

# Estudio de Polielectrolitos Heterofuncionales en el Marco de la Teoría de Condensación de Contraiones

Rodolfo D. Porasso<sup>‡</sup>, Marc A.G.T. van den Hoop<sup>†</sup>, Sergio Paoletti<sup>\*</sup> y Julio C. Benegas<sup>‡</sup>

<sup>‡</sup> Instituto de Matemática Aplicada San Luis (IMASL) - Departamento de Física - Fac. de Ciencias Físico, Matemática y Naturales - Universidad Nacional de San Luis - CONICET

Ejército de los Andes 950 - (5700) - San Luis - Argentina

<sup>†</sup> National Institute Of Public Health And Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands

<sup>\*</sup> Department of Biochemistry, Biophysics and Macromolecular Chemistry, University of Trieste, 34134 Trieste, Italy.  
e-mail: rporasso@unsl.edu.ar

En este trabajo se presenta una extensión de la teoría de condensación de contraiones de polielectrolitos débiles lineales en solución para estudiar el proceso de ionización de polímeros constituidos por más de dos grupos funcionales. A partir de la energía libre del sistema las expresiones analíticas de diversas funciones termodinámicas pueden ser obtenidas en función del grado de ionización y de las variables físico-químicas de la solución. En este trabajo hemos derivado la expresión del pK aparente de la solución en función del grado de ionización y de la variación de las poblaciones ionizadas de cada uno de los posibles grupos funcionales. Como validación del modelo se contrastan sus resultados con datos experimentales de la titulación potenciométrica del ácido húmico en presencia de sus propios contraiones. Se encuentra para este biopolímero una caracterización estructural plausible, constituida por cuatro grupos funcionales principales, determinados por sus respectivos pK intrínsecos y abundancias fraccionales.

In the present work the heterogeneity of linear weak polyelectrolyte is taken into account within the framework of the counterion condensation theory. An extension of this theory is presented to consider linear polyelectrolytes constituted with more than two functional groups. From the knowledge of the free energy of the system it is possible to determine the analytical expressions of the thermodynamics functions of interest, in terms of the ionization degree and the other physico-chemical variables. In this work an expression of the apparent pKa as a function of the degree of ionization and of the change of the ionized population of each possible functional groups has been derived. The results properly describe experimental data of potentiometric titration of humic acid in solution with monovalent counterions. From the analysis of this data four main functional groups are proposed, along with their respective intrinsic pK and fractional abundance.

## I. Introducción

En el estudio de la disociación de polielectrolitos débiles en solución se encuentran a veces curvas de titulación potenciométricas 'anómalas'. Este tipo de curvas ha sido tradicionalmente considerada como indicativa de una transición conformacional inducida por la ionización del polímero. Paoletti y col<sup>(1)</sup> han mostrado que ciertos datos experimentales que presentan variaciones irregulares en pK<sub>a</sub> pueden, en algunos casos, corresponder a la ionización de polielectrolitos lineales constituidos por dos grupos funcionales que ionizan a distinto pK intrínsecos, pK<sub>i</sub><sup>o</sup>.

Motivados por diversos resultados experimentales<sup>(2-6)</sup> que indican que algunos (bio)polímeros están constituidos por más de dos grupos funcionales, en este trabajo se presenta una extensión de la teoría de condensación de contraiones (CC) que estudia el proceso de ionización de polielectrolitos multifuncionales.

Nuestros objetivos son los siguientes:

- \* Analizar la influencia de los distintos parámetros del modelo (número de grupos funcionales, con sus respectivos pK intrínsecos, pK<sub>i</sub><sup>o</sup>, y abundancias fraccionales, X<sub>i</sub>, que los caracterizan) en las curvas de titulación potenciométrica.
- \* Estudiar la ionización de las poblaciones de cada uno de estos grupos funcionales y su variación a lo largo del proceso de titulación.

- \* Comprobar la validez del modelo contrastando sus resultados con datos experimentales de la titulación potenciométrica del ácido húmico (HA) en solución acuosa en presencia de sus propios contraiones.

## II. Teoría

Como es usual en la teoría de CC<sup>(7)</sup>, el polímero se reemplaza por un arreglo unidimensional con una densidad de carga lineal,  $\xi$ , dada por:

$$\xi = \frac{e^2}{\epsilon k T b} = \frac{l_B}{b} \quad (1)$$

donde  $e$  es la carga fundamental,  $\epsilon$  es la constante dieléctrica del solvente,  $k$  la constante de Boltzmann,  $T$  la temperatura absoluta,  $b$  la distancia entre cargas (proyectada sobre el eje del polielectrolito) y  $l_B$  la longitud de Bjerrum.

Para polielectrolitos monopróticos (un solo tipo de grupo ionizable) el logaritmo de la constante aparente de disociación,  $K_a(\alpha)$ , puede expresarse en términos de la energía libre iónica, como:

$$\text{pK}_a(\alpha) = \text{pK}^o + \frac{1}{2.303RT} \frac{\partial G^{\text{ion}}}{\partial \alpha} \quad (2)$$

$\text{pK}^o$  es el pK intrínseco asociado con la constante de equilibrio necesaria para remover un protón de la cadena polimérica totalmente descargada,  $G^{\text{ion}}$  es la energía libre iónica en exceso de la solución,  $R$  la constante de los gases y  $\alpha$  el grado de ionización del polielectrolito.

Manning<sup>(7)</sup> mostró que para el caso en que la densidad de carga,  $\xi$ , es menor que cierto valor crítico, la energía libre electrostática tiene la siguiente forma:

$$G^{\text{ion}} = G^{\text{el}} = -\xi n_p RT \ln(1 - e^{-\kappa b}) \quad (3)$$

donde  $n_p$  es el número de moles de grupos ionizables,

$$\kappa^2 = \frac{8\pi e^2 N_A}{\epsilon k T 1000} I$$

es el parámetro de Debye - Hückel,  $N_A$  el número de Avogadro e  $I$  la fuerza iónica.

Para una descripción completa de la teoría el lector interesado puede consultar la referencia 8.

### Ionización de polielectrolitos multifuncionales

Siguiendo el formalismo propuesto por Paoletti y col<sup>(1)</sup> suponemos un polielectrolito constituido por  $N$  grupos funcionales  $H_1, H_2, \dots, H_N$  de constantes de disociación  $K_1, K_2, \dots, K_N$  y concentraciones  $C_1, C_2, \dots, C_N$ . Para un pH de la solución dado, los diferentes grupos funcionales muestran distintos grados de ionización,  $\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_N$ . En consecuencia, el grado total de ionización del polielectrolito está dado por:

$$\alpha = \sum_{i=1}^N X_i \beta_i \quad (4)$$

$X_i$  representa la abundancia fraccional de la especie  $i$ , definida como:

$$X_i = \frac{C_i}{\sum_{j=1}^N C_j} \quad \left( \sum_{j=1}^N C_j = C_p \right) \quad \text{para } i=1, \dots, N \quad (5)$$

Para la ionización de cada grupo funcional la correspondiente ecuación de Henderson-Hasselbach es:

$$pK_i(\beta_i) = \text{pH} + \log \left[ \frac{1 - \beta_i}{\beta_i} \right] \quad \text{para } i=1, \dots, N \quad (6)$$

definiendo:

$$\Delta pK_j = pK_1 - pK_j = \log \left[ \frac{\beta_j(1 - \beta_1)}{\beta_1(1 - \beta_j)} \right] \quad \text{para } j=2, \dots, N \quad (7)$$

y

$$q_j = 10^{\Delta pK_j} = \frac{\beta_j(1 - \beta_1)}{\beta_1(1 - \beta_j)} \quad \text{para } j=2, \dots, N \quad (8)$$

es posible obtener cada  $\beta_j$  como función de  $\beta_1$ :

$$\beta_j = \frac{q_j \beta_1}{1 + t_j \beta_1} \quad \text{para } j=2, \dots, N \quad (9)$$

donde

$$t_j = q_j - 1 \quad \text{para } j=2, \dots, N \quad (10)$$

Las ecuaciones (4) hasta (10) forman un conjunto de  $N$  ecuaciones independientes para resolver los grados de ionización desconocidos,  $\beta_i$ .

Con las definiciones anteriores, el pH de la solución puede escribirse:

$$\text{pH}(\alpha) = pK_i + \log \left[ \frac{\beta_i}{1 - \beta_i} \right] \quad \text{para todo } i \quad (11)$$

finalmente se puede definir un  $pK^\circ(\alpha)$  intrínseco, asociado con remover un protón de la mezcla de las diferentes especies de grupos funcionales<sup>(1)</sup>, como:

$$pK^\circ(\alpha) = pK_i^\circ + \log \left[ \frac{\beta_i}{1 - \beta_i} \frac{(1 - \alpha)}{\alpha} \right] \quad \text{para todo } i \quad (12)$$

que representa el hecho de que ahora para cada especie  $i$ , el  $pK^\circ$  es una función de  $\alpha$ , es decir, del grado de ionización de todo el polielectrolito.

### III. Sección Experimental

El ácido húmico (HA) fue obtenido del laboratorio Fluka y el tratamiento previo se presenta en detalle en el trabajo 9. La solución de stock fue conservada en refrigerador a 7°C. La concentración de la misma fue determinada mediante experimentos de conductometría. Como titulante se usó una solución de hidróxido de potasio con una concentración 0.100 mol.l<sup>-1</sup>.

#### Método

Las medidas de la titulación potenciométrica se realizaron con un pH-metro digital de Radiometer (modelo PHM 95) en combinación con un electrodo de vidrio (GK2401C), periódicamente calibrado usando dos buffers (pH 4 y 7) y controlado con una solución estándar de pH igual a 6.88.

Las titulaciones se llevaron a cabo con hidróxido de potasio. Cada solución contenía HA a una concentración fija de 2.50\*10<sup>-3</sup> mol.l<sup>-1</sup>. Las lecturas de pH se consideraron confiables si podían reproducirse dentro de  $\pm 0.03$  unidades de pH. Las medidas se realizaron en un baño termostatzado a 25°C, en atmósfera nitrogenada para evitar la presencia de dióxido de carbono en la solución.

El grado de ionización del HA fue determinado mediante la siguiente relación:

$$\alpha = \frac{[\text{KOH}]_{\text{Agregado}} + [\text{H}^+] - [\text{OH}^-]}{[\text{Polímero}]} \quad (13)$$

donde el símbolo  $[A]$  indica la concentración de la especie  $A$  en la solución.

### IV. Resultados y Conclusiones

En general la influencia en la forma de la curva  $pK_a(\alpha)$  calculada con los distintos parámetros estructurales ( $X_i, pK_i^\circ$  y  $N$ ) se manifiesta en el número de regiones en donde hay un gran cambio en  $pK_a$ . Por un lado el número de dichas regiones depende directamente del número de grupos funcionales,  $N$ , mientras que el cambio en  $pK_a$  de cada una de ellas dependen de las diferencias entre los  $pK_i^\circ$ s de los dos grupos consecutivos que lo determina.

Como ejemplo de resultados del modelo, en la Figura 1 se muestra la dependencia de  $pK_a(\alpha)$  en función del grado de ionización,  $\alpha$ , para tres polielectrolitos distintos constituidos respectivamente por 2, 3 y 4 grupos funcionales. El valor de la densidad de carga para los tres casos es  $\xi = 0.8$ . Las abundancias fraccionales,  $X_i$ , y los  $pK_i^\circ$  intrínsecos de cada uno de los grupos funcionales se muestran en la misma Figura 1. El efecto de aumentar el

número de grupos funcionales se aprecia en el perfil de la curva. En general se observan dos tipos de regiones, una en donde el  $pK_a$  está determinado por la ionización de un solo grupo, y otra donde está dominado por la ionización de distintos grupos funcionales. El número de las regiones donde domina la ionización combinada, aumenta con  $N$  mientras que el cambio en  $pK_a$  de los mismos disminuye cuando  $N$  crece.

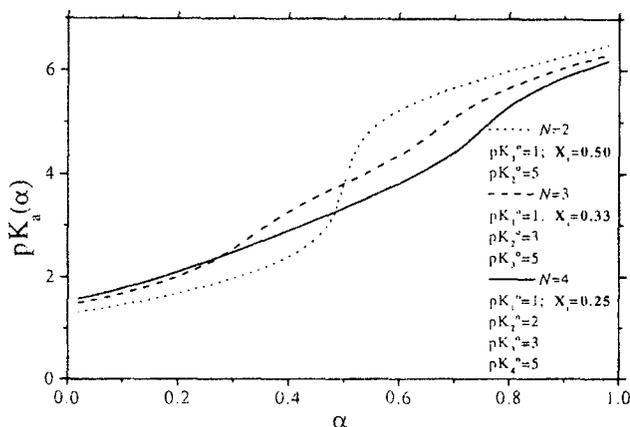


Figura 1: Cálculos según el modelo heterofuncional para polielectrolitos con  $N=2, 3$  y  $4$  grupos funcionales. La concentración de polímero  $C_p=2 \cdot 10^{-3}$  mol/L, sin sal simple agregada y  $\xi=0.8$ . Los valores de  $pK^\circ$  intrínsecos de cada grupo funcional al igual que las abundancias fraccionales, se muestran en la Figura 1.

Analizando en detalle el caso particular de  $N=4$ , se observa una curva suavemente creciente hasta  $\alpha=0.75$  donde se aprecia una región donde el cambio en  $pK_a$  es más pronunciado, esto se debe a que en tal región se combina la ionización de distintos grupos funcionales. Este hecho se debe a que la diferencia entre  $pK_3^\circ$  y  $pK_4^\circ$  es de dos unidades de  $pK$ , mientras que entre los restantes  $pK_i^\circ$  sólo es de una unidad. En estos casos la transición entre la ionización de un grupo y el siguiente resulta en una curva sin regiones de cambio notorios en  $pK_a$  (ver análisis de poblaciones ionizadas de Figura 3a y 3b).

En la Figura 2 se muestra el caso particular de  $N=3$ . Para comparación se grafican los resultados para el caso clásico de un polielectrolito monoprotico (curvas a y b), es decir constituido con un solo tipo de grupo ionizable o funcional ( $N=1$ ). El caso de la curva 'a' corresponde a  $pK^\circ=5$  mientras que el de la curva 'b' a  $pK^\circ=1$ . Estas dos curvas concuerdan con los casos límites del modelo aquí desarrollado donde el polielectrolito está constituido solamente por una especie ( $X_3=1$  ó  $X_1=1$ ), actuando entonces a manera de envoltentes del modelo heterofuncional. En el caso del modelo heterofuncional observamos dos regiones de ionización combinada, que se encuentran a  $pK_a=3$  y  $5$ , correspondiente a los  $pK^\circ$  intrínsecos de los dos grupos funcionales de mayor  $pK_i^\circ$ . Si suponemos un experimento de titulación potenciométrica de este polielectrolito, con una región experimentalmente accesible comprendida generalmente entre  $\alpha \approx 0.2$  y  $\alpha \approx 0.8$ , vemos que en esta región el perfil de la curva se asemeja a la curva de titulación de un

polielectrolito que sufre una transición conformacional al ionizarse.

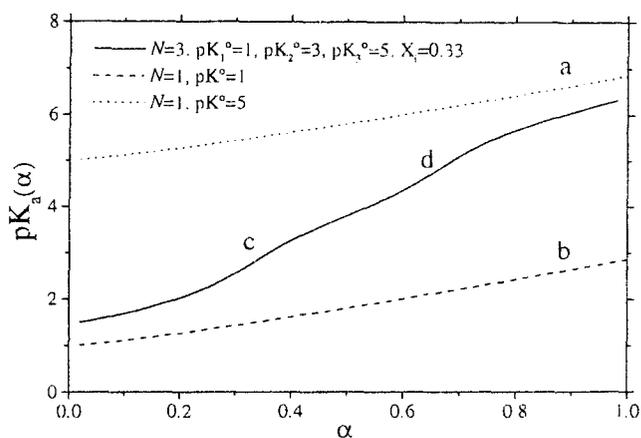


Figura 2: Comparación del modelo original con el heterofuncional. La concentración de polímero  $C_p=2 \cdot 10^{-3}$  mol/L, sin sal agregada y  $\xi=0.8$ .

Este hecho ha llevado a veces a confusión, interpretándose los correspondientes datos experimentales como resultado o indicador de tal transición. Para el correcto análisis de datos experimentales con curvas 'anómalas' se debe siempre recordar que para el caso de una transición conformacional genuina las características de la curva de titulación son:

- el cambio total en  $pK_a$  durante la titulación,  $\Delta pK_a$ , es en general menor o igual al correspondiente polielectrolito monoprotico (curvas a o b Figura 2).
- en general al ionizarse el polielectrolito, la repulsión electrostática entre cargas provoca un estiramiento de la macromolécula de manera que la conformación más cargada (correspondiente a mayor  $\alpha$ ), resulta en una menor densidad lineal de carga total, disminuyendo entonces  $\xi$  en la transición conformacional. Por ello la curva es sigmoideal pero decreciendo su  $pK_a$  en la transición en lugar de incrementarlo, como ocurre en las regiones 'c' y 'd' de la curva intermedia de la Figura 2.

En la Figura 3a se muestra la concentración de grupos ionizados calculada para cada tipo de grupo funcional en función de  $\alpha$ , suponiendo el mismo experimento de la Figura 2. Notamos que para  $\alpha \approx 0.33$  el primer grupo está ionizado casi completamente y el segundo está apenas comenzando su ionización, mientras que para  $\alpha \approx 0.66$  el segundo está completando su ionización y el tercero está recién comenzando este proceso. Justamente en estos puntos críticos es cuando aparecen las regiones de gran cambio en  $pK_a$  (Figura 2). En la Figura 3b se grafica la velocidad de ionización de cada grupo funcional en función de  $\alpha$ . En esta figura, que complementa la anterior, se puede visualizar claramente cómo la ionización de los distintos grupos se produce en forma ordenada y continua. Este fenómeno es observable cuando los grupos funcionales tienen los  $pK$  intrínsecos separados en forma uniforme. Para los casos más generales este proceso se realiza en una forma más compleja.

Por último y para comprobar la validez del modelo, se analizan los datos de la titulación potenciométrica del ácido húmico en solución acuosa en presencia de sus propios contraiones. En la Figura 4, se representan los datos experimentales y las curvas calculadas. La curva de referencia 'a' representa la ionización de un polielectrolito monoprótico de  $pK_a^0 = 3.7$  mientras que la curva 'b' corresponde al modelo aquí presentado. El valor de la densidad de carga utilizada en ambos cálculos es  $\xi = 0.80^{(9)}$ .

Para determinar el número de grupos funcionales, se comenzó el análisis de los datos asumiendo sólo dos grupos funcionales diferentes. La cantidad de grupos se fue incrementando subsecuentemente hasta que no hubo mejoras significativas en el proceso de ajuste, conservando todas las características principales de los datos de la titulación. De esta manera, se determinaron cuatro grupos funcionales principales, con los valores de las abundancias fraccionales,  $X_i$ , y de los  $pK_i^0$  intrínsecos que se reportan en Tabla 1. Cabe destacar que cuatro grupos funcionales principales es el mínimo número de grupos con los que se obtiene una descripción aceptable de los datos experimentales, no pudiéndose excluir la posibilidad de algún otro grupo funcional de muy pequeña abundancia fraccional.

Es claro de los datos experimentales que un correcto análisis de los mismos exige que se considere la naturaleza polifuncional del HA. Por otro lado el presente modelo permite una caracterización plausible de este polielectrolito. La descripción estructural que se obtiene ( $X_i$  y  $pK_i^0$ ) es compatible con la propuesta por otros grupos de investigación<sup>(2-6)</sup> que trabajan con técnicas de análisis diferentes y sobre polielectrolitos similares.

TABLA 1: VALORES DE LOS  $pK_i^0$  INTRÍNSECOS Y DE LAS ABUNDANCIAS FRACCIONALES,  $X_i$ .

$pK_1^0$	$X_1$	$pK_2^0$	$X_2$	$pK_3^0$	$X_3$	$pK_4^0$	$X_4$
3.7	0.19	5.4	0.29	6.4	0.17	9.0	0.35

### Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado con el auspicio de la UNSL, CONICET y RIVM. RDP es becario de CONICET. JCB es miembro de la carrera de Investigador de CONICET.

### Referencias

- Paoletti S., Gilli R., Navarini L., Crescenzi V., *Glycoconjugate J.*, **14** (1997) 513
- Paxéus N. and Wedborg N., *Anal. Chim. Acta*, **169** (1985) 87.
- Tipping E. and Hurley M.A., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **56** (1992) 3627.
- Aleixo L.M., Godinho O.E.S. and Costa W.F., *Anal. Chim. Acta*, **257** (1992) 35.

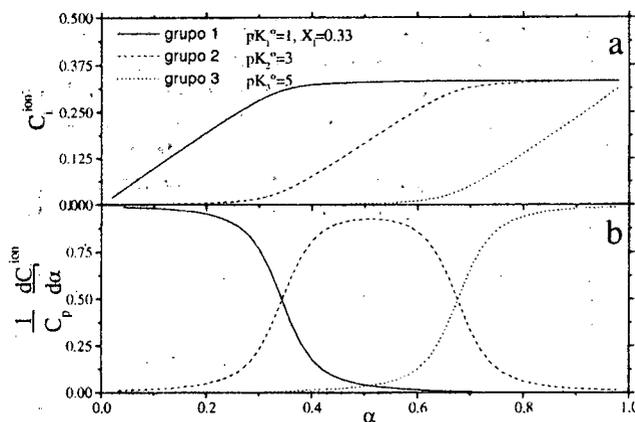


Figura 3 a y b: Concentración de grupos ionizados y velocidad de ionización para cada uno de los grupos funcionales para el mismo caso de la Figura 2, respectivamente.

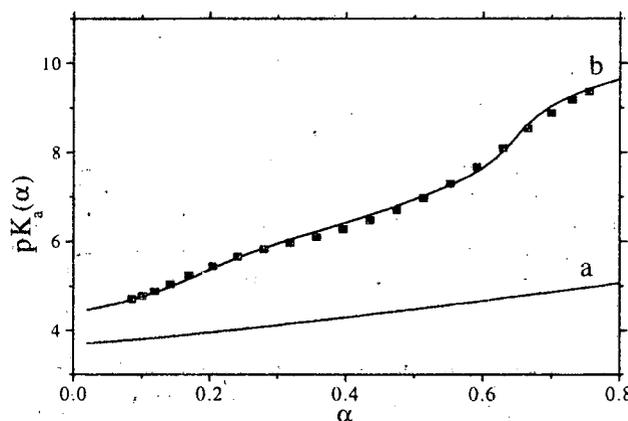


Figura 4: (■) Titulación potenciométrica del ácido húmico en solución acuosa en presencia de sus propios contraiones. La concentración de polímero  $C_p = 2.50 \cdot 10^{-3}$  mol/L a  $T = 25^\circ \text{C}$ . Curva a:  $pK_a$  calculado para un polielectrolito monofuncional de  $pK_a^0 = 3.7$ . Curva b:  $pK_a$  calculado para un polielectrolito con cuatro grupos funcionales. Los valores de los  $pK_i^0$  intrínsecos y de las abundancias fraccionales,  $X_i$ , se muestran en Tabla 1. En ambos cálculos la densidad de carga es  $\xi = 0.8$ .

- Masini J.C., *Anal. Chim. Acta*, **283** (1993) 803.
- Marshall S.J., Young S.D. and Gregson K., *European J. Soil Sc.*, **46** (1995) 471.
- Manning, G.S. *J. Chem. Phys.*, **51** (1969) 924.
- Cesàro A., Delben F., Flaibani A., Paoletti S., *Carbohydr. Res.*, **161** (1987) 355.
- Porasso R., Benegas J., van den Hoop MAGT and Paoletti S., enviado para su publicación.