

ESTUDIO DE LOS COMPLEJOS OLIGOGALACTURÓNIDOS–CU(II) EN SOLUCIÓN Y FASE SÓLIDA

Omar Cartaya^{1*}, Ana M^a. Moreno¹, Fernando Guridi², Adriano Cabrera¹

- 1) Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas Carretera Tapaste– San José Km 3½, 32700, San José de las Lajas, Provincia Mayabague, Cuba. Correo electrónico: ocartaya@inca.edu.cu
2) Departamento de Química, Universidad Agraria de La Habana Carretera Tapaste–San José km 3½, 32700, San José de las Lajas, Provincia Mayabague, Cuba.

Recibido: Noviembre 2016; Aceptado: Diciembre 2016

RESUMEN

La mezcla de oligogalacturónidos (Ogal), es un producto bioactivo obtenido en el *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de Cuba (INCA)* a partir de la corteza de cítricos. En este trabajo se establece la relación estequiométrica metal/ligando entre la mezcla de oligogalacturónidos y el ion Cu^{2+} por valoración potenciométrica y análisis elemental evidenciándose una relación 1:2. Los cambios estructurales de los oligogalacturónidos como consecuencia de su interacción con el ión metálico se identificaron por espectroscopia IR y por análisis térmico se apreció que los complejos metálicos son térmicamente menos estables que los oligogalacturónidos de partida.

Palabras claves: Oligogalacturónidos, cobre, valoración potenciométrica, espectroscopia IR, TG–DSC

ABSTRACT

The mixture of oligogalacturonides (Ogal), is a bioactive product obtained in the *National Institute of Agricultural Sciences of Cuba (INCA)* from citric peel. In this work, a metal: ligand molar ratios of 1:2 between oligogalacturonides and Cu^{2+} were established for potentiometric titration and elementary analysis. Changes in oligogalacturonides structures in as consequences of their bound with metallic ion were identified by IR spectroscopy and for thermal analysis it was appreciated that the metallic complexes are thermally less stable than the departure oligogalacturónidos.

Key words: Oligogalacturónidos, copper, potentiometric titration, IR spectroscopy, TG–DSC,

INTRODUCCIÓN

Las pectinas son principalmente polisacáridos constituyentes de la pared celular de las plantas. Desde el punto de vista estructural se conoce que los polisacáridos pécticos son copolímeros distribuidos en bloques de dos tipos fundamentalmente. Un bloque no ramificado, constituido por una cadena lineal de unidades de ácido anhidro galacturónico y que son conocidos por homogalacturanos (HGA) y un bloque ramificado, donde una cadena lineal de homogalacturanos es interrumpida frecuentemente por unidades de β -L-ramnopiranosido [1, 2].

Los ácidos poligalacturónicos son polisacáridos gelificantes que constituyen una fracción homogénea de las pectinas. La mayoría de las estructuras consisten en residuos de ácidos poli- α (1–

4)-galacturónico parcialmente metilados [3]. Los oligogalacturónidos (Ogal) son oligosacáridos lineales de unidades de ácido D-galacturónico unidos por enlaces del tipo $\alpha(1-4)$ [4,5]. La estructura química del oligosacárido se presenta en la Figura 1.

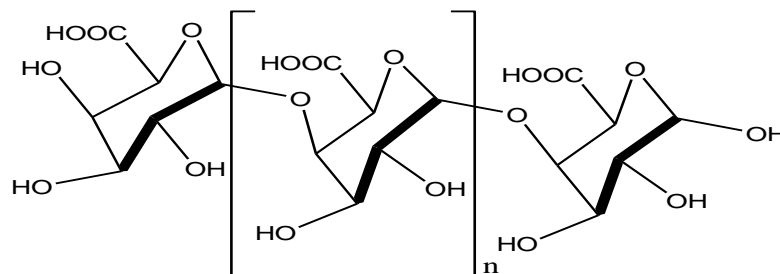


Figura 1. Estructura general de los oligogalacturónidos.

El ácido galacturónico se obtiene por desmetoxilación básica o enzimática de la pectina, mientras que los oligogalacturónidos pueden prepararse por hidrólisis ácida o enzimática de la pared celular vegetal o del ácido galacturónico [6,7].

Comercialmente la principal aplicación de la pectina es como gelificante y espesante en la industria alimentaria. En el campo de la veterinaria, se utiliza como agente antidiarreico y en medicina se reconoce su efectividad en la limpieza del intestino o como desintoxicante en humanos.

En agricultura se ha utilizado como estimulador del crecimiento y antifúngico [8] y en biotecnología [9].

Existen reportes en la literatura sobre el uso de sustancias pécticas como eficientes adsorbentes de metales pesados [10,11].

Los polisacáridos ácidos poseedores de grupos carboxílicos pueden interactuar con iones de cargas positivas, en particular, cationes divalentes [12]. La interacción de los polisacáridos con los metales pesados tiene aplicaciones en diferentes tipos de análisis (electroforesis, cromatografía, y reactivos de corrimiento en RMN), en la industria para el secuestro de iones metálicos, así como en la medicina, la química de coordinación, y la bioquímica [13, 14].

El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar la constante de estabilidad y las especies en equilibrio del ion Cu(II) con los oligogalacturónidos (Ogal) en función del pH en solución acuosa y los cambios estructurales producidos en estado sólido.

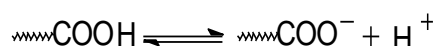
MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal. La mezcla de oligogalacturónidos se obtuvo en el INCA a partir de la corteza de cítricos según la metodología propuesta por Cabrera [15].

CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPLEJOS OGAL- ME

Determinación de la constante de estabilidad. Las valoraciones potenciométricas se realizaron utilizando 0,2175 g de la mezcla de Ogal y se adicionaron 10 mL de disolución $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ de CuCl_2 , el volumen final fue de 100 mL. La disolución valorante fue $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, libre de carbonato, a la cual se le determinó su concentración con Fixanal de $\text{HCl } 0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Se midió el pH durante el transcurso de la valoración. Las valoraciones se realizaron por triplicado hasta pH 7 y a $25 \pm 1^\circ \text{C}$.

Los resultados de la valoración se procesaron a través del paquete estadístico *Best 7* (Argentina), las constantes de protonación para el biopolímero fueron tomadas de la literatura para el monómero del ácido galacturónico [16], como se muestra en la siguiente ecuación:



Las constantes de hidrólisis para los iones metálicos usadas fueron las indicadas por *Baes y Mermer* y el producto iónico del agua (pK_w), a 25°C e $I = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, se tomó como 13,78. Todas estas constantes fueron fijadas durante el cálculo de las constantes de estabilidad entre los iones metálicos y la mezcla de Ogal, con la ayuda del programa *Best 7*. El modelo matemático se ajusta en el programa *Best 7* donde se toma en cuenta la formación de las especies complejas, como se muestra en las ecuaciones (2) y (3):



donde M = iones Cu(II) y L= mezcla de Ogal.

La distribución de especies fue calculada con el programa *SPE* (Argentina), que utiliza los datos entrados en el programa *Best 7*. Las especies consideradas en el equilibrio son las de mayores probabilidades de formarse y las que otras técnicas analíticas demuestran su existencia, estas especies fueron ML , ML_2 , M_2L , M_2L_2 , M_2L_4 y ML_3 y sus formas protonadas.

Obtención de los complejos sólidos de Ogal-metal. Los complejos sólidos de Ogal con los iones metálicos se obtuvieron por agitación de 50 mL de Ogal $1,025 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ con disolución de Cu(II) a una concentración de $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ y pH 5, la disolución se agitó durante 2 horas. Posteriormente la disolución fue centrifugada a 3.000 rpm (*Centrifuge 5804R, Alemania*) y el precipitado obtenido fue lavado y secado en estufa (*Binder, EEUU*) a 60°C .

Análisis elemental de los complejos sólidos. La determinación de C e H se realizó

utilizando un analizador elemental (Carlos Erba 1106, Alemania) y el contenido de iones Cu(II) fue medido en un espectrómetro de absorción atómica (Hitachi 180–80, Japón).

Análisis térmico. Las curvas de termogravimetría fueron obtenidas en un equipo Perkin Elmer TGA7, USA, empleando crisoles de platino (0,5 mL) con tamaño de muestra entre 10–15 mg y una velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ en atmósfera de helio, con temperatura desde 20 hasta 600°C .

Espectroscopia Infrarroja (IR). Se prepararon pastillas de KBr (p.a.) con muestras de la mezcla de Ogal. Los espectros infrarrojos se registraron en un espectrómetro FTIR modelo Vector 22 (Broker Optik, Alemania) en el intervalo de 4.000 a 600 cm^{-1} , en unidades de absorbancia con aditamento de ATR a una resolución de 4 cm^{-1} , a 60 scans con ajuste de la línea base. El procesamiento de los espectros se realizó mediante el software OPUSNT.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El perfil de la valoración potenciométrica de la mezcla de Ogal, en ausencia y con la presencia de metal se muestra en la Figura 1. La curva muestra que donde está presente el metal ocurre un corrimiento respecto a la curva de la mezcla de Ogal sola y la diferencia de pH entre la curva de Ogal con metal y la del Ogal sola, para una misma cantidad de base añadida; señala la formación de un complejo [17].

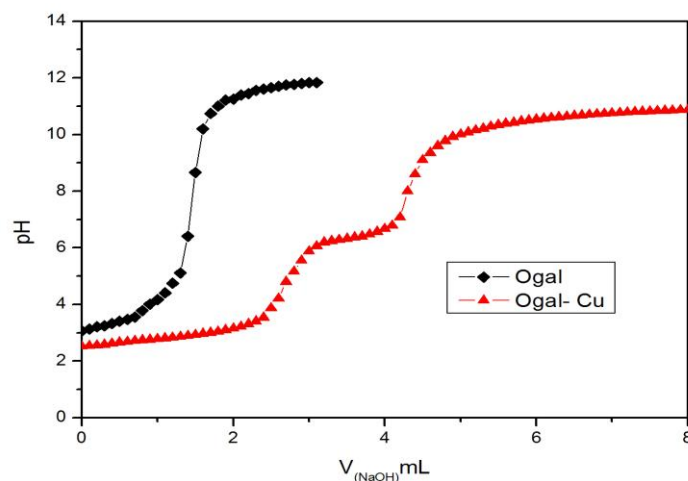


Figura 1. Valoración potenciométrica de la mezcla de Ogal 0,1 mmol de Cu(II) a $T = 25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ $I = 0,1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (KCl).

Un examen de las curvas muestra que se evidencia un salto a partir de $\text{pH} = 3,5$ que debe estar relacionado con la formación del complejo Ogal–Cu(II). No se analizó la valoración a valores de pH por encima de 7, debido a la formación de precipitados que dificultan el análisis, por lo que solo se analizará las curvas en la región que corresponde a las especies solubles.

Resultados similares han obtenido *Reyes et al.* [18] con otros iones metálicos y ácidos débiles (o bases), como la N,N'-diacetiletilendiamina del ácido diacético, que ha sido estudiado por su acción acomplejante con los iones Cu (II) y Ca (II).

En la Tabla 1 se muestra los logaritmos de las constantes de estabilidad de los complejos de la mezcla de Ogal con el ion Cu(II), demostrándose que todos los sistemas ácido galacturónico-metal son marcadamente estables por sus valores de constantes de estabilidad. Las constantes de estabilidad son mayores para el equilibrio $M + L \rightarrow ML$ y decrecen a medida que se incrementa el grado de sustitución en el ácido galacturónico. Estos resultados evidencian la afinidad de la mezcla de Ogal por el ión Cu(II).

Tabla 1. Logaritmos de las constantes de estabilidad de los complejos de la mezcla de Ogal con los iones Cu(II) $T = 25 \pm 1^\circ\text{C}$ y $I = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (KCl).

	Ogal-metal
	Cu
$[ML]/[M][L]$	$18,5 \pm 0,2$
$[MHL]/[ML][H]$	$3,1 \pm 0,2$

Los logaritmos de las constantes de estabilidad encontrados están en el orden de lo indicado por *Merce et al.* [19] los cuales estudiaron la formación de complejos en medio sólido y líquido de extractos de semillas de *C. Fastuosa* con alto contenido de ácidos galacturónidos, detectando valores en el orden de $15,4 \pm 0,5$ y $3,1 \pm 0,5$ en las diferentes etapas de la formación del complejo. *Cescuti y Rizzo* [20] estudiaron la interacción de oligogalacturónidos de diferentes grados de polimerización con cationes de metales divalentes, los cuales demostraron la influencia del grado de polimerización en la formación de los complejos, así como en las determinaciones de la afinidad en el orden $\text{Cu} > \text{Ca} > \text{Zn}$.

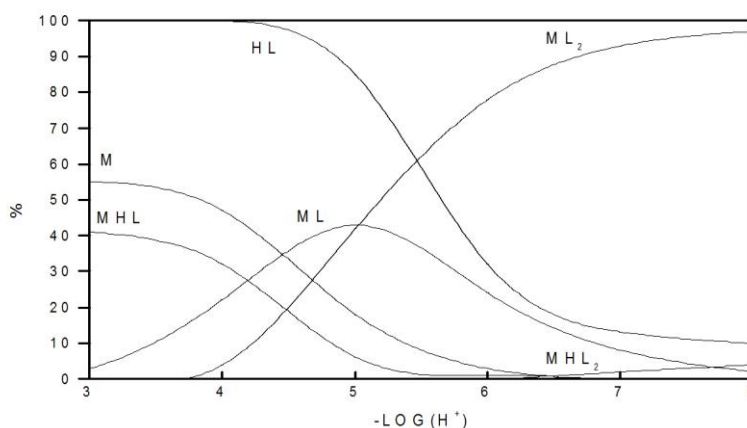


Figura 2. Distribución de especies de la mezcla de Ogal (L) con 0,1 mmol de Cu(II) (M) a valores de pH entre 3 y 8 (el % es el porcentaje de las especies presentes).

La Figura 2 muestra el diagrama de distribución de las especies de la mezcla de Ogal con 0,1 mmol de Cu(II). La mayor concentración de las especies complejas ocurre en un intervalo de pH entre 3 y 7.

La mezcla de Ogal con el ión Cu(II) muestra que la forma protonada de la especie ML aparece a valor de pH máximo de 3, con el 41% del cobre acomplejado. La forma no protonada, ML, aparece a un valor máximo de pH 3 con el 45,5% de iones metálicos acomplejados. Finalmente la especie ML_2 aparece a un valor de pH 3,8 representando el 80% de cobre acomplejado.

Los resultados obtenidos en el diagrama de distribución de las especies de la mezcla de Ogal con el ion Cu(II), destaca la influencia del pH del medio en la adsorción de los mismos, pues dicho factor determina la disponibilidad de las especies metálicas presentes en disolución y la activación de los grupos carboxílicos (potenciales centros de adsorción) en la superficie de la mezcla de Ogal [21].

El espectro Infrarrojo de la mezcla de Ogal antes y después de ser expuesto a las disoluciones metálicas se muestra en la Figura 3. Del espectro se demuestra la presencia de grupos funcionales con capacidad de adsorción, tales como carboxílicos e hidroxilos.

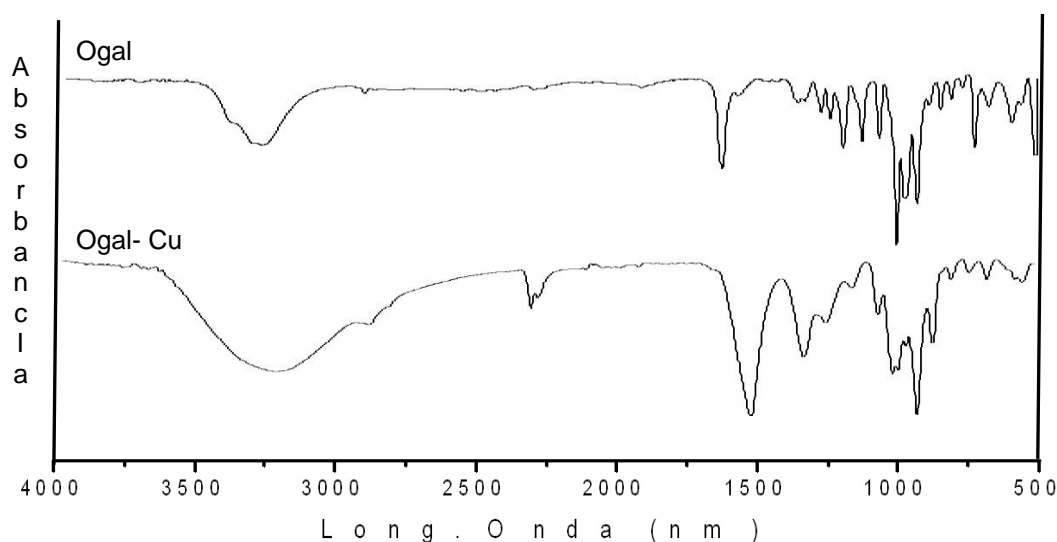


Figura 3. Espectro IR de la mezcla de Ogal y el complejo metálicos Ogal-Cu.

Señales importantes en cm^{-1} asignados del espectro (Tabla 2), lo constituyen las bandas en 1.706, características de los grupos carboxílicos, así como se observan las vibraciones del C-H a 2.955–2.836, del C-O a 1.093, características de los alcoholes secundarios, las asimétricas del grupo C – O – C a 1.153, las δ C-H del anillo a 940 y las del enlace intermolecular del grupo O – H a 3.313.

Tabla 2. Frecuencia característica (cm^{-1}) de la mezcla de Ogal y el complejo metálico.

<i>Frecuencia</i>	<i>Ogal</i>	<i>Ogal–Cu</i>
OH	3.313	3.255
CH	2.955	–
COOH	1.706	–
COO [–]	–	1.590
δOH , CCH, COH	1.412, 1.326	1.406
COO [–]	–	1.329
C–O–C	1.153	1.147
C–O alcohol sec	1.093	1.096
δ C–H anillo	940	955

Al establecer una comparación de este espectro con el de los diferentes complejos metálicos, se evidencia una similitud en cuanto a las vibraciones de valencia de los enlaces C–H, C–O–C, C–O, δ C–H y OH, aunque existen diferencias en las intensidades de los picos característicos [22].

Es de esperar que en los espectros de los complejos metálicos no se observe la banda característica de grupos carboxílicos alrededor de 1.740 a 1.650 cm^{-1} debido a que al reaccionar la mezcla de Ogal con sales inorgánicas, se debe sustituir el H del grupo hidroxilo del ácido por el metal correspondiente, ocurriendo la ionización del grupo carboxilo para formar un ion carboxilato que presenta una estructura de resonancia, que implica la formación de dos bandas características del grupo, en el intervalo de 1.610 a 1.550 cm^{-1} y otra de 1.420 a 1.300 cm^{-1} , correspondiente a las vibraciones de estrechamiento (*stretching*) asimétricos y simétricos, respectivamente. Los espectros de los complejos metálicos presentan estos dos tipos de bandas que caracterizan la estructura molecular de las sales.

Estos cambios sustanciales producidos en el espectro producto de la presencia de metales como corrimientos isocrómicos en las bandas y aparición de nuevas bandas debido a la relación ligando/metal, así como la dependencia del número de coordinación del complejo formado, ratifica que en el mecanismo de sorción de iones metálicos por la mezcla de Ogal hay formación de complejos [23].

De acuerdo con los resultados del análisis elemental (Tabla 3), el radio molar del enlace metal–ligando fue 1: 2 para el complejo formado ($n = 2$). Revelando el análisis de los elementos orgánicos (C, H), metal y agua la siguiente estequiometría del complejo sólido: Cu (D–GalA)₂·5 H₂O (1).

Tabla 3. Contenido (en porcentaje) de elementos orgánicos (C, H), cationes metálicos y agua en los complejos.

Complejo	Fórmula Molecular	C		H		Metal		H ₂ O	
		Calc.	Exp.	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.
1	C ₁₂ H ₂₆ O ₁₈ Cu	27,61	27,32	4,99	4,92	12,18	12,42	13,81	14,54

En la Tabla 4 se presentan los resultados de la evaluación de la temperatura de pico en cada caso y en la Figura 4 se muestran las curvas termogravimétricas (TG) y termogravimétricas diferenciales (TGD) registradas en atmósfera de aire de la mezcla de Ogal y el complejo metálico. En todos los casos se omitió la primera parte de la curva, para temperaturas inferiores a 150°C, donde ocurre la pérdida del agua asociada a las moléculas.

Tabla 4. Temperatura de pico y pérdida de peso para las muestras estudiadas.

	Intervalo	Temp. Máxima	Δ Peso (%)
Ogal	202,4– 319, 8	258, 3	35, 6
Cu	157, 6– 230, 3	209, 8	15, 67
	230, 3– 370, 2	250, 8	25, 74

La curva TGD de la Figura 5A muestra para la mezcla de Ogal sin la presencia de metal, un efecto en el intervalo 202,4–319,8°C con una temperatura de máxima velocidad de descomposición a 258,3°C, lo cual pudiera ser el resultado de la descarboxilación y deshidratación del polímero.

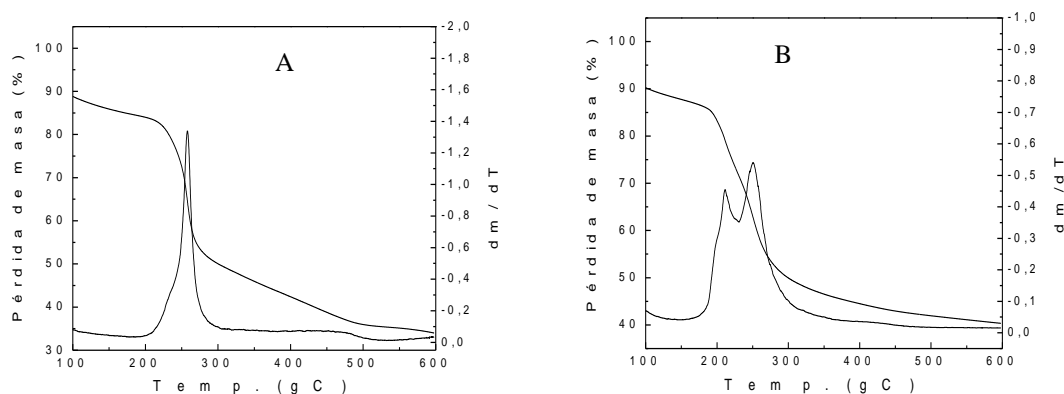


Figura 5. Curvas termogravimétricas y termogravimétrica diferencial de la mezcla de Ogal (A) y del complejo metálico mezcla de Ogal/Cu(II) (B).

En el complejo Ogal–Cu (Figura 5B) aparecen dos efectos: la primera degradación aparece en el intervalo de 157,6–230,3°C con temperatura de máxima velocidad de descomposición de 209,9°C, seguido por un segundo proceso que presenta una velocidad máxima de descomposición de 250,8°C, con una pérdida de masa asociada que prácticamente duplica la del primer efecto.

CONCLUSIONES

De lo anteriormente expuesto se ha puesto de manifiesto que la mezcla de oligogalacturónidos posee buenas propiedades como adsorbente de iones cobre en solución acuosa formando complejos marcadamente estables y en un intervalo amplio de pH, como se demostró del análisis de los diagramas de distribución.

Por otro lado, los complejos metálicos obtenidos son menos estables térmicamente que la mezcla de Ogal de partida.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Marín V, Cortés R, Alfaro R, Garnica MG, Martínez H, *J. Food Science*, **71**, 10 (2012)
- [2] Morris GA, Ralet M, Bonnin E, Thibault J, Harding S, *Carbohydr. Polym.*, **82**(4), 1161 (2010)
- [3] Garron, M. and Cygler, M. *Glycobiology*, 20(12), 1547 (2010)
- [4] Scanlan E, Mac Keen M, Wormald M, Davis B, *JACS*, **132**(21), 7238 (2010)
- [5] Romano M, Tavera N, Bertola P, Mobili A, Pinotti V, Gómez A, *Food Research Intern.*, **64**, 560 (2014)
- [6] Matsuhira B, Lillo LE, Sáenz C, Urzúa C, Zárate O, *Carbohydr. Polym.*, **63**(2), 263 (2006)
- [7] Castaldi P, Lauro G, Senette C, Deiana S, *Plant Physiology and Biochemistry*, **48**(12), 1008 (2010)
- [8] Ramírez A, Cruz N, Franchialfaro O, *Cul. Trop.*, **24**(1), 59 (2003)
- [9] Montes S, Aldaz JP, Cevallos M, Cabrera JC, López M, *Cul. Trop.*, **21**(3), 29 (2000)
- [10] Wehr J, Blamey F, Kopittke P, Menzies N, *Plant and Soil*, **332**(1), 319 (2010)
- [11] Pérez P, Du W, Avena-Bustillos R, Ferreira N, Mc Hugh T, *Food Hydrocolloids*, **35**, 287 (2014)
- [12] Tang D, Warnken KW, Santschi PH, *Limnol. Oceanogr. AAPS. Pharm. Sci. Tech.*, **2**(4), 1 (2000)
- [13] Synytsya A, Copiková J, Volka K, *Carbohydr Res.*, **339**(14), 2391 (2004)
- [14] Tavera M, Urriza M, Pinotti A, Bertola N, *Food and Bioprocess Technology*, **7**, 2218 (2014)
- [15] Cabrera JC "Obtención de una mezcla de oligogalacturónidos a partir de corteza de cítrico". Tesis Doctoral en Ciencias Químicas, La Habana, Cuba, INCA, 2000
- [16] Martell AE, Smith RM "Critical Stability Constants". Plenum Press, New York, 1989
- [17] Hernández Y, Bordallo E, León V, Aguilera Y, *Rev. Iberoam. Polimeros*, **15**(2), 75 (2014)
- [18] Reyes E, Cerino F, Suárez M, *Ingenierías*, **9**, 59 (2006)
- [19] Merce ALR, Fernandes E, Mangrich AS, Sierakowski MR, Szpoganicz B, *J. Braz. Chem. Soc.*, **12**(6), 791 (2001)
- [20] Cescuti P, Rizzo R, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 3262 (2001)
- [21] Cartaya O, Reynaldo I, Peniche C, *Rev. Iberoam. Polímeros*, **9**(5), 473 (2008)
- [22] Franco M, Ramírez M, García R, Bernal M, Espinosa B, Solís J, Duran C, *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*, **1**(2), 45 (2010)
- [23] García V, Ale A, Guzmán E, Yipmantin A, Maldonado H, *Rev. Soc. Quím. Perú*, **79**, 381 (2013)