

APLICACIONES ANALITICAS DEL 2,2'-AZODIFENOL

II. Estudio espectrofotométrico y espectrofluorimétrico

A. Cabrera Martín, J. S. Durand Alegría,
R. Gallego Andreu y J. L. Peral Fernández

*Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas
de la Universidad Complutense y C. S. I. C. (Centro Coordinado)
Ciudad Universitaria. Madrid-3*

Recibido: 16-I-80

PRESENTADO POR EL ACADÉMICO NUMERARIO D. JESÚS MORCILLO RUBIO

Se presenta un estudio espectrofotométrico y espectrofluorimétrico del 2,2'-Azodifenol en etanol al 40 por 100, cuando se disuelve en hidróxido de tetraetilamonio. Asimismo se efectúa un estudio en presencia de clorhidrato de hidroxilamina. Se dan los valores de las absorptividades molares y constantes de disociación. Se llega a la conclusión de que, de las especies existentes en disolución, sólo presenta emisión de fluorescencia la RH^- que aparece como un equilibrio de dos formas tautómeras con diferente intensidad de emisión.

A spectrophotometric and spectrofluorimetric study of 2,2'-Azodiphenol solved in tetraethylammonium hydroxide, in a 40 % ethanol solution, is presented. As well, another parallel study in the presence of hydroxylamine has been made. The molar absorptivities and the dissociation constants values are given. It is concluded that the fluorescent species in solution is RH^- , which appears as a tautomeric equilibrium of two forms with different intensity of emission.

1. Introducción

El 2,2'-Azodifenol (ADF o RH_2) es un ácido débil diprótico cuyos pK_a de disociación han sido calculados por diversos autores (Diehl, 1960; Kirby, 1962) dando valores que difieren entre sí. Las discrepancias pueden ser debidas al problema planteado por la solubilidad del propio reactivo, que precipita a pH inferior a 9,0, lo que

obliga a utilizar disoluciones alcalinas en las que intervienen diferentes cationes, y en presencia de etanol.

En un trabajo anterior (Cabrera et al., 1979) se ha encontrado que el ADF es capaz de reaccionar con los cationes de los alcalinos, lo que probablemente es el origen de las divergencias entre los valores de pK_a propuestos, puesto que no reaccionan en la misma extensión los iones Na^+ y los iones K^+ , y de ahí las anomalías aparentes que pueden venir reforzadas por no establecer una concentración fija de etanol en H_2O .

Por esta razón y para soslayar este problema, en este trabajo se van a utilizar medios básicos suministrados por hidróxidos de cationes suficientemente voluminosos como para que presenten impedimento estérico a la reacción con ADF, como son los hidróxidos de amonio cuaternario, y disoluciones etanólicas de concentración aproximada a las utilizadas en la bibliografía (Kirby et al., 1962).

Se completa este estudio con la influencia que el clorhidrato de hidroxilamina (HA) tiene sobre el reactivo, puesto que en un trabajo posterior se publicará el comportamiento del ADF con los iones $Cu(I)$ y $Au(I)$, que necesitan para su obtención y estabilidad la presencia de HA.

2. Parte experimental

2.1. REACTIVOS

2,2'-Azodifenol, «Eastman».

Alcohol etílico absoluto, «May and Baker».

Alcohol etílico anhidro, «Carlo Erba», RSE.

Clorhidrato de hidroxilamina, «Merck», *p. a.*

Hidróxido de tetraetilamonio, «Fluka», *práct.*

2.2. APARATOS

Espectrofotómetro registrador de doble haz, Beckman, Mod. DK-2A.

Espectrofotómetro manual de haz sencillo, Unicam, Mod. SP 600.

Espectrofotómetro de fluorescencia MPF-44A, Perkin-Elmer, provisto de una lámpara Xenon XBO 150w/1 como fuente de excitación.

Lámpara patrón de wolframio MAZDA de 109,6 V de tensión.

Reflector difuso de óxido de bario.

Patrones de fluorescencia plastificados, Perkin-Elmer.

2.3. PROCEDIMIENTO

Se prepara una disolución patrón de trabajo de ADF $5,0 \times 10^{-4}$ M, por dilución en H₂O destilada de una de reserva $5,0 \times 10^{-3}$ M, que contiene 10 ml de etanol absoluto y 10 ml de NaOH 2M o hidróxido de tetraetilamonio 7 M y diluida a 100 ml con H₂O destilada.

Para el estudio espectrofotométrico, se utilizan disoluciones de ADF $5,0 \times 10^{-5}$ M preparadas por dilución a 10 ml de 1 ml de la disolución patrón de trabajo, a la que se añaden 4 ml de etanol absoluto.

Para el estudio espectrofluorimétrico, se utilizan disoluciones de ADF $1,0 \times 10^{-5}$ M, también en etanol al 40 por 100, utilizando todos los reactivos de alto grado de pureza.

2.4. ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO

2.4.1. Efecto del pH en los espectros de absorción del ADF

Se han registrado los espectros de absorción de disoluciones $5,0 \times 10^{-5}$ M de ADF en el intervalo de pH 13-2. En la región UV aparecen dos máximos que varían, tanto en posición como en intensidad, según el pH de la disolución. Así, a pH > 12,0 los máximos aparecen a 256 y 314 nm, mostrando el primero una mayor absorbancia. A pH < 12,0 los máximos se desplazan a 246 y 326 nm, mostrando un efecto hipocrómico el desplazado hipsocrómicamente y, al contrario, un efecto hiperocrómico el desplazado batocrómicamente. A valores de pH inferiores a 8,7 el segundo máximo es hiperocrómico con respecto al primero.

En la región visible, aparecen tres familias de espectros. Una se advierte operando a pH superior a 13,0, con máximo de absorción a 478 nm y que corresponde a la especie iónica R²⁻. La segunda familia debida a la especie RH⁻, se manifiesta en el intervalo de pH comprendido entre 9,0 y 12,5 con máximo de absorción a 485 nm. El equilibrio entre ambas especies se pone de manifiesto por un punto isosbético a 380 nm. La tercera familia, correspondiente a la

especie RH_2 , se caracteriza a $pH < 8,5$ mediante un máximo a 394 nm. El punto isobéptico a 433 nm indica el equilibrio entre las especies RH^- y RH_2 .

En la fig. 1, se representan los espectros de absorción de las tres especies iónicas al pH al cual son predominantes. El hábito de estos espectros es prácticamente independiente de la naturaleza del agente básico empleado.

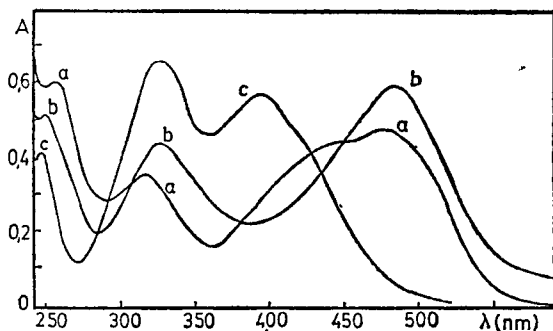


Fig 1

Fig. 1.—ADF $5,0 \times 10^{-5}$ M, 40 % EtOH; a: pH 13,0; b: pH 11,0; c: pH 5,0.

En la fig. 2a se muestran las variaciones de la absorbancia con el pH a dos longitudes de onda 485 y 394 nm. En ambas curvas se pueden observar las plataformas de existencia de las especies iónicas anteriormente dichas.

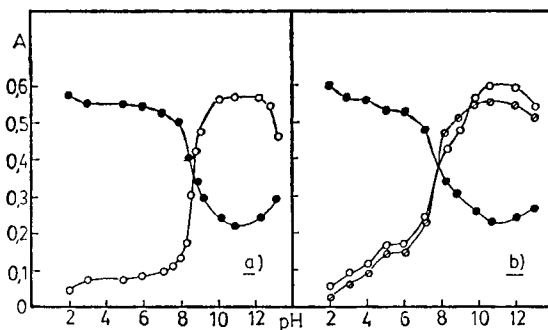


Fig. 2.—a) ADF $5,0 \times 10^{-5}$ M, 40 % EtOH: ● 394 nm; ○ 485 nm. b) ADF $5,0 \times 10^{-5}$ M, 40 % EtOH, Ha 0,1 %: ● 394 nm; ○ 485 nm; ⊖ 500 nm.

Cuando se opera con disoluciones que contienen HA al 0,1 por 100, los espectros muestran pequeños cambios cuyo mayor significado se adquiere en el intervalo de pH 7,5-10,0, sufriendo en el UV un desplazamiento batocrómico e hipocrómico de la banda de 326 nm que ahora aparece a 334 nm y en la región del visible la banda de 485 nm que se desplaza a 500 nm. En este mismo intervalo de pH, aparece en el espectro otra pequeña banda con máximo a 440 nm y un nuevo punto isobéptico a 440 nm. Este comportamiento puede ser debido a la aparición de una nueva especie en disolución distinta a RH^- (topacio), que incluso presenta una coloración diferente (rosa fuerte) a la RH_2 (amarilla).

Los cambios de estructura que puede haber sufrido la molécula de ADF pueden ser también observados en la fig. 2b, donde se representa $A = f(\text{pH})$ a tres longitudes de onda.

2.4.2. Estudios cinéticos: Cronotropía y Fototropía

Se ha efectuado un estudio cronotrópico de las disoluciones de ADF a los valores de pH a los cuales predomina cada una de las especies iónicas: 13,0, 11,0 y 5,0. Se observa que las disoluciones mantenidas a pH 13,0 son estables durante una semana, mientras que las preparadas a pH 11,0 y 5,0 sólo son estables durante veinticuatro horas, experimentando ligeros efectos hipocrómicos a partir del primer día de ser preparadas.

En presencia de HA se trabaja a pH 11,5, 8,6 y 5,0. Los resultados obtenidos para pH 11,5 y 5,0 concuerdan con los anteriores, no sucediendo lo mismo a pH 8,6. Para este pH y a $t = 0$, el espectro muestra dos máximos a 394 y 490 nm, siendo el primero hipercrómico con respecto al segundo. A partir de $t = 10$ minutos, el máximo de 394 nm comienza a desaparecer, mientras que el de 490 nm se intensifica y se va desplazando hacia 500 nm. Los espectros no varían a partir de las dos horas de preparadas las muestras.

Se ha comprobado que ambos tipos de disoluciones se muestran inalterables a la acción de la luz.

2.4.3. Determinación de la sensibilidad espectrofotométrica

La sensibilidad espectrofotométrica expresada como absortividad molar, ϵ , y absortividad, a , a distintas longitudes de onda para cada

especie iónica, se exponen en la tabla I y tabla II, en la que se muestran los valores obtenidos en presencia de HA. Los valores correspondientes a la especie R^{2-} no se calculan por tener dicha especie existencia predominante en medios de pH superior a 13,0.

T A B L A I

| Especies | ϵ^{485} | α^{485} | ϵ^{894} | α^{894} |
|----------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| RH_2 | 1800 | 8,4 | 11400 | 53,2 |
| RH^- | 12000 | 53,3 | 4400 | 20,6 |

T A B L A II

| Especies | ϵ^{500} | α^{500} | ϵ^{485} | α^{485} | ϵ^{894} | α^{894} |
|----------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| RH_2 | 1400 | 6,5 | 1800 | 8,4 | 11200 | 52,3 |
| RH/HA | 3000 | 14,0 | 3400 | 15,9 | 10600 | 49,5 |
| RH^- | 11200 | 52,5 | 12000 | 56,3 | 4600 | 21,6 |

2.4.4. Determinación de las constantes de disociación

Se calculan las constantes de disociación aplicando el método de Stenström (1926) mediante análisis gráfico de las curvas $A = f(\text{pH})$ (figuras 2a y 2b). Los valores obtenidos se exponen en la tabla III en comparación con los encontrados en la bibliografía.

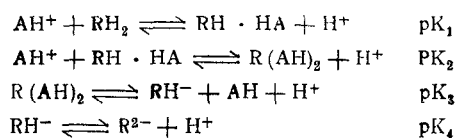
T A B L A III

| Valores de pKa según | Medio | pK_1 | pK_2 |
|----------------------|--------------|--------|--------|
| Kirby (1962) | EtOH 35 % | 9,3 | — |
| | Base NaOH | | |
| Diehl (1960) | EtOH 1 % | 7,8 | 11,5 |
| | Base KOH | | |
| Este trabajo | EtOH 40 % | 8,5 | > 13,0 |
| | Base BOH (a) | | |

(a) BOH; hidróxido de tetraetilamonio.

La constante de disociación correspondiente al equilibrio $\text{RH}^- \rightleftharpoons \rightleftharpoons \text{R}^{2-} + \text{H}^+$ no se ha calculado por no haberse obtenido el tramo horizontal correspondiente a la especie R^{2-} . No obstante este valor será superior a 13,0.

Los valores de las constantes de disociación obtenidos en presencia de HA difieren de los anteriormente expuestos. Así, mediante aplicación del análisis gráfico a las curvas de la fig. 2b, se obtienen los pK_a siguientes: 4,6; 7,5; 9,2 y $> 13,0$, que podrían corresponder a los equilibrios



2.4.5. *Discusión de los resultados*

El ADF existe en disolución en forma de un equilibrio tautomérico entre las formas *azoidé* e *hidrazona* (Dedkov et al., 1973) de la misma estabilidad aproximadamente.

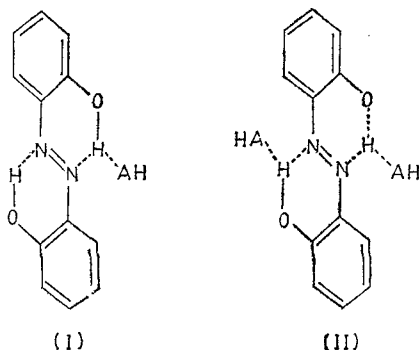
De los datos experimentales obtenidos, se puede deducir que el comportamiento del ADF en presencia de HA difiere del observado en ausencia de la misma, salvo en el intervalo de pH superior a 10,8 e inferior a 4,5, para los cuales las especies existentes en disolución son idénticas en ambos casos.

El principal hecho a destacar es la aparición de nuevas especies en disolución, entre pH 10,8 y 4,5 y que probablemente provienen de la reacción de la HA con el ADF, ya que estas nuevas especies, prácticamente no se ponen de manifiesto cuando el ADF se disuelve en álcalis, lo que prueba que el ión Na^+ o K^+ , interacciona con la molécula del ADF, tal y como se había supuesto, y presumiblemente la interacción será tanto mayor, cuanto mayor sea la concentración del ión alcalino, de forma que impedirá la formación de complejos que forma el ADF con diferentes iones, principalmente monovalentes. También hay que señalar que la formación de estas nuevas especies, tienen una cinética lenta y los enlaces serán, probablemente, de naturaleza electrostática.

Para proponer una estructura desarrollada de estas especies, habría que tener en cuenta los siguientes factores: a) la naturaleza

del enlace, prácticamente electrostático, tal y como se aprecia por las características de los espectros; b) los pK de disociación, tanto del ADF como de la HA; c) el desplazamiento batocrómico, tanto de la banda que aparece en el visible, como en el ultravioleta, en relación a las del ADF, para complejos de estequiometría 1:1 y 2:1 (metal-ligando) (Cabrera et al., pendiente de publicación), y d) que se trabaja en exceso de HA.

Así, por tanto, para la especie que aparece en el intervalo de pH 8,0-5,2, se supone como posible estructura la (I), y donde, probablemente, la HA se une al grupo fenólico que experimenta la disociación en primer lugar. En el intervalo de pH 8,0-10,0, la nueva especie que aparece se supone tendría, probablemente, la estructura (II).



El paso de la estructura (II) a la RH^- , debe de estar relacionado con el pK de disociación de OHNH_2 (HA) y con el primer pK de disociación del ADF.

2.5. ESTUDIO ESPECTROFLUORIMÉTRICO

Los espectros de excitación y de emisión de fluorescencia que se muestran, son espectros corregidos manualmente. Los valores correctores se han obtenido aplicando el método de la disolución fluorescente diluida (Argauer et al., 1964) para los espectros de excitación y el método de la lámpara patrón (Argauer et al., 1964; White et al., 1960), para los espectros de emisión.

2.5.1. Efecto del pH en los espectros de excitación y de emisión de fluorescencia del ADF

Se han obtenido los espectros de excitación y de emisión de fluorescencia del ADF en el intervalo de pH comprendido entre 13,0 y 2,0, a la concentración más adecuada, en orden a minimizar al máximo los efectos de filtro interno.

2.5.1.1. Espectros de excitación

Los espectros de excitación de fluorescencia del ADF, se registran en la zona de longitudes de onda de 250 a 600 nm. En la fig. 3 (curva a), se representa el espectro de excitación corregido, al pH óptimo de emisión 5,1, no efectuándose dicha corrección entre 450 y 500 nm, debido a que en dicho intervalo la corrección manual del espectro se hace muy problemática, debido a la riqueza de picos de la lámpara Xenon en dicha zona.

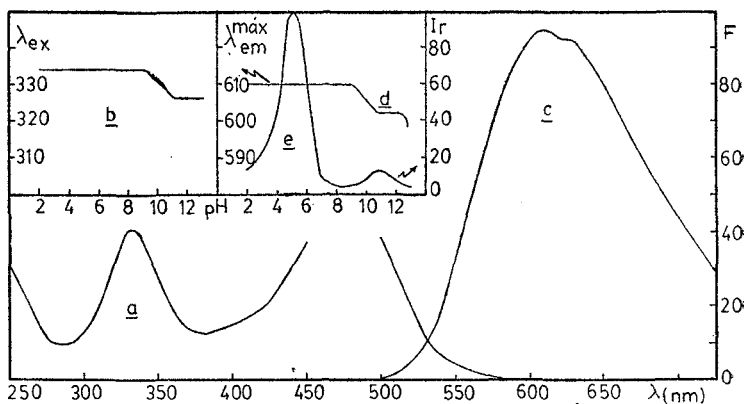


Fig. 3.—ADF $1,0 \times 10^{-5}$ M, 40 % EtOH, pH 5,1; a: espectro de excitación; b: $\lambda_{ex} = f(\text{pH})$; c: espectro de emisión; d: λ_{em} máxima = $= f(\text{pH})$; e: efecto del pH en la emisión del ADF.

Los espectros presentan dos bandas cuyos máximos varían según el pH del medio. La banda que presenta mayor intensidad aparece en la zona visible del espectro, pero su máximo no puede ser localizado debido a las razones expuestas anteriormente. La segunda

banda aparece en la zona ultravioleta, variando de posición según el pH del medio. Así, a pH inferiores a 9,2, el máximo se encuentra localizado a 334 nm, experimentando un desplazamiento hipofluórico entre pH 9,2 y 10,9. A pH superiores a 10,9, el máximo aparece a 326 nm (fig. 3, curva b).

2.5.1.2. *Espectros de emisión*

Los espectros de fluorescencia de emisión del ADF, se registran en la zona de longitudes de onda comprendida entre los 500 y 800 nm.

Los espectros presentan una amplia banda de emisión que abarca desde los 500 a los 800 nm (fig. 3, curva c) a pH 5,1. Se puede apreciar que estas bandas presentan dos máximos de emisión, si bien el que aparece a menor longitud de onda, presenta una mayor intensidad. El desplazamiento que experimenta este máximo cuando se varía el pH, queda reflejado en la fig. 3 (curva d), en la cual puede observarse que para pH inferiores a 9,2 el máximo se encuentra localizado a 610 nm. Entre pH 9,2 y 10,9 este máximo experimenta un desplazamiento hipsofluórico, alcanzando el mayor desplazamiento, de 8 nm, para un pH de 10,9. Entre pH 10,9 y 12,2, el máximo permanece invariable, apareciendo a una longitud de onda de 602 nm, y experimentando un fuerte desplazamiento hipsofluórico para pH superiores a 12,2.

El segundo máximo que aparece queda poco definido, y se encuentra desplazado hacia el rojo en 20 nm en relación al primer máximo de emisión.

2.5.2. *Estudio de la variación de la emisión de fluorescencia con el pH*

Se estudia la variación de la emisión de fluorescencia del ADF, cuando se varía el pH del medio. Los parámetros utilizados han sido los siguientes: λ_{ex} 468; λ_{em} 605; R_{ex} 15; R_{em} 4; F_{ex} UV-35; F_{em} UV-43; $S \times 10$; t_r 1,5 s y AC/RM. Las medidas se contrastaron con un patrón plastificado de antraceno y naftaleno, de concentración aproximada 10^{-7} M.

Tal y como se puede apreciar por la fig. 3 (curva e), el ADF presenta dos máximos de emisión. El primero de ellos, que es el

más intenso, se produce entre pH 5,1 y 5,6 y el segundo a un pH de 11,0.

2.5.3. *Cronotropía y Fototropía*

Se realiza un estudio de la estabilidad con respecto al tiempo, a pH 5,6 y en las condiciones dadas en el apartado anterior, sobre la emisión de fluorescencia. La emisión máxima se consigue a las dos horas de preparada la muestra, manteniéndose estable al menos durante veinticuatro horas. La luz solar no ejerce acción alguna.

2.5.4. *Fotodescomposición*

Se estudia la fotodescomposición de una disolución de ADF a pH 5,6. La emisión de fluorescencia se empieza a medir a las dos horas de preparada la muestra, tomándose este tiempo como $t = 0$. Se han utilizado los siguientes parámetros: λ_{ex} 468; λ_{em} 605; R_{ex} 15; R_{em} 4; F_{ex} UV-35; F_{em} UV-43; $S \times 10$; V_{ct} 5; t_r 3 s y AC/RM. La muestra se estuvo excitando durante sesenta minutos, no observándose variación alguna en la respuesta de emisión.

2.5.5. *Efecto de la concentración de ADF*

Se estudia la variación de la emisión de fluorescencia del ADF con su concentración, utilizando las mismas condiciones que en el estudio de la cronotropía.

Se ha observado que existe una relación lineal en la respuesta de emisión en el intervalo de concentraciones de ADF comprendido entre 10^{-7} M y 8×10^{-6} M. La emisión de fluorescencia se mantiene prácticamente constante en el intervalo de concentraciones comprendido entre 10^{-6} M y $1,8 \times 10^{-5}$ M, produciéndose el fenómeno de filtro interno a concentraciones superiores a $1,8 \times 10^{-5}$ M.

2.5.6. *Discusión de los resultados*

Tal y como se ha podido observar (fig. 3, curva d), parece ser que en el estado singlete excitado de menor energía se detectan dos especies diferentes del ADF, que presentan emisión de fluorescencia.

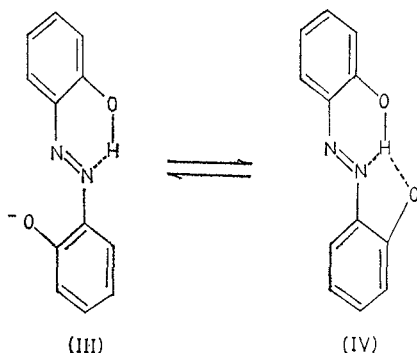
El máximo de emisión de una de estas especies aparece localizado a una longitud de onda de 602 nm, dentro del intervalo de pH comprendido entre 12,2 y 10,9. La segunda de las especies se detecta a pH inferiores a 9,2, estando localizado el máximo de emisión a 610 nm que, por otra parte, es la que presenta una mayor intensidad de emisión.

La existencia de estas dos especies queda reflejada también en la fig. 3 (curva e), donde se representa la variación de la intensidad máxima de emisión en función del pH, y donde pueden observarse dos zonas de emisión perfectamente definidas que corresponden a las especies que presentan máximo de emisión, a 610 y 602 nm, respectivamente.

Es sabido que el espectro de excitación de fluorescencia de una especie, una vez corregido, coincide satisfactoriamente con su espectro de absorción. Al analizar detenidamente los resultados obtenidos se ha observado como en el intervalo de pH 12,2-10,9 los espectros de excitación coinciden con los espectros de absorción de la especie RH^- .

En la zona de pH ácidos, y concretamente donde se produce la máxima intensidad de emisión (pH 5,1-5,6), que corresponde a la zona de existencia de la especie RH_2 , se observa que si bien dicha especie presenta un máximo de absorción a 394 nm, el espectro de excitación una vez corregido, no presenta, ni mucho menos, las características del espectro de absorción, ya que como puede observarse existe aproximadamente una diferencia de unos 100 nm entre los dos máximos (absorción y excitación), por lo que cabe pensar que la especie que presenta un máximo de emisión a 610 nm, no es la RH_2 , tal y como cabría esperar.

En el estudio de los espectros del ADF en el ultravioleta, se ha observado que los espectros de excitación concuerdan con los de absorción cuando el ADF forma complejos con los iones monovalentes (Cabrera et al., pendiente de publicación), o con hidroxilamina, lo que hace suponer que lo que realmente ocurre es un cambio de estructura de la especie RH^- , en el cual el grupo fenolato gira alrededor del enlace $C-N=$, para pasar de una estructura trans-simétrica a una trans-asimétrica, dándose probablemente el siguiente equilibrio.

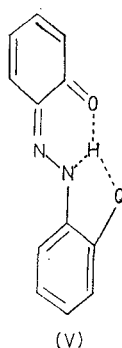


El pK_a^* de transición entre estas dos formas se ha calculado mediante análisis gráfico de la curva $I_r = f(\text{pH})$ (fig. 3, curva e), obteniendo un valor de 9,7.

Se ha comprobado también que la banda correspondiente a la especie R^{2-} no aparece, por lo que cabe pensar, que dicha especie no presenta emisión de fluorescencia.

La variación de la emisión de fluorescencia con el pH de la especie RH^- se deberá probablemente a la aparición de diferentes formas resonantes, que predominarán, unas sobre otras, dependiendo del pH del medio.

Cabe por último discutir la posible estructura de la especie RH^- que da la máxima emisión de fluorescencia. Gabor et al. (1962, 1967) han argumentado que la fluorescencia que presentan los compuestos o-hidroxiazo-, se produce únicamente cuando la contribución de la forma tautómera *hidrazona* en la estructura de la molécula es de gran importancia. Por todo ello, la estructura que se podría atribuir a la especie RH^- , que presenta máxima intensidad de emisión, sería la (V).



Teniendo en cuenta los equilibrios iónicos en disolución a un pH 5,3, se puede deducir que si bien la concentración analítica de ADF es 10^{-5} M (en RH_2), la concentración real que se está detectando de RH^- es del orden de 10^{-9} M, lo que pudiera explicar el por qué el ADF presenta una emisión de fluorescencia tan débil, juntamente con el hecho de poseer un estado n, π^* .

Se estudia también la influencia que la hidroxilamina ejerce sobre la emisión de fluorescencia del ADF cuando se disuelve en la base cuaternario de amonio. Básicamente se obtienen los mismos resultados que cuando no hay HA, excepto en un aumento de la intensidad de emisión a lo largo de todo el intervalo de pH estudiado y una ligera variación de las longitudes de onda de excitación en el ultravioleta. Esto puede hacer pensar que la HA se une al ADF mediante débiles enlaces de tipo electrostático.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Prof. S. Terol, del Instituto de Óptica «Daza de Valdés» del C. S. I. C., su asesoramiento para la corrección manual de los espectros de emisión de fluorescencia y las facilidades dadas para el uso de la lámpara patrón.

Uno de nosotros (J. S. D. A.) agradece al Ministerio de Educación y Ciencia la concesión de una ayuda económica, a través del Instituto Nacional de Asistencia y Promoción del Estudiante.

Bibliografía

- ARGAUER, R. y WHITE, C. E. (1964). *Anal. Chem.*, **36**, 368.
CABRERA-MARTÍN, A., DURAND-ALEGRÍA, J. S., GALLEGO-ANDREU, R. y PERAL-FERNÁNDEZ, J. L. (1979). *Rev. Acad. Ciencias Ex., Fis. y Nat.* (Madrid), **74**, 477-490.
DEDKOV, Y. y KOTOV, A. V. (1973). *Izv. Akad. Nauk SSR, Ser. Khim.*, **6**, 1334.
DIEHL, H. y ELLINGBOE, J. (1960). *Anal. Chem.*, **32**, 1120.
GABOR, G. y FICHER, E. (1962). *J. Phys. Chem.*, **66**, 2478.
GABOR, G., FREI, Y., GETIU, D., KAGANOWITCH, M. y FISCHER, E. (1967). *Israel J. Chem.*, **5**, 193.
KIRBY, J. R., MILBURN, R. M. y SAYLOR, J. H. (1962). *Anal. Chim. Acta*, **26**, 458.
STENTRÖM, W. y GOLDSMITH, N. (1926). *J. Phys. Chem.*, **30**, 1683.
WHITE, C. E., HO, M. y WEIMER, E. (1960). *Anal. Chem.*, **32**, 438.