{Cu}_{\text{Cl}_2}\text{-Q}$

Se usaron las relaciones molares de 1:1 y 3:1 ($\text{Cu}(\text{II}):\text{Q}$), el espectro de absorción se midió para las soluciones $\text{Sol}_{\text{ClO}_4}$, Sol_{Q} y también para la solución que contenía el complejo $\text{Cu}_{\text{Cl}_2}\text{-Q}$. La concentración de Q fue de 4.45×10^{-5} M, el intervalo de pH trabajado para el complejo de $\text{Cu}_{\text{Cl}_2}\text{-Q}$ fue de 3.10 hasta 5.755. Los espectros experimentales se corrigieron por dilución sólo en caso necesario.

7.5.3.3 Estudio de Relaciones Molares

Se fijó un pH no mayor a 6.04 para el complejo $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{OO})_2}\text{-Q}$ y 4.5 para los complejos de $\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}\text{-Q}$ y $\text{Cu}_{\text{Cl}_2}\text{-Q}$, debido a la precipitación del ion metálico Cu^{2+} como se observó en los diagramas de zonas de predominio para en el apartado del Cobre.

Se agregó una alícuota de **Sol_Q** para tener una concentración de 4.45×10^{-5} M de **Q** y se va añadiendo **Sol_{Cu(CH₃OO)₂}**, **Sol_{Cu(NO₃)₂}** o **Sol_{CuCl₂}** hasta alcanzar las relaciones molares deseadas. En caso de que se vea afectado el pH de la solución se modificó añadiendo un poco de NaOH_x (X dependerá de que tanto cambie el pH de la solución).

7.6 Resultados de los complejos de Cu²⁺-Q

7.6.1 Complejo Cu_{(CH₃OO)₂-Q}

7.6.1.1 Estabilidad del complejo Cu_{(CH₃OO)₂-Q}

En la **Figura 12** se observan dos máximos de absorción a 365 nm y 254 nm pertenecientes a la **Q**, cuando se le añade el ion **Cu²⁺** para formar el complejo **Cu_{(CH₃OO)₂-Q}** éste presenta una disminución en los dos máximos de absorción de hasta un 48% y 42% respectivamente; cuando se vuelve a tomar el espectro de absorción de esta solución a los 20 minutos disminuyen su absorción en un 3% y en un 4% respecto a los porcentajes anteriores, también vemos que los máximos de absorción cambian hipsocrómicamente y batocrómicamente dando nuevos máximos de absorción a 359 nm y 258 nm respectivamente, además se aprecia una banda ancha que se forma de 500 nm a 400 nm y que su máximo de absorción aproximado es de 420 nm.

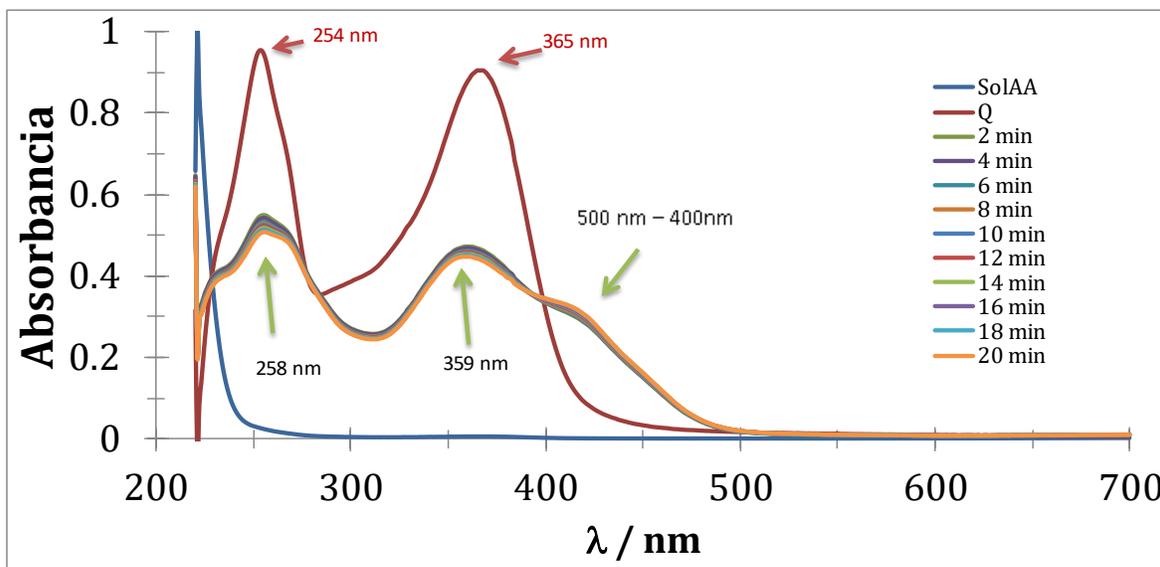


Figura 12. Familia de espectros de absorción del complejo $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{OO})_2\text{-Q}$ tomado cada 2 minutos.

En el espectro de absorción del complejo, hay tres máximos de absorción: el de 365 nm del grupo catecol y el de 254 nm asociados a la **Q**, la absorbancia a una longitud de onda de 420 nm es asociada al complejo $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{OO})_2\text{-Q}$ en la **Figura 13** se muestran los comportamientos de los máximos de absorción a diferentes tiempos.

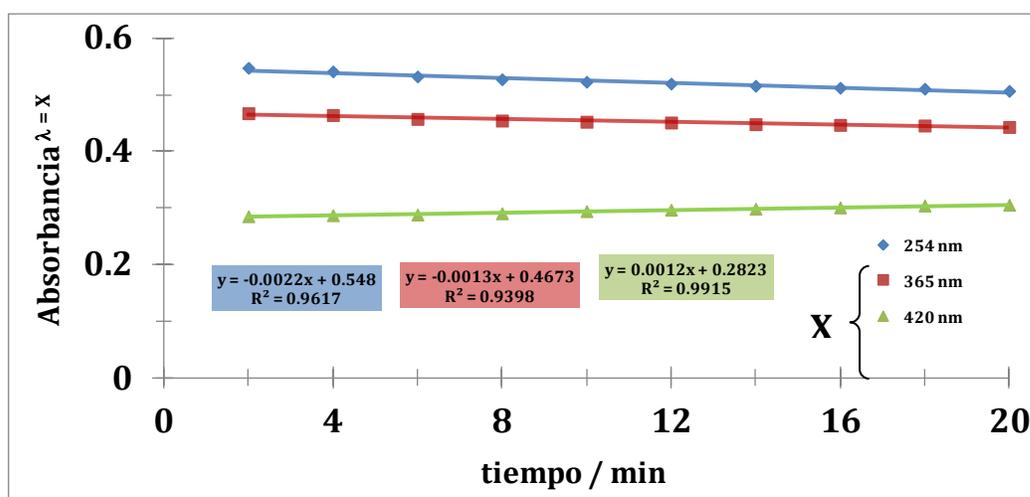


Figura 13. Comportamiento de los máximos de absorción a diferentes longitudes de onda.

Tabla 4. Disminución en la absorbancia siguiendo la señal de la Q.

Tiempo Minutos	λ Cinamoil 254 nm	λ Catecol 365 nm
0	100%	100%
2	57%	52%
4	57%	51%
6	56%	51%
8	55%	50%
10	55%	50%
12	55%	50%
14	54%	50%
16	54%	49%
18	54%	49%
20	53%	49%

La disminución en la absorbancia al ser comparada con la **Q** es del 43 % para una longitud de onda de 254 nm y del 48% para la longitud de onda de 365 nm, esto puede ser atribuido a que el ion Cu^{2+} es quelado por el grupo catecol del anillo B de la **Q**. También se aprecia que a los 20 min de reacción no se disminuye la intensidad del complejo, los porcentajes de intensidad de absorción se dan en la **Tabla 4** y están hechos respecto a la señal de la **Q** en tiempo cero.

7.6.1.2 Variación de pH para el complejo $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{OO})_2\text{-Q}}$

La solución que contiene al $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{OO})_2\text{-Q}}$ no muestra variaciones entre el pH de 1.62 hasta 3.1 solo un ligero decremento en la absorción, cuando se alcanza el pH de 3.748, la absorbancia disminuye hasta un 34% su intensidad para la señal que tiene el máximo de absorción a 365 nm.

La formación del complejo para una relación molar 1:1 ($\text{Cu}^{+2}:\text{Q}$) se va favoreciendo para el pH de 4.581 hasta 5.755, hasta lograr la formación de

una banda de absorción entre 550 nm hasta 400 nm con un máximo de absorción de 422 nm, se forma una banda ensanchada entre las longitudes de onda de 360 nm hasta 320 nm, es asociada a la formación del complejo de $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{O})_2}\text{-Q}$ con su máximo de absorción de 359 nm, hay un corrimiento batocrómico del máximo de absorción de 253 nm a 267 nm, las interacciones de la flavonoide **Q** con el ion Cu^{+2} se puede decir que se hacen a través del grupo catecol afectando también el grupo cinamoil. También se observa que mientras la absorbancia del grupo catecol disminuye la aparición de una nueva banda a 422 nm aparece y está asociada con la formación del complejo $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{O})_2}\text{-Q}$.

En la **Figura 14** se muestra un punto isobéptico a 405 nm, este comportamiento se asocia a la formación de un equilibrio químico entre el complejo $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{O})_2}\text{-Q}$ y la **Q** sin reaccionar.

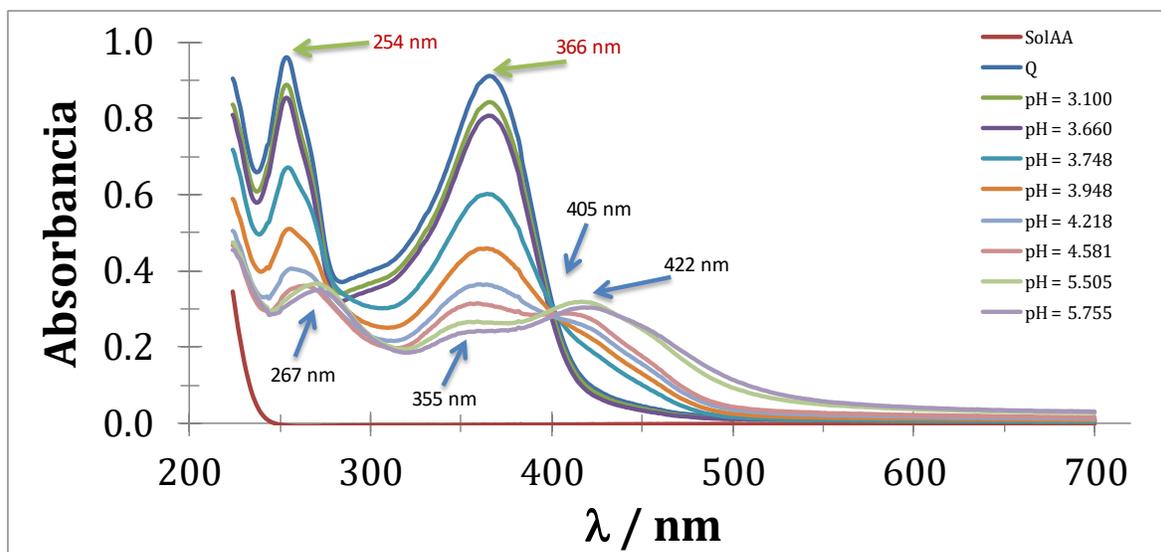


Figura 14. Familia de espectros de absorción variando el pH de la solución.

Los cambios en los máximos de absorción se dan en la **Figura 15**, se muestran la disminución en la absorbancia para el máximo a 366 nm y para el máximo de absorción a 422 nm se ve un incremento en la absorbancia.

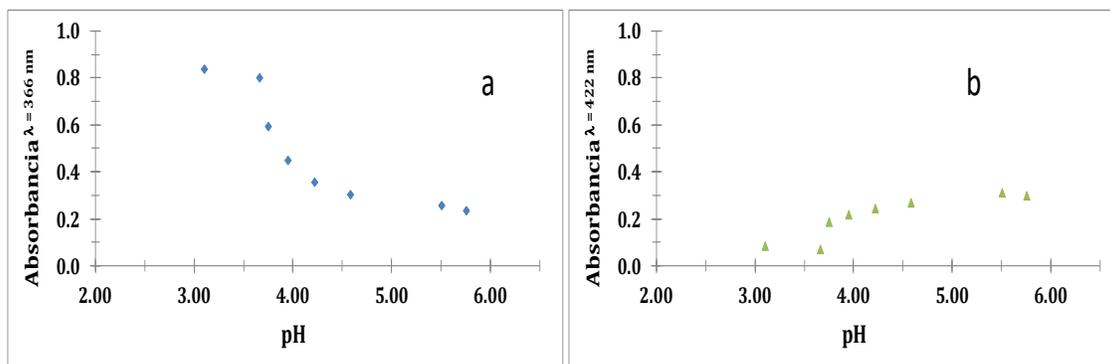


Figura 15. Máximos de absorción a diferentes pH's para el complejo $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{OO})_2\text{-Q}$
a) Absorbancias a 366 nm, señal del grupo catecol. b) Absorbancias a 422 nm señal del complejo.

Las señales que la **Q** presenta muestran una disminución en cada cambio de pH estos valores se aprecian en la **Tabla 5**.

Cuando la formación del complejo se hace visible debido al cambio en el pH vemos que se tiene un importante cambio en las absorbancias ya que van aumentando, este comportamiento es registrado en la **Tabla 6**.

Se tomó el último valor de absorbancia como el 100%, entonces conforme el pH aumenta podemos ver también un incremento en los porcentajes de formación del complejo.

Tabla 5. Disminución de la absorbancia de la Q

pH	Señales de la Q	
	253 nm	365 nm
3.100	8%	7%
3.660	11%	11%
3.748	31%	34%
3.948	48%	50%
4.218	59%	60%
4.581	65%	66%
5.505	67%	71%
5.755	69%	74%

Tabla 6. Aumento en la absorbancia del complejo

pH	Señal del complejo	
	267 nm	422 nm
3.100	93%	29%
3.660	88%	24%
3.748	79%	63%
3.948	64%	73%
4.218	54%	82%
4.581	49%	90%
5.505	50%	100%
5.755	47%	100%

7.6.1.3 Relaciones Molares Cu_{(CH₃OO)₂-Q}

En este estudio se puede apreciar que se tiene una banda de absorción entre 500 nm y 400 nm con su máximo de absorción a 417 nm para la relación molar de 2.75 **Cu_{(CH₃OO)₂:Q}**, y que cuando empieza a aparecer a una relación molar de 0.8 su máximo de absorción se encuentra a 412 nm, mientras la banda de máxima absorción aparece otra banda va disminuyendo su máxima absorción esta señal es a 355 nm. El máximo de 254 nm que tiene la **Q** se ve afectado con la presencia del incremento del ion **Cu⁺²**, para la relación 1.5 vemos que esta banda se empieza a incrementar hasta ya no verse más el máximo de absorción, además de presentar un corrimiento batocrómico hasta 267 nm.

El estudio del comportamiento del complejo variando la cantidad del ligando nos muestra que tenemos una relación molar 1:1 $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{OO})_2}:\text{Q}$, **Figura 16** siguiendo la señal del grupo catecol a 366 nm.

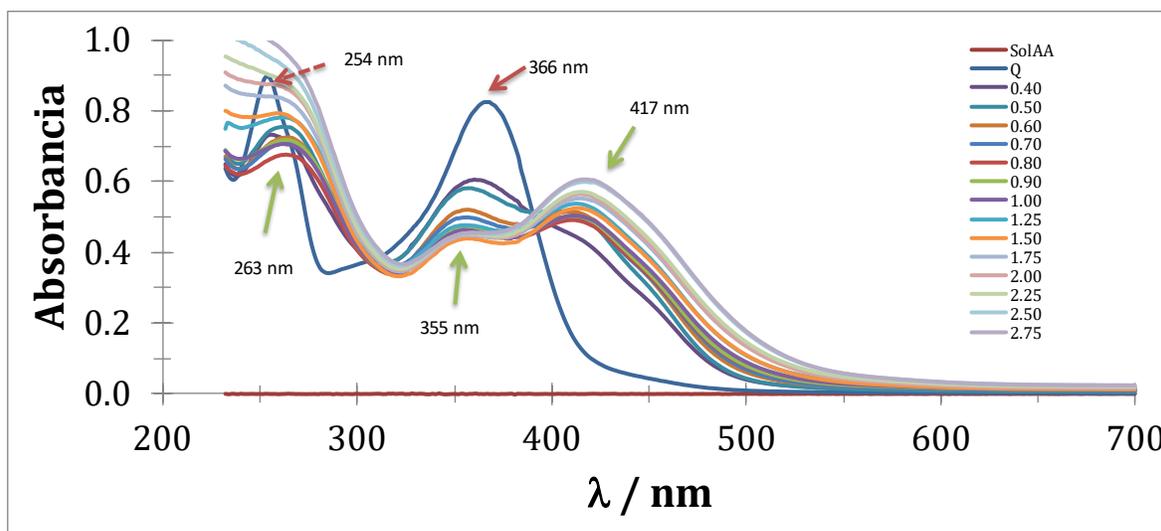


Figura 16. Familia de espectros del complejo $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{OO})_2}\text{-Q}$, cambiando la concentración de la Q.

En la **Figura 17** se puede observar la relación molar que presenta el complejo siguiendo el máximo de absorción a 366 nm y a 417 nm dando una relación molar de 1:1 $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{OO})_2}:\text{Q}$.

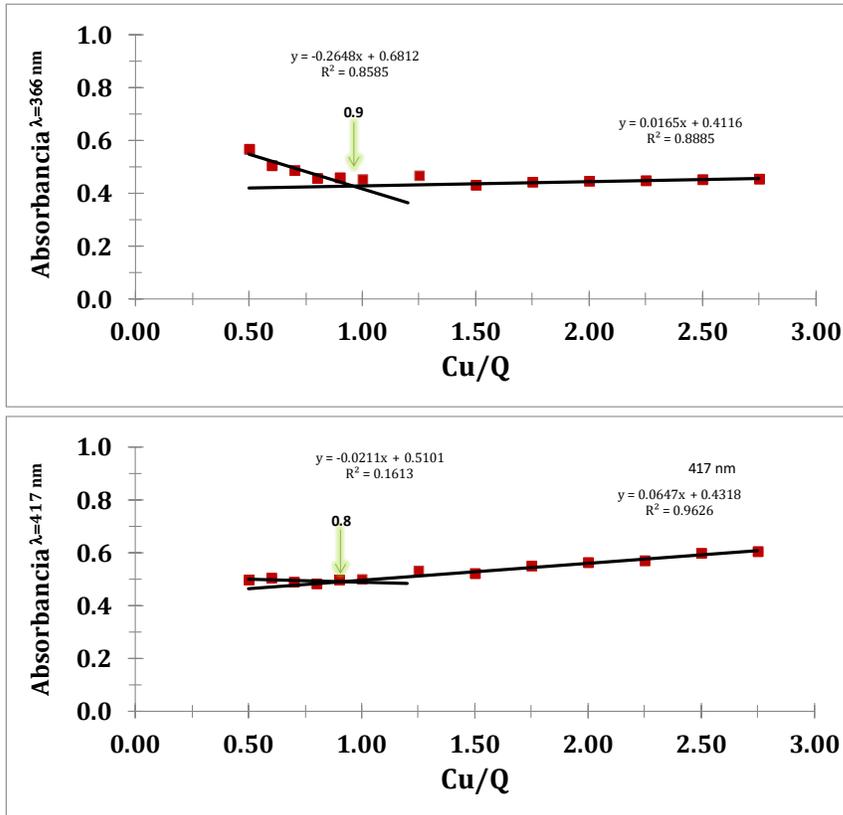


Figura 17. Relaciones molares para el complejo de $\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{OO})_2}\text{-Q}$ a dos longitudes de onda, 366 nm y 417 nm.

El comportamiento de los máximos de absorción que muestra la **Q** y el complejo **$\text{Cu}_{(\text{CH}_3\text{OO})_2}\text{-Q}$** se da en la **Tabla 7**, vemos su variación de los máximos.

Tabla 7. Variación de los máximos de absorción de la Q y del complejo de Cu(CH3OO)2-Q .

Rel molar Cu/Q	254 nm Q _{cinamoil}	366 nm Q _{catecol}	417 nm Cu(NO3)2-Q
0.40	256	360	-----
0.50	262	358	403
0.60	264	357	409
0.70	263	357	408
0.80	263	356	411
0.90	263	356	412
1.00	261	355	411
1.25	263	355	412
1.50	259	356	414
1.75	266	357	415
2.00	266	357	415
2.25	*268	356	415
2.75	*270	355	417
2.50	*270	355	417

***determinada a partir de la inflexión que muestra el espectro**

Hay condiciones que impidieron el cálculo de la constante de formación del complejo usando SQUAD, como la precipitación del complejo en solución, reacciones con el CO₂ del medio ambiente, interacciones con la luz, fuerza iónica.

La constante de formación del complejo se obtiene usando la ecuación de Benesi y Hildebrand, Ec 1. Ésta constante no es la de formación del complejo, es la constante aparente, K_{ap},

$$\frac{[Lo]}{(A-A_0)} = \frac{1}{(\varepsilon_{ML}-\varepsilon_L)} + \frac{1}{(\varepsilon_{ML}-\varepsilon_L) K_{ap} [M_0]} \quad \text{Ec 1}$$

Para la obtención de la constante aparente se usaron concentraciones del ion Cu⁺² de 6.75 x 10⁻⁵ hasta 1.13 x 10⁻⁴ M. La constante obtenida se hace

despejando el valor de la pendiente de ecuación en la **Figura 18**, el valor de K_{ap} es $2.59 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$.

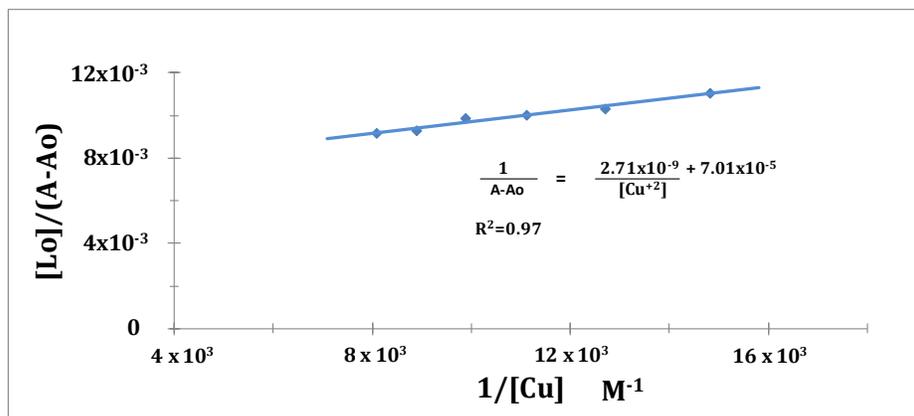


Figura 18. Dependencia lineal del recíproco de la concentración del ion metálico de acuerdo a la ecuación de Benesi and Hildebrand.

7.6.1.4 Siguiendo la señal de Cu^{2+} por UV-Vis del complejo $Cu_{(CH_3OO)_2-Q}$.

La presencia de **Q** de concentraciones de $1.95 \times 10^{-5} \text{ M}$ hasta $2.35 \times 10^{-4} \text{ M}$ en la solución para formar el complejo $Cu_{(CH_3OO)_2-Q}$, **Figura 19** se analizó el efecto que tiene la $Sol_{Cu(CH_3OO)_2}$ a una concentración de $(4.88 \pm 0.07) \times 10^{-3} \text{ M}$, se observa la formación de una banda de absorción que comprende de 900 nm a 600 nm, su máximo se encuentra a una longitud de onda de 752 nm y este presenta un corrimiento hipsocrómico de 3 nm para la concentración de $Q = 2.35 \times 10^{-4} \text{ M}$, la solución que contiene al complejo $Cu_{(CH_3OO)_2-Q}$ se mantiene a un pH de 6.04 ya que a mayor pH la solución empieza a verse un color blanco debido a la precipitación del Cu^{2+} formándose $Cu(OH)_2$ (de acuerdo al diagrama de zonas de predominio en

el apartado **3.Cobre**). Después de añadir Q, se puede apreciar la formación de una banda de máxima absorción a una longitud de onda de 449 nm, ésta debida a la formación del complejo $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{O})_2\text{-Q}$. Al aumentar la cantidad de quercetina que se añade a la solución de ion Cu^{2+} muestra un comportamiento hipercrómico para cada espectro.

Se puede observar que para la concentración de quercetina igual a 1.95×10^{-4} M, tiene un máximo absorción a 449 nm, este máximo presenta un ligero corrimiento hacia el azul de 3 nm para la concentración de 2.35×10^{-4} M debido a que se puede presentar una ligera desprotonación de la quercetina que afecta al pH de la solución.

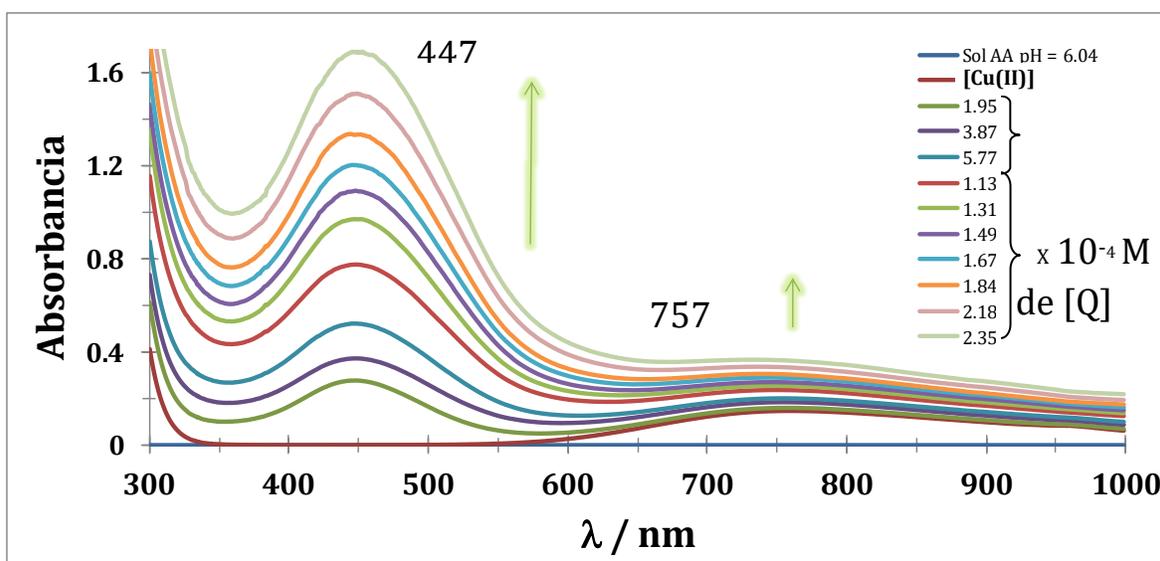


Figura 19. Concentración del ion $\text{Cu}(\text{II})$ es de 4.88×10^{-3} M; familia de espectros de absorción para el complejo $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{OO})_2\text{-Q}$.

7.6.2 Complejo $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{-Q}$

7.6.2.1 Estudio de estabilidad

Como se ha visto anteriormente, la quercetina presenta dos máximos de absorción uno a 368 nm y otro a 253 nm en la $\text{Sol}_{\text{ClO}_4}$, estos máximos se ven modificados con la presencia del ion Cu^{2+} donde se aprecia la formación de dos bandas de máxima absorción una longitud de onda de 409 nm y otro de 358 nm, los cuales están asociados con la formación del complejo $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{-Q}$; el máximo de absorción a 253 nm presenta un desplazamiento batocrómico cuando interactúa con el ion Cu^{2+} . **Figura 20**

La interacción de **Q** con el ion Cu^{2+} muestra que hay transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ pertenecientes al sistema de anillos aromáticos y de transiciones de $n \rightarrow \pi$ que son del ion metálico que interactúa con la quercetina la banda que aparece a 280 nm hasta 220 nm y con el máximo de absorción a 253 nm muestra estas transiciones y tiene un desplazamiento hacia la longitud de onda de 264 nm.

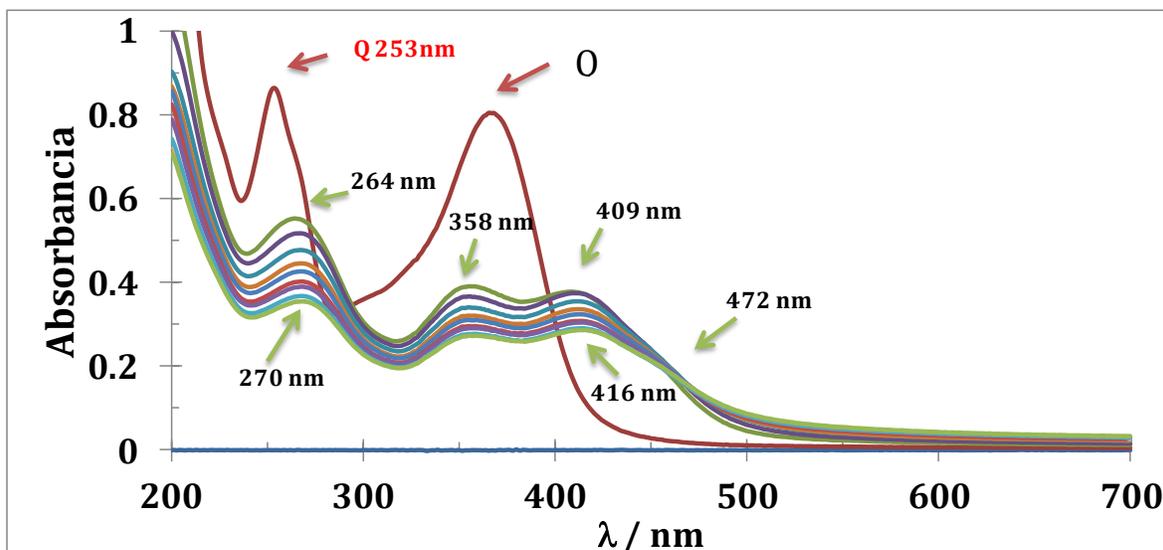


Figura 20. Estabilidad del complejo $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{-Q}$ de relación molar 1:1. Estudio de estabilidad del complejo que se forma a una longitud de onda de 409 nm, se fue tomando el tiempo cada 2 minutos.

Los espectros de absorción en la **Figura 20** muestra cómo la señal de la quercetina desaparece un 65 % asociado a la formación de un complejo de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{-Q}$, también se presenta un punto isobéptico a 472 nm asociado a la oxidación de la quercetina.

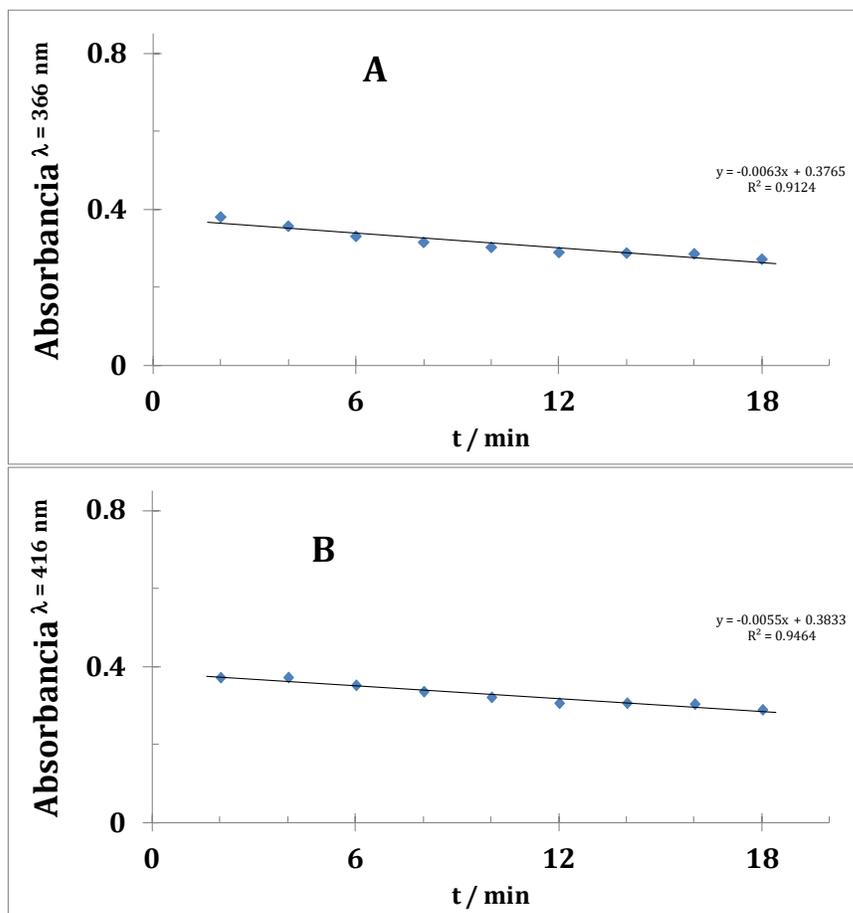


Figura 21. Estabilidad del complejo $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{-Q}$ siguiendo las señales de A) 366 nm y B) 416 nm.

En la solución se muestra un precipitado a los 18 minutos de haber iniciado el experimento, se grafican los máximos de absorción en función del tiempo para la longitud de onda de 366 nm y 416 nm; estas longitudes de onda corresponden a la absorbancia del grupo catecol (anillo A) de la **Q**, la segunda señal aparece debido a la interacción con el ion metálico. De la **Figura 21** se obtiene la ecuación de reacción del complejo $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{-Q}$; $\text{Abs} = -0.0055 (\text{mol}^{-1} \cdot \text{L}) X + 0.3955$ con un coeficiente de correlación de 0.9897, aquí se da la ecuación de reacción sin embargo no se hicieron pruebas para saber si es de degradación o de formación del complejo, se observaron la precipitación de la quercetina de un color café.

7.6.2.2 Variación de pH

En la **Figura 22** podemos apreciar el comportamiento del complejo **Cu(NO₃)₂-Q** vemos que a pH's ácidos no hay cambios en el espectro de absorción y se mantienen las señales de la **Q** de 1.62 hasta 4.01.

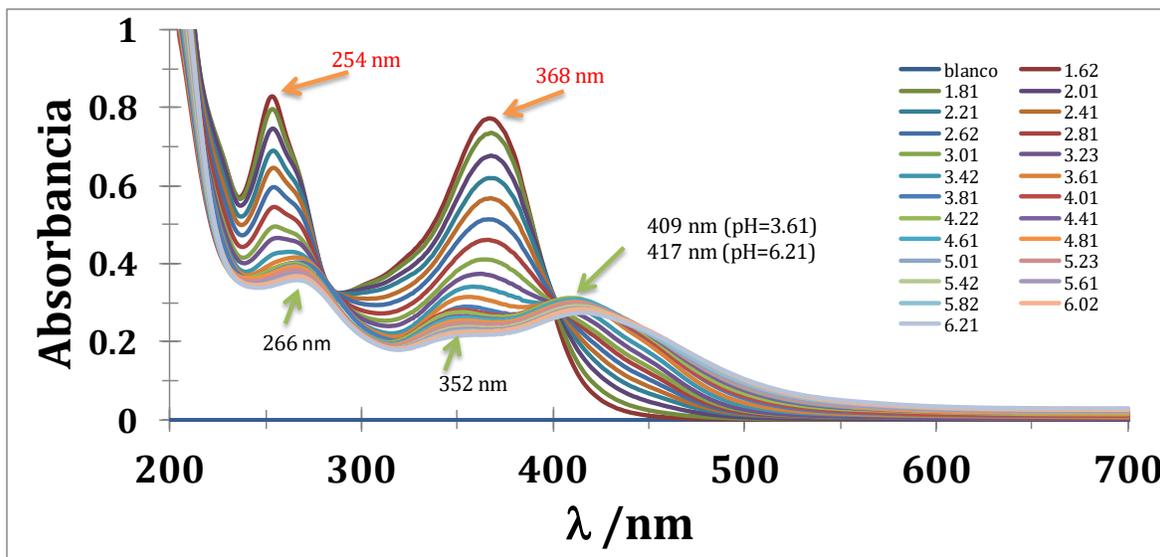


Figura 22. Familia de espectros variando el pH para el Complejo **Cu(CH₃₀₀)₂-Q de relación molar 1:1.**

Se tiene un decrecimiento de las señales cuando se alcanza un pH de 4.01 se empieza a observar una banda de absorción ancha que empieza a los 520 nm hasta 400 nm y tiene un máximo a 417 nm para un pH de 6.21, se forma una segunda banda que comprende de los 390 nm a 330 nm y su máximo de absorción es a 358 nm y va teniendo un corrimiento hipsocrómico hasta 352 nm y disminuye su intensidad con forme se incrementa el pH además de una disminución en la intensidad de la banda de 390 nm a 330 nm, por otro lado se observa un aumento en la intensidad de la banda de 520 nm a 400 nm que está asociada al complejo de **Cu(NO₃)₂-Q**, el máximo de absorción para esta banda es a 409 nm para el pH de 3.61 y este máximo tiene un corrimiento batocrómico hasta 417 nm para el pH

de 6.21, además para este pH tenemos otra banda que comprende de 380 nm hasta 320 nm con su máximo de absorción a 352 nm, la banda que tiene su máximo de absorción a 266 nm es asociada al corrimiento batocrómico del máximo de absorción a 254 nm de la **Q**, cambio ocasionado por el pH en la solución y al complejo **Cu_{(NO₃)₂-Q}**.

En la **Tabla 8** se muestran los cambios en las absorbancias debido a corrimientos batocrómicos e hipsocrómicos asociados a la presencia del ion metálico y al cambio de pH en la solución. Cuando se alcanza el pH de 6.21 vemos que el máximo de absorbancia llega hasta 270 nm, se llega hasta este pH en la solución debido a las precipitaciones que presenta la solución. Cuando se alcanza el pH de 3.61 vemos que se presentan dos máximos de absorción una a la longitud de onda de 409 nm y otro a una longitud de onda de 360 nm.

Tabla 8. Variación de los máximos de absorción de la Q y también del complejo Cu_{(NO₃)₂-Q.}

pH	$\lambda=368$ (nm)	$\lambda=254$ (nm)	$\lambda=262$ (nm)	$\lambda=417$ (nm)
1.62	368	253	-----	-----
1.81	368	254	-----	-----
2.01	368	254	-----	-----
2.21	366	254	-----	-----
2.41	367	254	-----	-----
2.62	366	254	-----	-----
2.81	366	255	-----	-----
3.01	365	255	-----	-----
3.23	363	256	-----	-----
3.42	358	262	262	-----

3.61	356	266	266	409
3.81	354	266	266	412
4.01	354	264	264	408
4.22	353	265	265	410
4.41	356	265	265	411
4.61	356	265	265	412
4.81	354	265	265	411
5.01	356	266	266	412
5.23	354	266	266	412
5.42	354	266	266	412
5.61	357	265	265	414
5.82	358	265	265	414
6.02	364	266	266	414
6.21	359	266	266	417

En la **Figura 23** podemos observar que a un pH de 6.21 hay un cambio significativo en la absorbancia para el máximo de absorción a 368 nm señal de la **Q** y también para la señal que aparece para el complejo **Cu(NO₃)₂-Q** a 417 nm.

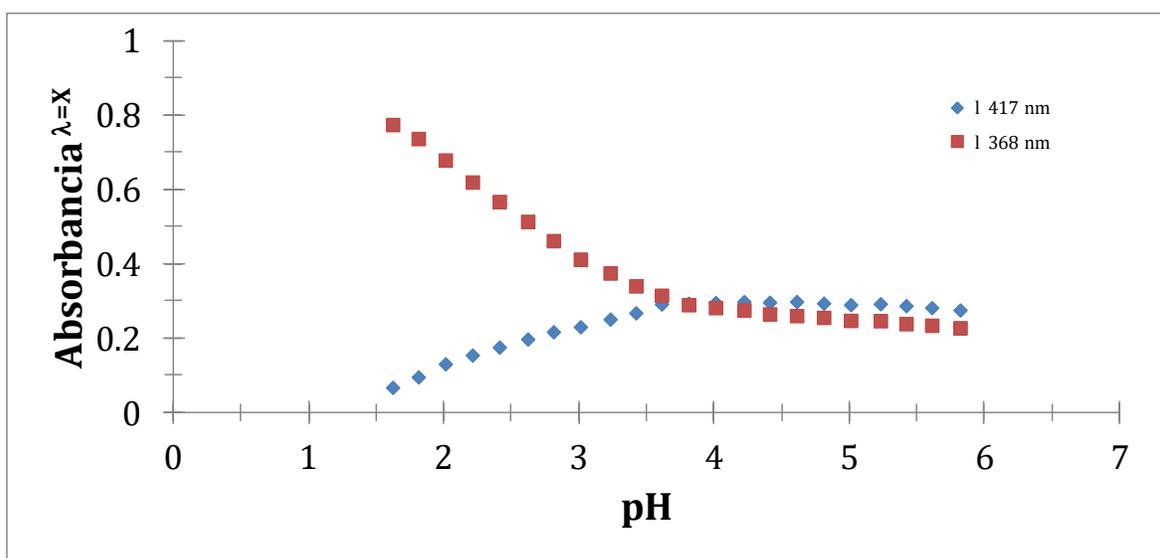


Figura 23. Comportamiento de los dos máximos de absorción que presenta el complejo a un pH de 5.81, X = ♦ 417 nm, ■ 368 nm.

7.6.2.3 Relaciones Molares $\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}\text{-Q}$

7.6.2.3.4 Relaciones molares a pH 4.54

Las relaciones molares fueron variando de 0.05 hasta llegar a la relación molar de 1.16, **Figura 24.**

En este estudio se aprecian las absorciones pertenecientes a la **Q** son interacciones en el anillo A en la longitud de onda a 366 nm (**Figura 25**) y del anillo B en la longitud de onda de 253 nm, no se muestran señales muy importantes en el intervalo de 700 nm a 475 nm, pero hay un ligero incremento en la absorción en ese intervalo respecto al espectro de la quercetina, se atribulle una precipitación del complejo **$\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}\text{-Q}$** . Con la presencia del ion **Cu^{2+}** en la solución de **Q** a una relación molar 0.28 **$\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}/\text{Q}$** el máximo de absorbancia característica de la **Q** a 368 nm presenta un corrimiento hipsocrómico de 6 nm, esto se atribuye a la interacción de la **Q** en el grupo catecol interactuando con el ion **Cu^{2+}** , además a mayor concentración de este ion metálico los espectros de absorción dan dos señales uno a 411 nm y otro a 358 nm, el priemro resultado de la formación del complejo de **$\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}\text{-Q}$** , el segundo es posiblemente debido al corrimiento de la banda de absorción a 368 nm. Hay un hombro a 265 nm esto se puede deber a que el anillo A y el anillo C en la quercetina dan pequeñas absorciones a esa longitud de onda y se incremeta con la presencia del ion metálico. La relacion molar que se deetermino fue de 0.4, esta relación molar se puede aproximar a una relación estequiometrica de 1:2 (**$\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}:\text{Q}$**).

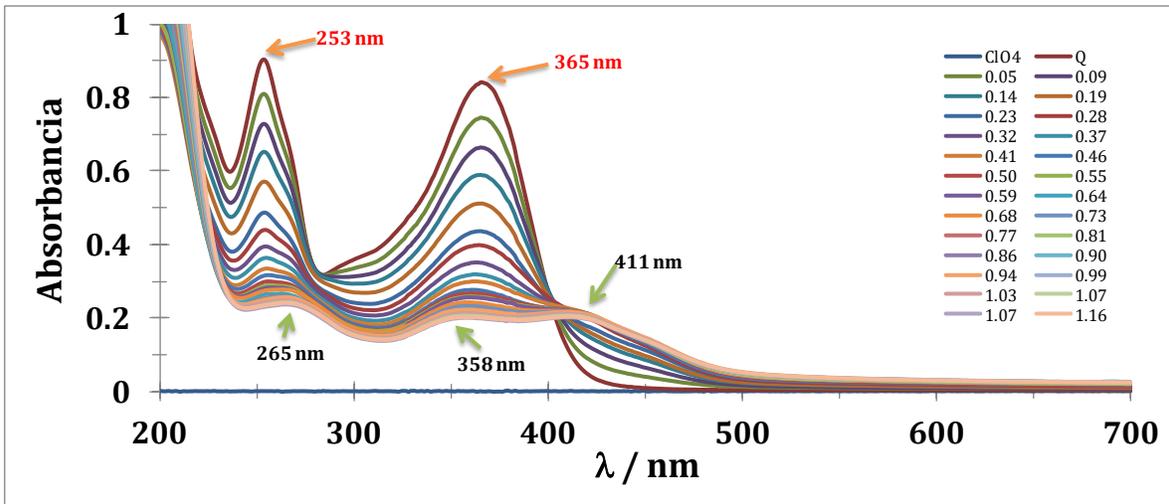


Figura 24. Relaciones molares para la sal de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ a $\text{pH}=4.54$

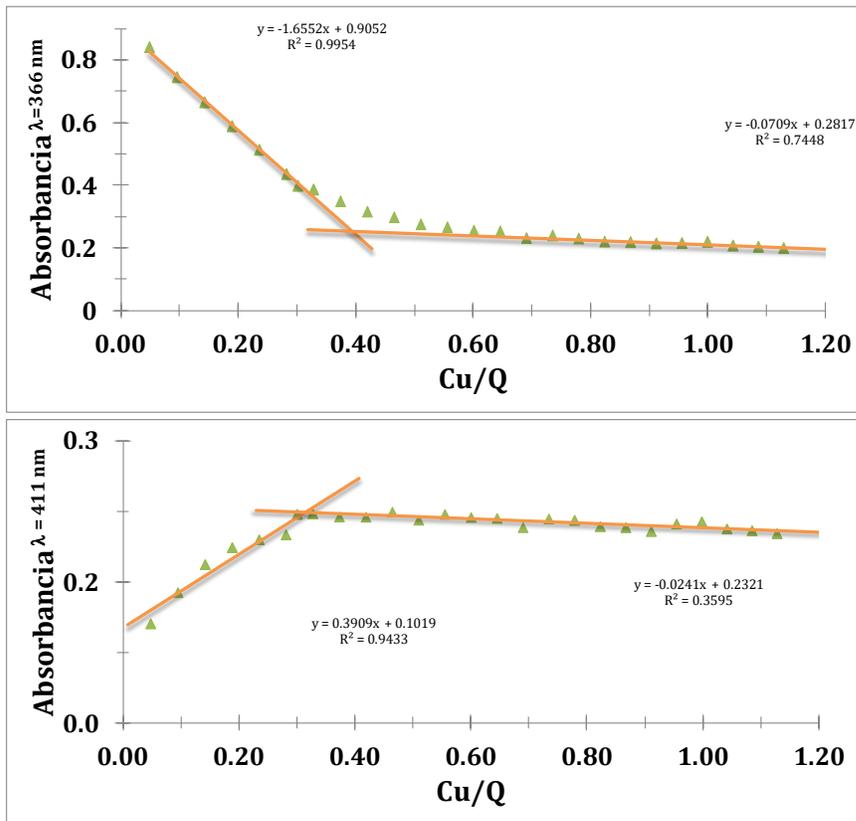


Figura 25. Gráfica de los máximos de absorción a una longitud de onda de 411 nm y 366 nm $\text{pH}=4.54$.

7.6.2.3.5 Relaciones molares a pH 6.04

Se analiza la formación del complejo para el pH=6.04 de ClO_4^- el comportamiento que muestra el complejo de Cu^{2+} se ve favorecida a una relación molar de 1:2 de $\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}:\text{Q}$, en la **Figura 26** se puede apreciar este comportamiento y es debido a que se encuentra cerca del pKa de la **Q**. El comportamiento que presenta para el máximo de absorción representativo de la quercetina a la longitud de onda de 367 nm tiene un corrimiento de 1 nm respecto al comportamiento que se muestra en el apartado anterior para la quercetina. Cuando se añade Cu^{2+} éste tiene un corrimiento hipsocrómico de 10 nm antes de que se haga visible el hombro asociado al complejo de $\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}\text{-Q}$ (relación molar de 0.42 $\text{Cu}_{(\text{NO}_3)_2}/\text{Q}$), a esta misma relación, el máximo de absorción en 253 nm tiene un corrimiento batocrómico de 5 nm, asociándose el efecto de interacción de los oxígenos en la posición 3 y 4. En estas condiciones de pH el punto isobéptico no presenta un corrimiento y se mantiene en una longitud de onda de 406 nm, atribuyéndose una formación de un complejo con la quercetina, la cual está en equilibrio de acuerdo a la ecuación:



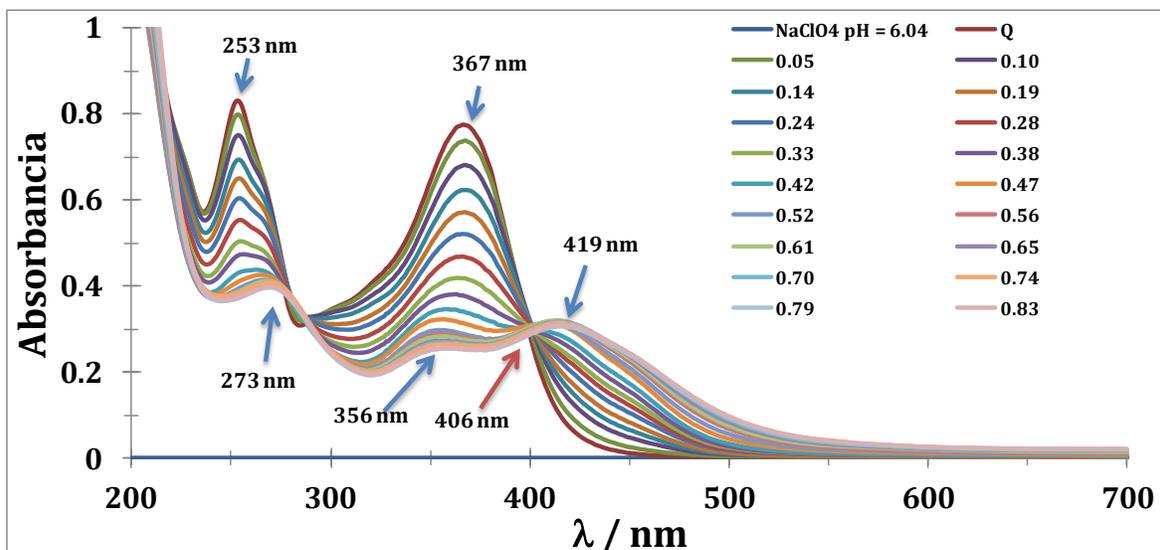


Figura 26. Relaciones molares a pH 6.04 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$

Se encontró que la relación molar es de 0.6 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2/\text{Q}$ analizando el comportamiento en los dos máximos de absorción una perteneciente a la señal de la quercetina y la otra perteneciente al complejo $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{-Q}$, que se muestran en la **Figura 27**. Para un pH de 6.04 no se puede llegar a una concentración más alta del ion Cu^{2+} debido a que presenta precipitación, dos datos importantes que pueden explicar este comportamiento, en el primer caso, se puede deber a reacciones de oxidación de quercetina en presencia del ion Cu^{2+} , éste reduciéndose a Cu^{1+} y provocando la oxidación de la quercetina, y en el segundo caso, sería que la formación del complejo de Cu^{2+} con Quercetina dando lugar a un complejo poco soluble y éste precipite antes de que pueda analizarse, estas observaciones e hipótesis muestran que estos resultados requiere de estudios más extensos.

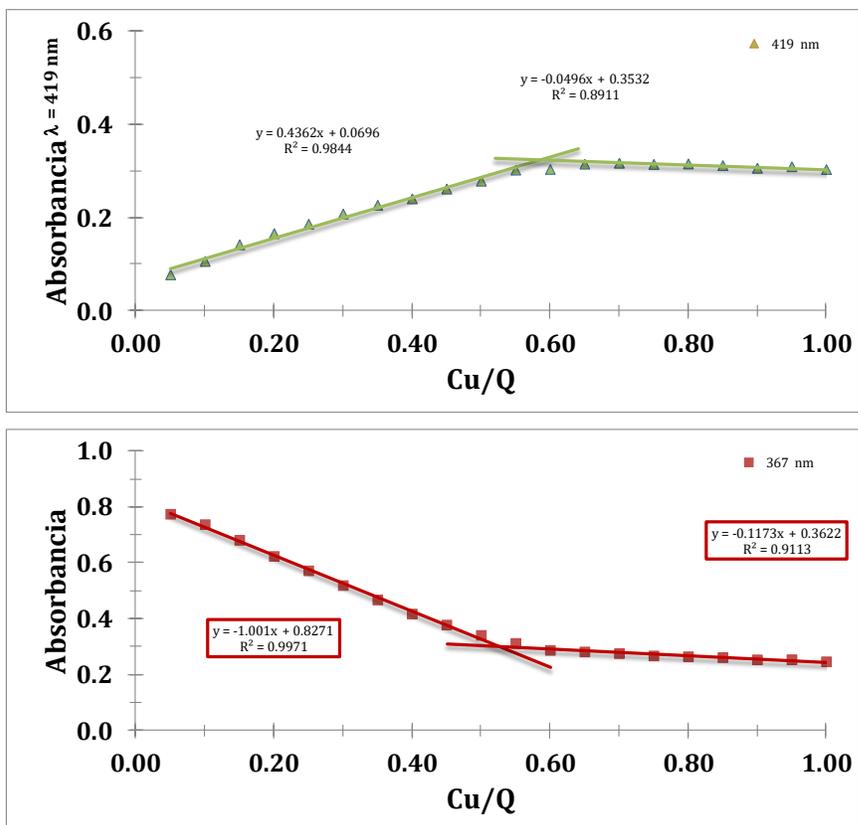


Figura 27. Gráfico de las absorbancias a 419 nm y a 367 nm a diferentes relaciones molares del complejo $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\text{-Q}$.

Con la adición del ion Cu^{+2} se puede observar que los espectros de absorción se empiezan a mostrar incrementos hipercromicos en la región de 700 a 500 nm, como consecuencia estos espectros no se pueden usar en el programa computacional SQUAD. Los resultados de relaciones molares a pH 6.04 se usan para calcular la constante de formación aparente, $K_{\text{ap}} = 17535$, usando la ecuación de la recta en la **Figura 28**.

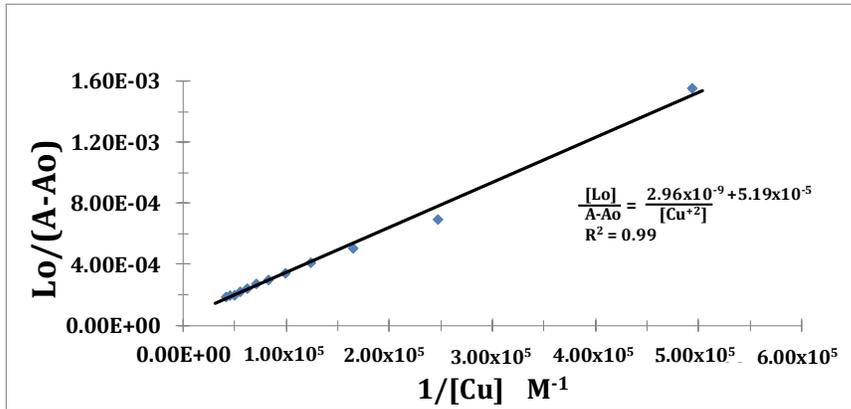


Figura 28. Dependencia lineal del recíproco de la concentración del ion metálico de acuerdo a la ecuación de Benesi and Hildebrand, para la sal de $Cu(NO_3)_2$.

7.6.3 Complejo Cu_{Cl2}-Q

7.6.3.1 Estabilidad

7.6.3.1.1 Estabilidad a pH's ácidos para la relación molar 3:1, Cu_{Cl2}:Q

Se mantienen todas las condiciones y medidas tomadas en los anteriores experimentos, la **Sol**_{ClO-4} tiene un pH de 3.100, este estudio se hace para analizar si existe una reacción de oxidación y cómo se comporta el complejo **Cu**_{Cl2}-**Q**, se establece la concentración de Cu²⁺ de 1.34 X 10⁻⁴ M y de Q de 4.45 x 10⁻⁵ M para tener una relación molar de 3:1 de **Cu**_{Cl2}:**Q**, se toma la muestra cada 2 min. Se puede apreciar en la **Figura 29** y **Figura 30**, la cantidad de **Cu**²⁺ es suficiente como para oxidar a la **Q**.

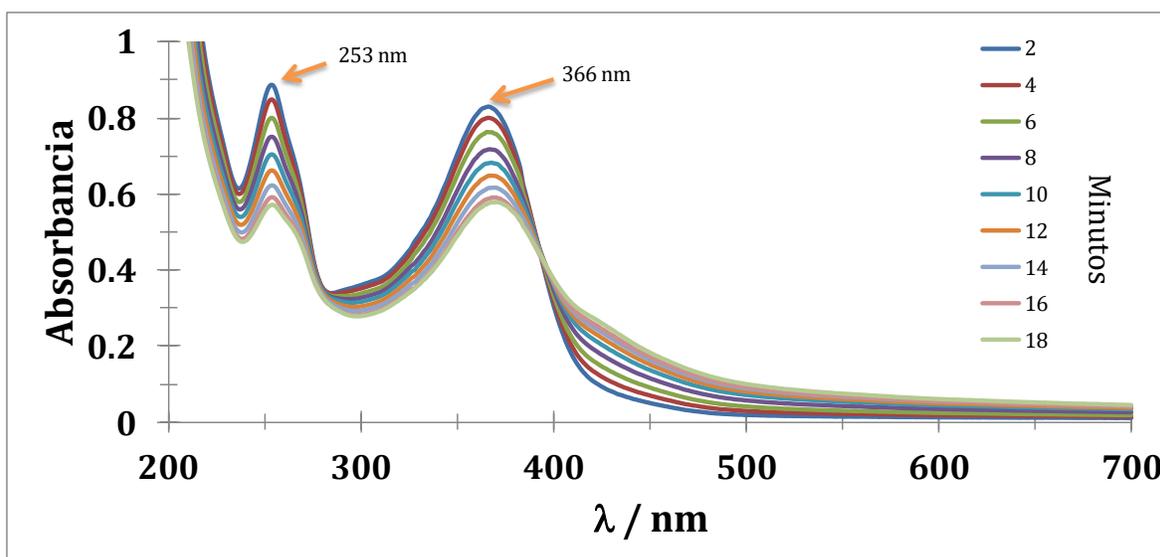


Figura 29. Familia de espectros de la estabilidad del complejo Cu_{Cl2}-Q de relación molar 3:1, Cu_{Cl2}:Q.

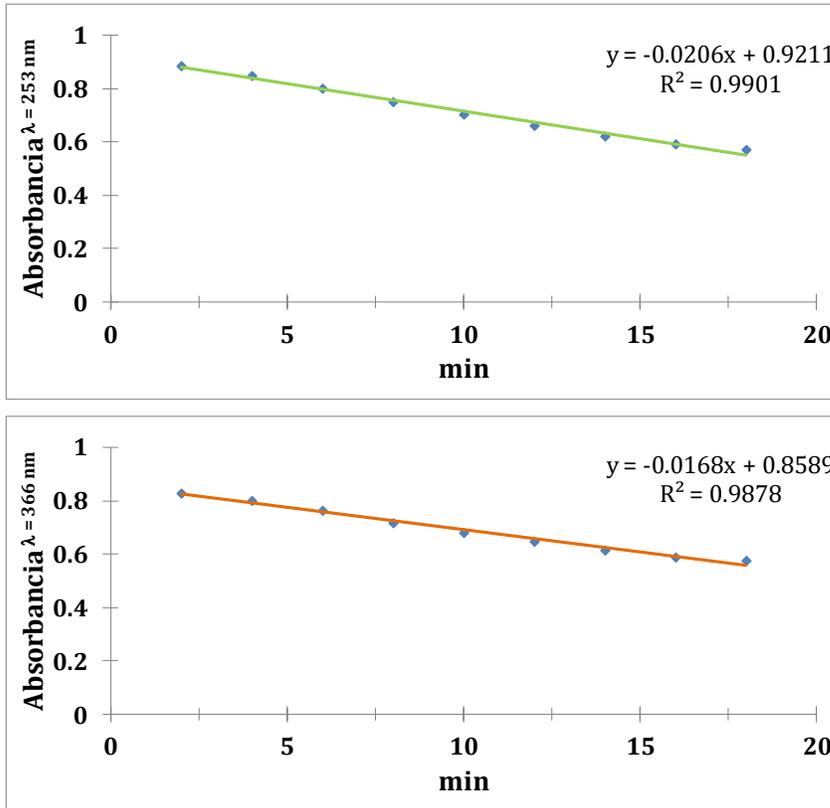


Figura 30. Absorbancias a cada 2 min. a) Máximo a 253 nm, b) Máximo a 366 nm.

La disminución en la absorbancia para los máximos de absorción característicos de la **Q** se resumen en la **Tabla 9**, la banda característica de la formación del complejo no se da a este pH, sin embargo se puede apreciar un comportamiento hipercrómico en el intervalo de longitud de onda de 700 a 500 nm, a los 18 minutos de reacción se presenta una precipitación en la solución.

Tabla 9. Disminución de las bandas de absorción comparadas con la Q

Tiempo Minutos	Disminución de absorbancia 253 nm	Disminución de absorbancia 366 nm
2	98%	92%
4	94%	88%
6	88%	84%
8	83%	79%
10	78%	75%
12	73%	72%
14	69%	68%
16	65%	65%
18	63%	64%

7.6.3.1.2 Estabilidad a pH's ácidos para la relación molar 1:3, Cu:Q del complejo $Cu_{Cl_2}\text{-}Q$

Estabilidad del complejo $Cu_{Cl_2}\text{-}Q$ La concentración de la quercetina fue de $4.43 \times 10^{-5}M$ la concentración del ion de Cu^{2+} es de $1.48 \times 10^{-5} M$ la relación molar es de 1:3, $Cu_{Cl_2}\text{:}Q$ a un pH de 3.100, se toma un espectro cada 2 minutos. En la **Figura 31** se puede apreciar que se mantienen las señales de la **Q** y además los procesos de oxidación no son muy significativos, vemos que no se forma el complejo debido a que influye el pKa de la **Q**. Al analizar el comportamiento que muestran estos espectros en función del tiempo se obtienen ecuaciones que describen este comportamiento, la velocidad de reacción es de orden 0 para cada máximo de absorción y están dadas por las siguientes fórmulas de la **Figura 32**.

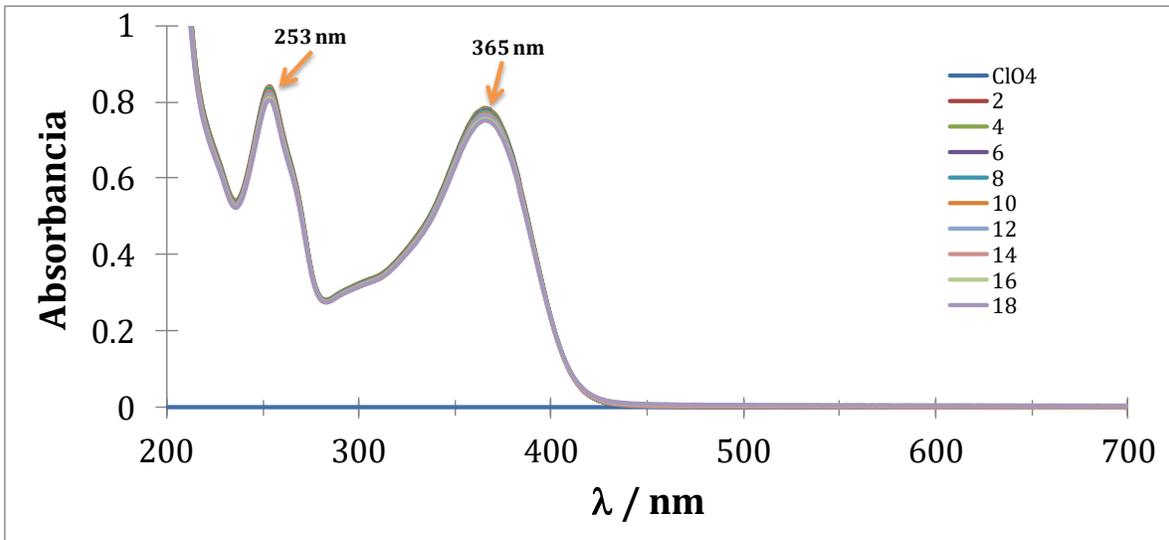


Figura 31. Familia de espectros en el tiempo.

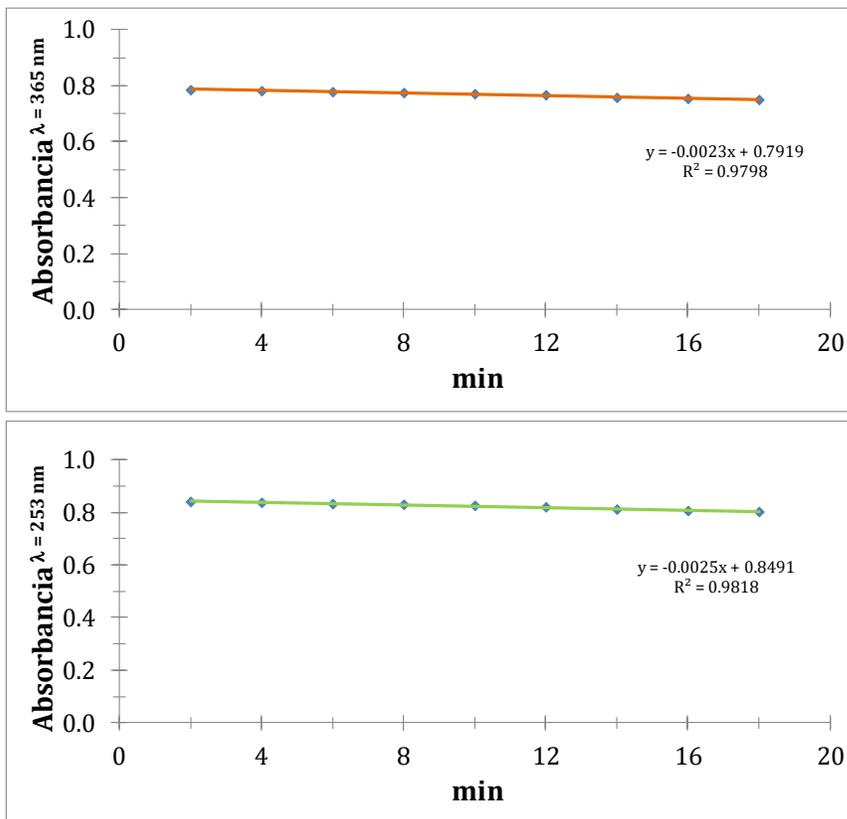


Figura 32. Máximos de absorción en función del tiempo para las señales que presenta la Q.

7.6.3.1.3 Estabilidad del Complejo 1:2, $\text{CuCl}_2:\text{Q}$.

En la **Figura 33** se tiene una relación molar de 1:2 ($\text{CuCl}_2:\text{Q}$), se puede observar que aunque el pH de la solución es de 6.23, cuando se adiciona la solución de **Q**, se presenta una disminución de pH el cual es de 6.11, además de que cuando se adiciona la solución de Cu^{2+} en la solución, se puede observar que hay una disminución de pH, esto influye en los espectros de absorción con corrimientos batocrómicos, el desplazamiento de la absorción a una longitud de onda de 409 nm hasta 416 nm debido al tiempo de reacción.

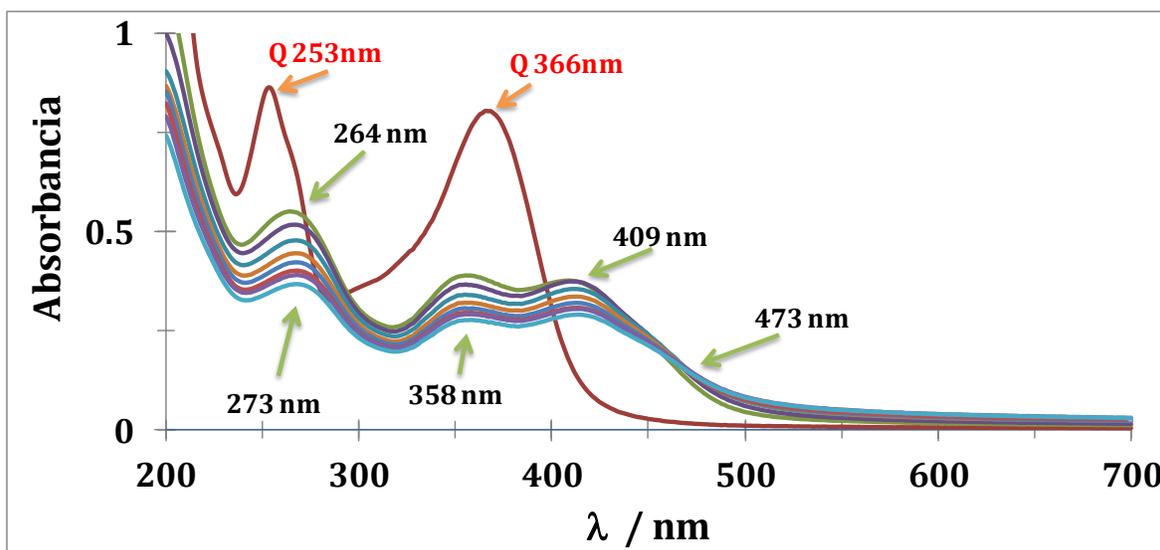


Figura 33. Comportamiento del $\text{CuCl}_2\text{-Q}$ en el tiempo, la relación molar que se maneja es de 1:2, $\text{Cu}:\text{Q}$.

La presencia del ion Cu^{2+} tiene como influencia el cambio de pH y el cambio de la absorción máxima que se ve disminuida en un 36% de intensidad, para la longitud de onda a 253 nm tiene un comportamiento batocrómico, se recorre hasta 264 nm, además a la longitud de onda de 366 nm de la **Q**, formándose dos picos de máxima absorción uno a 358 nm y otro a 409 nm,

con esto podemos ver que el complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$ es formado a pH cercano a su pK_a de la Q , se tiene un punto isobéptico a una longitud de onda de 473 nm, este comportamiento se puede atribuir al equilibrio entre Q y el complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$.

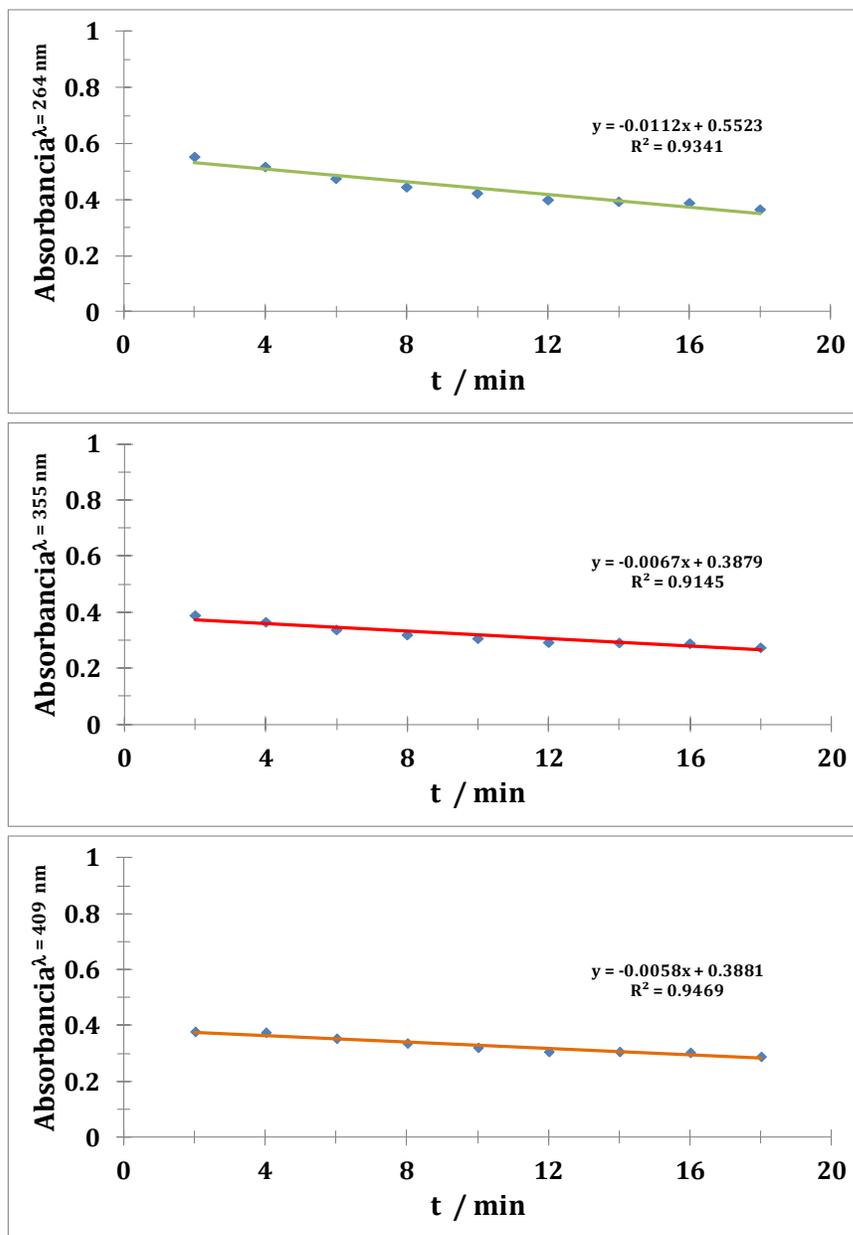


Figura 34. Análisis de las Absorbancias del complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$ vs tiempo.

Se puede observar una cierta variación en los espectros de absorción obtenidos. Sin embargo, esto puede ser atribuido al cambio de pH en la solución, remarcando el hecho de que la solución no ha sido amortiguada para evitar posibles interacciones con el sistema regulador.

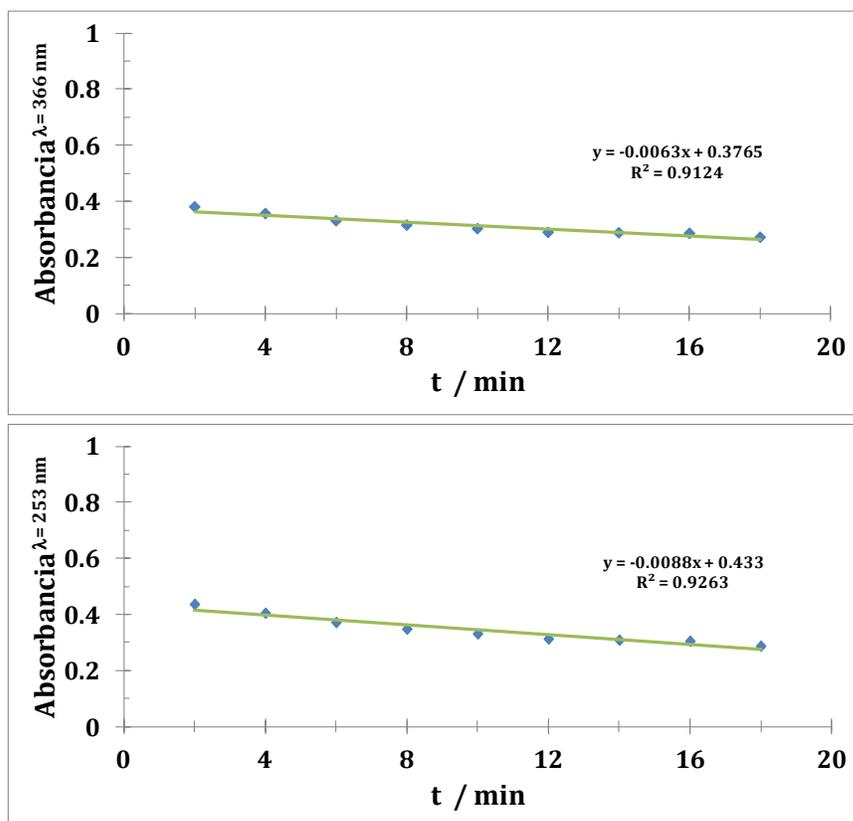


Figura 35. Análisis de los máximos de absorción siguiendo la señal de la Q vs tiempo.

Tabla 10. Porcentajes de las absorbancias a diferentes tiempos y siguiendo la señal de Q y del complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$ para la relación molar 1:2, $\text{CuCl}_2\text{:Q}$.

tiempo min	Análisis de absorbancias		Análisis de absorbancias siguiendo		
	siguiendo señal de Q		señal del complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$		
	253 nm	366 nm	264 nm	355 nm	409 nm
0	100%	100%			
2	61%	47%	100%	100%	100%
4	56%	44%	94%	94%	99%
6	52%	41%	86%	87%	93%
8	48%	39%	80%	82%	89%
10	46%	38%	76%	79%	85%
12	43%	36%	72%	75%	81%
14	43%	36%	71%	75%	81%
16	42%	36%	70%	74%	80%
18	40%	34%	66%	71%	76%

Debido a la linealidad de los datos obtenidos para los máximos de absorción tanto de la **Q** como del complejo **$\text{CuCl}_2\text{-Q}$** además para asegurar que los experimentos no se tengan reacciones no deseadas, se hacen todos los experimentos a en un máximo de 2 min y como se puede observar en la **Tabla 10** para tiempos mayores de reacción la absorbancia va disminuyendo significativamente y no se garantiza que los espectros sean lo más uniformemente, además de que a un tiempo mayor de 18 minutos se observa que presenta una precipitación el complejo.

7.6.3.1.4 Estabilidad del complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$ de relación molar 1:1, $\text{CuCl}_2\text{:Q}$.

Cuando la relación molar es 1:1 la estabilidad del complejo es mayor, llegando a disminuir la absorbancia únicamente el 90 % a los 16 minutos a la longitud de onda de 413 nm, señal del complejo **$\text{CuCl}_2\text{-Q}$** , **Tabla 11**.

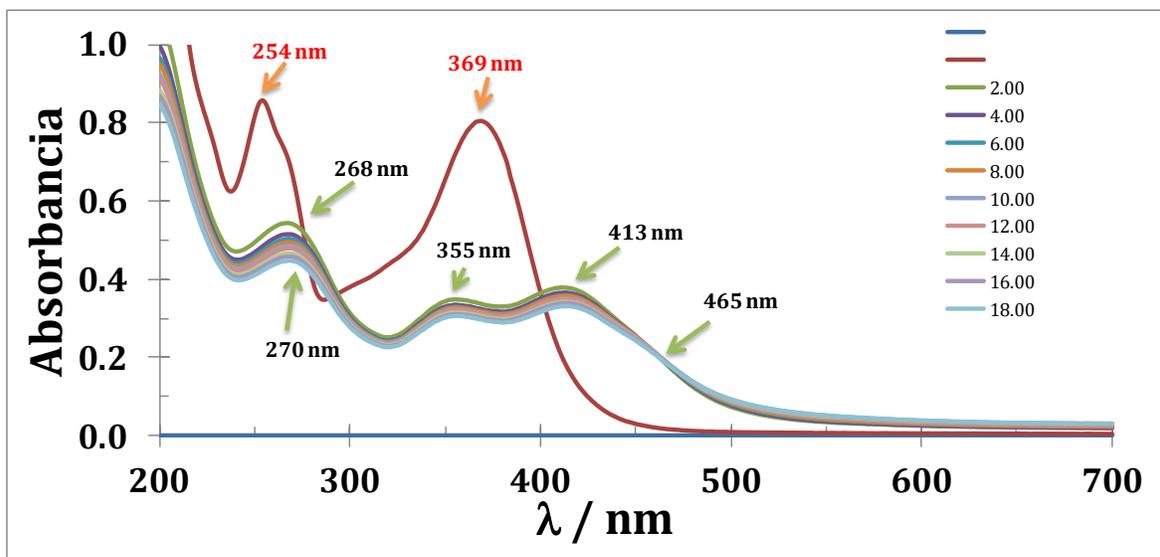


Figura 36. Comportamiento de la Q en presencia del ion Cu (II) para una relación molar 1:1

Tabla 11. Porcentajes de las absorbancias a diferentes tiempos y siguiendo la señal de Q y del complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$ para la relación molar 1:1, $\text{Cu}^{2+}:\text{Q}$.

tiempo min	Análisis de absorbancias siguiendo señal de Q		Análisis de absorbancias siguiendo señal del complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$		
	254 nm	369 nm	268 nm	355 nm	413 nm
0	100%	100%			
2	59%	42%	100%	100%	100%
4	56%	40%	95%	97%	97%
6	55%	40%	93%	95%	95%
8	54%	39%	91%	94%	95%
10	53%	39%	89%	93%	93%
12	52%	39%	88%	93%	93%
14	51%	38%	86%	90%	90%
16	50%	37%	85%	89%	90%
18	49%	37%	83%	88%	88%

7.6.3.2 Variación de pH

7.6.3.2.5 Variación de pH de relación molar 1:1, $\text{Cu}^{2+}:\text{Q}$

El comportamiento que muestra el complejo para la relación molar 1:1 ($\text{Cu}^{2+}:\text{Q}$), **Figura 37** y la **Figura 38**. El cambio de pH en la mezcla se observa en el intervalo de pH de 1.62 a 2.00, después de ese pH las absorbancias se mantienen, sin embargo a pH mayor a 5 la solución precipita, el pH de la solución es modificado por la presencia de la cantidad de Cu^{2+} , las posibles causas son que el complejo no es lo suficientemente estable y la cantidad de Cu^{2+} es insuficiente para estabilizarlo y la fuerza iónica no es estable de un espectro a otro.

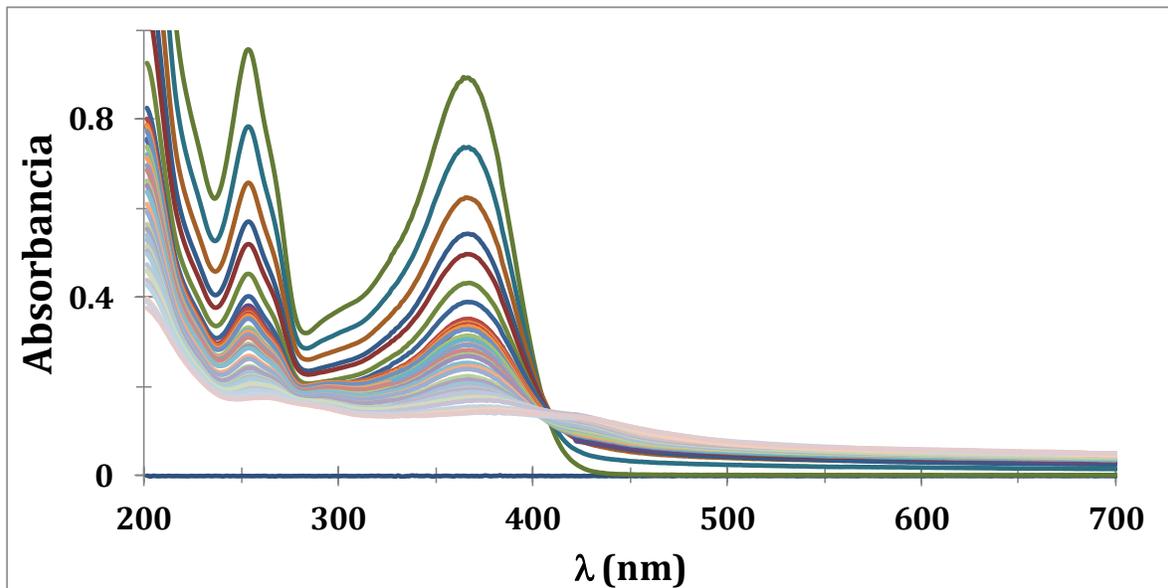


Figura 37. Familia de espectros de absorción

Al graficar los máximos de absorción de las dos longitudes de onda asociados a los máximos de absorción de la Q, podemos apreciar que hay un cambio muy significativo entre el pH 1.62 a pH 2, **Figura 38**.

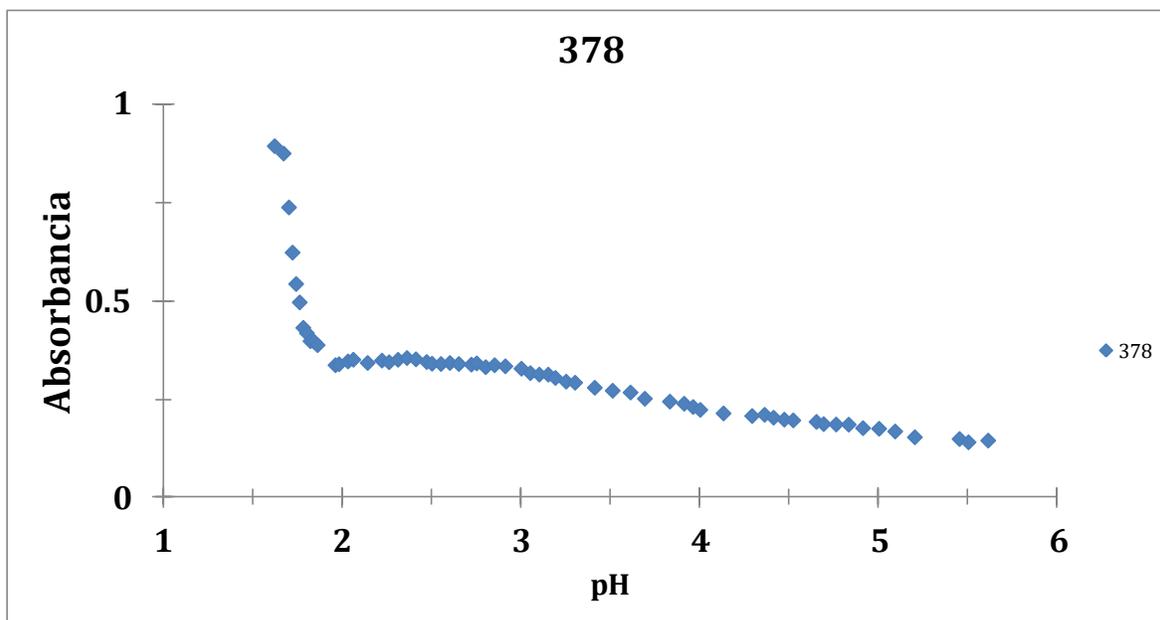


Figura 38. Máximos de absorción cambiando el pH de la solución.

7.6.3.2.6 Complejo 3:1, $\text{Cu}^{2+}:\text{Q}$

Con la finalidad de observar cómo se comporta el complejo a una mayor cantidad del ion Cu^{2+} y con el cambio de pH se analiza el complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$ a relación molar de 3:1, el cambio se hace notorio a un pH de 3.1 a una longitud de onda de 366 nm. Se puede apreciar que para la longitud de onda de 700 nm a 500 nm hay corrimiento hipercrómico en la absorbancia para los espectros de absorción a un pH de 5.505 a 5.755 evidencia de que se empieza a precipitar el complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$. El cambio de pH modifica los espectros de absorción haciendo más notorio el complejo que se forma a un pH de 5.505 se puede observar que se forma una banda ancha de 500 nm a 400 nm y la disminución en la absorción para las longitudes de onda a 366 nm y 253 nm para el pH igual a 3.748 en la **Figura 39**.

La banda asociada al complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$ se muestra a un pH 4.581, el máximo de absorción se da a la onda de 422 nm, al aparecer esta banda disminuye la intensidad de absorbancia para la longitud de 366 nm con un corrimiento hipsocrómico. El máximo de absorción a 253 nm desaparece con el cambio de pH además de que el hombro que se aprecia a la longitud de onda de 268 que es debido a la interacción que tienen el anillo A y C se hace más intenso con el cambio de pH, esta formación de esta señal puede deberse también al corrimiento batocrómico del máximo de absorción a 253 nm hasta 274 nm.

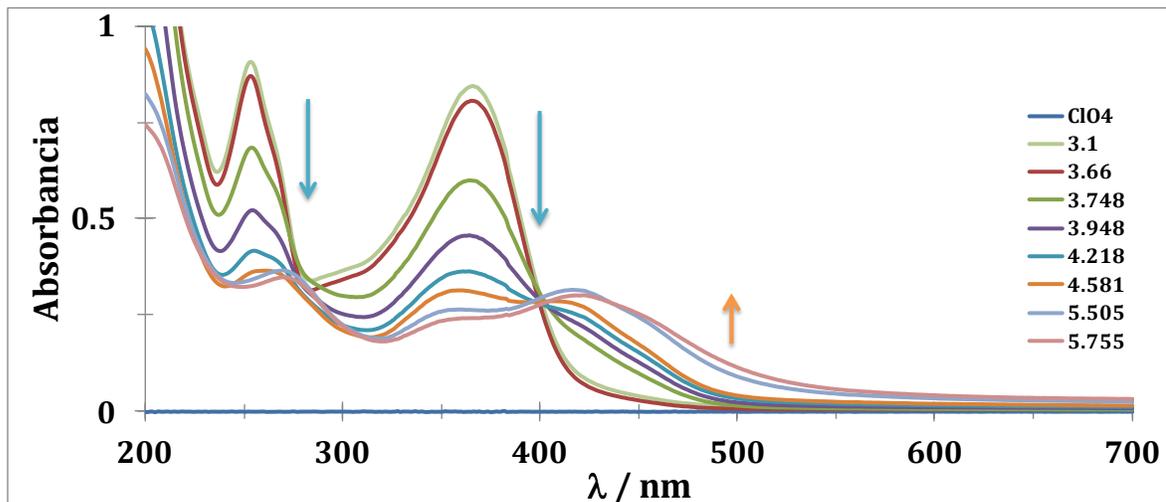


Figura 39. Variación de pH para complejo 3:1

7.6.3.3 Relaciones Molares

Al usar sal de CuCl_2 para la formación del complejo presenta precipitaciones para pH 6.02 y para determinar la constante K_{ap} se utilizaron relaciones molares de 0.55 hasta 0.9 (Cu/Q) de acuerdo a Benesi and Hildebrand **Figura 41**.

Se confirma nuevamente que a bajas concentraciones de Cu^{+2} tiene como efecto la reacción de oxidación de la **Q** (relaciones molares de 0.3-0.5). A mayores concentraciones de 4.5×10^{-5} M del ion metálico presenta precipitaciones, impidiendo nuevamente el cálculo de la constante de formación K_{ap} usando el método computacional SQUAD, el valor que se obtiene tiene incertidumbres muy grandes.

El comportamiento hipercrómico que se muestra en la **Figura 40** para el intervalo de longitudes de onda de 700 a 500 nm es la presencia de que el complejo está presentando precipitaciones.

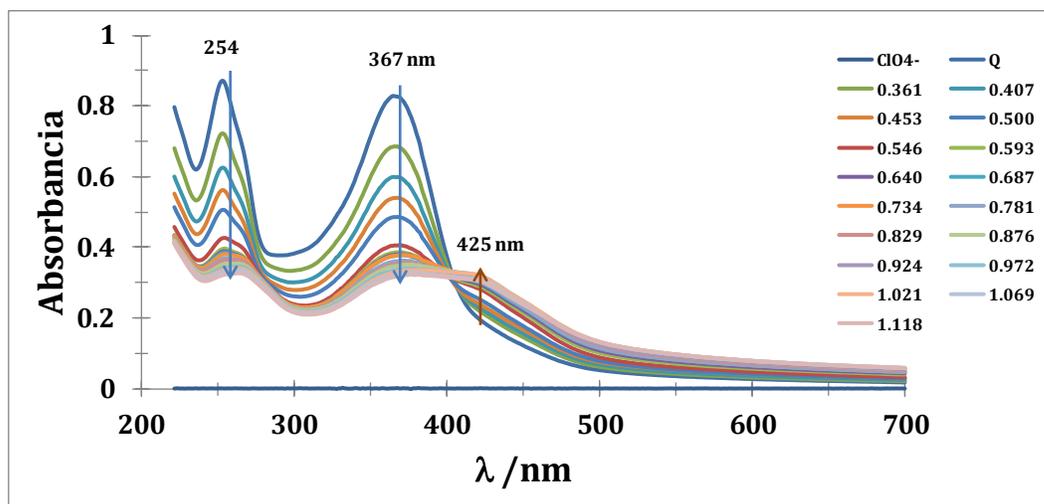


Figura 40. Relaciones molares para el complejo $\text{CuCl}_2\text{-Q}$ a pH = 6.02.

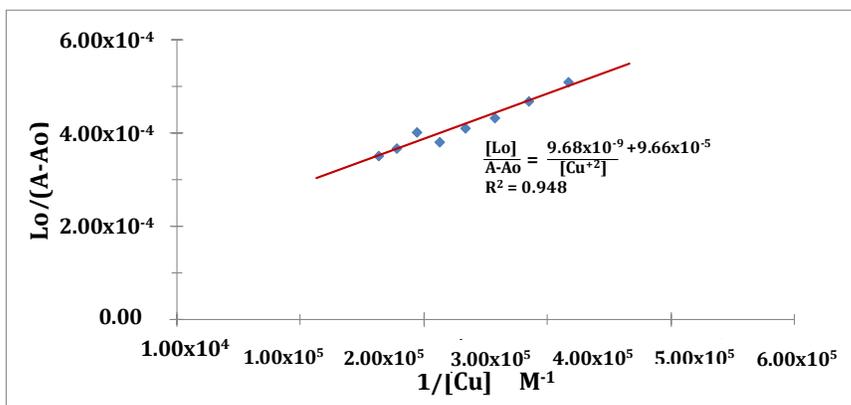


Figura 41. Dependencia lineal del recíproco de la concentración del ion metálico de acuerdo a la ecuación de Benesi and Hildebrand, para la sal de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

Las constantes que se obtuvieron para los diferentes complejos están en listadas en la tabla

Para su cálculo se realizaron las relaciones molares ya que el método de Jobs que se usa en El-Sayed-Gaber se necesita concentraciones más altas de Cu^{+2} que la de Q .

La fuerza ionica Se debe de tener cuidado con la fuerza iónica ya que esa afecta en la solución moviendo los espectros batocrómicamente.

Para obtener mejores resultados en la toma de los espectros de absorción se deben idear estrategias para la toma de los espectros de absorción para asegurar que se tenga un espectro a tiempo cero se debe corregir el pH.

8. Conclusiones

La existencia del complejo $\text{Cu}_x\text{-Q}$ se ha comprobado se ha logrado estabilizar el complejo las constantes de formación se pueden usar como referencia en futuros experimentos las condiciones de trabajo en la experimentación servirán para su refinamiento y así lograr obtener las constantes de formación de los complejos.

9. Referencias

- 1 Benesi, H. A., & Hildebrand, J. H. J. (1949). A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2703-2707.
- 2 Zhou Danna. (2015). The application of chemical equilibrium mapping software HYDRA/MEDUSA in university chemistry teaching. *University Chemistry*, 30(4), 21-25.
- 3 Céspedes T, Sánchez D. (2000). Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cubana Cardiol*, 14 (1), 55-60.
- 4 Sistema de Información en Salud para Población Abierta (SISPA). Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salud. México, (200), 1.

5. 5 Nijveldt, R. J., van Nood, E., van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., van Norren, K., van Leeuwen, P. A. M. (2001), Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am. J. Clin. Nutr.* 74, (4) 418-425.
6. 6Brodowska, K. (2017). Natural Flavonoids: Classification, Potential Role, and Application of Flavonoid Analogues. *European Journal of Biological Research*, 7, 108-123.
7. 7Nijveldt, R. J., van Nood, E., van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., van Norren, K., van Leeuwen, P. A. M. (2001), Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am. J. Clin. Nutr.*, 74, (4) 418-425.
8. 8Jeffrey B. Harborne, Christine A. Williams. (2000). Advances in Flavonoid research since 1992, *Phytochemistry*, 55, 481-504.
9. 9Korkina L.G., Afanas'ev I.B., (1997) Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol*, 38, 151-163.
10. 10Rivera-Mancía, S., Pérez-Neri, I., Ríos, C., Tristán-López, L., Rivera-Espinosa, L., Montes, S. (2010). The transition metals copper and iron in neurodegenerative diseases, *Chemico-Biological Interactions*, 186 (2), 184-199.
11. 11Ravichandran, R., Rajendran M., Devapiriam, D. (2014). Antioxidant study of quercetin and their metal complex and determination of stability constant by spectrophotometry method *Food Chemistry*, 146, 472-478.
12. 12Jing Zhou, Liufang Wang, Jinyi Wang and Ning Tang (2001) Antioxidative and anti-tumour activities of solid quercetin metal (II) complexes, *Transition Metal Chemistry*. 26, 57-63.

13. 13Brodowska, K. (2017). Natural Flavonoids: Classification, Potential Role, and Application of Flavonoid Analogues. *European Journal of Biological Research*, 7, 108-123.
14. 14Nijveldt, R. J., van Nood, E., van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., van Norren, K., van Leeuwen, P. A. M. (2001), Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am. J. Clin. Nutr.* 74, (4) 418-425.
15. 15 Harborne, J. B., Williams, C. A. (2000). Advances in Flavonoid research since 1992, *Phytochemistry*, 55, 481-504.
16. 16Krueger, R. J. (2007). Flavonoids. *Chemistry, Biochemistry and Applications. Economic Botany*, 61(1), 101.
17. 17 Andersen, Ø, M., Markham, K. R. (2005). *Flavonoids, Chemistry, Biochemistry and applications.*CRC press.
18. 18 Herrero-Martínez, J. M., Sanmartin, M., Rosés, M., Bosch, E., Ràfols, C. (2005). Determination of dissociation constants of flavonoids by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 26(10), 1886-1895.
19. 19Pier-Giorgio Pietta. 2000. *Journal of Natural Products*, , 63, 1035-1042.
20. 20Ames, B. N. Shigenaga, M. K.; Hagen, T. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1993, 90, 7915-7922.
21. 21 Jeffrey B. Harborne, Christine A. Williams. (2000). Advances in Flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*, 55, 481-504.
22. 22Das, N. P., & Ramanathan, L. (1992). Studies on flavonoids and related compounds as antioxidants in food. In *Lipid-Soluble Antioxidants: Biochemistry and Clinical Applications* (pp. 295-306). Birkhäuser Basel.

23. 23Ruibal Brunet, I. J., Dubed Echevarría, M., Martínez Luzardo, F., Noa Romero, E, Vargas Guerra, L M, Santana Romero, J. L. (2003). Inhibición de la replicación del virus de inmunodeficiencia humana por extractos de taninos de *Pinus caribaea* Morelet. *Revista Cubana de Farmacia*, 37(2).
24. 24Eghbaliferiz, S., Iranshahi, M. (2016). Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: Updated Review of Mechanisms and Catalyzing Metals. *Phytotherapy Research : PTR*, 30(9), 1379–1391.
25. 25Agnes W. Boots, Hui Li, Roel P.F. Schins, Rodger Duffin, Johan W.M. Heemskerk, Aalt Bast, Guido R.M.M. Haenen (2007) The quercetin paradox. *Toxicology and Applied Pharmacology* 222 , 89–96.
26. 26Aytaç Gülşen, Dimitris P. Makris, Panagiotis Kefalas, (2007). Biomimetic oxidation of quercetin: Isolation of a naturally occurring quercetin heterodimer and evaluation of its in vitro antioxidant properties *Food Research International*, 40, (1), 7–14.
27. 27 Zhou, S. K., Omowunmi A. S. (2007). Electrochemical degradation of quercetin: Isolation and structural elucidation of the degradation products *Electrochemistry Communications*, 9, 2246–2255.
28. 28 Eun Young Ko, Shivraj Hariram Nile, Kavita Sharma, Guan Hao Li Se Won Park, (2015). Effect of different exposed lights on quercetina and quercetin glucoside content in onion (*Allium cepa* L.) *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22, 398–403.
29. 29 Ailing Zhou, Omowunmi A. Sadik, (2008). Comparative Analysis of Quercetin Oxidation by Electrochemical, Enzymatic, Autoxidation,

and Free Radical Generation Techniques: A Mechanistic Study J. Agric. Food Chem., 56, 12081–12091.

30. 30 Pal A., Jayamani J., Prasad R. (2014). An urgent need to reassess the safe levels of copper in the drinking water: lessons from studies on healthy animals harboring no genetic deficits. *Neurotoxicology*. 44, 58-60.
31. 31 Fardet, A. (2010). New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: What is beyond fibre? *Nutrition Research Reviews*, 23(1), 65-134.
32. 32 Silva Trejos, P. (2012). Cobre en alimentos de consumo básico por espectroscopia de absorción atómica modalidad de llama, *Rev. Costa Rica, salud pública*, 21(2), 92-95.
33. 33 Linder M. C., Hazegh-Azam M. (1996). Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr.*, 63, 797S-811S.
34. 34 Lonnerdal B. (1996). Bioavailability of copper. *Am J Clin Nutr.*, 63, 821S-9S.
35. 35 Lonnerdal B. (2008). Intestinal regulation of copper homeostasis: a developmental perspective. *Am. J. Clin. Nutr.*, 88 846S-50S.
36. 36 National Academy of Sciences. (2001) Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington DC: National Academy of Sciences.
37. 37 Ralph, A., & McArdle, H. (2001). Copper metabolism and copper requirements in the pregnant mother, her fetus, and children. *Copper in the environment and health*.

38. 38Pal A, Jayamani J, Prasad R. (2014). An urgent need to reassess the safe levels of copper in the drinking water: lessons from studies on healthy animals harboring no genetic deficits. *Neurotoxicology*. 44, 58-60.
39. 39 Gordon, AS., Howell, L.D., Harwood, (1994). Responses of diverse heterotrophic bacteria to elevated copper concentrations *Canadian Journal of Microbiology*, 40(5), 408-411.
40. 40 Borkow, G., Sidwell, R. W., Smee D. F., Barnard, D. L., Morrey, J. D., Lara-Villegas, H. H., Shemer-Avni, Y., Gabbay, J. (2007). Neutralizing Viruses in Suspensions by Copper Oxide-Based Filters. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, (7), 2605-2607.
41. 41 Borkow, G., Sidwell, R. W., Smee D. F., Barnard, D. L., Morrey, J. D., Lara-Villegas, H. H., Shemer-Avni, Y., Gabbay, J. (2007). Neutralizing Viruses in Suspensions by Copper Oxide-Based Filters. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, (7), 2605-2607.
42. 42Pal, A., Jayamani, J., Prasad, R. (2014). An urgent need to reassess the safe levels of copper in the drinking water: Lessons from studies on healthy animals harboring no genetic deficit, *NeuroToxicology*, 44, 58–60.
43. 43Allen, S. E., Walvoord, R. R., Padilla-Salinas, R., Kozlowski, M. C. (2013). Aerobic Copper-Catalyzed Organic Reactions, *Chem. Rev.*, 113, 6234–6458.
44. 44Phaniendra, A., Jestadi, D.B., Periyasamy, L., (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30, 11–26.

45. 45Boots, A. W., Li, H., Schins, R. P., Duffin, R., Heemskerk, J. W., Bast, A., & Haenen, G. R. (2007). The quercetin paradox. *Toxicology and applied pharmacology*, 222(1), 89-96.
46. 46Álvarez-Diduk,R.R. (2014). Estudio de la influencia de la estructura del anillo B de Flavonoles en sus constantes de acidez y capacidad antioxidante. Tesis de doctorado en Ciencias (Química). Universidad Autónoma Metropolitana.
47. 47 Michael H. A., William E. A. (2014).On the solubility of quercetin, *Journal of Molecular Liquids*, 197, 157-159.
48. 48 Zhou, A., & Sadik, O. A. (2008). Comparative analysis of quercetin oxidation by electrochemical, enzymatic, autoxidation, and free radical generation techniques: a mechanistic study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(24), 12081-12091.
49. 49Rickerby, J., & Steinke, J. H. (2002). Current trends in patterning with copper. *Chemical reviews*, 102(5), 1525-1550.
50. 50Bhattacharya, P. K. (2005). Alkali and alkaline earth metals ions in biochemical systems. *Metal Ions in Biochemistry*, 3, 66-85.
51. 51Rorabacher, D. B. (2004). Electron transfer by copper centers. *Chemical reviews*, 104(2), 651-698.
52. 52AllenJ. Bard, Parsons, R., & Jordan, J. (1985). *Standard potentials in aqueous solution*. CRC Press.
53. 53Muñoz Portero, M. J. (2011). Características y usos de los diagramas de Pourbaix.
54. 54Muñoz Portero, M. J. (2011). Construcción de los diagramas de Pourbaix para los sistemas metal-agua.

55. 55HYDRA Hydrochemical Equilibrium-Constant Database (data retrieval to create files for Medusa) versión 18 August 2009. Software By: Ignasi Puigdomenech Inorganic Chemistry Royal Chemistry 100 44 Stockholm, Sweden.
56. 56J. Rickerby and J. H. G. Steinke. (2002). Current Trends in Patterning with Copper, *Chem. Rev.*, 102, 1525-1549.
57. 57Santini, C., Pellei, M., Gandin, V., Porchia, M., Tisato, F., & Marzano, C. (2014). Advances in copper complexes as anticancer agents. *Chemical reviews*, 114(1), 815-862.
58. 58 Roy, A. S., Tripathy, D. R., Ghosh, A. K., & Dasgupta, S. (2012). An alternate mode of binding of the polyphenol quercetin with serum albumins when complexed with Cu (II). *Journal of Luminescence*, 132(11), 2943-2951.
59. 59Ni, Y., Du, S., & Kokot, S. (2007). Interaction between quercetin-copper (II) complex and DNA with the use of the Neutral Red dye fluorophor probe. *Analytica Chimica Acta*, 584(1), 19-27.
60. 60Zhou, J., Wang, L. F., Wang, J. Y., & Tang, N. (2001). Synthesis, characterization, antioxidative and antitumor activities of solid quercetin rare earth (III) complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 83(1), 41-48.