

5 Experimental

5.1.

Reagentes utilizados

- Solução padrão de KOH 0,10 mol L⁻¹ (Merck)
- Solução padrão 0,10 mol L⁻¹ (Merck)
- Soluções tampão pH 4,0 e pH 7,0 (Merck)
- Solução padrão de EDTA 0,1 mol L⁻¹ – Titriplex III (Merck)
- Biftalato de Potássio (Merck)
- Nitrato de Potássio P.A. (Merck)
- Glicina P.A. (Sigma)
- Serina P.A. (Sigma)
- Ácido Aspártico P.A. (Sigma)
- Ácido Guanidoacético P.A. (Sigma)
- Nitrato de Cobalto(II) P.A. – Co(NO₃)₂*6H₂O (Merck)
- Nitrato de Níquel(II) P.A. – Ni(NO₃)₂*6H₂O (Merck)

5.2.

Aparelhagens utilizadas

- pHmetro Micronal B375
- Bureta semi-automática Multi-Burette E485 Metrohm-Herisau
- Aparelho de titulação potenciométrica Mettler DL 25 – Titrator
- Eletrodo de vidro combinado Ag/AgCl Metrohm
- Espectrofotômetro de UV-Vis, modelo Perkin Elmer Lambda – 19 de feixe duplo
- Cubetas de quartzo Perkin-Elmer (1 cm de caminho ótico)
- Agitador magnético Metrohm-Herisau E649
- Espectrômetro Bruker EPR 300 E

5.3. Metodologia

5.3.1. Titulação Potenciométrica

Primeiramente, o eletrodo de vidro (pHmetro Micronal B375) do titulador potenciométrico foi calibrado utilizando soluções tampão de pH 4 e pH 7, e o eletrodo serviu para a padronização do KOH através de uma titulação utilizando uma solução de biftalato de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (padrão primário). Posteriormente, foram feitas as soluções dos ligantes (aminoácidos) a serem tituladas. Na titulação dos ligantes, para cada ligante com exceção do ácido aspártico, foi acrescentado $0,1 \text{ mmol}$ de HCl. As titulações dos ligantes foram feitas com incrementos de $0,1 \text{ mL}$ de hidróxido de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (padronizado). Todos os sistemas de titulação permaneceram com a sua temperatura constante e igual a 25°C e força iônica do meio também mantida constante e igual a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (KNO_3).

Soluções contendo nitrato de cobalto(II), foram preparadas e padronizadas com EDTA dissódico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (complexante). Em seguida, foram feitas soluções de cada ligante, porém, contendo o íon cobalto(II) na proporção metal-ligante (1:1). Após a titulação dos sistemas binários, foram feitas soluções de sistemas ternários, no qual cada solução continha dois tipos de ligantes e o íon cobalto(II) – proporção (1:1:1). O preparo das soluções contendo o íon níquel(II), obedeceu a mesma regra para o preparo das soluções dos sistemas binários e ternários contendo o íon cobalto(II). Para as soluções contendo cobalto(II), utilizou-se um titulador automático modelo Mettler DL 25 – Titrator de três casas decimais acoplado a um eletrodo de vidro combinado, modelo Metrohm Herisau, e um agitador automático. Este equipamento, acoplado a uma impressora matricial, foi programado para fornecer prontamente a curva de titulação. Para as soluções contendo níquel(II), utilizou-se um titulador semi-automático Multi-Burette E485 Metrohm-Herisau.

A metodologia para o preparo destas soluções e posterior titulação, é mostrada abaixo na tabela 1:

Tabela 1 Soluções a serem preparadas e tituladas.

Sistemas	L_1 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$	L_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$	KNO_3 $1,2 \text{ mol L}^{-1}$	H_2O	$\text{M(II)} 0,02 \text{ mol L}^{-1}$
Ligante*	10 mL	-	5 mL	45 mL	-
Binário (1:1)	10 mL	-	5 mL	40 mL	5 mL
Ternário (1:1:1)	10 mL	10 mL	5 mL	30 mL	5 mL

* Apenas na titulação dos ligantes (Gly, Ser, e Gaa) foi acrescentado 1 mL de HCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$.

5.3.2. Espectrofotometria de UV-Vis

Quando existem duas ou mais espécies absorventes em uma solução, o espectrofotômetro mostra a soma das absorvâncias de todas as espécies. O instrumento não pode distinguir qual a fração de absorvância que surge de cada molécula diferente. Contudo, se espécies diferentes possuem absorvidades diferentes em comprimentos de onda diferentes e se soubermos quais os espectros que se assemelham aos dos componentes puros, podemos desmontar matematicamente o espectro da mistura nos espectros de seus componentes. Por exemplo, na química ácido-base, tal procedimento nos permite medir as concentrações das formas ácidas e básicas de um indicador. A utilização dessa informação com a equação de Henderson-Hasselbalch proporciona uma medida precisa do pH por espectrofotometria.

O fator preponderante que nos permite analisar misturas é que em cada comprimento de onda a absorvância de uma solução (contendo espécies X, Y, Z,...) é a soma das absorvâncias de cada espécie. Absorvância de uma mistura; $A = \epsilon_X b[X] + \epsilon_Y b[Y] + \epsilon_Z b[Z] + \dots$, onde “ ϵ ” é a absorvidade molar de cada espécie no comprimento de onda em questão e “b” é o comprimento da cubeta. $\epsilon = A / ([] b)$ [31-33].

Normalmente, transferência de carga metal-ligante, transferência de carga ligante-metal e absorções $\pi-\pi^*$ do ligante são transições de alta energia que são encontradas na região do UV e na região do azul do espectro visível, e apresentam $\epsilon > 1000 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$. Entretanto, absorções d-d (correspondentes aos rearranjos eletrônicos nos orbitais d-d e normalmente são observadas no comprimento de onda da luz visível) são transições proibidas para complexos octaédricos, sendo tipicamente fracas e apresentando $\epsilon \sim 10 - 100 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ [34]. Frequentemente, uma espécie absorvente, X, é convertida em uma outra espécie absorvente, Y, durante o curso de uma reação química. Essa transformação leva a um comportamento característico e muito óbvio. Se os espectros de X puro e de Y puro cruzam um com o outro em algum comprimento de onda, então todos os espectros gravados durante essa reação química cruzarão no mesmo ponto, chamado ponto isobéstico. A observação de pontos isobésticos significa a formação de mais de uma espécie [33].

Utilizou-se um espectrofotômetro de UV-Vis, modelo Perkin Elmer Lambda – 19 e cubetas de 1,0 cm de caminho ótico, para análise dos sistemas binários e ternários no espectrofotômetro. As soluções foram preparadas da mesma forma como foi apresentado para a análise potenciométrica, sendo retiradas alíquotas a cada incremento de 0,1 mL de KOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

A varredura foi feita abrangendo um intervalo de comprimento de onda de 890 a 190 nm. A água destilada foi utilizada como “background” para todos os sistemas analisados.