

## 5 Experimental

### 5.1 Reagentes Utilizados

- Álcool etílico P.A. (Vetec)
- Hidróxido de potássio em pó P.A. (Merck)
- Ácido clorídrico fumegante 37% P.A. (Merck)
- Ácido nítrico 65% P.A. (Merck)
- Hidróxido de sódio P.A. (Merck)
- Solução padrão de KOH 0,10 mol.L<sup>-1</sup> (Merck)
- Solução padrão de HCl 0,10 mol.L<sup>-1</sup> (Merck)
- Solução padrão tampão 4,0 (Merck)
- Solução padrão tampão 7,0 (Merck)
- Água deuterada D, 99,9% (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.)
- Solução padrão de EDTA 0,1 mol.L<sup>-1</sup> – Titriplex III (Merck)
- Biftalato de Potássio (Merck)
- Indicador negro de solocromo (Merck)
- Cloreto de amônio P.A. (Merck)
- Hidróxido de amônio P.A. (Merck)
- Carbonato de cálcio P.A. (Merck)
- Nitrato de alumínio nonahidratado P. A. (Merck)
- Nitrato de Potássio P.A. (Merck)
- 2,2,3,3-d4-(3-trimetilsilil)-propionato de sódio (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.)
- Hidróxido de alumínio (Synth)
- Ácido iminodiacético (Sigma)
- Ácido metil-iminodiacético (Sigma)
- Adenosina 5' Trifosfato dissódico P.A. (Aldrich e Sigma)
- Fosfocreatina P.A. (Sigma)
- Metionina (Reagen)
- Cisteína (Aldrich e Sigma)

- Homocisteína (Sigma)
- DL-Penicilamina (Acros Organics)

## 5.2 Aparelhagens Utilizadas

- Balança analítica FA 2104N Bioprecisa Eletronic Balance.
- Aparelho de ultrassom com aquecimento Ultracleaner 1400A Unique Ultrasonic clean.
- pHmetro Micronal B375.
- Bureta semi-automática Multi-Burette E485 Metrohm-Herisau.
- Aparelho de titulação potenciométrica Metrohm 809 Titrand.
- Agitador magnético Metrohm 801 Stirrer.
- Agitador magnético Metrohm-Herisau E649.
- Eletrodo de vidro combinado Ag/AgCl Metrohm.
- Banho termostaticante Haake FK acoplado à célula de titulação.
- Espectrômetro Raman Station Modelo 400 Perkin Elmer com laser diodo estabilizado de alta performance em 785 nm (IR-Próximo 785 nm) com intensidade do sinal-ruído > 40 dB e estabilidade de 0,1 nm.
- Cubetas de quartzo Perkin-Elmer (1 cm de caminho ótico).
- Espectrômetro RMN Bruker – Avance III 500 de 11.75 T, operando a 500 MHz (frequência do hidrogênio), na sonda BBO – sonda multinuclear para tubo de 5 mm de diâmetro com detecção direta e gradiente de campo no eixo z.
- Computador Intel Quad Core 2, CPU 2,66GHz, 8,0 GB RAM, Windows Vista Ultimate 64 bits.

## 5.3 Metodologia

Empregando a técnica analítica de titulação potenciométrica obtém-se dados para o cálculo de constantes de formação. Estas são úteis, por exemplo, para estimar a estabilidade das interações entre os íons metálicos e os ligantes.

Neste trabalho foram realizadas titulações potenciométricas para:

- Ligantes, a fim de ter-se valores mais adequados a condições de trabalho;
- Sistemas binários.

Antes da realização de qualquer experimento, as vidrarias foram livradas de impurezas de modo que se evitassem possíveis contaminações e erros experimentais.

As vidrarias, tais como balões, béqueres e funis, foram limpas com água e detergente. Depois, foi efetuada imersão em potassa alcoólica por no máximo 10 minutos, lavou-se com água corrente e, posteriormente, a fim de neutralizar eventuais resíduos alcalinos, foi passada solução diluída de HCl 1:20. Após, no último enxágue, usou-se água destilada. A secagem das vidrarias ocorreu em estufa a  $\sim 30^{\circ}\text{C}$ .

Limpou-se as pipetas com água e detergente, em seguida, realizou-se imersão em solução NaOH 50% p/p até total eliminação de resíduos. Lavou-se com água corrente e, depois, no último enxágue, foi usada água destilada. A secagem ocorreu em estufa a  $\sim 30^{\circ}\text{C}$ .

Lembra-se que vidrarias volumétricas não podem ser secas em estufa a uma temperatura maior que  $40^{\circ}\text{C}$ , pois são instrumentos calibrados.

Todas as titulações foram realizadas no mesmo dia em que se efetuou o preparo das soluções. Conservou-se à temperatura, à agitação e à força iônica constantes, sendo a temperatura mantida a  $25,0^{\circ}\text{C}$ , a partir da utilização de um equipamento de banho termostático, a agitação mantida constante e branda pelo agitador magnético e a força iônica mantida a  $0,1\text{ mol.L}^{-1}$ , usando-se o eletrólito suporte  $\text{KNO}_3$ , que devido as características de seus íons, não interfere na titulação, evitando-se a competição com os ligantes e o metal.

O intuito do preparo das soluções no mesmo dia em que se executam as titulações é evitar alterações nas concentrações e eventuais reações de hidrólise.

Foi feita a padronização da solução de alumínio via titulação por excesso usando-se o indicador negro de solocromo e o tampão solução de amônia, com uma solução de EDTA  $0,01\text{ mol.L}^{-1}$ , padronizada contra carbonato de cálcio [5.1, 5.2].

Em algumas soluções, como a de nitrato de potássio, a de Cis e a de Met, foi aproveitado o aparelho de ultrassom para obtenção de uma solução límpida e sem precipitado.

As titulações foram realizadas a partir de adições sucessivas de incrementos de  $0,1\text{ mL}$  de solução padrão de KOH  $0,1\text{ mol.L}^{-1}$  a um volume inicial de  $120,00\text{ mL}$  de mistura, usando-se soluções muito diluídas.

Considerando-se a necessidade de igualdade entre o número de mols de íon metálico e o número de mols do ligante, as titulações procederam-se das seguintes formas:

a) Ligantes

As titulações de padronização dos ligantes foram realizadas com o volume total inicial de 120,00 mL ou 121,00 mL, dependendo da necessidade de acidificação (adição de 1 mL de ácido) à solução do ligante.

Titulou-se 50,00 mL do ligante  $2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ , 60,00 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  deionizada e bidestilada, 10,00 mL de  $\text{KNO}_3$   $1,2 \text{ mol.L}^{-1}$  e 1,00 mL de  $\text{HCl}$   $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  padronizado.

A adição do  $\text{HCl}$  foi necessária pela ausência de inflexão na curva de titulação e elevado pH inicial da titulação. Assim, adicionou-se ácido para protonar os ligantes, visando a determinação das constantes corretamente.

b) Sistemas binários (1:1 e 1:5)

Nos sistemas binários foram realizados dois tipos de titulações para todos os ligantes. Uma com ligante  $2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  e outra com ligante  $5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ , haja vista que os cálculos realizados diretamente a partir dos dados das titulações das soluções de ligante  $2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  apresentavam-se com resultados ruins, ou seja, a curva de validação não possuía convergência com a curva experimental ou as constantes ML apresentavam valores elevados ou ainda os desvios das constantes estavam altos. Logo:

Titulou-se 100,00 mL do ligante  $5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ , 10,00 mL de  $\text{KNO}_3$   $1,2 \text{ mol.L}^{-1}$  e 10,00 mL de íon metálico  $1 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$  para os sistemas binários 1:5.

Titulou-se 50,00 mL do ligante  $2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ , 50,00 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  deionizada e bidestilada, 10,00 mL de  $\text{KNO}_3$   $1,2 \text{ mol.L}^{-1}$  e 10,00 mL de íon metálico  $1 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$  para os sistemas binários 1:1.

O uso deste tipo de método de análise, com a realização de uma titulação com o ligante em maior concentração, já foi empregado anteriormente nos estudos realizados por Lopes [5.3, 5.4].

Alguns estudos científicos pesquisados recorreram a adição de uma quantidade conhecida de  $\text{HCl}$  padronizado nos sistemas em que o íon metálico era o  $\text{Al(III)}$ , com o objetivo de evitar sua hidrólise, que como já mencionado

anteriormente, é intensa e rápida mesmo em pHs baixos, porém, no trabalho em questão, as titulações realizadas sem a adição de ácido apresentaram dados mais concordantes com os da curva de validação e constantes calculadas com desvios menores.

Como o titulador automático foi escolhido para pôr em prática às análises, devido à intensa hidrólise do alumínio já mencionada, verificou-se, previamente as titulações mostradas neste trabalho, se haveria adequação e quais seriam os parâmetros adequados para o equipamento. Isto foi feito comparando-se as curvas de titulações de sistemas com o íon alumínio de um titulador semi-automático e de um automático com tempos de incrementos distintos. Concluiu-se por este exame que nos sistemas com o íon alumínio o intervalo de incremento de base deve ser de 12 segundos e que a titulação deve ser iniciada imediatamente após a adição da solução de íon metálico à mistura a ser titulada.

### **5.3.1 Titulação Potenciométrica**

A titulação potenciométrica equivale a acompanhar a variação da concentração de um íon envolvido na reação usando-se um eletrodo indicador adequado. Baseia-se na medida da força eletromotriz da célula galvânica conforme adiciona-se a solução padrão, ou seja, durante a titulação. O potencial do eletrodo indicador varia abruptamente na proximidade do ponto de equivalência e, assim, também a f.e.m. da célula [5.5].

No entanto, a f.e.m. não precisa necessariamente fornecer medidas absolutas, apenas é preciso que o potencial do eletrodo de referência permaneça constante durante a titulação [5.1, 5.2].

Antigamente, este tipo de titulação era considerado um dos mais demorados, entretanto, atualmente, com o avanço da tecnologia e o uso dos tituladores automáticos, o processo tornou-se mais rápido e preciso, diminuindo consideravelmente a influência do erro do analista durante a titulação.

A técnica é capaz de gerar dados experimentais de alta confiabilidade, permitindo que o cálculo de constantes de equilíbrio seja preciso para o modelo fornecido [5.5].

A titulação potenciométrica se comparada com as demais possui como principal vantagem a enorme sensibilidade, permitindo o seu uso mesmo em

soluções extremamente diluídas, além disso, não é susceptível a alterações colorimétricas [5.1, 5.2].

Nesta técnica analítica, a escolha do eletrodo indicador é dependente da natureza de cada reação [5.1].

### 5.3.2 Espectroscopia Raman

A espectroscopia é o estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria.

Descoberta por Chandrasekhara Venkata Raman em 1928, a espectroscopia Raman é um tipo de espectroscopia vibracional que fornece grande detalhamento dos níveis de energia vibracionais apresentando bandas bem definidas. Avalia, especialmente, as ligações covalentes e possui qualidades como a possibilidade de obtenção do espectro de substâncias em meio aquoso e a perspectiva de se utilizar recursos especiais, como o efeito Raman ressonante e o efeito SERS para aumentar sua sensibilidade [5.6].

O efeito Raman, base do entendimento deste tipo de espectroscopia, pode ser observado quando um feixe de luz monocromática incide em um dado material, cujas dimensões são menores que o comprimento de onda da luz incidente, ocorrendo o fenômeno de espalhamento. Quando a maior parte da luz espalhada apresenta o mesmo comprimento de onda da luz incidente, o espalhamento dá-se elasticamente, ou seja, espalhamento Rayleigh. Porém, uma pequena parcela desta luz espalhada, no entanto, apresenta um comprimento de onda diferente daquele da luz incidente e a sua existência constitui o efeito Raman. Neste caso, o espalhamento dá-se inelasticamente, sendo a quantidade de luz emitida diferente da absorvida. O espalhamento inelástico é conhecido como espalhamento Stokes ou anti-Stokes [5.7, 5.8].

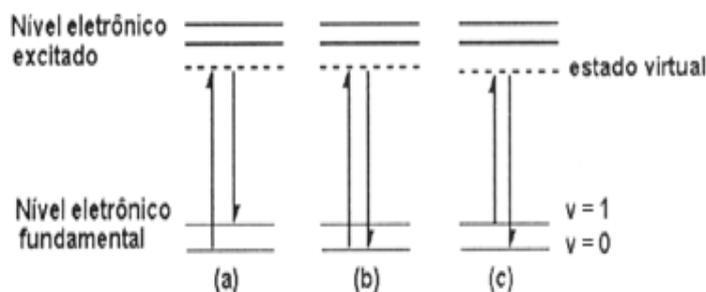


Figura 5.1 – Espalhamento de luz: (a) inelástico - Stokes; (b) elástico - Rayleigh; (c) inelástico - anti-Stokes [5.6]

Lembra-se que no efeito Raman a transferência de energia depende da existência de níveis vibracionais (ou vibrônicos).

No aparelho utilizado a sensibilidade é maior do que nos equipamentos baseados na transformada de *Fourier*, permitindo o uso de uma concentração menor.

Os espectros Raman foram obtidos em sólido e em solução nos ligantes aminoácidos sulfurados e em solução nos respectivos sistemas binários em proporção 1:1.

As análises foram feitas em ambiente escurecido à temperatura de 25 °C com soluções de concentração 0,5 mol.L<sup>-1</sup> na faixa de 3500 a 100 cm<sup>-1</sup>.

Para alguns sistemas binários optou-se pela obtenção de espectros em pHs variados.

### 5.3.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma prestigiosa técnica espectroscópica de absorção na região das ondas de rádio (radiofrequências), vastamente usada na pesquisa de aspectos estruturais e dinâmicos de moléculas orgânicas em solução [5.9, 5.10].

Em um campo magnético, sob determinadas condições, uma amostra pode absorver, dependendo de suas características, radiação eletromagnética na região da radiofrequência. A absorção é papel de certos núcleos existentes na molécula, sensíveis à radiação aplicada e, devido a isso, esses núcleos perfazem objetos de estudo para o entendimento da técnica [5.10].

O hidrogênio, o carbono e o nitrogênio possuem ao menos um isótopo estável com o spin atômico nuclear  $-1/2$ , como <sup>1</sup>H (abundância natural 99,985%), <sup>13</sup>C (a. n. 1,1%) e <sup>15</sup>N (a. n. 0,366%). Estes são passíveis de estudo através desta análise, porque seus núcleos possuem número quântico de spin nuclear I diferente de zero [5.11].

Núcleos em ambientes químicos díspares proporcionarão frequências distintas de absorção pelos diversos graus de blindagem ou desblindagem existentes. A diferença da frequência de absorção com relação ao núcleo-referência (padrão) é chamada de deslocamento químico. Logo, núcleos quimicamente equivalentes possuíram o mesmo deslocamento químico.

Em pesquisas químicas, é comum a obtenção de espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ . Sendo confirmado, ao longo do tempo, o quanto são ferramentas respeitáveis para a determinação estrutural, as informações dos deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  [5.9].

O alumínio,  $^{27}\text{Al}$ , também pode ser estudado por esta técnica haja vista que seu núcleo possui número quântico de spin nuclear  $I = 5/2$ . Como  $I > 1/2$ , o  $^{27}\text{Al}$  possui momento quadrupolar, produzindo sinais largos para compostos onde não há gradiente elétrico [5.12, 5.13].

O RMN de  $^{27}\text{Al}$  pode ser usado para a análise da complexação do alumínio, pois, este metal possui uma extensa blindagem relativa ( $> 150$  ppm), características de blindagem diferentes entre espécies tetra- e hexa- coordenadas e sensibilidade do nucléolo  $^{27}\text{Al}$  para a detecção, mesmo em concentração muito baixa. Todavia, esta técnica exhibe uma desvantagem, o fato de ter o momento quadrupolo de 0,149 B, que oferece um relaxamento quadropole efetivo, que em casos extremos, pode resultar em larguras de linha de muitos kilohertz. [5.14]

Na presente dissertação foram realizadas análises de RMN de  $^{13}\text{C}$ , RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  (apenas para o ligante MIDA) e RMN de  $^{27}\text{Al}$ .

Todas as análises, tanto as dos ligantes quanto as dos sistemas binários, foram efetuadas em solução.

Nos sistemas binários usou-se a proporção 1:1 com a concentração final de  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  tanto para a solução do metal quanto para as soluções dos ligantes, sendo o espectro obtido no pH inicial da mistura ( $\sim 3,0$ ).

Utilizou-se como solvente a água deuterada ( $\text{D}_2\text{O}$ ) e como referências internas o 2,2,3,3-d4-(3-trimetilsilil)-propionato de sódio (TMSP-2,2,3,3-D4) no RMN de  $^{13}\text{C}$  e o  $\text{Al}(\text{OH})_3$  no RMN de  $^{27}\text{Al}$ , sendo os deslocamentos químicos fornecidos em ppm e as análises efetuadas à temperatura de  $28^\circ\text{C}$ .

Ressalta-se que o TMSP-2,2,3,3-D4 é um sal de trimetilsilano (TMS) usado como referência interna quando a  $\text{D}_2\text{O}$  é o solvente do sistema, pois, o TMS não pode ser usado já que é insolúvel em  $\text{D}_2\text{O}$ . Nas análises foi utilizada uma solução de 1% do TMSP-2,2,3,3-D4 em  $\text{D}_2\text{O}$ .

O RMN de  $^{13}\text{C}$  foi feito para os ligantes IDA, Met, Cis, Hcis e Pen bem como para os sistemas binários com o íon metálico alumínio, usando-se como ligantes o IDA, o MIDA, a Met, Cis, Hcis e Pen.

O RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  foi feito apenas para o ligante MIDA.

As análises de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes IDA e MIDA bem como de seus sistemas binários formados com o íon  $\text{Al(III)}$  foram analisados com o intuito de complementar trabalhos do grupo de pesquisa.

O RMN de  $^{27}\text{Al}$  foi feito para os sistemas binários com o íon metálico alumínio, usando-se como ligantes a Met, Cis, Hcis e Pen.