UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

*“Autoxidação dos complexos de tetra, penta e hexaglicina
de Ni(II), Co(II) e Cu(II) induzida por S(IV).
Determinação de S(IV) e aldeídos por quimiluminescência”*

Luciana Batista de Carvalho

Tese de Doutorado

Prof^a. Dr^a. Nina Coichev

Orientadora

São Paulo, março de 2007

*À Deus por estar presente em todos
os momentos de minha vida,
me dando forças para enfrentar
as dificuldades.*

Aos meus pais,

Paulo e Tânia, com carinho.

*Sem o apoio e o amor de vocês,
nada seria possível.*

Ao meu esposo Gabriel, com amor.

Sem você para compartilhar

minha vida, nada faria sentido.

*À Prof^a. Dr^a. Nina Coichev
pela amizade, auxílio e orientação
no desenvolvimento deste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Nina Coichev pela orientação científica, incentivo e amizade.

A todos os professores do Instituto de Química da USP que muito contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

A todos os funcionários do Instituto de Química da USP e ao pessoal da seção de pós-graduação pela atenção e eficiência na prestação de serviços.

À querida amiga Cristina Machado pelo auxílio, amizade e agradável convivência em laboratório.

A todos os antigos e atuais colegas de laboratório: Giselle, Maria, Rubén, Horácio, Patrícia, Rodrigo, Laerte, Margareth e Luciene, pela convivência, colaboração científica, apoio e valiosas contribuições durante todo o desenvolvimento do trabalho.

A todos os meus colegas e amigos do Instituto de Química, em especial aos moitas, que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma no meu caminho pela graduação, pós-graduação e pela vida.

Ao meu esposo Gabriel pelo amor e companheirismo.

Aos meus pais e todos da minha família pela preocupação, carinho e apoio.

À FAPESP (processo: 02/10450-9), CNPq e CAPES pelo suporte financeiro.

A todos que de alguma forma colaboraram no desenvolvimento deste trabalho.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E DEFINIÇÕES.....	<i>i</i>
RESUMO	<i>ii</i>
ABSTRACT.....	<i>iii</i>
GLOSSÁRIO	<i>iv</i>
PREFÁCIO	<i>vi</i>

Capítulo 1: Introdução e Objetivos.

1.1. Introdução	2
1.1.1. Mecanismo da autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição	3
1.1.2. Ciclo redox na autoxidação de íons metálicos induzida por S(IV).....	6
1.1.3. Considerações gerais sobre os complexos de íons níquel, cobalto e cobre com G ₄ , G ₅ e G ₆	10
1.2. Objetivos.....	13
1.3. Referências bibliográficas.....	14

Capítulo 2: Autoxidação de complexos de Ni(II)/G_n induzida por S(IV).

2.1. Introdução	19
2.1.1. Reação do complexo de Ni(II) com oxigênio.....	20
2.1.2. Reação de autoxidação do complexo de Ni(II) pelo oxigênio na presença de S(IV).....	21
2.2. Parte experimental.....	23
2.2.1. Preparação das soluções dos complexos de Ni(II)/G _n	23
2.2.2. Procedimento experimental.....	23

2.3.	Resultados e discussão	26
2.3.1.	Estudos da autooxidação dos complexos de Ni(II)/G _n induzida por S(IV)	26
2.3.2.	Efeito da ordem de adição dos reagentes	28
2.3.3.	Efeito da concentração de oxigênio dissolvido	38
2.3.4.	Efeito da concentração de Ni(II) e da porcentagem da pentaglicina mantida em excesso	40
2.3.5.	Efeito da acidez do meio	41
2.3.6.	Estudo comparativo da autooxidação dos complexos de Ni(II)/G _n	46
2.3.7.	Cálculo das constantes de velocidade observadas para a autooxidação dos complexos de Ni(II)/G _n induzida por S(IV).....	54
2.3.8.	Considerações sobre o mecanismo da reação de oxidação de Ni(II)/G _n na presença de O ₂ e S(IV).....	58
2.4.	Considerações gerais.....	62
2.5.	Referências bibliográficas.....	64

Capítulo 3: Autooxidação de complexos de Co(II)/G_n induzida por S(IV).

3.1.	Introdução	69
3.2.	Parte experimental.....	69
3.2.1.	Preparação das soluções dos complexos de Co(II)/G _n	69
3.2.2.	Procedimento experimental.....	70
3.3.	Resultados e discussão	71
3.3.1.	Estudos da autooxidação dos complexos de Co(II)/G _n induzida por S(IV)	71
3.3.2.	Efeito da variação da concentração de Co(II) e da porcentagem da pentaglicina em excesso	73
3.3.3.	Efeito da acidez do meio	76
3.3.4.	Efeito da ordem de adição dos reagentes.....	76

3.3.5.	Estudo comparativo da autoxidação dos complexos de Co(II)/G _n induzida por S(IV)	80
3.3.6.	Cálculo das constantes de velocidade observadas para a autoxidação dos complexos de Co(II)/G _n induzida por S(IV)	85
3.4.	Considerações gerais.....	88
3.5.	Referências bibliográficas.....	91
	ANEXO	93

Capítulo 4: Efeito sinérgico de Ni(II) e Co(II) na autoxidação de Cu(II)/G_n induzida por S(IV).

4.1.	Introdução	95
4.1.1.	Efeito sinérgico na reação de autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição.....	95
4.1.2.	Reação de autoxidação do complexo de Cu(II) pelo oxigênio na presença de S(IV)	99
4.2.	Parte experimental.....	103
4.2.1.	Preparação das soluções dos complexos de Cu(II)/G ₅ ou G ₆ na ausência ou presença de Ni(II) ou Co(II).....	103
4.2.2.	Procedimento experimental.....	104
4.3.	Resultados e discussão	105
4.3.1.	Autoxidação de complexos de Cu(II)/G ₅ e G ₆ induzida por S(IV).....	105
4.3.2.	Efeito sinérgico de Ni(II) e Co(II) na autoxidação de Cu(II)/G ₅ induzida por S(IV)	106
4.3.3.	Efeito sinérgico de Ni(II) e Co(II) na autoxidação de Cu(II)/G ₆ induzida por S(IV)	111
4.3.4.	Efeito da concentração de S(IV) nas reações de autoxidação dos complexos de Cu(II)/G ₅ e G ₆ na presença de Ni(II).....	116
4.4.	Considerações gerais.....	120
4.5.	Referências bibliográficas.....	121

Capítulo 5: Autoxidações de Ni(II)/G₄ e Ni(OH)₂ induzidas por S(IV) na presença de luminol. Desenvolvimento de métodos analíticos.

5.1.	Introdução	128
5.1.1.	Métodos analíticos para determinação de S(IV) por quimiluminescência	128
5.1.2.	Algumas considerações sobre o luminol.....	130
5.1.3.	Autoxidação de Ni(II)/G ₄ induzida por S(IV) na presença de luminol e aldeído. Desenvolvimento de método analítico	132
5.1.4.	Autoxidação de Ni(OH) ₂ induzida por S(IV) na presença de luminol.....	132
5.2.	Parte experimental.....	133
5.2.1.	Preparação das soluções	133
5.2.2.	Procedimento experimental.....	135
5.2.2.1	Obtenção da curva analítica para determinação de formaldeído e acetaldeído	137
5.2.2.2	Amostras de álcool combustível.....	137
5.2.2.3	Obtenção da curva analítica para determinação de S(IV)	138
5.2.2.4	Preparo das amostras de vinho e açúcar para determinação de S(IV).....	139
5.2.2.5	Sistema em fluxo para separação do analito da matriz por unidade de difusão gasosa	139
5.3.	Resultados e discussão	142
5.3.1.	Desenvolvimento de método analítico para determinação de aldeído	142
5.3.2.	Autoxidação de Ni(OH) ₂ induzida por S(IV) na presença de luminol.....	152
5.3.2.1	Efeito da ordem de adição dos reagentes	152
5.3.2.2	Efeito da temperatura.....	154
5.3.2.3	Curva analítica para S(IV)	154

5.3.2.4	Determinação de S(IV) em amostras de vinho e açúcar refinado.....	156
5.4.	Considerações gerais.....	162
5.5.	Referências bibliográficas.....	164

Capítulo 6: Algumas considerações finais.

6.1.	Algumas considerações finais	169
6.2.	Referências bibliográficas.....	173

	REAGENTES E SOLUÇÕES	174
	PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....	176
	CURRICULUM VITAE	177

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E DEFINIÇÕES

A	Absorbância
A_i	Absorbância para o tempo inicial
A_t	Absorbância para o tempo t
e^-	Elétron
E^0	Potencial padrão de redução
EDTA	Ácido etilenodiaminotetraacético
ε	Absortividade molar
FIA-QL	Análise por injeção em fluxo com detecção por quimiluminescência
G_n	Peptídeos tetra, penta e hexaglicina
I	Força iônica
$I_{\text{máx}}$	Intensidade máxima de radiação emitida
k_{obs}	Constante de velocidade observada
M(II)	Íon metálico no estado de oxidação 2+
M(III)	Íon metálico no estado de oxidação 3+
R	Coeficiente de correlação
S(IV)	Óxidos de enxofre(IV) = H_2SO_3 , HSO_3^- , SO_3^{2-}
T	Temperatura
TRIS	Tris(hidroximetil)aminometano
UV	Ultravioleta
λ	Comprimento de onda

RESUMO

A autooxidação dos complexos de Ni(II) e Co(II) com tetra, penta e hexaglicina, em meio de tampão borato, é acelerada por espécies de enxofre (IV) (H_2SO_3 , HSO_3^- e SO_3^{2-}). A formação dos complexos de Ni(III) e Co(III) foi acompanhada espectrofotometricamente em 325 e 265 nm, respectivamente.

A velocidade da reação de autooxidação do complexo de Ni(II)/ G_n aumenta com a concentração de S(IV) e é máxima em $\text{pH} \cong 8,5$. O processo é autocatalítico com Ni(III) ou Co(III) atuando como iniciadores, formados pela oxidação espontânea de Ni(II) ou Co(II) pelo oxigênio molecular. A dependência da constante de velocidade observada com a concentração de S(IV) evidenciou possíveis reações paralelas com formação de um complexo com ligantes mistos antes da etapa da oxidação.

A autooxidação dos complexos de Cu(II) com penta e hexaglicina em $\text{pH} = 9$ é muito lenta, na presença e na ausência de S(IV). A presença de S(IV) e de traços de Ni(II) ou Co(II) aumenta significativamente a velocidade e a eficiência da reação (período de indução de 0,5 s). O mecanismo envolve uma cadeia de reações e um ciclo redox dos complexos.

Acetaldeído e formaldeído inibem parcialmente a reação de autooxidação de Ni(II)/ G_4 na presença de S(IV) e luminol. O método quimiluminescente desenvolvido pode ser empregado para determinação de formaldeído [$(5,0 \cdot 10^{-5} - 1,0 \cdot 10^{-2}) \text{ mol L}^{-1}$] e acetaldeído [$(1,0 \cdot 10^{-4} - 0,10) \text{ mol L}^{-1}$], não sendo possível detectar separadamente cada um desses aldeídos.

Na autooxidação de $\text{Ni}(\text{OH})_2$ induzida por S(IV) na presença de luminol ocorre emissão de radiação, possibilitando a detecção de S(IV) na faixa de $5,0 \cdot 10^{-8}$ a $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção estimado de $1,3 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

ABSTRACT

The autoxidation of Ni(II) and Co(II) complexes with tetra, penta and hexaglycine, in borate medium, is accelerated by sulfur (IV) species (H_2SO_3 , HSO_3^- and SO_3^{2-}). The formation of Ni(III) and Co(III) complexes was followed spectrophotometrically at 325 and 265 nm, respectively.

The autoxidation rate of Ni(II)/G_n complex increases with S(IV) concentration and is maximum at pH $\cong$ 8.5. The process is autocatalytic with Ni(III) or Co(III) acting as initiators, formed by spontaneous oxidation by oxygen. The dependence of the observed rate constant with S(IV) concentration showed evidences of back or parallel reactions with formation of mixed ligand complex prior to the oxidation step.

The autoxidation of Cu(II)/penta and hexaglycine complexes at pH = 9, in the presence and absence of S(IV), is very slow. The presence of S(IV) and of small amounts of Ni(II) or Co(II) increases significantly the effectiveness and reaction rate (induction period = 0.5 s). The mechanism involves a radical chain and redox cycling of the metal ion complexes.

Acetaldehyde and formaldehyde partially inhibit the autoxidation reaction of Ni(II)/G₄ in the presence of S(IV) and luminol. The developed chemiluminescent method can be used for determination of formaldehyde [$(5.0 \cdot 10^{-5} - 1.0 \cdot 10^{-2}) \text{ mol L}^{-1}$] and acetaldehyde [$(1.0 \cdot 10^{-4} - 0.10) \text{ mol L}^{-1}$], being not possible their isolated detection.

The S(IV) induced autoxidation of Ni(OH)₂ in the presence of luminol, occurs with radiation emission, allowing S(IV) detection in the range $5.0 \cdot 10^{-8}$ to $1.0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, with detection limit of $1.3 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

GLOSSÁRIO

G₄, G₅ e G₆ = são usados como termo geral para os peptídeos tetra, penta e hexaglicina.

[M^{II}(H_{-x}G₄)]^(1-x) : complexo de M(II) com G₄

[M^{III}(H_{-x}G₄)]^(2-x) : complexo de M(III) com o G₄

(H_{-x}G₄)^{-(X+1)}: refere-se ao ligante com x nitrogênios peptídicos desprotonados coordenados ao íon metálico(II) (figura abaixo). Os complexos de M(II) com este peptídeo apresentam vários graus de protonação, de acordo com a acidez do meio.

[M^{II}G₄] ou M(II)/G₄: $[\text{M}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^{2-} + [\text{M}^{\text{II}}(\text{H}_{-2}\text{G}_4)]^{-} + [\text{M}^{\text{II}}(\text{H}_{-1}\text{G}_4)] + [\text{M}^{\text{II}}(\text{G}_4)]^{+}$
(a espécie predominante em solução dependerá da acidez do meio).

Estrutura do complexo peptídico $[\text{M}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^{2-}$.
Analogamente para os complexos de penta e hexaglicina.

Equilíbrio ácido-base das espécies complexas de M(II)/G₄

$M^{2+} = Cu^{2+}$ e Ni^{2+} (os complexos destes íons também podem estar na geometria octaédrica), para Co^{2+} não há estudos descritos na literatura.

PREFÁCIO

Os estudos realizados são apresentados nos capítulos a seguir. No capítulo 1 é descrito um levantamento amplo, com apreciação crítica, dos trabalhos reportados na literatura. Para um entendimento melhor do leitor, optou-se por apresentar separadamente cada estudo descrevendo a parte experimental, resultados e conclusões parciais.

A numeração de referências, equações, figuras e tabelas também foram realizadas considerando-se cada capítulo independentemente.

Capítulo 1: Introdução e Objetivos.

1.1. INTRODUÇÃO

Os processos de oxidação de óxidos de enxofre (IV) (SO_2 , HSO_3^- e SO_3^{2-}) por oxigênio (também conhecida como *autooxidação* de S(IV)) catalisada por íons metálicos de transição têm um papel importante no ciclo do enxofre e, conseqüentemente, na química atmosférica (na formação da chuva ácida), analítica (na preservação de amostras e no desenvolvimento de métodos analíticos alternativos para determinação de S(IV)), bioinorgânica (na lesão de biomoléculas induzida por S(IV)) e nos processos industriais (na remoção de SO_2 dos gases de exaustão e produção de ácido sulfúrico).

A curva de distribuição dos óxidos de enxofre(IV) encontra-se representada na figura 1. No presente trabalho estudos foram realizados em pH entre 7 e 10.

Figura 1: Diagrama de distribuição das espécies de S(IV).

1.1.1. Mecanismo da autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição

A autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição em meio aquoso tem sido tema de um grande número de estudos experimentais, cujas interpretações sobre o mecanismo, foram freqüentemente contraditórias. No entanto, a maioria dos estudos sugere um mecanismo radicalar (parte do qual está baseado no esquema proposto por Backstrom⁽¹⁾ em 1934) que está apresentado no esquema 1. Nesse mecanismo proposto, encontram-se também as possíveis reações subseqüentes conforme dados da literatura.⁽²⁾

As três primeiras reações do esquema ocorrem na ausência de M(III) (eqs. 1–3). O início do processo ocorre pela reação do M(III) com SO_3^{2-} produzindo o radical $\text{SO}_3^{\bullet-}$ (eq. 4). O radical sulfito reage rapidamente com oxigênio produzindo o radical $\text{SO}_5^{\bullet-}$ (eq. 5), forte oxidante, que oxida M(II) a M(III) (eq. 6). O peroxomonossulfato (SO_5^{2-}) produzido pode reagir subseqüentemente com mais M(II) gerando M(III), sulfato, e radical $\bullet\text{OH}$ ou OH^- (eqs. 8–10). Após estas reações segue uma propagação em cadeia em que alguns dos produtos finais prováveis são: SO_4^{2-} , SO_5^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_6^{2-}$ e $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ (eqs. 11–29). Assim, fica claro que o verdadeiro catalisador é o íon metálico no estado trivalente.

Esquema 1. Mecanismo da autoxidação de SO_3^{2-} catalisada por íons metálicos de transição.^(1,2)

Início (na ausência de M(III) adicionado)

Autocatálise

Propagação da Cadeia

Formação dos Produtos / Término da Cadeia

M = complexos de Co(II)/Co(III)/N₃⁻,^(2,3) Mn(II)/Mn(III)/N₃⁻,⁽⁴⁾ Ni(II)/Ni(III)/cyclam,⁽⁵⁾ Fe(II)/Fe(III)/H₂O,^(6,7) e Cu(II)/Cu(III)/G₄.^(8,9)

Ainda que este mecanismo de radicais livres tenha sido repetidamente usado para explicar a catálise dos íons metálicos na autooxidação de S(IV), somente após 1990 foi elucidado o processo catalítico cíclico com variação do estado de valência do íon metálico, governado pelas concentrações relativas de oxigênio e S(IV) em solução.

Estudos envolvendo íons metálicos de Co(II/III),⁽²⁾ Cu(II/III),⁽¹⁰⁾ Mn(II/III),^(4,11,12) e Fe(II/III)^(6,7) em meio aquoso, indicam que a autooxidação de S(IV) pode ser interpretada em termos de um mecanismo, no qual ocorre um ciclo redox dos íons metálicos⁽⁷⁾.

O potencial de oxidorredução de um sistema envolvendo íons metálicos é modificado quando esses íons são coordenados por ligantes diferentes.⁽¹³⁾ Para tanto foi necessária a correlação de estudos cinéticos e termodinâmicos, envolvendo o conhecimento das constantes de equilíbrio e do potencial de oxidorredução dos complexos dos íons metálicos envolvidos.

Um aspecto importante da autooxidação de S(IV) é a natureza das reações que levam à reoxidação do íon metálico (M(II)) para completar o ciclo catalítico. Um oxidante em potencial para a oxidação de M(II) seria oxigênio molecular (eq. 1), no entanto, essa reação nem sempre é termodinamicamente favorável⁽¹⁴⁾ e na maioria dos casos, muito lenta. Por outro lado, em uma série de estudos^(2,4,10-12) tem sido observado que a velocidade de oxidação pelo oxigênio de alguns íons bivalentes complexados (Co(II), Mn(II) e Cu(II)) ao estado trivalente é significativamente incrementada na presença de S(IV), um agente redutor. Assim, S(IV) pode induzir ou acelerar a autooxidação de íons metálicos no estado de oxidação 2+, tanto o S(IV) quanto o íon metálico são oxidados simultaneamente, com consumo de oxigênio.

1.1.2. Ciclo redox na autooxidação de íons metálicos induzida por S(IV)

Anast e Margerum⁽¹⁰⁾ foram um dos primeiros a relatar a evidência de um processo cíclico de reação de oxidorredução no sistema Cu(II)/Cu(III)/G₄/S(IV). Este processo foi demonstrado utilizando-se o Cu(II) complexado à tetraglicina. Os íons Cu(III) reagem rapidamente com SO₃²⁻ produzindo Cu(II) e SO₃^{•-} e, na presença de

oxigênio, o Cu(II) formado reage com SO_3^{2-} regenerando Cu(III), segundo as equações globais 30 e 31.⁽¹⁰⁾

No entanto, estudos mais recentes realizados pelo nosso grupo de pesquisa^(8,9,15) mostraram que, de fato, a reação de autooxidação do Cu(II)/G₄ é muito lenta na presença de S(IV). A formação de Cu(III)/G₄ é eficiente e extremamente rápida apenas na presença de pequenas concentrações de íons Ni(II) ou Co(II), presentes como impurezas nos sais de cobre e outros reagentes. Esse efeito sinérgico será melhor discutido no capítulo 4.

Behra e Sigg⁽¹⁶⁾ também relataram evidências de um ciclo catalítico de reações de oxidorredução considerando a oxidação do íon Fe(II) pelo oxigênio, em gotículas de água atmosférica. Outros trabalhos também sugerem a presença de um ciclo de oxidorredução para o sistema Fe(II)/Fe(III).^(6,17)

Os resultados obtidos nos estudos realizados para os sistemas: Co(II)/Co(III)/N₃⁻,^(2,3) Mn(II)/Mn(III)/N₃⁻,⁽⁴⁾ Fe(II)/Fe(III)/H₂O,^(6,7) e Ni(II)/Ni(III)/cyclam⁽⁵⁾ permitiram obter conclusões definitivas sobre as etapas de autooxidação de íons metálicos induzida por S(IV) e o ciclo redox. Um ciclo de reações de oxidorredução envolvendo M(II)/M(III) está representado na figura 2.

Dos estudos que levaram à proposta do mecanismo esquematizado, o íon metálico no estado de oxidação mais elevado (M(III)), mesmo que em baixíssimas concentrações, catalisa a autooxidação de S(IV). O ciclo pode ser reiniciado até o consumo total de S(IV) ou oxigênio.

Figura 2. Ciclo de reações de oxidorredução para o sistema M(II)/M(III).⁽⁹⁾

Se o íon metálico está presente inicialmente no estado de oxidação 2+ (M(II)), este pode ser oxidado pelo oxigênio (eq. 1) ou por reação com o ligante presente no meio (por exemplo, HN_3 no caso de $\text{Co(II)/Co(III)/N}_3^-$ ^(2,3) e $\text{Mn(II)/Mn(III)/N}_3^-$ ⁽⁴⁾).

A oxidação espontânea do complexo de M(II) por oxigênio (eq. 1) pode ser termodinamicamente favorável e dependerá do potencial de redução $E^\circ_{\text{M(III)/M(II)}}$, da natureza do ligante complexado ao íon metálico, da estabilidade do complexo formado e da acidez do meio⁽¹⁰⁾. A dependência da acidez do meio pode ser explicada pelo potencial de oxidorredução do O_2 ,⁽¹⁸⁾ permitindo a sua redução pelas

diferentes espécies de S(IV) (SO_2 , HSO_3^- e SO_3^{2-}) e pela estabilidade dos complexos com o íon metálico. Estudos revelaram que SO_3^{2-} é mais facilmente oxidado pelo O_2 que HSO_3^- .⁽¹⁸⁾

A reação de oxidação de M(II)/G_n pelo oxigênio é lenta e termodinamicamente desfavorável. Porém, a pequena quantidade produzida do M(III) já é suficiente para iniciar o processo. Margerum e colaboradores⁽¹⁹⁾ estimaram esta concentração em $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para a reação de autooxidação de Ni(II)/G_4 $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão borato $0,025 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 8,6$).

A autooxidação de M(II) é autocatalítica em todos os casos, apresentando um período de indução, característico de uma autocatálise (eqs. 4–10), ou seja, o produto formado, no caso M(III) , atua como catalisador da reação. A adição inicial de pequenas quantidades do íon metálico na sua forma oxidada, M(III) , reduz o período de indução e a reação torna-se mais rápida. A extensão do período de indução é função da concentração inicial de M(III) e S(IV) presentes na solução. Isso indica que, em meio contendo oxigênio, uma concentração baixa de M(III) , resultante da oxidação de M(II) , é necessária para iniciar o ciclo catalítico, cuja extensão depende de um balanço crítico entre as concentrações relativas de S(IV) e oxigênio.^(2–4)

Se o oxigênio dissolvido estiver em excesso com relação ao S(IV) , o processo de autooxidação de M(II) ocorre. Assim que todo oxigênio tiver sido consumido, e existindo ainda S(IV) em solução, ocorrerá a redução do M(III) formado, conforme a equação 32.

A introdução de oxigênio reinicia a oxidação de M(II) se ainda existir S(IV) em solução. Tal ciclo de oxidorredução se mantém até que todo S(IV) ou O₂ tenha sido totalmente consumido.

O ciclo de oxidorredução, observado para os sistemas Co(II)/Co(III)/N₃⁻, Mn(II)/Mn(III)/N₃⁻, Fe(II)/Fe(III)/H₂O, Ni(II)/Ni(III)/cyclam e Ni(OH)₂/Ni(OH)₃ estudados por Coichev e colaboradores^(2,4,5,7,20) resultou em experimentos demonstrativos.^(21,22) Para os sistemas Co(II)/Co(III)/N₃⁻, Mn(II)/Mn(III)/N₃⁻ e Ni(OH)₂/Ni(OH)₃ a demonstração é especialmente interessante, pois os complexos de Co(III) e Mn(III) são intensamente coloridos quando comparados com Co(II) e Mn(II). Igualmente para Ni(OH)₂ (verde) e Ni(OH)₃ (preto). Em condições de excesso de S(IV) com relação a O₂ ocorre a intensificação da cor da solução devido à formação de M(III). Assim que todo o O₂ tiver sido consumido, existindo ainda S(IV), ocorrerá a descoloração devido à redução de M(III) pelo mesmo. Agitando-se a solução, havendo ainda S(IV), em presença de ar, a concentração de oxigênio é restabelecida e o ciclo de oxidorredução é reiniciado.^(21,22) Portanto, o balanço crítico entre a [S(IV)] e [O₂] controla a reação global.

1.1.3. Considerações gerais sobre os complexos de íons níquel, cobalto e cobre com G₄, G₅ e G₆

Peptídeos são ligantes muito efetivos para uma grande variedade de íons metálicos. Entre eles, Cu(II) e Ni(II) têm sido muito estudados por ter importância biológica ao se complexar com aminoácidos. Em particular, esses dois íons metálicos são capazes de se ligar fortemente aos nitrogênios peptídicos das albuminas do soro humano e dessa maneira serem transportados no corpo

humano.⁽²³⁾ Estudos mostraram que complexos peptídicos desses dois íons, na presença de sulfito, podem participar na lesão ao DNA.^(24,25)

A tetraglicina é um peptídeo que possui três nitrogênios amídicos (provenientes de grupos peptídicos) e um nitrogênio amínico (figura 3). A pentaglicina e a hexaglicina apresentam estruturas similares à tetraglicina, porém com um e dois grupos amidas a mais, respectivamente. Esses nitrogênios quando desprotonados formam complexos estáveis com vários íons metálicos de transição no estado de oxidação (III). A coordenação do íon metálico bivalente ($M(II)$) inicialmente se dá com o nitrogênio da amina terminal. Com o aumento do pH do meio, o íon metálico se coordena seqüencialmente aos nitrogênios peptídicos, formando ligações $M(II)-N$. A coordenação dos nitrogênios peptídicos ao íon metálico envolve a perda simultânea dos hidrogênios. Na página *iv* estão representadas todas as espécies complexas de $M(II)/G_4$ em meios de diferente acidez.

Os valores baixos de potencial de redução e a estabilidade relativa alta destes complexos peptídicos em solução aquosa (tabela 1) é de especial interesse em processos biológicos de oxidorredução,⁽²⁶⁾ devido à suposta presença de $Cu(III)$ na atividade de algumas enzimas e a possibilidade de que cobre trivalente seja um intermediário na clivagem enzimática de DNA mediada por metaloproteínas.

O par $Cu(II/III)$ tem sido usado na detecção eletroquímica de peptídeos, após separação em coluna cromatográfica.⁽²⁷⁻²⁹⁾ Na tabela 1 estão resumidas algumas propriedades dos complexos de $Cu(II)/Cu(III)/G_n$, $Ni(II)/Ni(III)/G_4$ e $Co(II)/Co(III)/G_4$.

Tabela 1. Algumas características dos complexos Cu(II)/Cu(III), Ni(II)/Ni(III) e Co(II)/Co(III).^(8,19,30-33)

Complexo	E° vs. ENH (V) ^a	$\lambda_{\text{máx}}^*$ (nm) M(III)/G _n	$\varepsilon_{\lambda \text{ máx}}^*$ (mol ⁻¹ L cm ⁻¹) M(III)/G _n	pK ^b [M ^{II} (H ₋₁ G _n)]/[H ⁺]/ [M ^{II} G _n ⁺]	pK ^c [M ^{II} (H ₋₂ G _n) ⁻]/[H ⁺]/ [M ^{II} (H ₋₁ G _n)]	pK ^d [M ^{II} (H ₋₃ G _n) ²⁻]/[H ⁺]/ [M ^{II} (H ₋₂ G _n) ⁻]	pK ^e [M ^{III} (H ₋₃ G _n) ⁻]
Cu(II)/Cu(III)/G ₄	0,631 ⁽³⁰⁾	365 ⁽³⁰⁾	7120 ± 200 ⁽³⁰⁾	5,6 ⁽³¹⁾	6,8 ⁽³¹⁾	9,16 ⁽³¹⁾	12,1 ± 0,2 ⁽³³⁾
Cu(II)/Cu(III)/G ₅	0,646 ⁽³⁰⁾	365 ⁽³⁰⁾	7580 ± 300 ⁽³⁰⁾	--	6,9 ⁽³¹⁾	8,04 ⁽³²⁾	11,6 ± 0,1 ⁽³³⁾
Cu(II)/Cu(III)/G ₆	0,672 ⁽³⁰⁾	365 ⁽³⁰⁾	7670 ± 90 ⁽³⁰⁾	--	--	--	11,4 ± 0,2 ⁽³³⁾
Ni(II)/Ni(III)/G ₄	0,790 ⁽¹⁹⁾	325 ⁽¹⁹⁾	5420 ± 200 ⁽¹⁹⁾	--	--	8,1 ⁽¹⁹⁾	--
Co(II)/Co(III)/G ₄	--	265 ⁽⁸⁾	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	--

^a Valores de E° para [M^{III}(H₋₃G₄)⁻ + e ⇌ [M^{II}(H₋₃G₄)²⁻], obtido por voltametria cíclica usando eletrodo de pasta de carbono.

^{b, c, d} Constantes de ionização para a perda do primeiro, segundo e terceiro hidrogênio peptídico respectivamente (25°C, I = 0,1 mol L⁻¹, NaClO₄).

^e Constante de ionização para a perda do hidrogênio da amina coordenada ao M(III).

^{*} $\lambda_{\text{máx}}$ e $\varepsilon_{\lambda \text{ máx}}$ correspondem ao comprimento de absorção máxima e absorvidade molar (em $\lambda_{\text{máx}}$) para o complexo M(III)/G₄.

n.d.: não determinado

onde $R = H$ para $M(II)/G_4$
 $R = COCH_2NH_2$ para $M(II)/G_5$
 $R = COCH_2NHCOCH_2NH_2$ para $M(II)/G_6$

Figura 3. Estrutura dos complexos peptídicos triplamente desprotonados de $M(II)/G_n$.

1.2. OBJETIVOS

Os principais objetivos do presente trabalho são: estudos cinéticos comparativos da oxidação dos complexos de $[Ni^{II}(H_{-3}G_n)]^{2-}$ e $[Co^{II}(H_{-3}G_n)]^{2-}$, na presença de S(IV) e oxigênio (Capítulos 2 e 3); estudo do efeito sinérgico de Ni(II) e Co(II), na concentração da ordem de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, na reação de autooxidação dos complexos de Cu(II)/ G_5 ou Cu(II)/ G_6 na presença de S(IV) (Capítulo 4). Esses trabalhos permitiram uma melhor compreensão do mecanismo dessa reação a qual tem importância em química do meio ambiente, bioinorgânica e métodos analíticos. Um método alternativo quimiluminescente para determinação de S(IV) e acetaldeído está descrito no Capítulo 5, baseado na oxidação de luminol pelos radicais e agentes oxidantes formados como produtos intermediários na reação de oxidação de Ni(II) na presença de oxigênio e S(IV).

1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Backstrom, H. L. J.; Der Kettenmechanismus bei der Autoxidation von Natriumsulfit-Lösungen. *Z. Phys. Chem.* **1934**, 25, 122–138.
2. Coichev, N.; Van Eldik, R.; Kinetics and Mechanism of the Sulfite-Induced Autoxidation of Cobalt(II) in Aqueous Azide Medium. *Inorg. Chem.* **1991**, 30, 2375–2380.
3. Neves, E. A.; Coichev, N.; Gebert, J.; Klockow, D.; Autoxidation of Cobalt(II) in Azide Containing Medium in Presence of Sulfur (IV) - an Interpretative Study. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1989**, 335, 386–389.
4. Coichev, N.; van Eldik, R. A; Mechanistic Study of the Sulfite-Induced Autoxidation of Mn(II) in Aqueous Azide Medium. *Inorg. Chim. Acta* **1991**, 185, 69–73.
5. Pezza, H. R.; Coichev, N.; Kinetics and Mechanism of the Induced Redox Reaction of $[\text{Ni}(\text{cyclam})]^{2+}$ promoted by SO_5^{2-} center dot. *J. Coord. Chem.* **1999**, 47, 107–119.
6. Reddy, K. B.; van Eldik, R.; Kinetics and Mechanism of the Sulfite-Induced Autoxidation of Fe(II) in Acidic Aqueous-Solution. *Atmos. Environ.* **1992**, 26A, 661–665.
7. Reddy, K. B.; Coichev, N.; van Eldik, R.; Redox Cycling of Iron in Atmospheric Water - The Important Role of Sulfite. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 481–483.
8. Alipázaga, M. V.; Moreno, R. G. M.; Coichev, N.; Synergistic Effect of Ni(II) and Co(II) Ions on the Sulfite Induced Autoxidation of Cu(II)/tetraglycine Complex. *Dalton Trans.* **2004**, 2036–2040.

9. Tese de Doutorado de Maria Vespertina Alipázaga Sebastián. Título: Estudo da Autoxidação dos complexos de Cu(II), Ni(II) e Co(II) / Tetraglicina Induzida por S(IV), Universidade de São Paulo - Instituto de Química, **2003**.
10. Anast, J. M.; Margerum, D. W.; Trivalent Copper Catalysis of the Autoxidation of Sulfite. Kinetics and Mechanism of the Copper(III/II) Tetraglycine Reactions with Sulfite. *Inorg.Chem.* **1981**, 20, 2319–2326.
11. Berglund, J.; Fronaeus, S.; Elding, L. I.; Kinetics and Mechanism for Manganese-Catalyzed Oxidation of Sulfur(IV) by Oxygen in Aqueous-Solution. *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 4527–4538.
12. Connick, R. E.; Zhang, Y. X.; Kinetics and Mechanism of the Oxidation of HSO_3^- by O_2 . The Manganese(II)-Catalyzed Reaction. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 4613–4621.
13. Margerum, D. W.; Chellappa, K. L.; Bossu, F. P.; Burce, G. L.; Characterization of a Readily Accessible Copper(III)-Peptide Complex. *J. Amer. Chem. Soc.* **1975**, 97, 6894–6896.
14. van Eldik, R.; Coichev, N.; Bal Reddy, K.; Gerhard, A.; Metal Ion Catalyzed Autoxidation of Sulfur(IV)-Oxides: Redox Cycling of Metal Ions Induced by Sulfite. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1992**, 96, 478–481.
15. Alipázaga, M. V.; Coichev, N.; Synergistic Effect of Some Transition Metal Ions on the Sulfite Induced Autoxidation of Cu(II)/Tetraglycine Complex. Analytical Applications *Anal. Lett.* **2003**, 36, 2255–2275.
16. Behra, P.; Sigg, L.; Evidence for Redox Cycling of Iron in Atmospheric Water Droplets. *Nature* **1990**, 344, 419–421.
17. Brandt, C.; van Eldik, R.; Symposium 92 Eurotrac, p. 152, Garmisch-Partenkirchen, **1992**.

18. Sawyer, D. T.; *Oxygen Complexes and Oxygen Activation by Transition Metals*; Sawyer, D. T., Ed.; Plenum Press; New York, 1988; p. 131–148.
19. Bossu, F. P.; Paniago, E. B.; Margerum, D. W.; Kirksey Jr., S. T.; Kurtz, J. L.; Trivalent Nickel Catalysis of the Autoxidation of Ni(II) Tetraglycine. *Inorg. Chem.* **1978**, 17, 1034–1042.
20. Tese de Doutorado de Helena R. Pezza. Título: Estudo da Autoxidação de $[\text{Ni}(\text{cyclam})]^{2+}$ induzida por óxidos de S(IV), Universidade de São Paulo - Instituto de Química, **1997**.
21. Moya, H. D.; Neves, E. A.; Coichev, N.; A Further Demonstration of Sulfite-Induced Redox Cycling of Metal Ions Initiated by Shaking. *J. Chem. Educ.* **1999**, 76, 930–932.
22. Coichev, N.; van Eldik, R.; Franz, D. A.; A Fascinating Demonstration of Sulfite-Induced Redox Cycling of Metal-Ions Initiated by Shaking. *J. Chem. Educ.* **1994**, 71, 767–769.
23. Patel, S. U.; Sadler, P. J.; Tucker, A.; Viles, J. H.; Direct-Detection of Albumin in Human Blood-Plasma by ^1H NMR - Spectroscopy - Complexation of Nickel $^{2+}$. *J. Amer. Chem. Soc.* **1993**, 115, 9285–9286.
24. Muller, J. G.; Burrows, C. J. Metallodrug Complexes that Mediate DNA and Lipid Damage via Sulfite Autoxidation: Copper(II) Famotidine and Iron(III) bis(salicylglycine). *Inorg. Chim. Acta* **1998**, 276, 314–319.
25. Muller, J. G.; Hickerson, R. P.; Perez, R. J.; Burrows, C. J.; DNA Damage from Sulfite Autoxidation Catalyzed by a Nickel(II) Peptide. *J. Amer. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1501–1506.
26. Karlin, K.D.; Tyeklár, Z.; *Bionorganic Chemistry of Copper*, New York, Ed. Chapman & Hall, **1993**, p 213.

27. Warner, A. M.; Weber, S. G.; Electrochemical Detection of Peptides *Anal. Chem.* **1989**, 61, 2664–2668.
28. Cheng, J. G.; Woltman, S.J.; Weber, S.G.; Sensitivity and Selectivity of the Electrochemical Detection of the Copper(II) Complexes of Bioactive Peptides, and Comparison to Model Studies by Rotating Ring-Disk Electrode. *J. Chromatogr. A* **1995**, 691, 301–305.
29. Wotman, S. J.; Alward, M. R.; Weber, S. G.; Rotating Ring-Disk Electrode Study of Copper(II) Complexes of the Model Peptides Triglycine, Tetraglycine and Pentaglycine. *Anal. Chem.* **1995**, 67, 541–551.
30. Bossu, F. P.; Chellappa, K. L.; Margerum, D. W.; Ligand Effects on Thermodynamic Stabilization of Copper(III)-Peptide Complexes. *J. Amer. Chem. Soc.* **1977**, 99, 2195–2203.
31. Margerum, D. W.; Duckes, G. R.; *Metal Ions in Biological Systems*, Vol. 1, Chapter 5, Helmut Siegel (Marcel Dekker Inc.), New York, **1974**, p. 157.
32. Hartzell, C. R.; Gurd, F. R. N.; Formation and Spectral Properties of Copper(II) Ion Complexes of NH₂-Terminal Pentapeptide from Sperm Whale Myoglobin and of certain Tetra and Pentapeptides. *J. Biol. Chem.* **1969**, 244, 147.
33. Kirksey Jr., S. T.; Margerum, D. W.; Duckes, G. R.; Oxidative Decarboxylation of Glyoxylate Ion by a Deprotonated Amine Copper(III)-Peptide Complex. *Inorg. Chem.* **1979**, 18, 966–970.

**Capítulo 2: Autoxidação de complexos de
Ni(II)/G_n induzida por S(IV).**

2.1. INTRODUÇÃO

O complexo de Ni(II)/G₄ pode existir em solução aquosa de várias formas, dependendo da acidez do meio: $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4]^+$, $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_{-2}\text{G}_4)]^-$ e $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^{2-}$, sendo que $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_{-1}\text{G}_4)]$ não está presente em concentração apreciável⁽¹⁾ (vide pág. iv). Dessas espécies a forma mais reativa é a triplamente desprotonada ($[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^{2-}$). Somente algumas constantes de ionização referente à perda dos hidrogênios peptídicos foram determinadas. Os valores de pK para as constantes de equilíbrio são 24,22 para a ionização simultânea dos três prótons ($[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^{2-}[\text{H}^+]^3/[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{G}_4)^+]$), e 8,1 para a ionização do terceiro próton ($[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^{2-}[\text{H}^+]/[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_{-2}\text{G}_4)]^-$) (tabela 1, capítulo 1 pág. 12).^(1,2)

A coordenação de Ni(II) com a tetraglicina e a desprotonação sucessiva do ligante complexado foi apresentada por Martin⁽³⁾: a coordenação inicial do íon Ni(II) à tetraglicina ocorre pelo nitrogênio da amina terminal. O complexo, no entanto, é octaédrico inicialmente e possui duas moléculas de água na posição axial. A desprotonação do nitrogênio amídico adjacente ocorre em meio de pH entre 8 e 9. Os nitrogênios amídicos restantes se desprotonam quase que simultaneamente. Este evento, relativamente lento, é acompanhado pela transição de uma geometria hexacoordenada (octaédrica) para uma geometria quadrado planar, podendo ser observada pela variação da absorbância em 250 e 410 nm. Em solução o complexo $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^{2-}$ é quadrado planar estando o Ni(II) coordenado ao nitrogênio do grupo amino terminal e a três nitrogênios peptídicos. Devido à transição da forma octaédrica para quadrado planar supõe-se que somente 2% do Ni(II) total esteja na forma $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_{-1}\text{G}_4)]$.⁽¹⁾

2.1.1. Reação do complexo de Ni(II) com oxigênio

O complexo de Ni(II)/G₄ reage com oxigênio dissolvido em solução aquosa por um processo autocatalítico, no qual é formado Ni(III).⁽⁴⁾ Ni(II) é bastante estável em solução aquosa quando complexado a ligantes peptídicos como a tetraglicina. Margerum e colaboradores⁽¹⁾ propuseram um mecanismo autocatalítico para a autooxidação de Ni(II)/G₄, o qual consiste na formação de Ni(III)/G₄ nos estágios iniciais (eqs. 1–7). Como produtos principais dessa reação resultam dióxido de carbono, triglicil-N-(hidroximetil)amida e glicinamida.

onde:

L[•] é G₃aCH₂[•], LO₂[•] é G₃aCH₂O₂[•], P é G₃aCH₂OH (triglicil-N-(hidroximetil)amida).

Na presença de traços de Ni(III)/G₄, as reações 4 a 7 predominam, e o complexo do íon trivalente gerado constitui uma fonte para produção de radicais. O hidroperóxido resultante, Ni(II)/LOOH, oxida Ni(II)/G₄ (eq. 6), além de produzir o complexo Ni(III)/P (Ni(II)/triglicil-N-(hidroximetil)amida). Este último intermediário formado também oxida Ni(II)/G₄ a Ni(III)/G₄ (eq. 7).

A soma das equações 1, 2, 5–7, representada pela equação 8, é uma reação correspondente ao ganho líquido de duas moléculas de Ni(III) por molécula de oxigênio consumido.

À medida que a concentração de Ni(III) aumenta, as reações 3 e 4 passam a prevalecer, sendo estas reações de terminação as que levam à decomposição do complexo de Ni(III)/G₄. Somando-se as equações 1 e 3 ou 1, 2 e 4 obtém-se a equação 9.

Esta reação expressa a decomposição de Ni(III)/G₄ sem consumo de oxigênio.

O espectro UV-visível de uma solução de Ni(III)/G₄ apresenta duas bandas de transferência de carga, uma em 250 nm e outra em 325 nm.

2.1.2. Reação de autooxidação do complexo de Ni(II) pelo oxigênio na presença de S(IV)

A autooxidação de Ni(II)/G₄ induzida por S(IV) tem sido pouco estudada. Pezza e colaboradores⁽⁵⁾ confirmaram, através de estudos espectrofotométricos, que a reação entre Ni(II)/G₄ e oxigênio é acelerada na presença de S(IV), com a formação de Ni(III)/G₄ e S(VI).

O mecanismo sugerido pelo nosso grupo de pesquisa^(6,7) (eqs. 10–17) indica que o iniciador da reação seria o complexo de Ni(III) formado como produto da oxidação de Ni(II)/G_n pelo oxigênio, reação que é lenta, produzindo H₂O₂ (eq. 10). Embora esta reação seja termodinamicamente desfavorável, a pequena quantidade

produzida do Ni(III) já é suficiente para iniciar o processo. Margerum e colaboradores⁽¹⁾ estimaram esta concentração em $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para a reação de autoxidação de Ni(II)/G₄ $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão borato $0,025 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 8,6).

$$E^0 = -0,63 \text{ V em pH} = 8,6$$

Durante a autocatálise o Ni(III) formado reage com SO_3^{2-} produzindo radicais $\text{SO}_3^{\bullet-}$ (eq. 11), os quais posteriormente reagem rapidamente com oxigênio para formar o radical peroxomonossulfato que é um forte oxidante (eq. 12). Esse radical peroxomonossulfato oxida rapidamente o Ni(II) a Ni(III) (eq. 13); o ânion peroxomonossulfato e o radical sulfato que são produzidos durante a reação também podem oxidar o Ni(II) (eqs. 15–17).

sendo Ni(II)/Ni(III) = complexos com os ligantes G₄, G₅ ou G₆.

No presente trabalho foi verificada a oxidação dos complexos de Ni(II)/G_n na presença de oxigênio dissolvido com e sem S(IV).

2.2. PARTE EXPERIMENTAL

A seguir estão descritos os procedimentos experimentais realizados no presente estudo. O preparo de algumas soluções está descrito na página 174.

2.2.1. Preparação das soluções dos complexos de Ni(II)/G_n

A solução do complexo de Ni(II)/G₄ foi preparada dissolvendo-se 0,0049 g de tetraglicina (massa molar = 246,2 g mol⁻¹) em 25,0 mL de tampão borato 0,100 mol L⁻¹ (pH = 8,50) e 50 µL de Ni(NO₃)₂ 0,200 mol L⁻¹, de modo a obter uma concentração final de 4,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ de [Ni(II)/G₄], 0,100 mol L⁻¹ de tampão borato e 4,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ (100% excesso em relação ao Ni(II)/G₄) de G₄.

A solução do complexo de Ni(II)/G₅ foi preparada da mesma forma dissolvendo-se 0,0061 g de pentaglicina (massa molar = 303,3 g mol⁻¹) em 25,0 mL de tampão borato 0,100 mol L⁻¹ (o pH dessa solução foi ajustado na faixa de 7,03 a 10,1 pela adição de HClO₄ ou NaOH) e 50 µL de Ni(NO₃)₂ 0,200 mol L⁻¹, de modo a obter uma concentração final de 4,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ de [Ni(II)/G₅], 0,100 mol L⁻¹ de tampão borato e 4,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ (100% excesso em relação ao Ni(II)/G₅) de G₅.

A solução do complexo de Ni(II)/G₆ foi preparada dissolvendo-se 0,0072 g de hexaglicina (massa molar = 360,3 g mol⁻¹) em 25,0 mL de tampão borato 0,100 mol L⁻¹ (pH = 8,50) e 50 µL de Ni(NO₃)₂ 0,200 mol L⁻¹, de modo a obter uma concentração final de 4,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ de [Ni(II)/G₆], 0,100 mol L⁻¹ de tampão borato e 4,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ (100% excesso em relação ao Ni(II)/G₆) de G₆.

2.2.2. Procedimento experimental

Para comparar a reação de autooxidação dos complexos de Ni(II)/G_n na presença de S(IV), foi empregado o acessório de “stopped flow”, Pro-K.2000

Stopped-Flow Mixing Accessory (Applied Photophysics) acoplado a um espectrofotômetro HP 8453 diode-array. O esquema desse acessório está representado na figura 1.

Nesse sistema a seringa A foi preenchida com solução do complexo de Ni(II)/G_n ($4,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ em tampão borato) ou solução aquosa de Ni(NO₃)₂, dependendo da ordem de adição dos reagentes utilizada. A seringa B foi preenchida com a solução aquosa de S(IV) $(2,0-14) \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ ou solução de S(IV) com peptídeo dissolvido em tampão borato. Ambas as seringas têm volumes iguais.

Um dispositivo, que funciona sob pressão de nitrogênio comprimido (3,5 atm), empurra o êmbolo das seringas fazendo com que as soluções se misturem rapidamente no compartimento de mistura para chegar imediatamente até a cela. Quando o fluxo é parado subitamente logo após a mistura, um “trigger” é acionado, dando início à aquisição de dados de absorbância em função do tempo com um computador acoplado em série.

Em alguns procedimentos feitos para se estudar a ordem de adição de reagentes e a influência do oxigênio dissolvido na reação utilizou-se uma célula Hellma de 0,875 cm de caminho óptico com três compartimentos. No primeiro colocou-se 20 µL de uma solução aquosa de Ni(II) $0,020$ mol L⁻¹, no segundo, 10 µL de uma solução de S(IV) na concentração desejada, e no terceiro compartimento, 2,0 mL de solução de peptídeo (G₄, G₅ ou G₆) dissolvido em tampão borato. A mistura dos reagentes foi realizada por agitação manual da célula.

Para acompanhar a reação de autooxidação dos complexos de Ni(II) na ausência de S(IV) (reações mais lentas) foi empregada célula Hellma tipo Tanden-QS de 0,875 cm de caminho óptico, a qual possui dois compartimentos isolados de 1 mL cada. Com a agitação manual as duas soluções de interesse

foram misturadas na proporção 1:1. As concentrações das soluções finais, obtidas após a mistura dos reagentes estão indicadas nas legendas das figuras.

Nos testes foram empregadas soluções saturadas com ar, onde a concentração de oxigênio pode ser considerada como $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ⁽⁸⁾, porém em alguns experimentos borbulhou-se gás nitrogênio nas soluções para a retirada do oxigênio. Os espectros UV-visível foram obtidos utilizando água como branco.

As soluções foram termostatizadas em 25,0°C por pelo menos 10 min antes da mistura dos reagentes.

Para as medições do pH foi usado um pHmetro Metrohm modelo 713 equipado com eletrodo de vidro Metrohm (preenchido com NaCl 3,0 mol L⁻¹).

Figura 1. Diagrama esquemático do acessório de “stopped flow” empregado nos testes.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Estudos da autooxidação dos complexos de Ni(II)/G_n induzida por S(IV)

Dos estudos anteriores realizados pelo nosso grupo de pesquisa⁽⁵⁻⁷⁾ verificou-se que a reação de oxidação de Ni(II) pelo oxigênio é acelerada pelo S(IV) presente, sendo necessária a presença inicial de Ni(III) em nível de traços, o qual reage com SO_3^{2-} gerando o radical $\text{SO}_3^{\bullet-}$ (eq. 11).

A oxidação inicial de Ni(II) em meio aquoso, na ausência de ligante e S(IV) em pH = 8,6 não é favorável. Na presença de tetraglicina (eq. 10) essa reação termodinamicamente desfavorável, ocorre em pequena extensão com formação de Ni(III) (aproximadamente $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$)⁽¹⁾, suficiente para iniciar a reação de autocatálise (eqs. 11–17).

Dessa maneira a ordem de adição dos reagentes é um fator que irá determinar a velocidade da reação, uma vez que as concentrações iniciais de Ni(III) e SO_3^{2-} são fatores determinantes na velocidade e eficiência da formação do complexo de Ni(III).

O espectro UV-visível (figura 2) da solução do complexo de Ni(II)/G₅ em pH 8,50 consiste em uma banda de transferência de carga em aproximadamente 250 nm e uma banda fraca em 410 nm (figura 2 interna). Com o “envelhecimento” da solução de Ni(II)/G₅ são observadas mudanças na absorbância nesses dois comprimentos de onda até atingir um valor constante. Essa mudança relativamente lenta deve-se à transição de $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{G}_5)]^-$ (azul) para $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_3\text{G}_5)]^{2-}$ (amarelo), atribuída à mudança na geometria octaédrica para quadrado planar.⁽³⁾

Figura 2. Espectros sucessivos a cada 1800 s de uma solução do complexo de Ni(II)/G₅ na ausência de S(IV). [Ni(II)/G₅] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 8,50; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. *Figura interna:* Espectro da solução do complexo de Ni(II)/G₅ nas mesmas condições anteriores (recentemente preparada). Branco: água .

O espectro UV-visível da solução do complexo de Ni(II)/G₅ após adição de S(IV) apresenta duas bandas de transferência de carga, uma em 250 nm (figura 3 interna) e outra em aproximadamente 325 nm, atribuída ao complexo de Ni(III)/G₅ (figura 3). Observa-se a rápida formação de Ni(III), com o valor máximo de absorbância obtido após 0,8 s da mistura dos reagentes.

As figuras 4A e 4B mostram os espectros das soluções empregando-se o complexo de Ni(II)/G₄ na ausência e na presença de S(IV), respectivamente. Na figura 4A é possível observar a formação lenta do complexo de Ni(III)/G₄ devido à oxidação pelo oxigênio dissolvido. Com a adição de S(IV) essa oxidação ocorre em poucos segundos (figura 4B).

2.3.2. Efeito da ordem de adição dos reagentes

Foram realizados experimentos variando-se a ordem de adição de reagentes. As concentrações das soluções de trabalho empregadas foram tais que a solução final obtida após a mistura foi a mesma para qualquer ordem de adição.

Três ordens diferentes de adição dos reagentes foram testadas, e estão resumidas na tabela 1. Nas ordens de adição de reagentes I e II as soluções A e B foram misturadas na proporção 1:1.

Na ordem de adição de reagentes II, a solução A foi empregada somente 15 minutos após o preparo (“envelhecimento” da solução), tempo necessário para a mudança de geometria do complexo de Ni(II)/G₅ de octaédrica para quadrado planar.

Figura 3. Espectros sucessivos a cada 0,1 s durante a autoxidação do complexo de Ni(II)/G₅ na presença de S(IV) e oxigênio. [Ni(II)/G₅] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ (solução empregada após uma hora de preparo); [G₅]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 8,50; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. *Figura interna:* Espectro da solução do complexo de Ni(II)/G₅ nas mesmas condições anteriores após 0,5 s de reação com S(IV) e o oxigênio. Branco: água.

Figura 4. (A) Espectros sucessivos a cada 1000 s durante a autoxidação do complexo de Ni(II)/G₄ na ausência de S(IV). **(B)** Espectros sucessivos a cada 0,1 s durante a autoxidação do complexo de Ni(II)/G₄ na presença de S(IV). [Ni(II)/G₄] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ (solução empregada após 20 minutos de preparo); [G₄]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 8,50; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar.

Tabela 1. Ordem de adição e concentração dos reagentes na reação de oxidação de Ni(II)/G₅ na presença de oxigênio e S(IV).

Ordem de adição I	<p>Experimento realizado no “stopped flow”.</p> <p>Solução A: $[\text{Ni(II)}] = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>Solução B recentemente preparada: $[\text{G}_5] = 8,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} + [\text{tampão borato}] = 0,100 \text{ mol L}^{-1} + [\text{S(IV)}] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p>
Ordem de adição II	<p>Experimento realizado no “stopped flow”.</p> <p>Solução A (usada 15 minutos após o preparo): $[\text{G}_5] = 8,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} + [\text{tampão borato}] = 0,100 \text{ mol L}^{-1} + [\text{Ni(II)}] = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>Solução B recentemente preparada: $[\text{S(IV)}] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p>
Ordem de adição III	<p>Experimento realizado na cubeta Hellma de três compartimentos (agitação manual).</p> <p>Solução A (20 μL): $[\text{Ni(II)}] = 0,020 \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>Solução B (10 μL): $[\text{S(IV)}] = 0,010 \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>Solução C (2,0 mL): $[\text{G}_5] = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} + [\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$</p>
Solução final nos três casos	<p>$[\text{Ni(II)/G}_5] = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>$[\text{G}_5]_{\text{exc}} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>$[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>$[\text{S(IV)}] = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$</p>

Assim, tanto na ordem I como na III, a autoxidação do complexo de Ni(II)/G₅ é efetuada com o complexo na forma octaédrica, enquanto na ordem II o complexo de Ni(II)/G₅ encontra-se na forma quadrado planar, já que nas ordens I e III a mistura das soluções foi feita logo após as soluções terem sido preparadas, não havendo tempo suficiente para mudança de geometria do complexo Ni(II)/G₅.

A figura 5 mostra a variação de absorbância com o tempo no comprimento de onda de 325 nm para as três ordens de adição dos reagentes. Como a reação de formação de Ni(III) é muito rápida não foi possível verificar o aumento da absorbância (nos primeiros segundos) até ser atingido o valor máximo da mesma. Só foi possível verificar a decomposição do complexo de Ni(III)/G₅ formado (após 30 s da mistura).

A reação de autoxidação do complexo de Ni(II)/G₅ na ausência de S(IV) (figura 5a) não ocorre em extensão apreciável sendo a variação de absorbância pequena. No entanto, na presença de S(IV) há uma formação rápida do complexo de Ni(III) com posterior decomposição.

Com o objetivo de verificar a possibilidade de formação de algum aducto G₅/SO₃²⁻ que poderia eventualmente alterar a velocidade de formação de Ni(III)/G₅, experimentos foram realizados na ordem de adição I, empregando-se a solução B (pentaglicina + tampão borato + S(IV)) após uma hora de preparo. Após a mistura das soluções A e B, com ou sem “envelhecimento”, as variações de absorbância foram iguais, evidenciando que o possível aducto e o “envelhecimento” das soluções não alteram os resultados.

Figura 5. Variação de absorbância em 325 nm para diferentes ordens de adição de reagentes. $[\text{Ni(II)}/\text{G}_5] = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_5]_{\text{exc}} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 8,79$; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar. Branco: água.

(a) sem S(IV) para as três ordens diferentes de adição;

(b) ordem de adição I com $[\text{S(IV)}] = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$;

(c) ordem de adição II com $[\text{S(IV)}] = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$;

(d) ordem de adição III com $[\text{S(IV)}] = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Para uma melhor comparação entre os resultados obtidos com as ordens de adição I e II, foram feitos estudos usando o acessório de “stopped flow” que permite uma mistura rápida dos reagentes, sendo possível a aquisição de dados em intervalo de tempo de até 0,1 s. A figura 6 mostra um gráfico de variação de absorbância em 325 nm nos primeiros 10 s de reação de formação do complexo de Ni(III)/G₅ para diferentes ordens de adição dos reagentes (I e II). Observa-se que na ausência de S(IV) para a ordem de adição II (figura 6a) não houve formação apreciável de Ni(III) enquanto para a ordem de adição I (figura 6b) o valor da absorbância apresentou uma pequena elevação. Na presença de S(IV), para a ordem de adição II (figura 6d), a reação é mais rápida (tempo para atingir a absorbância máxima é menor) e mais efetiva (valor da absorbância máxima é maior) do que para a ordem de adição I (figura 6c).

Os tempos necessários para que a reação de autooxidação do complexo de Ni(II)/G₅ na presença de S(IV) atinja o máximo de absorbância para as ordens de adição de reagentes I e II são 2,6 s e 1,0 s respectivamente.

Uma possível justificativa para este fato é que na ordem de adição I, no início da reação, não há traços do iniciador Ni(III)/G₅ gerado pela oxidação do complexo de Ni(II)/G₅ pelo oxigênio dissolvido, já que a solução de íon Ni(II) não foi preparada em meio complexante de pentaglicina. Assim, a reação em cadeia do mecanismo já apresentado (eqs. 10–17)^(6,7) é muito lenta, pois o período de indução depende da concentração inicial de Ni(III).

Figura 6. Variação de absorbância em 325 nm devido à formação do complexo de Ni(III)/G₅ para a comparação das ordens de adição dos reagentes (I e II). [Ni(II)/G₅] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 9,05; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água.

(a) ordem de adição II na ausência de S(IV);

(b) ordem de adição I na ausência de S(IV);

(c) ordem de adição I com [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹;

(d) ordem de adição II com [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹.

Nos experimentos com ordem de adição I, a solução A de Ni(II) é misturada à solução B (pentaglicina + S(IV) + tampão), havendo a reação de complexação Ni(II)/G₅ (forma octaédrica) e rápida oxidação parcial com formação de Ni(III)/G₅. Já na ordem de adição II, a solução de Ni(II)/G₅ apresenta o complexo na forma quadrado planar (formado pelo “envelhecimento” da solução), obtendo-se neste caso uma formação maior de Ni(III)/G₅ (figura 6d).

Curvas analíticas foram obtidas variando-se a concentração de S(IV) para as duas ordens de adição (I e II) (figura 7). Os valores de absorbância em 325 nm registrados na figura 7, para cada concentração de S(IV), foram medidos após 2,6 s e 1,0 s para as ordens de adição de reagentes I e II respectivamente.

As duas curvas mostram uma relação linear da absorbância com a concentração de S(IV) na faixa de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 7$ e $R = 0,9985$ para a ordem I e $n = 7$ e $R = 0,9991$ para a ordem II), sendo possível desenvolver um método analítico nos dois casos. Os limites de detecção para S(IV) calculados (definido como 3 vezes o desvio padrão do coeficiente linear dividido pelo coeficiente angular) foram $6,3 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (figura 7A) e $2,2 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (figura 7B) para as ordens de adição I e II respectivamente. Nota-se que a sensibilidade é maior para a reação de autooxidação do complexo de Ni(II) na presença de S(IV) quando a ordem de adição II dos reagentes foi utilizada.

Foi verificado também que os valores de absorbância em 250 nm (no qual Ni(II)/G₅ e Ni(III)/G₅ absorvem) após 1,0 s de reação, para a ordem de adição II, têm uma relação linear com a concentração de S(IV) na faixa de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 7$ e $R = 0,9978$), com o limite de detecção de $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ para S(IV). Para a ordem de adição I, neste comprimento de onda, essa relação não foi linear.

Figura 7. Variação de absorbância em 325 nm em função da concentração de S(IV) na reação de formação do complexo de Ni(III)/G₅ para as ordens de adição de reagentes I e II. [Ni(II)/G₅] = 2,0.10⁻⁴ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = 2,0.10⁻⁴ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 9,05; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água.

(A) Curva analítica para ordem de adição de reagentes I;

(B) Curva analítica para ordem de adição de reagentes II.

Pode-se concluir que é possível desenvolver um método analítico tanto com o complexo de Ni(II)/G₅ de geometria octaédrica (ordem de adição I) como de quadrado planar (ordem de adição II), efetuando-se medições em 325 nm, onde somente o complexo Ni(III)/G₅ absorve.

2.3.3. Efeito da concentração de oxigênio dissolvido

Utilizando-se a ordem de adição de reagentes III (vide tabela 1, pág. 31), foi possível borbulhar gás nitrogênio em todas as soluções dentro de uma célula de três compartimentos, para retirar o gás oxigênio. Estudos foram feitos na ausência e na presença de oxigênio e S(IV) medindo-se a absorbância em 250 e 325 nm como mostra a figura 8. Como a agitação foi manual, o início da reação rápida na presença de S(IV) e oxigênio não pôde ser acompanhado.

Em 250 nm observa-se que o valor de absorbância obtido em função do tempo, na presença de S(IV) e oxigênio (figura 8d), é maior que nas outras condições. O fato de que as variações de absorbância na ausência de oxigênio (figura 8a e b) terem sido praticamente iguais àquela na presença de oxigênio e ausência de S(IV) (figura 8c) comprova que o sinal alto de absorbância em 250 nm, obtido para estas três condições, é referente apenas à absorção do complexo de Ni(II)/G₅ e a mudança de sua geometria octaédrica para quadrado planar. O complexo de Ni(III)/G₅ não é formado na ausência de oxigênio.

Figura 8. Variação de absorbância devido à formação do complexo de Ni(III)/G₅ para ordem de adição III na ausência e na presença de oxigênio e S(IV). [Ni(II)/G₅] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; pH = 8,79; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Branco: água deionizada. **(a)** ausência de oxigênio e S(IV); **(b)** ausência de oxigênio e presença de S(IV); **(c)** presença de oxigênio e ausência de S(IV); **(d)** presença de oxigênio e S(IV).

Em 325 nm (no qual somente o complexo de Ni(III)/G₅ absorve) observa-se que o valor da absorbância na presença de S(IV) e oxigênio (figura 8d) é muito elevado devido à rápida formação do complexo de Ni(III)/G₅ (primeiros 2 s) seguido da decomposição do mesmo. Na ausência de oxigênio (figura 8a e b) a absorbância é próxima de zero evidenciando a pequena formação de Ni(III), provavelmente devido à presença de traços de O₂.

2.3.4. Efeito da concentração de Ni(II) e da porcentagem da pentaglicina mantida em excesso

Para determinar as condições ótimas da reação de formação do complexo de Ni(III)/G₅ foram feitos estudos variando a concentração de Ni(II) e a porcentagem de pentaglicina, mantida em excesso em relação ao Ni(II). Foi empregada a ordem de adição dos reagentes II deixando a solução do complexo de Ni(II)/G₅ “envelhecer” um tempo mínimo de 15 minutos (tempo necessário para mudança de geometria octaédrica para quadrado planar).

Verificou-se que quanto maior a concentração de Ni(II)/G₅ (na solução A) mais rápida é a reação de formação do complexo de Ni(III)/G₅ tanto na presença quanto na ausência de S(IV).

Optou-se por trabalhar com uma solução de Ni(II)/G₅ $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ pelos seguintes motivos:

- a reação de formação de Ni(III)/G₅ pode ser acompanhada empregando-se o espectrofotômetro HP 8453 diode-array que permite medições de absorbância em 325 nm a cada 0,1 s;
- a concentração de oxigênio dissolvido (aproximadamente $2,5 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹)⁽⁸⁾ é da mesma ordem de grandeza da concentração de Ni(II)/G₅;

- a formação de Ni(III)/G₅ devido à oxidação do complexo de Ni(II)/G₅ pelo oxigênio do ar é muito pequena, deste modo pôde-se estudar o efeito da adição de S(IV).

O efeito da concentração da pentaglicina pode ser verificado nos resultados apresentados na figura 9. Observa-se que para uma concentração fixa de Ni(II) $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ e pentaglicina mantida em excesso, na ausência de S(IV) (figura 9a), não houve variação de absorbância. Já na presença de S(IV) houve formação de Ni(III)/G₅, sendo que na presença de 100% (figura 9c) ou 200% (figura 9d) de excesso de G₅, a eficiência dessa reação foi praticamente a mesma e um pouco melhor que sem excesso de G₅ (figura 9b).

Assim, foi escolhido para fazer os próximos estudos 100% em excesso de ligante em relação a concentração de Ni(II), garantindo a complexação completa e evitando a possível precipitação de Ni(OH)₂ em meio de pH 8,5.

2.3.5. Efeito da acidez do meio

Da mesma forma, para verificar as condições ótimas da reação de formação do complexo de Ni(III)/G₅, foram feitos estudos variando-se o valor de pH da solução A para a ordem de adição de reagentes II (vide tabela 1, pág. 31).

A fim de avaliar o tempo mínimo necessário para que ocorra completamente a mudança de geometria do complexo de Ni(II)/G₅ de octaédrica para quadrado planar acompanhou-se as variações de absorbância em 250 nm, característica do complexo de Ni(II)/G₅.

Quando uma solução de Ni(II) é misturada a uma solução de pentaglicina em tampão borato, ocorre primeiramente a formação do complexo de geometria octaédrica, e com o tempo o complexo adquire geometria quadrado planar.

Figura 9. Variação de absorbância em 325 nm devido à formação do complexo de Ni(III)/G₅ para diferentes porcentagens de G₅ em excesso em relação ao Ni(II). [Ni(II)/G₅] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 9,05; $I = 0,1$ mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

(a) sem S(IV) para diferentes porcentagens de excesso de G₅;

(b) 0% de excesso de G₅ e [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹;

(c) 100% de excesso de G₅ e [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹;

(d) 200% de excesso de G₅ e [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹.

A figura 10 mostra a variação da absorbância em 250 nm na ausência de S(IV), sendo possível avaliar o tempo mínimo necessário para que ocorra completamente a mudança de geometria do complexo de Ni(II)/G₅. Observa-se que esta mudança de geometria é mais rápida quanto maior o valor de pH, sendo que a absorbância limite atingida é a mesma independentemente da acidez do meio (pH na faixa de 8,24 a 9,05).

Nos estudos feitos do efeito da acidez do meio, na reação de formação do complexo de Ni(III)/G₅ na presença de S(IV), foram utilizados os tempos mínimos, determinados para cada valor de pH (figura 10), para “envelhecer” as soluções do complexo de Ni(II)/G₅ e garantir que a geometria do complexo seja apenas quadrado planar.

A figura 11A mostra a variação de absorbância em função do tempo de reação da formação do complexo de Ni(III)/G₅ na presença de S(IV) para soluções com valores de pH diferentes. Como a variação de absorbância em 325 nm para a reação na ausência de S(IV) foi muito pequena, independentemente da acidez do meio, não foi representada neste gráfico. A figura 11B mostra a variação de absorbância após 0,8 s de reação em função do pH. Observa-se nos dois gráficos que a absorbância máxima maior foi atingida para a solução de pH 8,50. Além disso, quanto maior o pH, maior é a decomposição do complexo de Ni(III)/G₅ como se pode notar pelo decréscimo da absorbância nas curvas referentes a pH 9,05 e 9,30.

Assim, o pH escolhido para se efetuar os próximos estudos foi 8,50 já que a absorbância máxima é maior e a decomposição do complexo de Ni(III)/G₅ é mais lenta. A solução de Ni(II)/G₅ (solução A) foi preparada aproximadamente uma hora antes de iniciar os experimentos, garantindo a mudança de geometria do complexo.

Figura 10. Variação da absorbância em 250 nm. Estudo do tempo necessário para mudança de geometria do complexo de Ni(II)/G₅ em diferentes valores de pH das soluções na ausência de S(IV). [Ni(II)/G₅] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água. pH: **(a)** 8,24; **(b)** 8,50; **(c)** 8,79; **(d)** 9,05.

Figura 11. (A) Variação de absorbância em 325 nm devido à formação do complexo de Ni(III)/G₅ para diferentes valores de pH. **(B)** Variação de absorbância em 325 nm após 0,8 s de reação em função do pH. [Ni(II)/G₅] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água.

2.3.6. Estudo comparativo da autooxidação dos complexos de Ni(II)/G_n

Com as melhores condições experimentais determinadas nos estudos anteriores e utilizando a ordem de adição de reagentes II foram realizados outros estudos comparativos nas mesmas condições empregando-se os complexos de Ni(II)/G_n na presença de S(IV).

Inicialmente foi necessária a verificação dos tempos mínimos que as soluções de complexos Ni(II)/G₄ e Ni(II)/G₆ deveriam ficar “envelhecendo” para ocorrer a mudança de geometria antes de começar o experimento.

A figura 12 mostra o tempo necessário para a mudança de geometria dos três ligantes (ausência de S(IV)). Observa-se que as soluções dos complexos Ni(II)/G₅ (figura 12b) e Ni(II)/G₆ (figura 12c) possuem a mesma variação de absorbância em 250 nm, sendo necessário um tempo de aproximadamente uma hora até a absorbância atingir um valor constante. Já a mudança de geometria do complexo Ni(II)/G₄ (figura 12a) é um pouco mais rápida, pois a absorbância atinge um valor constante em aproximadamente 20 minutos.

Durante o tempo em que se acompanhou a mudança de geometria desses complexos de Ni(II), verificou-se também a autooxidação dos mesmos pelo oxigênio dissolvido, na ausência de S(IV), pela variação de absorbância em 325 nm em função do tempo. Tanto para os complexos de Ni(II)/G₅ como Ni(II)/G₆ a variação da absorbância foi pequena mesmo após 4 horas, figuras 13a e 13b respectivamente. Enquanto que para o complexo de Ni(II)/G₄ a variação da absorbância foi pequena até os 50 minutos (3000 s) ocorrendo então, uma perceptível oxidação com formação de Ni(III)/G₄ (figura 13c).

Figura 12. Variação de absorbância em 250 nm. Comparação do tempo necessário para mudança de geometria dos complexos de Ni(II)/G_n. [Ni(II)/G_n] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [G_n]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; G_n: **(a)** G₄; **(b)** G₅; **(c)** G₆. [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 8,50; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água.

Figura 13. Variação de absorbância em 325 nm devido à autooxidação de complexos de Ni(II)/ G_n na ausência de S(IV). $[Ni(II)/G_n] = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[G_n]_{exc} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; G_n : (a) G_5 ; (b) G_6 e (c) G_4 . $[tampão \text{ borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$; $pH = 8,50$; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar. Branco: água.

Assim, para realizar o experimento da variação da concentração de S(IV) para o complexo de Ni(II)/G₄ foi necessário um tempo de “envelhecimento” da solução do complexo de 20 minutos (figura 12a). Não foi possível utilizar a mesma solução por mais 30 minutos além do tempo de “envelhecimento” (figura 13c). Evitou-se assim uma concentração inicial, ainda que pequena, de Ni(III)/G₄ não prejudicando a repetibilidade do experimento. Enquanto que para as soluções dos complexos de Ni(II)/G₅ e Ni(II)/G₆ o tempo de “envelhecimento” foi de aproximadamente uma hora (figuras 12b e 12c), podendo utilizá-las por 3 horas.

Com as melhores condições experimentais determinadas, foram feitos os experimentos com os três complexos variando a concentração de S(IV). A figura 14A mostra as curvas da variação de absorbância em 325 nm na reação de autooxidação do complexo de Ni(II)/G₄ para diferentes concentrações de S(IV). Observa-se que quanto maior a concentração de S(IV), maior a absorbância máxima atingida. O tempo para se atingir a absorbância máxima é de 1,0 s, após esse tempo a reação de decomposição do complexo de Ni(III)/G₄ prevalece, diminuindo o valor da absorbância.

A figura 14B mostra a relação linear da absorbância após 1,0 s de reação pela concentração de S(IV) na faixa de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n=7$ e $R = 0,9992$), sendo possível desenvolver um método analítico. O limite de detecção calculado é de $2,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de S(IV).

Figura 14. (A) Variação de absorbância em 325 nm devido à formação do complexo de Ni(III)/G_4 para diferentes $[S(\text{IV})]$. **(B)** Variação de absorbância em 325 nm após 1,0 s de reação em função da $[S(\text{IV})]$. $[\text{Ni(II)/G}_4] = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (solução empregada após 20 min de preparo); $[\text{G}_4]_{\text{exc}} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,050 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 8,50; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada. $[S(\text{IV})] =$ (a) zero; (b) $1,0 \cdot 10^{-5}$; (c) $2,0 \cdot 10^{-5}$; (d) $3,0 \cdot 10^{-5}$; (e) $4,0 \cdot 10^{-5}$; (f) $5,0 \cdot 10^{-5}$; (g) $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A figura 15A mostra as curvas da variação de absorbância em 325 nm na reação do complexo de Ni(II)/G₅ para diferentes concentrações de S(IV). Igualmente, observa-se que quanto maior a concentração de S(IV), maior a absorbância máxima atingida, sendo o tempo necessário para atingi-la de 0,8 s. Em um tempo mais longo, há decomposição do complexo de Ni(III)/G₅.

A figura 15B mostra a relação linear da absorbância após 0,8 s de reação pela concentração de S(IV) na faixa de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n=7$ e $R = 0,9995$), também sendo possível desenvolver um método analítico. O limite de detecção calculado é de $1,6 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de S(IV).

A figura 16A mostra as curvas da variação de absorbância em 325 nm na reação do complexo de Ni(II)/G₆ para diferentes concentrações de S(IV). O tempo de “envelhecimento” da solução do complexo de Ni(II)/G₆ também foi de aproximadamente uma hora antes do início dos experimentos. Assim como para os outros dois complexos, quanto maior a concentração de S(IV), maior a absorbância máxima atingida, sendo que o tempo necessário para atingi-la é de 0,6 s. Após esse tempo o valor da absorbância diminui.

A figura 16B mostra a relação linear da absorbância após 0,6 s de reação pela concentração de S(IV) na faixa de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n=7$ e $R = 0,9999$), também sendo possível desenvolver um método analítico. O limite de detecção calculado é de $8,9 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de S(IV).

Figura 15. (A) Variação de absorbância em 325 nm devido à formação do complexo de Ni(III)/G₅ para diferentes [S(IV)]. **(B)** Variação de absorbância em 325 nm após 0,8 s de reação em função da [S(IV)]. [Ni(II)/G₅] = $2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (solução empregada após uma hora de preparo); [G₅]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,050 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 8,50; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

[S(IV)] = (a) zero; (b) $1,0 \cdot 10^{-5}$; (c) $2,0 \cdot 10^{-5}$; (d) $3,0 \cdot 10^{-5}$; (e) $4,0 \cdot 10^{-5}$; (f) $5,0 \cdot 10^{-5}$; (g) $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 16. (A) Variação de absorbância em 325 nm devido à formação do complexo de Ni(III)/G₆ para diferentes [S(IV)]. **(B)** Variação de absorbância em 325 nm após 0,6 s de reação em função da [S(IV)]. [Ni(II)/G₆] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹ (solução empregada após uma hora de preparo); [G₆]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 8,50; *I* = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada. [S(IV)] = (a) zero; (b) $1,0 \cdot 10^{-5}$; (c) $2,0 \cdot 10^{-5}$; (d) $3,0 \cdot 10^{-5}$; (e) $4,0 \cdot 10^{-5}$; (f) $5,0 \cdot 10^{-5}$; (g) $7,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹.

Comparando-se a reação de autooxidação dos três complexos apresentados na presença de S(IV), observa-se que a velocidade da reação aumenta com a concentração de S(IV) nos três casos, sendo que o período de indução, evidência de um processo autocatalítico, diminui com o aumento da concentração de S(IV).

Observa-se também que na presença de S(IV) a reação de formação do complexo de Ni(III)/G_n atinge uma absorbância máxima nos tempos de 1,0 s, 0,8 s e 0,6 s para as soluções de Ni(II)/G₄, Ni(II)/G₅ e Ni(II)/G₆, respectivamente.

Os valores máximos da absorbância limite para a formação dos complexos de Ni(III) estão na seguinte ordem: Ni(III)/G₄ (figura 14A) > Ni(III)/G₆ (figura 16A) > Ni(III)/G₅ (figura 15A) .

A velocidade de decomposição dos complexos de Ni(III), nas condições empregadas obedece à seguinte ordem: Ni(III)/G₄ (figura 14A) < Ni(III)/G₅ (figura 15A) < Ni(III)/G₆ (figura 16A).

2.3.7. Cálculo das constantes de velocidade observadas para a autooxidação dos complexos de Ni(II)/G_n induzida por S(IV)

As figuras 11 e 17 mostram o efeito da acidez do meio na formação e decomposição de Ni(III)/G₅. O valor da absorbância máxima foi observado em meio de pH = 8,50. A velocidade da reação de decomposição do complexo de Ni(III)/G₅ é maior com o aumento do pH. Um resultado similar foi observado para os complexos de Ni(III)/G₄ e Ni(III)/G₆.

Figura 17. (A) Variação de absorbância em 325 nm devido à formação do complexo de Ni(III)/G₅ para diferentes valores de pH. **(B)** k_{obs} para a reação de autooxidação do complexo de Ni(II)/G₅ na presença de S(IV) em função do pH. [Ni(II)/G₅] = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

A constante de velocidade observada de formação de Ni(III)/G₅ foi obtida pela inclinação inicial da reta ($\ln A_t - \ln A_i$) vs. tempo (negligenciando o período de indução e os dados de absorbância constante no patamar).

Infelizmente o programa do acessório Pro-K.2000 Stopped-Flow Mixing acoplado em série ao espectrofotômetro HP 8453 diode-array permite aquisição de dados com intervalos de tempo de 0,1 s, tal que após o período de indução apenas três ou quatro pontos foram empregados para obter o valor da inclinação inicial da reta de ($\ln A_t - \ln A_i$) vs. tempo. Esta parte da curva refere-se a máxima velocidade de formação de Ni(III)/G₅.^(9,10)

Os valores de k_{obs} (obtidos de experimentos realizados em triplicata) versus pH, representados na figura 17B, estão sujeitos a algum erro devido à interferência do período de indução (evidência de um processo autocatalítico) e à posterior decomposição de complexo de Ni(III)/G₅, especialmente em meio de pH maiores. Os valores de k_{obs} aumentam com o aumento do pH no intervalo de 7,5 a 9,0, devido ao grau de protonação diferente dos complexos de níquel, que depende da acidez do meio. $[Ni^{II}(H_{-3}G_5)]^{2-}$ é provavelmente a principal espécie presente em solução em pH 8,5 a 9,0.

Estudos comparativos foram realizados em pH = 8,5 (já que a absorbância máxima é maior e a decomposição posterior do complexo de Ni(III)/G₅ é mais lenta) empregando-se as soluções de complexos de Ni(II)/G_n na presença de oxigênio e variando a concentração de S(IV).

Para uma melhor comparação, os resultados da variação da absorbância em 325 nm para as reações de autooxidação dos complexos de Ni(II)/G₄, Ni(II)/G₅ e Ni(II)/G₆ foram representados novamente nas figuras 18A, 18B e 18C, respectivamente, para diferentes concentrações de S(IV). Em todas as reações a

velocidade aumenta com a concentração de S(IV), sendo que o período de indução diminui com o aumento da concentração de S(IV).

Figura 18. Variação de absorbância em 325 nm devido à formação do complexo de Ni(III)/ G_n para diferentes [S(IV)], sendo G_n = **(A)** G_4 ; **(B)** G_5 ; **(C)** G_6 . $[Ni(II)/G_n] = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[G_n]_{\text{exc}} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,050 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 8,50; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada. [S(IV)] = **(a)** zero; **(b)** $1,0 \cdot 10^{-5}$; **(c)** $2,0 \cdot 10^{-5}$; **(d)** $3,0 \cdot 10^{-5}$; **(e)** $4,0 \cdot 10^{-5}$; **(f)** $5,0 \cdot 10^{-5}$; **(g)** $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

As constantes de velocidade observadas (k_{obs}) para as reações de autooxidação dos complexos de Ni(II)/G_n na presença de S(IV) estão representadas na figura 19. A velocidade da reação aumenta linearmente com a concentração de S(IV) para o complexo de Ni(II)/G₄ (figura 19a). Para os complexos de Ni(II)/G₅ (figura 19b) e Ni(II)/G₆ (figura 19c) a velocidade da reação aumenta atingindo um valor constante, o que evidencia uma etapa inicial com possível formação de complexos mistos de Ni(II)/(III)/peptídeo e S(IV).

Para o complexo de Ni(II)/G₄, ocorre claramente um intercepto no eixo da ordenada (figura 19a), que pode ser atribuído a uma reação paralela.⁽⁷⁾ A dependência de S(IV) só pôde ser estudada em uma faixa limitada de concentração onde $[\text{S(IV)}] \cong (0,05 - 0,35) \times [\text{Ni(II)}]$ (em concentrações mais altas de S(IV) ocorre a redução do Ni(III) formado). Experimentos em concentrações de S(IV) mais baixas que $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ poderiam definir melhor o intercepto observado na figura 19a. No entanto, as mudanças de absorbância, usando concentrações mais baixas de S(IV), não foram significativas, apresentando incertezas altas. Devido à insuficiência de informação experimental detalhada nessas condições, o tratamento dos dados cinéticos conduziu a uma descrição semiquantitativa.

2.3.8. Considerações sobre o mecanismo da reação de oxidação de Ni(II)/G_n na presença de O₂ e S(IV)

Como já foi mostrado anteriormente a autooxidação do complexo de Ni(II)/G_n induzida por S(IV) é um processo autocatalítico envolvendo uma cadeia de reações redox com formação de radicais livres.

Figura 19. k_{obs} em função da $[\text{S(IV)}]$ para a autoxidação de $\text{Ni(II)}/\text{G}_n$ induzida por S(IV) , sendo $\text{G}_n =$ **(a)** G_4 ; **(b)** G_5 ; **(c)** G_6 . $[\text{Ni(II)}/\text{G}_n] = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_n]_{\text{exc}} = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 8,50$; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

O esquema 1 descreve as principais reações envolvendo o ciclo redox para a oxidação de complexos de Ni(II)/G_n promovidas por fortes agentes oxidantes (SO₄^{•-}, SO₅^{•-}, e HSO₅⁻) gerados na reação.

Na autocatálise é necessária pequena concentração de Ni(III)/G_n para iniciar o processo (eq. 23). Quantidades pequenas do íon metálico no estado de oxidação 3+ (Ni(III)/G_n) são produzidas pela oxidação direta de Ni(II)/G_n pelo oxigênio dissolvido (eq. 18).^(1,7) O processo autocatalítico inicia-se com a reação entre Ni(III)/G_n e SO₃²⁻ (eq. 23) com formação de SO₃^{•-}, que reage com O₂ produzindo SO₅^{•-} (eq. 24). A oxidação de Ni(II)/G_n ocorre com consumo simultâneo de O₂ e oxidação de S(IV). O balanço das concentrações de S(IV) e O₂ controla o processo cíclico redox.^(9,11-24)

A formação de um complexo de ligante misto (eqs. 19 e 20), antes da etapa de oxidação (eq. 21), pode envolver um lento processo de descomplexação do ligante G_n coordenado ao SO₃²⁻ e O₂ para Ni(II)/G_n. Uma transferência eletrônica interna pode produzir [Ni^{III}(H₂G_n)SO₃]²⁻ (eq. 21). Em uma etapa posterior, Ni(III) é reduzido pelo SO₃²⁻ para gerar [Ni^{II}(H₃G_n)]²⁻ e SO₃^{•-} (eq. 23).

Dois estudos na literatura sobre complexos peptídicos de Ni(II)/Ni(III) são relevantes nesta discussão. Lepentsiotis e colaboradores⁽²⁴⁾ propuseram a formação de Ni^{III}L(SO₄^{•-}) (L=lisilglicilhistidina carboxiamida), onde o radical SO₄^{•-} pode se coordenar ao complexo de Ni^{III}L. Green e colaboradores⁽²⁵⁾ consideraram a formação de espécies dímeras reativas de Ni(II) e complexos de Ni(III)Gly₂HisGly na autodecomposição oxidativa do complexo de Ni(III).

Esquema 1. Mecanismo da reação de oxidação de Ni(II)/G_n na presença de O₂ e S(IV) ^(7,26)

Iniciação

Autocatálise

onde H₋₁G_n²⁻, H₋₂G_n³⁻ e H₋₃G_n⁴⁻ referem-se aos ligantes com 1, 2 e 3 nitrogênios peptídicos desprotonados coordenados ao íon Ni(II).

2.4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A reação de formação do complexo de Ni(III)/G₅ na presença de S(IV) e oxigênio é mais rápida e mais efetiva efetuando a ordem de adição de reagentes II (solução A: Ni(II)/G₅ + G₅ em excesso + tampão borato; solução B: S(IV)). O tempo para atingir a absorbância máxima para a ordem de adição II é de aproximadamente 1,0 s enquanto para a ordem de adição I (solução A: Ni(NO₃)₂; solução B: G₅ + tampão borato + S(IV)) é de 2,6 s. Isso acontece porque no início da reação na ordem de adição I, não há traços do iniciador Ni(III)/G₅ gerado pela oxidação do complexo de Ni(II)/G₅ pelo oxigênio dissolvido, já que a solução de íon Ni(II) não foi preparada em meio complexante contendo pentaglicina.

O complexo de Ni(II)/G₅ de geometria quadrado planar reage mais rápida e eficientemente do que o complexo de Ni(II)/G₅ de geometria octaédrica, havendo a formação do mesmo produto Ni(III)/G₅ (figura 6).

Com experimentos feitos sobre reação de autooxidação dos complexos de Ni(II)/G_n na ausência e na presença de oxigênio comprova-se que em 250 nm é possível verificar a variação da absorbância do complexo de Ni(II) referente à mudança de geometria de octaédrica para quadrado planar. Nesse comprimento de onda o complexo de Ni(III)/G_n também absorve. Para finalidades analíticas e estudos cinéticos, a formação do complexo de Ni(III) pode ser monitorada melhor a partir da absorbância em 325 nm, onde somente Ni(III)/G_n absorve.

A concentração de oxigênio é muito importante na reação de oxidação dos complexos de Ni(II)/G_n na presença de S(IV). Na ausência de oxigênio o complexo de Ni(III)/G₅ praticamente não é formado (figura 8a e b). Já na presença de oxigênio e S(IV) (figura 8d) ocorre uma rápida formação do complexo de Ni(III)/G₅ (primeiros 2 s) seguida de decomposição do mesmo.

As velocidades de decomposição dos complexos de Ni(III)/G_n obedecem à seguinte ordem: Ni(III)/G₄ < Ni(III)/G₅ < Ni(III)/G₆ (figura 18) e depende da acidez do meio (figura 17).

A constante de velocidade observada na formação de Ni(III) aumenta linearmente com a concentração de S(IV) para a reação de autooxidação do complexo de Ni(II)/G₄, enquanto que para Ni(II)/G₅ e Ni(II)/G₆ os valores de k_{obs} aumentam atingindo valores constantes (figura 19), evidenciando a possível formação de complexos mistos (eqs. 19–21).

A absorbância máxima devido à reação de autooxidação do complexo de Ni(II)/G_n é linear com a concentração inicial de S(IV). As melhores condições experimentais para o desenvolvimento de um método analítico são obtidas pela mistura da solução A: Ni(II)/G_n 4,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ (para a mudança de geometria do complexo, o tempo de “envelhecimento” da solução é de uma hora para Ni(II)/G₅ e Ni(II)/G₆ e 20 minutos para Ni(II)/G₄), G_n 4,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ (100% em excesso do ligante utilizado para complexar o Ni(II)) em solução de tampão borato de pH 8,50 com a solução B: S(IV) variando-se a concentração na faixa de (2,0–14).10⁻⁵ mol L⁻¹ (recentemente preparada).

Um método analítico baseado na linearidade da concentração de Ni(III)/G_n com a concentração de S(IV) poderia ser desenvolvido, sendo os limites de detecção para S(IV) iguais a 2,0.10⁻⁶ mol L⁻¹, 1,6.10⁻⁶ mol L⁻¹ e 8,9.10⁻⁷ mol L⁻¹, utilizando as soluções de Ni(III)/G₄, Ni(III)/G₅ e Ni(III)/G₆, respectivamente.

O objetivo do presente trabalho foi focalizado no estudo cinético, assim optou-se por não investigar mais profundamente o desenvolvimento de um método analítico alternativo baseado em medidas de absorbância referente à concentração de Ni(III). Até porque o nosso grupo de pesquisa já propôs três métodos

(espectrofotométrico,^(6,27) eletroquímico⁽²⁸⁾ e quimiluminescente⁽²⁹⁾), todos baseados na autoxidação do complexo de M(II)/G₄ (M(II) = Cu(II) e Ni(II)).

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bossu, F. P.; Paniago, E. B.; Margerum, D. W.; Kirksey Jr., S. T.; Kurtz, J. L.; Trivalent Nickel Catalysis of the Autoxidation of Ni(II) Tetraglycine. *Inorg. Chem.* **1978**, 17, 1034–1042.
2. Margerum, D. W.; Duckes, G. R.; *Metal Ions in Biological Systems*, Vol. 1, Chapter 5, Helmut Siegel (Marcel Dekker Inc.), New York, **1974**, p. 157.
3. Martin, R. B.; in Sigel, H. (Ed.); *Metal Ions in Biological Systems*, Vol. 23, Marcel Dekker Inc., New York, **1987**, p. 123.
4. Wotman, S. J.; Alward, M. R.; Weber, S. G.; Rotating Ring-Disk Electrode Study of Copper(II) Complexes of the Model Peptides Triglycine, Tetraglycine and Pentaglycine. *Anal. Chem.* **1995**, 67, 541–551.
5. Pezza, H. R.; Bonifácio, R. L.; Coichev, N.; oxidation of Ni(II)/cyclam and Tetraglycine complexes by Dissolved Oxygen in the Presence of S(IV). Synergistic Effects on Mn(III) and Co(III). *J. Chem. Res-M.* **1999**, 1520–1541.
6. Tese de Doutorado de Maria Vespertina Alipázaga Sebastián. Título: Estudo da Autoxidação dos complexos de Cu(II), Ni(II) e Co(II) / Tetraglicina Induzida por S(IV), Universidade de São Paulo - Instituto de Química, **2003**.
7. Alipázaga, M. V.; Lowinsohn, D.; Bertotti, M.; Coichev, N.; Sulfite induced autoxidation of Ni(II) and Co(II) tetraglycine complexes. Spectrophotometric and rotating ring-disc voltammetric studies. *Dalton Trans.* **2004**, 267–272.

8. Sasso, M. G.; Quina, F.H.; Bechara, E. J. H.; Ruthenium(II) Tris(Bipyridyl) Ion as a Luminescent Probe for Oxygen-Uptake. *Anal. Biochem.*, **1986**, 156, 239–243.
9. Coichev, N.; Van Eldik, R.; Kinetics and Mechanism of the Sulfite-Induced Autoxidation of Cobalt(II) in Aqueous Azide Medium. *Inorg. Chem.* **1991**, 30, 2375–2380.
10. Atkins, P. W. *Physical Chemistry*; Oxford Press, 3rd ed.; Oxford, **1986**.
11. Coichev, N.; van Eldik, R. A; Mechanistic Study of the Sulfite-Induced Autoxidation of Mn(II) in Aqueous Azide Medium. *Inorg. Chim. Acta* **1991**, 185, 69–73.
12. Moya, H. D.; Neves, E. A.; Coichev, N.; A Further Demonstration of Sulfite-Induced Redox Cycling of Metal Ions Initialed by Shaking. *J. Chem. Educ.* **1999**, 76, 930–932.
13. Pezza, H. R.; Coichev, N.; Kinetics and Mechanism of the Induced Redox Reaction of $[\text{Ni}(\text{cyclam})]^{2+}$ promoted by SO_5^{2-} center dot. *J. Coord. Chem.* **1999**, 47, 107–119.
14. Reddy, K. B.; Coichev, N.; van Eldik, R.; Redox Cycling of Iron in Atmospheric Water - The Important Role of Sulfite. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 481–483.
15. Reddy, K. B.; van Eldik, R.; Kinetics and Mechanism of the Sulfite-Induced Autoxidation of Fe(II) in Acidic Aqueous-Solution. *Atmos. Environ.* **1992**, 26A, 661–665.
16. Anast, J. M.; Margerum, D. W.; Trivalent Copper Catalysis of the Autoxidation of Sulfite. Kinetics and Mechanism of the Copper(III/II) Tetraglycine Reactions with Sulfite. *Inorg.Chem.* **1981**, 20, 2319–2326.

17. Behra, P.; Sigg, L.; Evidence for Redox Cycling of Iron in Atmospheric Water Droplets. *Nature* **1990**, 344, 419–421.
18. van Eldik, R.; Coichev, N.; Bal Reddy, K.; Gerhard, A.; Metal Ion Catalyzed Autoxidation of Sulfur(IV)-Oxides: Redox Cycling of Metal Ions Induced by Sulfite. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1992**, 96, 478–481.
19. Berglund, J.; Fronaeus, S.; Elding, L. I.; Kinetics and Mechanism for Manganese-Catalyzed Oxidation of Sulfur(IV) by Oxygen in Aqueous-Solution. *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 4527–4538.
20. Brandt, C.; Fábrián, I.; van Eldik, R.; Kinetics and Mechanism of the Iron(III)-Catalyzed Autoxidation of Sulfur (IV) Oxides in Aqueous Solution. Evidence for the Redox Cycling of Iron in the Presence of Oxygen and Modeling of the Overall Reaction Mechanism. *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 687–701.
21. Coichev, N.; van Eldik, R.; Franz, D. A.; A Fascinating Demonstration of Sulfite-Induced Redox Cycling of Metal-Ions Initiated by Shaking. *J. Chem. Educ.* **1994**, 71, 767–769.
22. Connick, R. E.; Zhang, Y. X.; Kinetics and Mechanism of the Oxidation of HSO_3^- by O_2 . The Manganese(II)-Catalyzed Reaction. *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 4613–4621.
23. Fronaeus, S.; Berglund, J.; Elding, L.; Iron-Manganese Redox Processes and Synergism in the Mechanism for Manganese-Catalyzed Autoxidation of Hydrogen Sulfite. *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 4939–4944.
24. Lepentsiotis, V.; Domagala, J.; Grgic, I.; van Eldik, R.; Muller, J.G.; Burrows, C.J.; Mechanistic information on the redox cycling of nickel(II/III) complexes in the presence of sulfur oxides and oxygen. Correlation with DNA damage experiments. *Inorg. Chem.* **1999**, 38, 3500–3505.

25. Green, B.J.; Tesfai, T.M.; Xie, Y.; Margerum, D.W.; Oxidative self-decomposition of the nickel(III) complex of glycylglycyl-L-histidylglycine. *Inorg. Chem.* **2004**, 43, 1463–1471.
26. Carvalho, L. B.; Alipázaga, M. V.; Lowinsohn, D; Bertotti, M.; Coichev, N.; Autoxidation of Ni(II) and Co(II) tetra, penta and hexaglycine complexes accelerated by oxy sulfur radicals. *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, 17, 1400–1408.
27. Alipázaga, M. V.; Coichev, N.; Synergistic Effect of Some Transition Metal Ions on the Sulfite Induced Autoxidation of Cu(II)/Tetraglycine Complex. Analytical Applications *Anal. Lett.* **2003**, 36, 2255–2275.
28. Lowinsohn, D.; Alipázaga, M.V.; Coichev, N.; Bertotti, M.; Indirect FIA amperometric determination of S(IV) based on the autocatalytic generation of Cu(III) complex. *Microchimica Acta* **2004**, 144, 57–62.
29. Bonifácio, L. R.; Coichev, N.; Chemiluminescent Determination of Sulfite Traces Based on the Induced Oxidation of Ni(II)/tetraglycine Complex by Oxygen in the Presence of Luminol: Mechanistic Considerations. *Anal. Chim. Acta* **2004**, 517, 125–130.

**Capítulo 3: Autoxidação de complexos de
Co(II)/G_n induzida por S(IV).**

3.1. INTRODUÇÃO

Trabalhos anteriores sobre as reações do complexo de Co(II)/G₄ com oxigênio na ausência e na presença de S(IV) foram realizados pelo nosso grupo de pesquisa.^(1,2) Outros estudos da reação de Co(II), complexado a dipeptídeos, com oxigênio, mostraram a oxidação irreversível do íon metálico a Co(III).⁽³⁾

Neste trabalho foi verificada a oxidação espontânea rápida dos complexos de Co(II)/G_n pelo oxigênio dissolvido na ausência e na presença de S(IV). O espectro da solução resultante, contendo complexos de Co(III)/G_n, apresenta um máximo de absorbância em 265 nm.

3.2. PARTE EXPERIMENTAL

A seguir estão descritos os procedimentos experimentais realizados no presente estudo. O preparo de algumas soluções está descrito na página 174.

3.2.1. Preparação das soluções dos complexos de Co(II)/G_n

Uma vez que os complexos de Co(II)/G_n são oxidados pelo oxigênio dissolvido⁽⁴⁾, foram preparadas soluções imediatamente antes do seu uso. A solução do complexo de Co(II)/G₄ foi preparada dissolvendo-se 0,0054 g de tetraglicina em 100 mL de tampão borato 0,100 mol L⁻¹ (pH = 9,05) e 20,8 µL de Co(ClO₄)₂ 0,965 mol L⁻¹, de modo a obter uma concentração final de 2,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ de Co(II)/G₄, 0,100 mol L⁻¹ de tampão borato e 0,20.10⁻⁴ mol L⁻¹ (10% excesso em relação ao Co(II)/G₄) de tetraglicina.

A solução do complexo de Co(II)/G₅ foi preparada da mesma forma dissolvendo-se 0,0067 g de pentaglicina em 100 mL de tampão borato 0,100 mol L⁻¹ (o pH dessa solução foi ajustado na faixa de 7,51 a 9,30 pela adição de HClO₄ ou NaOH) e 20,8 µL de Co(ClO₄)₂ 0,965 mol L⁻¹, de modo a obter uma concentração final de 2,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ de Co(II)/G₅, 0,100 mol L⁻¹ de tampão borato e 0,20.10⁻⁴ mol L⁻¹ (10% excesso em relação ao Co(II)/G₅) de pentaglicina.

A solução do complexo de Co(II)/G₆ foi preparada dissolvendo-se 0,0079 g de hexaglicina em 100 mL de tampão borato 0,100 mol L⁻¹ (pH = 9,05) e 20,8 µL de Co(ClO₄)₂ 0,965 mol L⁻¹, de modo a obter uma concentração final de 2,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ de Co(II)/G₆, 0,100 mol L⁻¹ de tampão borato e 0,20.10⁻⁴ mol L⁻¹ (10% excesso em relação ao Co(II)/G₆) de hexaglicina.

3.2.2. Procedimento experimental

Para comparar o comportamento dos complexos de Co(II)/G_n na presença de S(IV), foi empregado o acessório de “stopped flow”, Pro-K.2000 Stopped-Flow Mixing Accessory (Applied Photophysics) acoplado a um espectrofotômetro HP 8453 diode-array para o complexo de Co(II)/G₄.

O esquema do acessório de “stopped flow” empregado está representado na figura 1 do capítulo 2 (pág. 25). Nesse sistema as seringas A e B foram preenchidas com as soluções de Co(II)/G₄ (2,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão borato) e S(IV) (2,0–10).10⁻⁵ mol L⁻¹, respectivamente.

Para os complexos de Co(II)/G₅ e G₆ (reações muito mais lentas em relação a autooxidação do complexo de Co(II)/G₄ na presença de S(IV)), a variação dos espectros foi monitorada utilizando um espectrofotômetro HP 8452 diode-array, empregando-se celas Hellma tipo Tanden–QS de 0,875 cm de caminho óptico, as

quais possuem dois compartimentos isolados de 1 mL cada. Antes das medições, as soluções dos complexos de Co(II)/G_n foram misturadas com soluções recém preparadas de S(IV) (2,0–10).10⁻⁵ mol L⁻¹ na proporção de 1:1, por agitação manual. As legendas das figuras apresentam as concentrações da solução final após a mistura.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Estudos da autooxidação dos complexos de Co(II)/G_n induzida por S(IV)

A reação de autooxidação dos complexos de Co(II)/G_n induzida por S(IV) também foi estudada como descrito no capítulo anterior, para os complexos de Ni(II)/G_n.

A oxidação induzida por S(IV) de Co(II)/G₅ a Co(III)/G₅ é significativamente mais lenta que a de Ni(II)/G₅ a Ni(III)/G₅. A figura 1 mostra os espectros sucessivos UV-visível após a mistura das soluções de Co(II)/G₅ com a de S(IV) 5,0.10⁻⁵ mol L⁻¹ em presença de oxigênio dissolvido. Observa-se o aparecimento de uma banda intensa de absorção em 265 nm e 210 nm, como resultado da formação do complexo de Co(III)/G₅. A solução que inicialmente era rosa (complexo de Co(II)/G₅) ficou alaranjada (complexo de Co(III)/G₅).

Nas condições experimentais da figura 1, o complexo de Co(III) formado é muito estável, pois a absorbância limite permaneceu constante durante 20 h (tempo máximo em que foi monitorado o espectro dessa solução).

Figura 1. Espectros sucessivos a cada 2 minutos durante a autoxidação do complexo de Co(II)/G₅ na presença de S(IV). [Co(II)/G₅] = $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = $0,1 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 9,05; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. *Figura interna:* Espectros da solução do complexo de Co(II)/G₅ nas mesmas condições anteriores antes da adição de S(IV) e após 20 min de reação com S(IV) e o oxigênio. Branco: água deionizada.

A oxidação espontânea do complexo de Co(II)/G₅ pelo oxigênio dissolvido (na ausência de S(IV)), apesar de ser lenta, também é observada pela variação de absorbância em 265 nm. Assim, foram feitos estudos do complexo de Co(II)/G₅ variando-se condições experimentais como concentração de Co(II), porcentagem de ligante em excesso, pH da solução final e ordem de adição de reagentes para minimizar o efeito da oxidação espontânea do complexo de Co(II) pelo O₂ e, dessa maneira, efetuar os experimentos na presença de S(IV), sendo esse o interesse do presente estudo.

3.3.2. Efeito da variação da concentração de Co(II) e da porcentagem da pentaglicina em excesso

A fim de escolher a melhor concentração de Co(II) e do ligante, foram feitos testes acompanhando-se a formação do complexo de Co(III)/G₅ na ausência e na presença de S(IV).

Inicialmente os testes foram realizados em pH 9,05 (tampão borato), estando a pentaglicina 100% em excesso com relação ao complexo de Co(II)/G₅ (solução recém preparada).

Ao misturar soluções saturadas de ar do complexo de Co(II)/G₅ (4,0–6,0).10⁻⁴ mol L⁻¹ com solução de S(IV), observou-se uma formação rápida de Co(III)/G₅, havendo também a formação de um sólido marrom, provavelmente Co(OH)₃ ($K_{ps} = 1,6 \cdot 10^{-44} \text{ mol}^4 \text{ L}^{-4}$ a 25°C).⁽⁵⁾

Optou-se por realizar os experimentos empregando solução de Co(II)/G₅ 2,0.10⁻⁴ mol L⁻¹ (antes da mistura) em meio de tampão borato, pois não houve precipitação apesar da reação de autooxidação do complexo ser mais lenta.

A figura 2 apresenta os resultados obtidos variando-se a porcentagem de G_5 em relação à concentração de $Co(II)$. Na ausência de $S(IV)$ (figura 2A), a formação de $Co(III)/G_5$, devido à oxidação do íon metálico com o oxigênio dissolvido, aumenta em meio contendo excesso elevado de G_5 (100–200%). Na ausência e em 10% de excesso de G_5 essa oxidação é menos efetiva, sendo, portanto, mais favoráveis os estudos nessas condições, uma vez que o objetivo do presente trabalho é avaliar o efeito de $S(IV)$ na oxidação dos complexos de $Co(II)/G_n$.

Na presença de $S(IV)$ (figura 2B) também se verifica que quanto maior a porcentagem de excesso de ligante, mais rápida e mais eficiente é a reação de formação do complexo de $Co(III)/G_5$.

Para se analisar melhor esses dados, fez-se a diferença entre os valores da absorbância obtidos após 1200 s na presença e na ausência de $S(IV)$ (figura 2C). Nota-se que a diferença é maior, quando a porcentagem em excesso de G_5 foi de 10%, sendo que a variação de absorbância com o tempo na ausência de $S(IV)$ foi pequena (figura 2Ab), indicando uma oxidação pequena pelo oxigênio dissolvido. Assim, foi escolhido para fazer os próximos estudos, o uso de 10% em excesso de ligante.

Figura 2. Variação de absorbância em 265 nm para diferentes porcentagens de G₅ em excesso em relação ao Co(II) na reação de formação do complexo de Co(III)/G₅. **(A)** ausência de S(IV); **(B)** presença de S(IV) $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; **(C)** Diferença entre a absorbância após 1200 s na presença e na ausência de S(IV). $[\text{Co(II)/G}_5] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 9,05$; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

(a) 0% de excesso de G₅; **(b)** 10% de excesso de G₅; **(c)** 100% de excesso de G₅; **(d)** 200% de excesso de G₅.

3.3.3. Efeito da acidez do meio

Para obter as melhores condições de acidez do meio foram realizados experimentos em $[\text{Co(II)}/\text{G}_5] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 10% em excesso de G_5 .

A figura 3 mostra que tanto na ausência (figura 3A) quanto na presença de S(IV) (figura 3B) a formação do complexo de $\text{Co(III)}/\text{G}_5$ aumenta com o pH do meio. Para soluções de pH 7,51 e 7,92 os valores de absorvância foram muito baixos, não sendo apresentados na figura 3A.

Novamente, a fim de analisar melhor os dados obtidos fez-se a diferença entre os valores da absorvância obtidos após 1800 s de reação na presença e na ausência de S(IV) (figura 3C). Nota-se que a diferença foi maior para uma solução de pH igual a 9,05. Assim, os próximos estudos foram realizados com soluções de pH igual a 9,05, uma vez que a formação do complexo de $\text{Co(III)}/\text{G}_5$ na presença de oxigênio e S(IV) foi maior.

3.3.4. Efeito da ordem de adição dos reagentes

Foram realizados experimentos variando-se a ordem de adição de reagentes para a reação de formação do complexo de $\text{Co(III)}/\text{G}_5$. As concentrações das soluções de trabalho empregadas foram tais que a solução final obtida após a mistura foi a mesma para qualquer ordem de adição, ou seja, $[\text{Co(II)}/\text{G}_5] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, 10% de G_5 em excesso e pH de 9,05.

Dois tipos diferentes de ordem de adição dos reagentes foram testados (tabela 3). As soluções A e B foram misturadas na proporção 1:1.

Na ordem de adição II, a solução do complexo de $\text{Co(II)}/\text{G}_5$ deve ser utilizada logo após o preparo, pois a reação de oxidação pelo oxigênio dissolvido é relativamente rápida.

Figura 3. Variação de absorbância em 265 nm em função do tempo da reação de formação do complexo de Co(III)/G₅ para diferentes valores de pH. **(A)** ausência de S(IV); **(B)** presença de S(IV) $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; **(C)** Diferença entre a absorbância após 1800 s na presença e na ausência de S(IV). $[\text{Co(II)/G}_5] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_5]_{\text{exc}} = 0,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S(IV)}] = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 9,05; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

Tabela 1. Ordem de adição e concentração dos reagentes na reação de oxidação de Co(II)/G₅ na presença de oxigênio e S(IV).

Ordem de adição I	<p>Solução A: $[\text{Co(II)}] = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>Solução B recentemente preparada: $[\text{G}_5] = 2,2 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} + [\text{tampão borato}] = 0,100 \text{ mol L}^{-1} + [\text{S(IV)}] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p>
Ordem de adição II	<p>Solução A recentemente preparada: $[\text{G}_5] = 2,2 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} + [\text{tampão borato}] = 0,100 \text{ mol L}^{-1} + [\text{Co(II)}] = 2,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (adicionado por último)</p> <p>Solução B recentemente preparada: $[\text{S(IV)}] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p>
Solução final nos dois casos	<p>$[\text{Co(II)}/\text{G}_5] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>$[\text{G}_5]_{\text{exc}} = 0,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>$[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$</p> <p>$[\text{S(IV)}] = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$</p>

A figura 4 mostra a variação de absorbância com o tempo, no comprimento de onda de 265 nm, para as duas ordens de adição dos reagentes. Na ausência de S(IV), para as duas ordens de adição, os valores de absorbâncias são pequenos e próximos (figura 4a–b), aumentando pouco com o tempo. Na presença de S(IV) a formação de Co(III)/G₅ é mais eficiente na ordem de adição II (figura 4d) do que na I (figura 4c).

Uma possível justificativa para o fato da reação ser mais lenta na ordem de adição I é que em solução não há a presença do iniciador Co(III)/G₅ gerado pela oxidação de Co(II)/G₅ pelo oxigênio dissolvido, já que o íon Co(II) só foi adicionado à pentaglicina após iniciar a reação. Além disso, na solução B (ordem de adição I), o

S(IV) pode formar um composto de adição com a pentaglicina, que reagiria mais lentamente.

Figura 4. Variação de absorbância em 265 nm para a comparação das ordens de adição de reagentes I e II na formação do complexo de Co(III)/G₅. [Co(II)/G₅] = 1,0.10⁻⁴ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = 0,1.10⁻⁴ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 9,05; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

(a) ordem de adição II na ausência de S(IV);

(b) ordem de adição I na ausência de S(IV);

(c) ordem de adição I com [S(IV)] = 5,0.10⁻⁵ mol L⁻¹;

(d) ordem de adição II com [S(IV)] = 5,0.10⁻⁵ mol L⁻¹.

3.3.5. Estudo comparativo da autooxidação dos complexos de Co(II)/G_n induzida por S(IV)

Como para a ordem de adição II (vide tabela 1, pág. 78) de reagentes a reação foi mais eficiente e rápida do que para a ordem de adição I (figura 4), inicialmente, foram feitos estudos da reação de autooxidação do complexo de Co(II) variando a concentração de S(IV). Porém, uma repetibilidade boa nos experimentos (que foram feitos em triplicata) não foi obtida, não sendo possível fazer uma comparação. Uma justificativa para isso é que a solução de complexo de Co(II)/G₅, que foi preparada momentos antes de ser misturada à solução de S(IV), reagiu com o oxigênio dissolvido gerando uma concentração inicial de Co(III). Como a mistura das soluções de Co(II)/G₅ e S(IV) foi feita manualmente, foi difícil obter uma boa repetibilidade nos testes, já que o tempo de preparo de cada uma delas foi ligeiramente diferente.

Assim, a comparação da eficiência de formação do complexo de Co(III)/G_n foi feita empregando a ordem de adição I variando a concentração de S(IV). A figura 5A mostra a variação de absorbância em 265 nm na reação de autooxidação do complexo de Co(II)/G₄ para diferentes concentrações de S(IV). Observa-se que quanto maior a concentração de S(IV), maior a absorbância limite atingida e menor o período de indução, indicativo de uma reação autocatalítica. O tempo para se atingir a absorbância limite é de aproximadamente 40 s. Como essa reação é rápida utilizou-se o acessório de “stopped flow”.

A figura 5B mostra a relação linear da absorbância após 40 s de reação pela concentração de S(IV) na faixa de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $3,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 4$ e $R = 0,9994$).

Figura 5. (A) Variação de absorbância em 265 nm devido à formação do complexo de Co(III)/G₄ para diferentes concentrações de S(IV). **(B)** Variação de absorbância em 265 nm após 40 s de reação em função da [S(IV)]. [Co(II)/G₄] = 1,0.10⁻⁴ mol L⁻¹; [G₄]_{exc} = 0,1.10⁻⁴ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 9,05; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Ordem de adição dos reagentes I. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

[S(IV)] = (a) zero; (b) 1,0.10⁻⁵; (c) 2,0.10⁻⁵; (d) 3,0.10⁻⁵; (e) 4,0.10⁻⁵; (f) 5,0.10⁻⁵ mol L⁻¹.

A figura 6A representa a variação de absorvância em 265 nm na reação de autoxidação do complexo de Co(II)/G₅ para diferentes concentrações de S(IV). Nota-se novamente que quanto maior a concentração de S(IV), maior a absorvância limite atingida, porém não se observa um período de indução inicial. Mesmo após 1800 s de reação a absorvância limite não foi atingida.

A figura 6B mostra a relação linear da absorvância após 1800 s de reação pela concentração de S(IV) na faixa de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 5$ e $R = 0,9990$).

Igualmente, a figura 7A mostra a variação de absorvância em 265 nm na reação de autoxidação do complexo de Co(II)/G₆ para diferentes concentrações de S(IV). Assim como para os outros dois complexos (Co(II)/G₄ e Co(II)/G₅), quanto maior a concentração de S(IV), maior a absorvância limite atingida, porém também não se observa um período de indução inicial. Mesmo após 1800 s de reação a absorvância limite não foi atingida.

A figura 7B mostra a relação linear da absorvância após 1800 s de reação pela concentração de S(IV) na faixa de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $3,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 4$ e $R = 0,9908$).

Comparando-se a reação de autoxidação dos três complexos apresentados na presença de S(IV), concluiu-se que a reação de formação do complexo de Co(III)/G₄ (figura 5A) foi muito mais rápida e eficiente (40 s para atingir a absorvância limite) que a formação dos complexos de Co(III)/G₅ (figura 6A) e Co(III)/G₆ (figura 7A) (ambos com mais de 1800 s para atingir a absorvância limite).

O período de indução inicial foi observado apenas para a reação de autoxidação do complexo de Co(III)/G₄. Uma vez formados, os três complexos

foram bastante estáveis, pois os valores de absorbância não diminuíram (diferente dos complexos de Ni(III)/G_n).

Figura 6. (A) Variação de absorbância em 265 nm devido à formação do complexo de Co(III)/G₅ para diferentes concentrações de S(IV). **(B)** Variação de absorbância em 265 nm após 1800 s de reação em função da [S(IV)]. [Co(II)/G₅] = $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [G₅]_{exc} = $0,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,050 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 9,05; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; T = 25,0°C. Ordem de adição dos reagentes I. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

[S(IV)] = (a) zero; (b) $1,0 \cdot 10^{-5}$; (c) $2,0 \cdot 10^{-5}$; (d) $3,0 \cdot 10^{-5}$; (e) $4,0 \cdot 10^{-5}$; (f) $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 7. (A) Variação de absorbância em 265 nm devido à formação do complexo de Co(III)/G₆ para diferentes concentrações de S(IV). **(B)** Variação de absorbância em 265 nm após 1800 s de reação em função da [S(IV)]. [Co(II)/G₆] = $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [G₆]_{exc} = $0,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,050 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 9,05; I = $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; T = 25,0°C. Ordem de adição dos reagentes I. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada. [S(IV)] = (a) zero; (b) $1,0 \cdot 10^{-5}$; (c) $2,0 \cdot 10^{-5}$; (d) $3,0 \cdot 10^{-5}$; (e) $4,0 \cdot 10^{-5}$; (f) $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

3.3.6. Cálculo das constantes de velocidade observadas para a autooxidação dos complexos de Co(II)/G_n induzida por S(IV)

As figuras 5, 6, 7 não apresentam um período de indução definido, o que pode indicar a formação de uma quantidade inicial de Co(III)/G_n significativa como um resultado da oxidação com o oxigênio dissolvido.

Também nesse caso a dependência da formação do Co(III)/G_n com a concentração de S(IV) foi estudada em um intervalo limitado de [S(IV)] = (0,1–0,5) x [Co(II)]. Os experimentos não foram realizados em condições de pseudo-primeira ordem (Co(II) e O₂ em grande excesso com relação a S(IV)).

As constantes de velocidade observadas, k_{1obs} e k_{2obs} , foram calculadas através do ajuste das curvas de absorbância vs. tempo mediante o programa OLIS KINFIT⁽⁶⁾ (vide anexo no final desse capítulo, pág. 93), considerando um tempo total de 40 s para a reação do complexo de Co(II)/G₄ e 1800 s para as reações dos complexos de Co(II)/G₅ e Co(II)/G₆. O melhor ajuste, negligenciando o período de indução, foi obtido considerando duas reações paralelas (eqs. 1 e 2) segundo o modelo abaixo (eq. 3):

$$[\text{Absorbância}] = [A_1] \cdot e^{(-k_{1obs} \cdot t)} + [A_2] \cdot e^{(-k_{2obs} \cdot t)} \quad [3]$$

sendo A₁ e A₂ espécies complexas de Co(II) diferentes, levando ao produto B (complexo de Co(III)/G_n).

O programa computacional Olis Kinfilt foi empregado para ajustar as curvas de absorbância vs. tempo e integrar sucessivamente em duas funções exponenciais (tabela 2), resultando em k_{1obs} e k_{2obs} , ou seja, há pelo menos duas reações consecutivas com valores de constante de velocidade diferentes em ordem de magnitude. Entretanto, não foi possível ajustar completamente a curva de absorbância vs. tempo com três ou quatro funções exponenciais.

A figura 8 mostra que k_{1obs} aumenta linearmente com a concentração de S(IV) para a reação do complexo de Co(II)/G₄. k_{2obs} foi constante e igual a $2,0 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Para as reações dos complexos de Co(II)/G₅ e Co(II)/G₆, k_{1obs} e k_{2obs} não variaram com a concentração de S(IV), como está apresentado na tabela 2.

Tabela 2. Valores de k_{1obs} e k_{2obs} para a autooxidação de Co(II)/G_n induzida por S(IV). [Co(II)/G_n] = $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [G_n] = $0,10 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,050 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 9,05; I = $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar.

[S(IV)] / $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	Co(II)/G ₄ $k_{1obs} / 10^{-2} \text{ s}^{-1}$	Co(II)/G ₅ $k_{1obs} / 10^{-3} \text{ s}^{-1}$	Co(II)/G ₆ $k_{1obs} / 10^{-4} \text{ s}^{-1}$
1,0	$1,3 \pm 0,6$	$1,0 \pm 0,3$	$5,8 \pm 0,7$
2,0	$3,2 \pm 0,9$	$0,85 \pm 0,06$	$6,1 \pm 0,8$
3,0	$5,4 \pm 0,9$	$0,9 \pm 0,2$	$5,2 \pm 0,5$
4,0	$6,2 \pm 1,5$	$0,80 \pm 0,06$	$5,5 \pm 0,6$
5,0	$8,6 \pm 1,3$	$0,77 \pm 0,03$	$5,9 \pm 0,6$
k_{2obs} / s^{-1}	$2,0 \cdot 10^{-3}$	$3,8 \cdot 10^{-5}$	$3,6 \cdot 10^{-5}$

Figura 8. k_{obs} em função da $[\text{S(IV)}]$ para a autoxidação de $\text{Co(II)}/\text{G}_4$ induzida por S(IV) . $[\text{Co(II)}/\text{G}_4] = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4]_{\text{exc}} = 0,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 9,05$; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

3.4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Dos experimentos realizados para os complexos de Co(II)/G_n pode-se concluir que na ausência de S(IV) a autooxidação de Co(II)/G₅ é relativamente lenta e é mais rápida com o aumento do pH do meio (figura 3A). Em pH 8,48–9,05 (figura 3B), o efeito do S(IV), por acelerar a formação do complexo de Co(III)/G₅, poderia ser melhor avaliado desde que a oxidação espontânea pelo oxigênio dissolvido fosse mais lenta.

Similar aos complexos de Ni(II)/G_n, a velocidade da reação e a eficiência da formação de Co(III) podem estar relacionadas às diferentes espécies reativas de Co(II)/G₅, devido ao grau diferente de protonação do ligante coordenado, que depende da acidez do meio. Tanto os valores de pK para [Co^{II}(H_{-x}G_n)]^(1-x) ou [Co^{III}(H_{-x}G_n)]^(2-x) são desconhecidos, assim não é possível definir o diagrama de distribuição para as diferentes espécies em solução. Além disso, um deslocamento no equilíbrio HSO₃⁻/SO₃²⁻ (pK₂ = 7,2)⁽⁵⁾ levaria a um aumento na constante de velocidade redox em pH>7.

A oxidação espontânea do complexo de Co(II)/G_n pelo oxigênio dissolvido foi mais rápida com o aumento do pH do meio e da concentração de Co(II)/G_n.

A formação de Co(III)/G_n na presença ou na ausência de S(IV) depende da concentração do ligante livre. Quando G₅ foi mantido em excesso 0–200% em relação ao Co(II)/G₅ (figura 2) a reação foi mais rápida.

Para avaliar melhor o efeito do S(IV) na aceleração da formação de Co(III)/G_n, as condições experimentais devem ser de tal forma que a oxidação espontânea pelo O₂ seja a menor possível e o efeito do S(IV) seja mais pronunciado.

Comparando os complexos de Ni(II)/G₅ e Co(II)/G₅ ([M(II)/G₅]=1,0.10⁻⁴ mol L⁻¹, 100% G₅ em excesso, pH = 9,05), o último reage mais rápido com O₂ (na ausência de S(IV)). Porém, a formação do complexo de Co(III) é muito mais lenta na presença de S(IV) (comparação das figuras 6A – capítulo 3 pág. 83 – e 15A – capítulo 2 pág. 52). Complexos de Co(III)/G_n são estáveis por mais de 20 horas (tempo monitorado), pois o valor da absorbância em 265 nm não varia.

As figuras 5, 6, 7 não mostram um período de indução definido, que indica a formação de uma quantidade significativa de Co(III)/G_n resultado da oxidação espontânea pelo oxigênio.

O fato da autooxidação do complexo de Co(II)/G₄ ser mais rápida que a dos complexos de Co(II)/G₅ e Co(II)/G₆ pode estar associado ao efeito estérico dos ligantes.

A formação do complexo de Co(III)/G_n, especialmente no caso do Co(III)/G₅ (figura 6A) e Co(III)/G₆ (figura 7A), é a soma da oxidação espontânea pelo oxigênio dissolvido e o efeito do S(IV). Inicialmente, a autooxidação do Co(II)/G_n induzida pelo S(IV) ocorre com oxidação simultânea deste último. Após o consumo de S(IV), a formação autocatalítica de Co(III)/G_n é devido ao oxigênio ainda remanescente em solução (a absorbância não alcançou um valor limite).

A autooxidação dos complexos de Co(II)/G_n induzida pelo S(IV) também mostra evidências de um mecanismo que envolve formação de radicais. A iniciação deve envolver uma reação paralela com formação de um complexo de ligante misto. A literatura mostra que Co(II)/SO₃²⁻ é razoavelmente estável.⁽⁷⁾

No esquema 1 (vide capítulo 2 pág. 61) (proposto para a autooxidação dos complexos de Ni(II)/G_n induzida pelo S(IV)), etapas adicionais devem ser

consideradas no início do processo de geração de Co(III)/G_n , com formação de complexos diméricos (aducto com oxigênio) e pontes peroxo.

Estudos⁽⁸⁾ com complexo de Co(II)/peptídeos (gli-gli, gli-ala, ala-gli e ala-ala, sendo gli = glicina e ala = alanina) mostraram a formação de complexos diméricos com pontes μ -superoxo. No caso de Co(II)/aspargina , a formação do complexo de dioxigênio ocorre antes da oxidação do centro metálico.⁽⁹⁾

O fato do valor de pH depender da oxidação do complexo de Co(II)/G_n pelo oxigênio (na presença ou ausência de S(IV)), figura 3, pode ser explicado pela possível formação de aducto com oxigênio ou ponte μ -superoxo. Esta propriedade dos complexos de Co(II)/Co(III) pode explicar o comportamento diferente dos complexos de Co(II)/G_n comparado aos de Ni(II)/G_n na presença de oxigênio e S(IV) .

A natureza exata destes complexos e dos produtos (estruturas, grau de protonação dos ligantes e complexos mistos) é desconhecida.

A complexidade do sistema não permite uma atribuição definitiva das espécies envolvidas. O processo redox é mais eficiente quando oxigênio é mantido em grande excesso em relação à concentração de S(IV) e em meio de maiores valores de pH.

A elucidação do mecanismo para autooxidação dos complexos de Co(II)/G_n é mais complicada do que para os complexos de Ni(II)/G_n . O ciclo redox representado no esquema 1 (vide capítulo 2 pág. 61), envolvendo mudanças no estado de oxidação do íon metálico no complexo, é ativado quando S(IV) e oxigênio estão presentes em solução gerando as espécies $\text{SO}_5^{\bullet-}$, HSO_5^- e $\text{SO}_4^{\bullet-}$.

Por fim, o possível desenvolvimento de um método analítico para determinação de S(IV) baseado na autooxidação dos complexos de Co(II)/G_n induzida por S(IV) não seria muito adequado, em virtude do intervalo pequeno de concentração de S(IV) $(1-5) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ no qual se observa uma linearidade de absorbância vs. [S(IV)] (figuras 5, 6 e 7).

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tese de Doutorado de Maria Vespertina Alipázaga Sebastián. Título: Estudo da Autooxidação dos complexos de Cu(II), Ni(II) e Co(II) / Tetraglicina Induzida por S(IV), Universidade de São Paulo - Instituto de Química, **2003**.
2. Alipázaga, M. V.; Lowinsohn, D.; Bertotti, M.; Coichev, N.; Sulfite induced autoxidation of Ni(II) and Co(II) tetraglycine complexes. Spectrophotometric and rotating ring-disc voltammetric studies. *Dalton Trans.* **2004**, 267–272.
3. Kufelnicki, A.; Uptake of Molecular Oxygen by Co(II) Chelates with Peptides in Aqueous Solutions. Part II. Irreversible Autoxidation of Co(II) to Co(III) in Reactions of Oxygen Uptake by Co(II) Chelates with Some Dipeptides. *Pol. J. Chem.* **1988**, 62, 641–652.
4. Harris, G. M.; van Eldik, R.; Kinetics and mechanism of the formation, acid-catalyzed decomposition, and intramolecular redox reaction of oxygen-bonded (sulfite)pentaamminecobalt(III) ions in aqueous solution. *Inorg. Chem.* **1980**, 19, 880–886.
5. Lange, N. A.; *Lange's Handbook of Chemistry*, 11th Edition., McGraw-Hill, New York, **1973**.
6. *Olis Kinfilt Routines*, On-line Instruments Systems, Inc., Jefferson, GA, **1989**.

7. Cavaleiro, E.T.G.; Plepis, A.M.D.; Chierice, G.O.; Neves, E.A.; The potentiometric determination of stability-constants of sulfite and cobalt(II) in ionic-strength 2.0 M (NaClO_4) – use of the matrix-method. *Polyhedron* **1987**, 6; 1717–1719.
8. Vogt, A.; Kufelnicki, A.; Jezowska-Trzebiatowska, B.; Studies on the cobalt(II) dipeptide imidazole system – a new dioxygen carrier. *Polyhedron* **1990**, 9, 2567–2574.
9. Vogt, A.; Kufelnicki, A.; Lesniewska, B.; The distinctive properties of dioxygen complexes formed in the cobalt(II)-asparagine-OH systems (in relation to other aminoacids and mixed complexes with n-base). *Polyhedron* **1994**, 13, 1027–1033.

ANEXO

Cálculo das constantes de velocidade observadas

As constantes de velocidade observadas, k_{1obs} e k_{2obs} , foram calculadas utilizando o programa comercial OLIS KINFIT (OLIS KINFIT Routines, 1989) através das curvas de absorbância vs. tempo em 265 nm.

O programa computacional OLIS KINFIT permite o uso de dois métodos diferentes: o da “integração sucessiva” e o método clássico aperfeiçoado de “Levenberg-Marquardt”. Os modelos cinéticos apresentados pelo dois métodos incluem: três velocidades de primeira ordem (uma, duas e três exponenciais), dois casos de segunda ordem, um de terceira ordem e competição entre processos de ordem zero e primeira ordem.

Neste trabalho, o método mais adequado é o da integração sucessiva para processos de primeira ordem com duas exponenciais (duas reações consecutivas). Um bom ajuste dos dados obtidos com este modelo matemático exige a negligência do período de indução.

Para a seleção do método e modelos mais adequado considerou-se tanto o ajuste gráfico, caracterizado não somente pela coincidência dos dados experimentais e a curva calculada pelo programa, como também pela função de autocorrelação que fornece a dispersão dos dados, além do ajuste numérico caracterizado por um desvio padrão baixo.

**Capítulo 4: Efeito sinérgico de Ni(II) e Co(II)
na autoxidação de Cu(II)/G_n
induzida por S(IV).**

4.1. INTRODUÇÃO

O estado de oxidação trivalente do íon cobre é geralmente considerado incomum, apesar de sua ocorrência em um grande número de compostos, muitos dos quais instáveis em solução aquosa. Desde a verificação da estabilização do cobre trivalente por ligantes peptídicos,⁽¹⁾ muitos complexos têm sido reportados com o Cu(III).⁽²⁾ O complexo de tetraglicina com o ligante triplamente desprotonado, $[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^-$, foi o primeiro complexo com peptídeo de cobre trivalente a ser caracterizado em solução aquosa.⁽¹⁾ A sua formação foi inicialmente observada a partir dos estudos das reações de oxigênio molecular com Cu(II)/G₄.^(3,4)

Oxigênio molecular reage espontaneamente com Cu(II)/G₄ em meio de pH entre 7 e 9, sendo esta reação autocatalítica. Abaixo de pH 7 e acima de pH 10 não são consumidas quantidades mensuráveis de O₂, durante períodos de 3 a 4 h a 25°C.⁽⁴⁾ A autooxidação é muito lenta, mesmo na presença de S(IV). A adição de traços de Ni(II) ou Co(II) em solução contendo Cu(II)/G₄, oxigênio e S(IV) aumenta significativamente a velocidade da reação de oxidação de Cu(II) a Cu(III).^(5,6)

4.1.1. Efeito sinérgico na reação de autooxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição

Sinergismo ou *efeito sinérgico* refere-se à ação de dois efeitos diferentes atuando juntos para criar um efeito maior ou menor que a soma das ações produzidas por cada um atuando independentemente.⁽⁷⁾

Efeitos sinérgicos têm sido reportados por alguns autores para a autooxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição em solução aquosa (tabela 1). Os efeitos sinérgicos desempenham um papel importante na química atmosférica.

Sinergismo positivo é definido como a aceleração da autooxidação de S(IV) como resultado da catálise de dois ou mais íons metálicos de transição. Um exemplo é a autooxidação de S(IV) catalisada por Fe(III) que é acelerada pela adição de Cu(II).⁽⁸⁾

O *sinergismo negativo* ocorre quando a atividade catalítica de um íon metálico de transição é diminuída pela presença de outro íon metálico. Um exemplo é a autooxidação de S(IV) catalisada por Fe(III) que é inibida pela adição de sais de V(IV) ou Fe(II).⁽⁹⁻¹¹⁾

O efeito sinérgico de dois íons metálicos de transição (Cu(II) e Fe(II)) durante a oxidação de óxidos de S(IV) foi primeiramente descrito por Titoff.⁽¹²⁾ Na tabela 1 observa-se que o sinergismo entre os íons manganês e ferro é o sistema mais estudado na oxidação catalisada de S(IV) devido a sua abundância relativamente alta na natureza.

Efeitos sinérgicos no caso da autooxidação de complexos de metais de transição induzida por S(IV) têm sido pouco relatados. Coichev e colaboradores⁽¹³⁾ estudaram o efeito sinérgico do íon Mn(II) sobre a autooxidação de Co(II) em meio de azoteto induzida por S(IV). O Mn(II) tem efeito catalítico significativo, sendo este mais eficiente na presença de Co(III). Foi sugerido que esses íons metálicos podem oxidar o Mn(II) a Mn(III), o qual oxida rapidamente SO_3^{2-} a radicais $\text{SO}_3^{\bullet-}$. Os radicais $\text{SO}_3^{\bullet-}$ iniciam o processo de autooxidação pela formação de $\text{SO}_5^{\bullet-}$ e HSO_5^- , com oxidação de Co(II)/N₃⁻ presente em maior concentração.

Pezza e Coichev^(14,15) estudaram o efeito sinérgico de Co(III) e do Mn(III) na autooxidação de $[\text{Ni}(\text{cyclam})]^{2+}$ induzida por óxidos de S(IV). A ocorrência de sinergismo, nos dois casos, foi revelada pela determinação da constante de velocidade individual na ausência e na presença de quantidades variáveis de Co(III) ou Mn(III). Em ambos os casos constatou-se a ocorrência de efeito sinérgico positivo, sendo que o Mn(III) é mais eficiente do que o Co(III).

Tiwari e colaboradores⁽¹⁶⁾ estudaram a influência de Cu(II) na autooxidação de Fe(II) induzida por S(IV). Enquanto adições de quantidades pequenas de Cu(II) aceleram o processo de oxidação, concentrações altas de Cu(II) inibem a reação.

Carvalho e colaboradores⁽¹⁷⁾ estudaram a reação de autooxidação de Co(II)/2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanediol (TRIS) induzida por óxidos de S(IV) na presença de íon Mn(II). A eficiência do processo autocatalítico depende das concentrações de S(IV), manganês(II) e oxigênio, além da acidez do meio e concentração de TRIS.

Alipázaga e colaboradores^(5,18) estudaram o efeito sinérgico dos íons metálicos Ni(II) e Co(II) na autooxidação do complexo de Cu(II)/G₄ induzida por S(IV), mostrando que Co(II) é cataliticamente mais ativo do que o Ni(II) na reação. A constante de velocidade de formação máxima de Cu(III)/G₄ é linear com a concentração de S(IV).

Assim, alguns autores têm reportado esses efeitos com o propósito de elucidação do mecanismo envolvido,^(5,17-19) enquanto outros direcionaram sua pesquisa ao desenvolvimento de métodos analíticos alternativos para determinação de S(IV), todos baseados na detecção do íon metálico no estado de oxidação 3+ em meio complexante.^(13,18,20-23)

Tabela 1. Efeito sinérgico devido à combinação de dois íons metálicos como catalisadores da autoxidação de S(IV). Estudos em meio aquoso, na presença ou não de agente complexante.

Catalisador	Efeito	Referência
$\text{Fe}^{3+}/\text{Cu}^{2+}$	observado, influência de Fe^{2+}	(24)
$\text{Fe}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$	observado, Fe^{2+} é oxidado a Fe^{3+} cataliticamente ativo.	(25)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Cu}^{2+}$	observado	(8,26)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$	não observado	(26)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Ni}^{2+}$		
$\text{Fe}^{3+}/\text{Cr}^{3+}$		
$\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$	observado	(8,27–33)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Co}^{2+}$	não observado	(34)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Cu}^{2+}$		
$\text{Mn}^{2+}/\text{Co}^{2+}$		
$\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$	observado, influência do pH	(34)
$\text{Fe}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$	observado	(12)
$\text{Mn}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$	observado	(35,36)
$\text{Mn}^{2+}/\text{Co}^{2+}$		(36)
$\text{Mn}^{2+}/\text{Ni}^{2+}$		(36)
$\text{Mn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$		(36)
$\text{Mn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$		(8)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$	observado, influência do SO_4^{2-} e força iônica	(37)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}/\text{Pb}^{2+}$	observado	(29)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$	observado, não influência de Mn^{3+}	(38)
$\text{Fe}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$	observado	(39)
$\text{Co}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$	observado ^a	(13,20,21,39)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Co}^{2+}$	observado	(27)
$\text{Fe}^{3+}/\text{Ni}^{2+}$		
$\text{Fe}^{3+}/\text{Cr}^{3+}$		
$\text{Ni}^{2+}/\text{Mn}^{3+}$	observado ^b	(15)
$\text{Ni}^{2+}/\text{Co}^{3+}$		
$\text{Co}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$	observado ^c	(17,22)
$\text{Cu}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$	observado, ^d inibição por Fe^{3+}	(5,6,18,19)
$\text{Cu}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$	observado, ^d inibição por Mn^{2+}	
$\text{Cu}^{2+}/\text{Cr}^{3+}$	observado, ^d inibição por Cr^{3+}	
$\text{Cu}^{2+}/\text{Ni}^{2+}$	observado, ^e	
$\text{Cu}^{2+}/\text{Co}^{2+}$	observado, ^e	

a - meio de azoteto

b - meio de cyclam

c - meio de tris(hidroximetil)aminometano

d - meio de tetraglicina

e - meio de tetra, penta ou hexaglicina

4.1.2. Reação de autooxidação do complexo de Cu(II) pelo oxigênio na presença de S(IV)

No esquema 1 estão resumidas as principais reações do mecanismo da autooxidação de Cu(II)/G₄ induzida por S(IV).⁽⁵⁾ Há a necessidade de um iniciador, íon metálico no estado de oxidação 3+, para formar o radical SO₃^{•-} (eqs. 5–7). O efeito sinérgico positivo do Co(II) e Ni(II) pode ser explicado pela oxidação mais rápida de Co(II)/G₄ ou Ni(II)/G₄ pelo oxigênio (eqs. 3 e 4), originando o íon metálico no estado de oxidação 3+ (Co(III)/G₄ ou Ni(III)/G₄), que reage com SO₃²⁻ para formar o radical SO₃^{•-} (eqs. 5 e 6). O início pelo Cu(III)/G₄, como resultado da oxidação espontânea de Cu(II)/G₄ pelo oxigênio (eq. 1) ou pelo desproporcionamento de Cu(II)/G₄ em Cu(I)/G₄ e Cu(III)/G₄ (eq. 2),⁽⁴⁰⁾ é menos provável já que essas reações são muito lentas.

O efeito ativador de SO₃²⁻ é explicado através da geração inicial do radical SO₃^{•-}, (eqs. 5–7), o qual reage com oxigênio formando o radical peroxomonossulfato, SO₅^{•-} (eq. 8), que então oxida Cu(II) a Cu(III) (eq. 9). As reações subseqüentes (eqs. 11–13) também envolvem a oxidação de Cu(II).

Assim, no esquema 1 ocorre um processo redox cíclico, com uma série de reações em cadeia com formação de radicais, que depende do balanço entre a concentração de S(IV) e oxigênio em solução.⁽⁴⁰⁾

Uma propriedade interessante dos complexos de cobre trivalente é sua reação rápida em processos de transferência de elétrons,⁽⁴¹⁾ oxidando uma variedade de substratos incluindo ascorbato, cisteína, ferrocianeto, iodeto e sulfito.⁽¹⁾ Além disso, os valores de potencial padrão dos respectivos complexos de Cu(III)/Cu(II) são bastantes próximos (tabela 1, capítulo 1 pág. 12), o que sugere um comportamento redox similar dos mesmos.

Esquema 1. Mecanismo da autoxidação de Cu(II)/G₄ induzida por S(IV). Efeito sinérgico de Ni(II) ou Co(II).⁽⁵⁾

Início na ausência de Ni(II) ou Co(II)

Início na presença de Ni(II) ou Co(II)

Autocatálise

Os complexos de Cu(III)/G_n apresentam duas bandas fortes de transferência de carga na região UV-visível com máximos em 250 e 365 nm. Como estes possuem absorvidades molares altas em 365 nm (tabela 1, capítulo 1 pág. 12), a sua formação e decomposição podem ser monitoradas espectrofotometricamente neste comprimento de onda.

Os centros de coordenação envolvidos na formação do anel quelato do complexo [Cu^{II}(H₋₃G₄)]²⁻ apresentam quatro átomos doadores de nitrogênio ligados ao metal (um nitrogênio da amina terminal e três nitrogênios peptídicos desprotonados) em um arranjo quadrado planar^(1,42) (vide pág. iv).

Ainda que [Cu^{III}(H₋₃G₄)]⁻ possa ser considerado moderadamente estável em solução neutra (com um tempo de vida média de 5,5 h a 25°C), sua decomposição é catalisada em meio ácido e básico. A reação de decomposição resulta na formação de Cu(II) acompanhada pela oxidação do peptídeo.⁽⁴³⁾ Estas reações redox envolvem processos muito rápidos de transferência de elétrons. A análise dos produtos da decomposição ácida mostra que 50% da tetraglicina é recuperada intacta e 50% é oxidada para formar um intermediário de dehidropeptídeo (HG₄DHP⁺) que hidrolisa a glicilglicinamida (NH₂CH₂CONHCH₂CONH₂) e glioxilglicina (HCOCONHCH₂COOH). Também foram encontradas pequenas quantidades de outros fragmentos, como glicilglicina (NH₂CH₂CONHCH₂COOH) e glicinamida (NH₂CH₂CONH₂).⁽³⁾

Em meio neutro e básico, a reação da decomposição de [Cu^{III}(H₋₃G₄)]⁻ é um pouco mais complexa devido à ocorrência de catálise pelos produtos da reação. Em meio básico foram observados os mesmos produtos obtidos na decomposição em meio ácido. Tem sido proposto^(43,44) que em solução neutra a forma predominante de complexo de Cu(II), em pH entre 6 e 8 ([Cu^{II}(H₋₂G₄)]⁻), catalisa a decomposição

de $[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^-$ para formar $[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_{-2}\text{G}_4)]$ (eqs. 14 e 15). O complexo $[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_{-2}\text{G}_4)]$ deve ter um potencial de redução maior que o do complexo $[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^-$ devido à perda de um nitrogênio peptídico ligado ao cobre⁽²⁾ sofrendo desta maneira uma reação de decomposição mais rápida.

Em pH entre 9 e 12 as reações de decomposição também são catalisadas pelos produtos. Nesse meio $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^{2-}$ é a forma predominante em solução. Em $\text{pH} > 9$, a recuperação de tetraglicina aumenta de 60% para valores acima de 83%. Esta mudança é acompanhada por uma diminuição na recuperação de glicilglicinamida e por um aumento nas quantidades dos fragmentos glicina, diglicina e glicinamida. A razão para esta mudança na distribuição dos produtos é que $[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_{-3}\text{G}_4)]^-$ pode reagir preferencialmente com complexos formados entre $\text{Cu}(\text{II})$ e fragmentos do ligante.⁽⁴³⁾ O complexo de $\text{Cu}(\text{III})$ também é decomposto fotoquimicamente, tendo a triglicinamida e tetraglicina como produtos.⁽⁴³⁾

No presente trabalho foram feitos estudos cinéticos comparativos da autooxidação de complexos de $\text{Cu}(\text{II})/\text{G}_5$ e $\text{Cu}(\text{II})/\text{G}_6$ pelo oxigênio dissolvido na presença de $\text{S}(\text{IV})$, avaliando o efeito sinérgico de íons metálicos $\text{Ni}(\text{II})$ ou $\text{Co}(\text{II})$ na concentração da ordem de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para cada um dos complexos.

4.2. PARTE EXPERIMENTAL

A seguir estão descritos os procedimentos experimentais realizados no presente estudo. O preparo de algumas soluções está descrito na página 174.

4.2.1. Preparação das soluções dos complexos de Cu(II)/G₅ ou G₆ na ausência ou presença de Ni(II) ou Co(II)

Uma vez que os complexos de Cu(II)/G_n sofrem oxidação pelo oxigênio dissolvido, foram empregadas soluções preparadas minutos antes dos experimentos.

Para se estudar o efeito sinérgico, a solução do complexo Cu(II)/G₅ na presença de Ni(II) ou Co(II) foi preparada da seguinte forma: dissolveu-se 0,0758 g de pentaglicina em 100 mL de tampão borato 0,100 mol L⁻¹ (pH = 9,0). Em um balão de 10,0 mL transferiu-se uma parte desta solução, adicionando em seguida um volume de zero a 200 µL de solução de Ni(NO₃)₂ 2,0.10⁻³ mol L⁻¹ (preparada pela diluição de 100 µL da solução estoque de Ni(NO₃)₂ 0,200 mol L⁻¹ em 10,0 mL de volume final da solução) ou um volume de zero a 200 µL de solução de Co(ClO₄)₂ 2,0.10⁻³ mol L⁻¹ (preparada pela diluição de 52 µL da solução estoque de Co(ClO₄)₂ 0,965 mol L⁻¹ em 25,0 mL de volume final da solução). Adicionou-se posteriormente 100 µL de solução estoque de Cu(NO₃)₂ 0,200 mol L⁻¹, completando-se no final o volume do balão com a solução de pentaglicina dissolvida em tampão borato (preparada inicialmente). A solução final foi 2,0.10⁻³ mol L⁻¹ de Cu(II)/G₅, 0,100 mol L⁻¹ de tampão borato (pH = 9,0), 0,5.10⁻³ mol L⁻¹ de pentaglicina (25% excesso em relação ao Cu(II)/G₅) e (0,2–4). 10⁻⁵ mol L⁻¹ de Ni(II) ou Co(II). Pentaglicina ou hexaglicina, quando usadas em excesso, evitam a precipitação de Cu(OH)₂ ou Cu(OH)₃.

A solução do complexo de Cu(II)/G₆ na presença de Ni(II) ou Co(II) foi preparada de uma forma ligeiramente diferente, pois a hexaglicina não se dissolveu em tampão borato 0,100 mol L⁻¹ de pH = 9,0. Assim, aumentou-se o pH desta solução até 12 aproximadamente adicionando solução de NaOH 1,00 mol L⁻¹; dissolveu-se 0,0901 g de hexaglicina em 100 mL desta solução de pH ≈ 12, e por fim, diminuiu-se o pH da solução com o peptídeo dissolvido até 9,0, adicionando solução de HClO₄ 1,09 mol L⁻¹, obtendo-se no final a solução de hexaglicina dissolvida em tampão borato 0,100 mol L⁻¹ de pH = 9,0. A partir disto, o procedimento foi o mesmo utilizado para a solução do complexo Cu(II)/G₅. A solução final foi 2,0.10⁻³ mol L⁻¹ de Cu(II)/G₆, 0,100 mol L⁻¹ de tampão borato (pH = 9,0), 0,5.10⁻³ mol L⁻¹ de hexaglicina (25% excesso em relação ao Cu(II)/G₆) e (0,2–4).10⁻⁵ mol L⁻¹ de Ni(II) ou Co(II).

4.2.2. Procedimento experimental

Para o estudo do efeito sinérgico da reação de autooxidação dos complexos de Cu(II)/G₅ ou G₆ na presença de Ni(II) ou Co(II) e S(IV), utilizou-se também o acessório de “stopped flow” acoplado ao espectrofotômetro HP 8453 diode-array. Nesse sistema a seringa A foi preenchida com solução de Cu(II)/G₅ ou G₆ 2,0.10⁻³ mol L⁻¹ em tampão borato 0,100 mol L⁻¹ (pH = 9,0), 0,5.10⁻³ mol L⁻¹ de G₅ ou G₆ e (0,2–4).10⁻⁵ mol L⁻¹ de Ni(II) ou Co(II). A seringa B foi preenchida com a solução aquosa de S(IV) (2,0–14).10⁻⁵ mol L⁻¹.

As concentrações das soluções finais, obtidas após a mistura dos reagentes estão indicadas nas legendas das figuras.

Nos testes foram empregadas soluções saturadas com ar, onde a concentração de oxigênio pode ser considerada como $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.⁽⁴⁵⁾ Os espectros UV-visível foram obtidos utilizando água deionizada como branco.

As soluções foram termostatizadas em 25,0°C por pelo menos 10 minutos antes da mistura dos reagentes.

Para as medições do pH foi usado um pHmetro Metrohm modelo 713 equipado com eletrodo de vidro Metrohm (com solução de NaCl 3,0 mol L⁻¹ como eletrólito interno).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Autoxidação de complexos de Cu(II)/G₅ e G₆ induzida por S(IV)

A autoxidação de Cu(II)/G₅ e G₆ induzida por S(IV) em soluções saturadas com ar foi estudada sob condições de pseudo-primeira ordem, ou seja, as concentrações de Cu(II)/G_n foram mantidas em excesso em relação ao S(IV) e oxigênio, sendo o S(IV) o reagente limitante.

O espectro UV-visível dos complexos de Cu(II)/G₅ e Cu(II)/G₆ em solução aquosa de pH igual a 9,0 consiste em duas bandas intensas de transferência de carga em 250 e 365 nm e ainda uma banda fraca em aproximadamente 550 nm. Em 365 nm a formação de Cu(III)/G₅ pode ser monitorada convenientemente, uma vez que a presença dos complexos de Ni(II)/Ni(III)/G₅ e Co(II)/Co(III)/G₅ (usados em concentrações baixas, $M(\text{II}) = 10^{-6} - 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) não interfere no valor da absorbância nesse comprimento de onda.

Comparando-se os espectros obtidos após 10 s da adição de S(IV) às soluções de Cu(II)/G₅ (figura 1a); Cu(II)/G₅ na presença de Co(II) (figura 1b); e

Cu(II)/G₅ na presença de Ni(II) (figura 1c), observa-se que a formação de Cu(III), induzida por S(IV) na presença de oxigênio, é insignificante na ausência de um segundo íon metálico, no caso de Ni(II) ou Co(II). No entanto na presença de quantidades muito pequenas ($1,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹) de Ni(II) ou Co(II) há a formação rápida de Cu(III), com o aparecimento de uma banda em 365 nm.

A figura 2 mostra os espectros sucessivos a cada 1 s durante a autooxidação do complexo de Cu(II)/G₅ na presença de Ni(II) e S(IV). É possível verificar uma variação na absorbância em 365 nm, devido à formação do complexo de Cu(III)/G₅.

No presente trabalho foi realizado um estudo detalhado do efeito sinérgico de Ni(II) e Co(II) na autooxidação dos complexos de Cu(II)/G₅ e Cu(II)/G₆ induzida por S(IV). Cabe mencionar que concentrações tão baixas de Ni(II) ou Co(II) como 10^{-6} mol L⁻¹ (presentes muitas vezes como impurezas dos reagentes), já são suficientes para acelerar a reação consideravelmente.

4.3.2. Efeito sinérgico de Ni(II) e Co(II) na autooxidação de Cu(II)/G₅ induzida por S(IV)

As figuras 3A e 3B mostram as mudanças de absorbância em 365 nm durante a autooxidação de Cu(II)/G₅ induzida por S(IV) em pH igual a 9,0. Na ausência de adição de traços de Ni(II) ou Co(II), a formação do complexo de Cu(III)/G₅ apresentou um longo período de indução na presença de oxigênio e S(IV) (aproximadamente 5 h). A adição de traços de Ni(II) ou Co(II) aumentou a velocidade da reação significativamente e o período de indução diminuiu drasticamente (aproximadamente 1,5 s), com o aumento da concentração de Ni(II) ou Co(II) na faixa de $(0,1-2,0) \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹. A eficiência da reação (valor máximo de absorbância) também foi maior na presença desses dois íons metálicos.

Figura 1. Espectros obtidos após 10 s da adição de S(IV) à solução de: Cu(II)/G₅ **(a)**; Cu(II)/G₅ na presença de Co(II) **(b)**; e Cu(II)/G₅ na presença de Ni(II) **(c)**. [Cu(II)/G₅] = $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; [G₅]_{exc} = $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [Co(II)] ou [Ni(II)] = $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,050 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 9,0; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

Figura 2. Espectros sucessivos a cada 1 s durante a autoxidação do complexo de Cu(II)/G₅ na presença de Ni(II) e S(IV). [Cu(II)/G₅] = $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = $2,5 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; [Ni(II)] = $1,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 9,0; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada.

Figura 3. Mudanças de absorbância durante a autoxidação de Cu(II)/G₅ induzida por S(IV) na presença de **(A)** Ni(II) ou **(B)** Co(II). [Cu(II)/G₅] = $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹; [G₅]_{exc} = $2,5 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = 0,050 mol L⁻¹; pH = 9,0; I = 0,1 mol L⁻¹; T = 25,0 °C. Soluções saturadas com ar. [Ni(II)] ou [Co(II)] = **(a)** zero, **(b)** $1,0 \cdot 10^{-6}$, **(c)** $3,0 \cdot 10^{-6}$, **(d)** $6,0 \cdot 10^{-6}$, **(e)** $1,0 \cdot 10^{-5}$, **(f)** $2,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹.

Desta maneira, Ni(II) e Co(II) mostraram efeito sinérgico positivo na autooxidação de Cu(II)/G₅ induzida por S(IV).

O efeito sinérgico observado depende do tipo e da concentração do segundo íon metálico (no caso de Ni(II) e Co(II)). Por exemplo, para um mesmo nível de concentração de Ni(II) e Co(II) como $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (figuras 3A e 3B), os dois íons metálicos têm efeito sinérgico marcante, sendo que Co(II) é mais ativo cataliticamente que Ni(II), ou seja, a formação de Cu(III)/G₅ é um pouco mais rápida na presença de Co(II), embora a mesma se processe mais eficientemente na presença de Ni(II).

A decomposição do complexo de Cu(III)/G₅ também é influenciada pela presença desses dois íons metálicos. Após a etapa rápida de formação de Cu(III)/G₅, foi atingida uma absorbância máxima seguida de um decréscimo (observado para um tempo de reação maior que 40 s) como resultado da decomposição do complexo de Cu(III)/G₅ na presença de Ni(II) (figura 3A). Já na presença de Co(II), logo após a etapa rápida de formação de Cu(III)/G₅, a absorbância continuou aumentando lentamente, devido à formação contínua de Cu(III)/G₅ (figura 3B). A decomposição inevitável do complexo de Cu(III)/G₅ logo após a sua formação (na presença de Ni(II)/Ni(III)), pode ser atribuída a oxidação do ligante, resultando em resíduos do ligante que catalisam a decomposição do complexo de Cu(III)/G₅ ou ainda a um fenômeno de catálise de Ni(III).⁽⁴³⁾

Com o fenômeno de autocatálise da reação e o sinergismo apresentado foi difícil o estudo da cinética da reação, no entanto considerando só a primeira parte das curvas de Absorbância vs. tempo, após o período de indução, foi encontrada uma formação de primeira ordem em Cu(III)/G₅.

A inclinação da reta ($\ln A_t - \ln A_i$) vs. tempo, (negligenciando o período de indução e o patamar), permitiu o cálculo da constante de velocidade observada (k_{obs}) de formação de Cu(III)/G₅. Na figura 4 observa-se que a formação de Cu(III)/G₅ exibe uma dependência da concentração de M(II) (Ni(II) e Co(II)) e atinge valores constantes de k_{obs} em concentrações mais altas desses íons metálicos.

Um valor de k_{obs} observado para concentrações de M(II) sugere a formação de um complexo misto entre M(II), M(III) e S(IV), embora não haja evidência a partir dos dados espectrofotométricos.

Co(II) é cataliticamente mais ativo que Ni(II) na autooxidação de Cu(II)/G₅ induzida por S(IV). Isso pode ser devido à oxidação espontânea mais rápida de Co(II)/G₅ (presente na solução de Cu(II)/G₅) pelo oxigênio, na ausência de S(IV), a qual produz concentrações iniciais maiores de Co(III) (eq. 3 pág. 100). Na presença de S(IV), essas quantidades de Co(III) afetam a etapa inicial da reação, e conseqüentemente, o período de indução é menor e a formação de Cu(III)/G₅ é mais rápida, sendo o efeito sinérgico do Co(II) maior que o do Ni(II) (figuras 3 e 4).

4.3.3. Efeito sinérgico de Ni(II) e Co(II) na autooxidação de Cu(II)/G₆ induzida por S(IV)

O mesmo estudo do efeito sinérgico dos íons Ni(II) e Co(II) foi feito para o complexo de Cu(II)/G₆ na presença de S(IV). As figuras 5A e 5B representam as mudanças de absorbância em 365 nm durante a autooxidação de Cu(II)/G₆ induzida por S(IV) em pH igual a 9,0.

Figura 4. k_{obs} em função da concentração de Ni(II) **(a)** ou Co(II) **(b)** para a autoxidação de Cu(II)/G₅ induzida por S(IV). $[\text{Cu(II)/G}_5] = 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_5]_{\text{exc}} = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S(IV)}] = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 9,0$; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0 \text{ } ^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar.

Figura 5. Mudanças de absorvância durante a autoxidação de Cu(II)/G₆ induzida por S(IV) na presença de **(A)** Ni(II) ou **(B)** Co(II). [Cu(II)/G₆] = $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹; [G₆]_{exc} = $2,5 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹; [S(IV)] = $5,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; [tampão borato] = $0,050$ mol L⁻¹; pH = 9,0; I = $0,1$ mol L⁻¹; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. [Ni(II)] ou [Co(II)] = **(a)** zero, **(b)** $1,0 \cdot 10^{-6}$, **(c)** $3,0 \cdot 10^{-6}$, **(d)** $6,0 \cdot 10^{-6}$, **(e)** $1,0 \cdot 10^{-5}$, **(f)** $2,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹.

Na ausência de adição de traços de Ni(II) ou Co(II), a formação do complexo de Cu(III)/G₆ apresentou um longo período de indução na presença de oxigênio e S(IV). A adição de traços de Ni(II) ou Co(II) aumentou a velocidade e a eficiência da reação e o período de indução diminuiu gradualmente com o aumento da concentração de Ni(II) ou Co(II) na faixa de $(0,1-2,0) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A decomposição do complexo de Cu(III)/G₆ também é influenciada pela presença desses dois íons metálicos. Após a etapa rápida de formação de Cu(III)/G₆ foi atingida uma absorbância máxima seguida de um decréscimo (observado para um tempo de reação maior que 30 s) como resultado da decomposição do complexo de Cu(III)/G₆ na presença de Ni(II) (figura 5A).

Já na presença de Co(II), logo após a etapa rápida de formação de Cu(III)/G₆, a absorbância continuou aumentando lentamente, devido à formação contínua de Cu(III)/G₆ (figura 5B).

Considerando só a primeira parte das curvas de Absorbância vs. tempo, após o período de indução, também foi encontrada uma formação de primeira ordem em Cu(III)/G₆. Na figura 6 observa-se que a formação de Cu(III)/G₆ exibe uma dependência de Ni(II) e Co(II) e atinge valores constantes de k_{obs} em concentrações mais altas desses íons metálicos.

Co(II) é cataliticamente mais ativo que Ni(II) na autooxidação de Cu(II)/G₆ induzida por S(IV). No entanto, quando Ni(II) e Co(II) estão em concentrações mais baixas, como $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, o Ni(II) é cataliticamente o mais ativo (figura 6).

Figura 6. k_{obs} em função da concentração de Ni(II) **(a)** ou Co(II) **(b)** para a autoxidação de Cu(II)/G₆ induzida por S(IV). $[\text{Cu(II)/G}_6] = 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_6]_{\text{exc}} = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S(IV)}] = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 9,0$; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0 \text{ } ^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar.

4.3.4. Efeito da concentração de S(IV) nas reações de autooxidação dos complexos de Cu(II)/G₅ e G₆ na presença de Ni(II)

As velocidades das reações de autooxidação dos complexos de Cu(II)/G₅ e Cu(II)/G₆, na presença de Ni(II), aumentaram com a concentração de S(IV), com diminuição do período de indução (figuras 7A e 8A).

As figuras 7B e 8B mostram a relação linear da absorbância pela [S(IV)] após 20 s das reações de autooxidação de Cu(II)/G₅ e Cu(II)/G₆. A faixa de linearidade é de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, sendo possível desenvolver um método analítico para S(IV) a partir das duas reações. Os limites de detecção calculados foram $6,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (n= 7 e R = 0,9999) e $9,4 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (n= 7 e R = 0,9985) de S(IV) para as reações de autooxidação de Cu(II)/G₅ e Cu(II)/G₆, respectivamente.

Os valores de k_{obs} calculados, mesmo sujeitos a um considerável erro devido à negligência do período de indução, aumentaram com a concentração de S(IV) (figura 9). Esses resultados foram obtidos em condições tais que Cu(II)/G_n e O₂ estão em excesso com relação ao S(IV) inicialmente presente.

Observa-se também que a reação de autooxidação do complexo de Cu(II)/G₆ foi mais rápida (valores de k_{obs} maiores) do que a reação do complexo de Cu(II)/G₅ para a mesma concentração de S(IV).

Figura 7. (A) Variação de absorbância em 365 nm devido à formação do complexo de Cu(III)/G₅ para diferentes concentrações de S(IV). **(B)** Absorbância em 365 nm após 20 s de reação em função da [S(IV)]. [Cu(II)/G₅] = $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; [G₅]_{exc} = $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [Ni(II)] = $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,050 \text{ mol L}^{-1}$; pH = 9,0; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada. [S(IV)] = **(a)** zero; **(b)** $1,0 \cdot 10^{-5}$; **(c)** $2,0 \cdot 10^{-5}$; **(d)** $3,0 \cdot 10^{-5}$; **(e)** $4,0 \cdot 10^{-5}$; **(f)** $5,0 \cdot 10^{-5}$; **(g)** $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 8. (A) Variação de absorbância em 365 nm devido à formação do complexo de Cu(III)/G₆ para diferentes concentrações de S(IV). **(B)** Absorbância em 365 nm após 20 s de reação em função da [S(IV)]. [Cu(II)/G₆] = $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol L $^{-1}$; [G₆]_{exc} = $2,5 \cdot 10^{-4}$ mol L $^{-1}$; [Ni(II)] = $1,0 \cdot 10^{-5}$ mol L $^{-1}$; [tampão borato] = $0,050$ mol L $^{-1}$; pH = 9,0; $I = 0,1$ mol L $^{-1}$; T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar. Branco: água deionizada. [S(IV)] = **(a)** zero; **(b)** $1,0 \cdot 10^{-5}$; **(c)** $2,0 \cdot 10^{-5}$; **(d)** $3,0 \cdot 10^{-5}$; **(e)** $4,0 \cdot 10^{-5}$; **(f)** $5,0 \cdot 10^{-5}$; **(g)** $7,0 \cdot 10^{-5}$ mol L $^{-1}$.

Figura 9. k_{obs} em função da concentração de S(IV) para a autooxidação de Cu(II)/G₅ **(a)** ou Cu(II)/G₆ **(b)** induzida por S(IV). $[\text{Cu(II)/G}_n] = 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_n]_{\text{exc}} = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ni(II)}] = 1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,050 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 9,0$; $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $T = 25,0 \text{ } ^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar.

4.4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Dos experimentos realizados para os complexos de Cu(II)/G_n pode-se concluir que a aceleração da autooxidação de Cu(II)/G₅ ou Cu(II)/G₆ induzida por S(IV) só ocorre na presença de um segundo íon metálico, Co(II) ou Ni(II), devido ao efeito sinérgico. Na ausência desses íons, a reação é extremamente lenta e ineficiente.

O processo autocatalítico da reação de autooxidação de Cu(II)/G_n e o sinergismo apresentado são de difícil interpretação, no entanto, considerando só a primeira etapa da reação, após o período de indução, foi encontrada uma formação de primeira ordem em Cu(III)/G_n que depende da concentração de Ni(II) ou Co(II). O valor constante de k_{obs} em concentrações altas desses íons metálicos pode ser interpretado pela formação de um complexo entre M(II) ou M(III) e S(IV).

Co(II) é cataliticamente mais ativo que Ni(II) na autooxidação de Cu(II)/G_n induzida por S(IV), embora na presença de Ni(II) a reação seja mais eficiente.

Para uma mesma concentração de S(IV) a reação de autooxidação do complexo de Cu(II)/G₆ é mais rápida do que a reação do complexo de Cu(II)/G₅.

Um método analítico baseado na relação linear da absorbância referente a Cu(III)/G₄ com a concentração de S(IV) foi desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa⁽¹⁸⁾. Também seria possível propor um procedimento similar empregando-se penta e hexaglicina como ligantes, sendo que os limites de detecção para o S(IV) obtidos para os complexos de Cu(III)/G₅ e Cu(III)/G₆ foram $6,5 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ e $9,4 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ de S(IV), respectivamente.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Margerum, D. W.; Chellappa, K. L.; Bossu, F. P.; Burce, G. L.; Characterization of a Readily Accessible Copper(III)-Peptide Complex. *J. Amer. Chem. Soc.* **1975**, 97, 6894–6896.
2. Bossu, F. P.; Chellappa, K. L.; Margerum, D. W.; Ligand Effects on Thermodynamic Stabilization of Copper(III)-Peptide Complexes. *J. Amer. Chem. Soc.* **1977**, 99, 2195–2203.
3. Burce, G. L.; Paniago, E. B.; Margerum, D. W.; Photochemical Inhibition of Reactions of Copper(II) Peptide Complexes with Molecular-Oxygen. *J. Chem. Soc. Chem. Commun*, **1975**, 7, 261–262.
4. Kurtz, J. L.; Burce, G. L.; Margerum, D. W.; Trivalent Copper Catalysis of the Autoxidation of Copper(II) Tetraglycine. *Inorg. Chem.* **1978**, 17, 2454–2460.
5. Alipázaga, M. V.; Moreno, R. G. M.; Coichev, N.; Synergistic Effect of Ni(II) and Co(II) Ions on the Sulfite Induced Autoxidation of Cu(II)/tetraglycine Complex. *Dalton Trans.* **2004**, 2036–2040.
6. Tese de Doutorado de Maria Vespertina Alipázaga Sebastián. Título: Estudo da Autoxidação dos complexos de Cu(II), Ni(II) e Co(II) / Tetraglicina Induzida por S(IV), Universidade de São Paulo - Instituto de Química, **2003**.
7. Extraído de www.mb-soft.com/believe/txc/synergis.htm. Setembro de 2006.
8. Reda, M.; Homogeneous Catalytic Oxidation of Aqueous Sulfur(IV) by Transition Metal Ions. Part III: Effect of Iron(III), Copper(II) and Manganese(II) and Synergistic Catalysis. *Water Sci. Technol.* **1988**, 20, 45–47.
9. Ermakov, A. N.; Poskrebyshv, G. A.; Purmal, A. P.; Sulfite Oxidation: The State-of-the-art of the Problem. *Kinet. Catal.* **1997**, 38, 295–308.

10. Higginson, W.C. E.; Marshall, J. W.; Equivalence Changes in Oxidation-Reduction Reactions in Solution; Some Aspects of the Oxidation of Sulphurous Acid. *J. Chem. Soc.* **1957**, 447–458.
11. Bronikowski, T.; Sulfur-dioxide Oxidation in Aqueous-solution Containing Metal-cations. *React. Kinet. Catal. Letters.* **1979**, 10, 139–142.
12. Titoff, A.; Beitrage zur Kenntniss der Negativen Katalyse imm Homogenem System. *Z. Phys. Chem.* **1903**, 45, 641–683.
13. Neves, E. A.; Coichev, N.; Gebert, J.; Klockow, D.; Autoxidation of Cobalt(II) in Azide Containing Medium in Presence of Sulfur (IV) - an Interpretative Study. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1989**, 335, 386–389.
14. Pezza, H. R.; Coichev, N.; Kinetics and Mechanism of the Induced Redox Reaction of $[\text{Ni}(\text{cyclam})]^{2+}$ promoted by SO_5^{2-} center dot. *J. Coord. Chem.* **1999**, 47, 107–119.
15. Pezza, H. R.; Bonifácio, R. L.; Coichev, N.; Oxidation of Ni(II)/cyclam and Tetraglycine complexes by Dissolved Oxygen in the Presence of S(IV). Synergistic Effects on Mn(III) and Co(III). *J. Chem. Res-M.* **1999**, 1520–1541.
16. Tiwari, B. L.; Kolbe, J.; Hayden, H. W. Jr.; Oxidation of Ferrous Sulfate in Acid-Solution by a Mixture of Sulfur-Dioxide and Oxygen. *Metal Trans. B* **1979**, 10, 607–612.
17. Carvalho, L. B., Alipázaga, M. V., Crivelente, W. C. T., Coichev, N.; The autoxidation of Co(II)/2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol in the presence of Mn(II) and S(IV). *Inorg. Reac. Mech.* **2004**, 5, 101–108.
18. Alipázaga, M. V.; Coichev, N.; Synergistic Effect of Some Transition Metal Ions on the Sulfite Induced Autoxidation of Cu(II)/Tetraglycine Complex. Analytical Applications *Anal. Lett.* **2003**, 36, 2255–2275.

19. Carvalho, L. B.; Alipázaga, M. V.; Moreno, R. G. M.; Coichev, N.; Further studies on the synergistic effect of Ni(II) and Co(II) ions on the sulfite induced autoxidation of Cu(II) penta and hexaglycine complexes. *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido em 2006.
20. Neves, E. A.; Valdes, J.; Klockow, D.; Determination of Sulfur-Dioxide in Air on the Basis of the Catalyzed Autoxidation of Co(II) in an Azide Medium. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1995**, 351, 544–548.
21. Gebert, J.; Neves, E. A.; Klockow, D.; Evaluation of the Sulfur(IV) Catalyzed Autoxidation of Cobalt(II) in an Azide Containing Medium as a Means for the Determination of Sulfite in Precipitation. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1988**, 331, 260–267.
22. Leite, H. M. S.; Coichev, N.; Neves, E. A.; The Sulfite Accelerated Autoxidation of Co(II) in the Presence of Tris(hidroxymethyl)aminomethane. *Anal. Lett.* **1996**, 29, 2587–2590.
23. Silva, R. L. G. N. P.; Silva, C. S.; Nóbrega, J. A.; Neves, E. A.; Flow Injection Spectrophotometric Determination of Free and Total Sulfite in Wines Based on the Induced Oxidation of Manganese(II). *Anal. Lett.* **1998**, 31, 2195–2208.
24. Zeck, O. F.; Carlyle, D. W.; Electron Transfer Between Sulfur (IV) and Chloroiron(III) and Chlorocopper Ions Aqueous Chloride Media. Formation of a Sulfur Dioxide with Chlorocopper(I). *Inorg. Chem.* **1974**, 13, 34–38.
25. Barrie, L.; Georgii, H. W.; An Experimental Investigation of the Absorption of Sulphur Dioxide by Water Drops containing Heavy Metals Ions. *Atmos. Environ.* **1976**, 10, 743–749.
26. Dasgupta, P. K.; Mitchell, P. A.; West, P. W.; Study of Transition Metal Ion – S(IV) Systems. *Atmos. Environ.* **1979**, 13, 775–782.

27. Brandt, C.; van Eldik, R.; Catalyzed Oxidation of Sulfur (IV) Oxides. Atmospheric – Relevant Processes and Mechanisms. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 119–190.
28. Altwicker, E. R.; Nass, K. K.; Evidence for Enhanced Mass-Transfer and Synergistic Catalysis of Aqueous Phase Sulfur-Dioxide Oxidation by Mixtures of Manganese and Iron. *Atmos. Environ.* **1983**, 17, 187–190.
29. Grgic, I.; Hudnik, V. Bizjak, M.; Levec, J.; Aqueous S(IV) Oxidation. 2. Synergistic Effects Some Metal Ions. *Atmos. Environ.* **1992**, 26A, 571–577.
30. Berglund, J; Elding, L.; Manganese-Catalyzed Autoxidation of Dissolved Sulfur-Dioxide in the Atmospheric Aqueous-Phase. *Atmos. Environ.* **1995**, 29, 1379.
31. Fronaeus, S.; Berglund, J.; Elding, L.; Iron-Manganese Redox Processes and Synergism in the Mechanism for Manganese-Catalyzed Autoxidation of Hydrogen Sulfite. *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 4939–4944.
32. Brandt, C.; Fábián, I.; van Eldik, R.; Kinetics and Mechanism of the Iron(III)-Catalyzed Autoxidation of Sulfur (IV) Oxides in Aqueous Solution. Evidence for the Redox Cycling of Iron in the Presence of Oxygen and Modeling of the Overall Reaction Mechanism. *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 687–701.
33. Grgic, I.; Bercic, G. A; Simple Kinetic Model for Autoxidation of S(IV) Oxides Catalyzed by Iron and/or Manganese Ions. *J. Atmos. Chem.* **2001**, 39, 155–170.
34. Martin, L. R.; SO₂, NO and NO₂ Oxidation Mechanisms: *Atmospheric Considerations*, p. 63–100 (Calvert, J. G.; ed), Butterworth, Boston, **1984** [Acid Precipitation Series – vol 3].

35. Lima, S.; Bonifácio, L. R.; Azzellini, G. C.; Cochev, N.; Ruthenium(II) Tris(Bipyridyl) Ion as a Luminescent Probe for Oxygen Uptake on the Catalyzed Oxidation of HSO_3^- . *Talanta*, **2002**, 56, 547–556.
36. Ulrich, R. K.; Rochelle, G. T.; Prada, R. E.; Enhanced Oxygen Absorption into Bisulphite Solutions Containing Transition Metal Ion Catalysis. *Chem. Eng. Sci.* **1986**, 41, 2183–2191.
37. Martin, L. R.; Good, T. W.; Catalyzed Oxidation of Sulfur Dioxide in Solutions. The Iron-Manganese Synergism. *Atmos. Environ.* **1991**, Part A, 25, 2395–2399.
38. Sato, T.; Goto, T.; Okabe, T.; Lawson, F.; The Oxidation of Iron(II) Sulfate with Sulfur Dioxide and Oxygen Mixtures. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1984**, 57, 2082–2086.
39. Coichev, N. Reddy, K. B. van Eldik, R.; The Synergistic Effect of Manganese(II) in the Sulfite-induced Autoxidation of Metal Ions and Complexes in Aqueous Solution. *Atmos. Environ.* **1992**, 26A, 2295–2300.
40. Anast, J. M.; Margerum, D. W.; Trivalent Copper Catalysis of the Autoxidation of Sulfite. Kinetics and Mechanism of the Copper(III/II) Tetraglycine Reactions with Sulfite. *Inorg.Chem.* **1981**, 20, 2319–2326.
41. Kirksey, S. T.; Neubecker, T. A.; Margerum, D. W.; Thermally Stable Copper(III)-Tripeptide and Nickel(III)-Tripeptide Complexes and Their Photo-Chemical Decomposition In Acid-Solution. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 1631–1633.
42. Kirksey Jr., S. T.; Margerum, D. W.; Duckes, G. R.; Oxidative Decarboxylation of Glyoxylate Ion by a Deprotonated Amine Copper(III)-Peptide Complex. *Inorg. Chem.* **1979**, 18, 966–970.

43. Rybka, J. S.; Kurtz, J. L.; Neubecker, T. A.; Margerum, D. W.; Reactions of Copper(III) Tetraglycine. *Inorg. Chem.* **1980**, 19, 2791–2796.
44. Kirschembaum, L. J.; Meyerstein, D.; Oxidation, Reduction, and Copper-Carbon Bond Formation in the Reactions of Copper(II) Tetraglycine with Pulse Radiolytically Generated Free Radicals. *Inorg. Chem.* **1980**, 19, 1373–1378.
45. Sasso, M. G.; Quina, F.H.; Bechara, E. J. H.; Ruthenium(II) Tris(Bipyridyl) Ion as a Luminescent Probe for Oxygen-Uptake. *Anal. Biochem.*, **1986**, 156, 239–243.

**Capítulo 5: Autoxidações de Ni(II)/G₄ e
Ni(OH)₂ induzidas por S(IV)
na presença de luminol.
Desenvolvimento de métodos analíticos.**

5.1. INTRODUÇÃO

5.1.1. Métodos analíticos para determinação de S(IV) por quimiluminescência

Estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa⁽¹⁾ mostraram que a determinação de S(IV) livre em amostras de vinhos, sucos e água de chuva é possível por um método envolvendo uma reação quimiluminescente.

As reações envolvidas estão apresentadas no esquema 1. Na autooxidação de Ni(II)/G₄ induzida por S(IV) há a formação de Ni(III)/G₄, SO₅²⁻ e radicais (SO₄^{•-} e [•]OH) que oxidam o luminol com emissão de luz. A intensidade de radiação emitida é diretamente proporcional à concentração inicial de S(IV).

Esquema 1. Mecanismo de oxidação de Ni(II)/G₄ na presença de SO₃²⁻ e O₂.⁽¹⁾

Na presença de luminol:

sendo Ni(III)/Ni(II) complexos com tetraglicina em meio de tampão borato.

Na literatura são encontrados vários métodos para a determinação de S(IV) em amostras ambientais, de alimentos e outros materiais empregando-se as mais diversas técnicas analíticas, tais como espectrofotometria^(2,3), fluorimetria⁽⁴⁾, espectroscopia de emissão atômica⁽⁵⁾, cromatografia⁽⁶⁾, métodos eletroquímicos^(7,8) e enzimáticos⁽⁹⁾. Somente ao longo dos últimos anos foram propostos métodos para determinação de S(IV) por quimiluminescência. Um extenso levantamento bibliográfico foi realizado por Bonifácio.⁽¹⁰⁾

A emissão produzida pela autooxidação do complexo de Ni(II)/G₄ em meio de tampão borato induzida por S(IV), na presença de luminol, pode ser usada para determinar S(IV) em vinhos, sucos, açúcar e água de chuva na faixa de (0,0500–5,00).10⁻⁶ mol L⁻¹.⁽¹⁾ Este sistema foi utilizado para desenvolvimento de método analítico para determinação de S(IV) empregando-se unidade de difusão gasosa para separação do analito da matriz.⁽¹⁾

O luminol é um reagente bastante utilizado no desenvolvimento de metodologias para determinação de S(IV) por quimiluminescência. Dióxido de enxofre em fase gasosa pode ser determinado a partir do efeito ativador de SO₂ na reação quimiluminescente entre luminol e NO₂.⁽¹¹⁾ Posteriormente, verificou-se que a utilização de H₂O₂ ao invés de NO₂ implicava menor tempo de resposta e diminuição da interferência associada a outros gases.⁽¹²⁾

Schmid e colaboradores⁽¹³⁾ focaram o caráter supressor de S(IV) na reação quimiluminescente de luminol e H₂O₂ catalisada pela enzima peroxidase na presença de EDTA. Um método indireto, no qual a reação enzimática entre sulfito oxidase e S(IV) gera H₂O₂ para posterior reação quimiluminescente com luminol e peroxidase, também encontra-se descrito na literatura.⁽¹⁴⁾

Zhang e colaboradores⁽¹⁵⁾ descreveram as potencialidades analíticas da reação direta entre luminol e S(IV) em meio fortemente alcalino. A reação entre luminol e o íon radical superóxido, $O_2^{\cdot-}$, resultante da reação entre S(IV) e O_2 , seria responsável pela emissão quimiluminescente observada.⁽¹⁵⁾

5.1.2. Algumas considerações sobre o luminol

O luminol (5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona) é certamente um dos mais conhecidos resgates empregado em reações quimiluminescentes. A reação de oxidação do luminol por oxigênio ou peróxido de hidrogênio, em meio básico, é representada pela equação 10. O mecanismo conhecido envolve a formação de um ânion radical, que é rapidamente oxidado a uma diazaquinona.⁽¹⁶⁾ A diazaquinona, ao reagir com peróxido de hidrogênio, sofre eliminação de nitrogênio com abertura de anel, levando ao íon aminoftalato no estado excitado. Esta espécie, por sua vez, decai ao estado fundamental com emissão de radiação.

O equilíbrio ácido-base do luminol pode ser representado pelas equações 11 e 12.⁽¹⁷⁾

Em sistemas práticos somente o oxigênio não é suficiente para a oxidação do luminol, sendo necessária a presença de ativadores, tais como íons metálicos de transição complexados ou não, além do peróxido de hidrogênio. A hipótese mais razoável é que, em solução aquosa, é necessária a formação do luminol ânion radical **(6)**, que então reage rapidamente com um oxidante (equação 13).⁽¹⁶⁾

Maiores detalhes sobre o reagente luminol com as aplicações analíticas estão descritos no artigo de revisão elaborado por Ferreira e Rossi.⁽¹⁸⁾

5.1.3. Autoxidação de Ni(II)/G₄ induzida por S(IV) na presença de luminol e aldeído. Desenvolvimento de método analítico

Um procedimento bem conhecido para estabilizar S(IV) em solução é o emprego de aductos hidroxissulfônicos com aldeídos. O S(IV) se combina facilmente com o aldeído e forma um aducto estável segundo a equação 14.⁽¹⁹⁾

Conforme trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa, a presença de acetaldeído e formaldeído não evita a oxidação de S(IV) em solução aquosa que contenha traços de íons metálicos, tais como: Fe(II), Cu(II), Mn(II) e outros. Observou-se que a velocidade da reação de autoxidação do íon metálico com o consumo simultâneo de S(IV) é menor, inibindo parcialmente a reação.^(7,20,21)

Sendo assim, optou-se por desenvolver um método analítico simples baseado na diminuição da intensidade de radiação emitida pela adição de acetaldeído e formaldeído a uma solução saturada de ar contendo concentrações fixas de Ni(II)/G₄, S(IV) e luminol.

5.1.4. Autoxidação de Ni(OH)₂ induzida por S(IV) na presença de luminol

Como o método quimiluminescente de determinação de S(IV) é mais sensível que os métodos espectrofotométricos e sendo a tetraglicina um reagente caro, optou-se por adaptar o método analítico para determinação de S(IV) empregando-se solução de Ni(II). Como a reação na presença de luminol ocorre só em meio

básico, o Ni(II) estará presente no meio na forma de Ni(OH)₂, e não como um complexo peptídico.

A reação de oxidação de Ni(OH)₂ (precipitado de coloração verde) pelo oxigênio dissolvido na presença de S(IV) forma uma suspensão de Ni(OH)₃ (precipitado de coloração preta)⁽²²⁾, por um mecanismo similar ao apresentado no esquema 1. Na presença de luminol esta reação produz uma radiação emitida, cuja intensidade é função da concentração de S(IV) inicial.

5.2. PARTE EXPERIMENTAL

A seguir estão descritos os procedimentos experimentais realizados no presente estudo. O preparo de algumas soluções está descrito na página 174.

5.2.1. Preparação das soluções

(a) *Solução de Ni(II) $1,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$*

A solução de Ni(II) $1,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada a partir da diluição de 70 μL da solução estoque de Ni(II) $0,200 \text{ mol L}^{-1}$ em 10,0 mL de água deionizada.

(b) *Solução estoque de luminol $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$*

Foi preparada pela dissolução de 0,020 g de NaOH e 0,0089 g de luminol (pureza 97%) em 50,0 mL de água deionizada. A solução de luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada a partir da diluição dessa solução estoque.

(c) Solução do complexo de Ni(II)/G₄

A solução do complexo de Ni(II)/G₄ foi preparada misturando-se 250 µL de solução de Ni(II) $1,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e 250 µL de solução de tetraglicina $2,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (0,0069 g de G₄ em 10,0 mL de solução) em 25,0 mL de tampão borato $0,100 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,25), de modo a obter uma concentração final de $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de Ni(II)/G₄, $0,100 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão borato e $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de G₄ (100% excesso em relação ao Ni(II)/G₄).

(d) Solução de formaldeído $0,010 \text{ mol L}^{-1}$

A solução de formaldeído $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diluindo-se 75 µL de solução de formaldeído 37% m/m a 100 mL com água deionizada em balão volumétrico.

(e) Solução de acetaldeído $1,0 \text{ mol L}^{-1}$

A solução de acetaldeído $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada diluindo-se 1,4 mL de solução de acetaldeído 99,5% m/m a 25 mL com água deionizada em balão volumétrico.

(f) Solução estoque de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$

A solução preparada a partir da dissolução de cerca de 0,40 g de lentilhas de NaOH em 100,0 mL de água deionizada.

(g) Suspensão de Ni(II) $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$

A suspensão foi preparada a partir da diluição de 500 µL de solução de Ni(II) $1,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e de 50 µL de solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ em 10,0 mL de água

deionizada. Esta suspensão não pode ser utilizada por mais de uma hora já que Ni(OH)_2 reage com o oxigênio dissolvido espontaneamente formando Ni(OH)_3 .

Todas as soluções utilizadas nos experimentos e a água usada para preparar as soluções diluídas de S(IV) e Ni(II) foram termostatizadas (quando necessário) por pelo menos 10 minutos. A solução diluída de S(IV) foi preparada imediatamente antes da mistura de todas as soluções dos demais reagentes.

5.2.2. Procedimento experimental

As medidas de quimiluminescência foram efetuadas utilizando-se um luminômetro Bertold Lumat LB 9507 (esquematizado na figura 1) que consiste em um sistema estático contendo um dispositivo de injeção direta de até dois reagentes diferentes. Neste equipamento, um tubo de polipropileno de 1,5 mL, contendo os reagentes ou a amostra, é posicionado em um compartimento interno ao abrigo da luz ambiente, em cuja base encontra-se uma fotomultiplicadora que capta a radiação gerada na reação quimiluminescente na faixa de 330 a 650 nm. As paredes internas deste compartimento são espelhadas internamente de modo a refletir a intensidade de radiação emitida em direção à fotomultiplicadora, maximizando assim a sensibilidade dos procedimentos de análise.

A mistura seqüencial dos reagentes foi obtida a partir da injeção de 10 a 300 μL de um ou dois reagentes dentro de um intervalo mínimo de 0,7 s. Os reagentes são injetados a alta pressão, sendo introduzidos no tubo a uma velocidade suficiente para promover uma mistura instantânea e eficiente das soluções. Deste modo, são obtidos resultados com ótima reprodutibilidade.

Figura 1. Estrutura da unidade de medição do luminômetro da marca Berthold, modelo Lumat LB 9507.

5.2.2.1. Obtenção da curva analítica para determinação de formaldeído e acetaldeído

No tubo foram adicionados com auxílio de micropipeta 300 μL da solução de S(IV) $(1,0 \text{ ou } 5,0) \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e 50 μL da solução de aldeído ($[\text{formaldeído}] = (5,0 \cdot 10^{-5} - 1,0 \cdot 10^{-2}) \text{ mol L}^{-1}$ ou $[\text{acetaldeído}] = (1,0 \cdot 10^{-4} - 0,10) \text{ mol L}^{-1}$) ou água. O tubo foi introduzido no equipamento, e após 60 s (tempo necessário para formar o aducto do S(IV) com o aldeído) foi feita a injeção de 50 μL de solução de luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A seguir, depois de 0,7 s, foi feita a injeção de 300 μL de solução do complexo de Ni(II)/G₄ $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão borato com início imediato da aquisição dos valores de intensidade de radiação emitida por 30 s e 100 s para o acetaldeído e formaldeído, respectivamente.

O sinal analítico foi avaliado a partir do valor de intensidade máxima de radiação emitida ($I_{\text{máx}}$) e a área da intensidade de radiação vs. tempo. A análise de cada solução de aldeído foi feita em triplicata. Uma curva analítica foi construída relacionando a média dos valores de $I_{\text{máx}}$ ou a média dos valores da área com a concentração do aldeído.

As soluções foram termostatizadas na temperatura desejada por pelo menos 10 minutos antes da mistura dos reagentes.

5.2.2.2. Amostras de álcool combustível

Duas amostras de álcool combustível foram coletadas em postos de gasolina diferentes. Não foi feito tratamento e nem diluição da amostra para a determinação da quantidade de acetaldeído.

No tubo foram adicionados 300 μL da solução de S(IV) $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e 50 μL da amostra, sendo introduzido no luminômetro, e após 60 s foram feitas as injeções de 50 μL de solução de luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e de 300 μL de solução do complexo de Ni(II)/G₄ $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão borato com início imediato da aquisição dos valores de intensidade de radiação emitida por 30 s.

Para determinar a exatidão do método proposto foram feitos ensaios de recuperação em triplicata, adicionando às amostras de álcool combustível acetaldeído em duas concentrações diferentes ($1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

5.2.2.3. Obtenção da curva analítica para determinação de S(IV)

Os estudos foram conduzidos adicionando-se no tubo, com auxílio de micropipeta, 300 μL da solução de S(IV) $(0,5\text{--}100) \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e a seguir 300 μL de solução de Ni(II) $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O tubo foi introduzido no equipamento, e após 10 s foi feita a injeção de 50 μL de solução de luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com início imediato da aquisição dos valores de intensidade de radiação emitida.

Para que houvesse maior reprodutibilidade nos dados obtidos, a suspensão de Ni(OH)₂ no tubo foi homogeneizada e não pôde ser utilizada por mais de uma hora.

O sinal analítico foi avaliado a partir do valor de intensidade máxima de radiação emitida ($I_{\text{máx}}$) e a área da intensidade de radiação vs. tempo. Cada solução de S(IV) foi analisada 5 vezes repetidamente. Uma curva analítica foi construída relacionando a média dos valores de $I_{\text{máx}}$ ou a média dos valores da área com a concentração de S(IV).

As soluções foram termostatizadas na temperatura desejada por pelo menos 10 minutos antes da mistura dos reagentes.

5.2.2.4. Preparo das amostras de vinho e açúcar para determinação de S(IV)

a) Vinhos: preparadas por diluição direta de 0,200 a 2,00 mL de amostra com água deionizada a 100,0 mL em balão volumétrico, de modo a resultar em concentrações finais de S(IV) na faixa de $5,0 \cdot 10^{-7}$ a $5,0 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ (diluição de 50 a 500 vezes).

b) Açúcar refinado: 3,9 a 4,0 g de amostra foram pesados (precisão de 0,1 mg) e dissolvidos em 100,0 mL de água em balão volumétrico.

5.2.2.5. Sistema em fluxo para separação do analito da matriz por unidade de difusão gasosa

A separação do analito da matriz das amostras diluídas antes da reação quimiluminescente foi feita empregando-se um sistema em fluxo contendo uma célula de difusão gasosa de 920 µL construída a partir de dois blocos de acrílico, conforme a figura 2.

Neste sistema, soluções de H₂SO₄ 1,0 mol L⁻¹ e de amostras diluídas ou solução-padrão de S(IV) $1,0 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ foram bombeadas a 1,7 mL min⁻¹ em um reator de 20 cm para liberação de dióxido de enxofre (solução doadora). A seguir, a mistura era conduzida até uma célula de difusão gasosa (figura 3).

Uma membrana de politetrafluoretileno (PTFE) (tamanho dos poros 0,02 µm e espessura 0,45 µm) foi disposta de modo a cobrir e dividir ao meio um canal de 4 mm de profundidade, 2 mm de largura e 115 mm de comprimento, arranjado no formato de chicanas.

A solução aceptora de NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi bombeada em sentido contrário a $0,25 \text{ mL min}^{-1}$ e admitida na secção superior do canal da célula de difusão. A solução de NaOH resultante, contendo S(IV) proveniente da amostra e livre das espécies presentes na matriz, foi então coletada para imediata análise.

Figura 2. Diagrama esquemático do sistema em fluxo para separação do analito da matriz para determinação de S(IV) por quimiluminescência. H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Comprimento da bobina para mistura 20 cm. Diâmetro interno dos tubos 0,8 mm.

Figura 3. Vistas frontal e superior da célula de difusão empregada no sistema em fluxo para separação do analito da matriz para determinação de S(IV).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Desenvolvimento de método analítico para determinação de aldeído

O acompanhamento da intensidade de radiação emitida em função do tempo foi realizado após a mistura dos reagentes na seguinte ordem: 300 μL de S(IV) ($5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ou $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$); 50 μL de formaldeído ou acetaldeído (concentração variável); após 60 s adição de 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 300 μL da solução de Ni(II)/G₄ $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de G₄ em excesso) em tampão borato $0,100 \text{ mol L}^{-1}$.

Na figura 4 observa-se a variação da velocidade da reação quimiluminescente na presença de formaldeído. Aumentando-se a concentração deste, o valor de $I_{\text{máx}}$ diminui e a área do pico aumenta, indicando uma redução na velocidade da reação, porém com uma maior eficiência.

Para a observação de uma variação melhor do $I_{\text{máx}}$ foram empregadas soluções de S(IV) de concentrações iniciais iguais a $5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, nos experimentos realizados com formaldeído e acetaldeído, respectivamente. Salienta-se que quanto maior a concentração de S(IV), maior é o valor de $I_{\text{máx}}$ na ausência de aldeído, ou seja, a concentração de S(IV) define a extensão do intervalo de escala de medições (comparação das ordenadas das figuras 5 e 6).

Observa-se uma diminuição acentuada de $I_{\text{máx}}$ com o aumento da concentração de formaldeído na faixa de $(0,50 - 10) \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, seguida de um menor decréscimo (figura 5). Isso pode estar relacionado com a alteração da velocidade de reação com o luminol ou a formação do aducto de S(IV) com o formaldeído.

Figura 4. Intensidade de radiação emitida em função do tempo após a mistura dos reagentes na seguinte ordem: 300 μL de S(IV) $5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; 50 μL de formaldeído (**A** = zero; **B** = 5,0; **C** = 50 ; **D** = 500; **E** = 1000). $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; após 60 s adição de 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 300 μL da solução de Ni(II)/G₄ $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de G₄ em excesso) em tampão borato $0,100 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,25). T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar.

Figura 5. Variação de $I_{\text{máx}}$ com a concentração de formaldeído. Mistura das soluções na seguinte ordem: 300 μL de S(IV) $5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; 50 μL de formaldeído ($5,0 \cdot 10^{-5} - 1,0 \cdot 10^{-2}$) mol L^{-1} ; após 60 s adição de 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 300 μL da solução de Ni(II)/G₄ $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de G₄ em excesso) em tampão borato $0,100 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,25). T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar.

Figura 6. Variação de $I_{\text{máx}}$ com a concentração de formaldeído. Mistura das soluções na seguinte ordem: 300 μL de S(IV) $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; 50 μL de formaldeído ($1,0 \cdot 10^{-4} - 1,0 \cdot 10^{-2}$) mol L^{-1} ; após 60 s adição de 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 300 μL da solução de Ni(II)/G₄ $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de G₄ em excesso) em tampão borato $0,100 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,25). T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar.

Na figura 7 observa-se um aumento da área do pico de intensidade de radiação vs. [formaldeído], atingindo valores constantes, evidenciando que a reação quimiluminescente é mais eficiente na presença de formaldeído.

Para uma melhor comparação, duas novas séries de experimentos foram realizadas empregando-se solução de S(IV) (300 μL de S(IV) $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) na presença de formaldeído (figura 6) e acetaldeído (figura 8). Observa-se que a supressão do sinal é muito mais pronunciada pelo formaldeído do que para o acetaldeído. Para um mesmo grau de supressão de $I_{\text{máx}}$ foi necessário empregar uma solução de acetaldeído cerca de dez vezes mais concentrada do que a solução de formaldeído. Assim para o uso dessa reação com finalidades de desenvolvimento de método analítico, a sensibilidade para o formaldeído seria maior.

A curva da figura 8 pode ser ajustada segundo uma exponencial ($I_{\text{máx}} = 116.449 + 1.128.188 e^{-x/19,214}$, sendo x a concentração de acetaldeído), que pode ser também ser representada graficamente por uma reta (figura 9).

A determinação de acetaldeído em amostras de álcool combustível empregando-se o método proposto no presente trabalho, baseado na curva analítica representada nas figuras 8 ou 9, levou aos resultados apresentados na tabela 1. Os valores estão dentro do intervalo de concentração para 5 amostras diferentes $[(0,6-1,7) \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}]$ encontrados por Pereira e colaboradores⁽²³⁾ usando a técnica de eletroforese capilar, a qual possibilita a detecção não somente do acetaldeído, como também do formaldeído e acetona ($0 - 1,62 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) em amostras de álcool combustível. O acetaldeído é a impureza majoritária e sua concentração possui uma ampla variação nas diferentes amostras analisadas.

Figura 7. Variação da área do pico com a concentração de formaldeído. Mistura das soluções na seguinte ordem: 300 μL de S(IV) $5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; 50 μL de formaldeído ($5,0 \cdot 10^{-5} - 1,0 \cdot 10^{-2}$) mol L^{-1} ; após 60 s adição de 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 300 μL da solução de Ni(II)/G₄ $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de G₄ em excesso) em tampão borato $0,100 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,25). T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar.

Figura 8. Variação de $I_{\text{máx}}$ com a concentração de acetaldeído. Mistura das soluções na seguinte ordem: 300 μL de S(IV) $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; 50 μL de acetaldeído ($1,0 \cdot 10^{-4} - 0,10$) mol L^{-1} ; após 60 s adição de 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 300 μL da solução de Ni(II)/G₄ $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de G₄ em excesso) em tampão borato 0,100 mol L^{-1} (pH = 9,25). T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar.

Equação ajustada: $I_{\text{máx}} = 116.449 + 1.128.188 e^{-x/19,214}$, sendo x concentração de acetaldeído.

Figura 9. Variação da função de $\ln(I_{\text{máx}})$ em função da concentração de acetaldeído, conforme dados representados na figura 8.

Equação da reta: $\ln(I_{\text{máx}} - 116.449) = 13,9 - 0,0506.x$, sendo x concentração de acetaldeído, $R = 0,99055$.

Tabela 1. Resultados das determinações de acetaldeído em amostras de álcool combustível e testes de recuperação.

Amostras de álcool combustível	[acetaldeído] / $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	% de recuperação pela adição de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de acetaldeído	% de recuperação pela adição de $2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de acetaldeído
amostra 1	$1,5 \pm 0,3$	95 ± 1	97 ± 1
amostra 2	$1,3 \pm 0,2$	95 ± 2	99 ± 1

Cabe ressaltar que no presente método tanto acetaldeído como formaldeído contribuem para o sinal analítico. Para uma mistura contendo esses dois aldeídos, o resultado final também poderia ser expresso na forma de aldeído total. No entanto, a presença de formaldeído é muito pequena na amostra de álcool combustível, optando-se por expressar o resultado apenas na forma de acetaldeído.

Verificou-se que etanol e acetona não alteram a intensidade de radiação emitida, no método quimiluminescente proposto. Essa constatação foi realizada comparando-se o resultado similar de alguns testes de controle registrando o sinal após a mistura dos reagentes na seguinte ordem: 300 μL de S(IV) $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; 50 μL de acetaldeído $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (solução tendo como solvente apenas água ou etanol 10% ou acetona $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$); após 60 s adição de 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; e 300 μL da solução de Ni(II)/G₄ $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de G₄ em excesso) em tampão borato $0,100 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,25).

Para avaliar a exatidão do método proposto, uma quantidade conhecida de acetaldeído foi adicionada à amostra. As porcentagens de recuperação (tabela 1) indicam boa exatidão.

O acetaldeído é geralmente mais abundante que o formaldeído na atmosfera de grandes centros brasileiros, como consequência do uso do álcool hidratado e gasolina misturada com álcool anidro como combustível de automóveis.^(24,25)

A exposição humana aos aldeídos voláteis (como formaldeído, acetaldeído e propionaldeído) causa irritação dos olhos, problemas respiratórios, dor de cabeça, fadiga e sede.^(26,27) O acetaldeído é um composto supostamente carcinogênico e mutagênico.⁽²⁷⁾

Devido à importância industrial, ambiental e toxicológica de aldeídos e S(IV) muitos métodos têm sido propostos. Os principais métodos de análise de aldeídos são baseados em técnicas espectrofotométricas e cromatográficas.^(28,29) No método espectrofotométrico o resultado final da análise é expresso na forma de aldeído total.

O método proposto neste trabalho é simples, com o uso de pequenos volumes de reagentes, equipamento de baixo custo e tempo de análise curto.

A cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) tem as desvantagens do uso de grandes volumes de solventes orgânicos e longos tempos de análise. Por outro lado, a eletroforese capilar tem superado algumas técnicas no que se refere à separação de analitos, versatilidade e simplicidade.

5.3.2. Autoxidação de Ni(OH)_2 induzida por S(IV) na presença de luminol

A figura 10 mostra que a mistura de uma suspensão de Ni(OH)_2 com solução de luminol gera uma emissão de radiação de baixa intensidade (*figura interna*). Na presença de S(IV) a intensidade emitida é acentuada. Este aumento é função da concentração da solução de S(IV).

Observou-se que com o aumento da concentração de S(IV) houve diminuição da largura e aumento da altura do pico, ou seja, a reação é mais rápida e a intensidade máxima de radiação é mais intensa.

Inicialmente foram feitos alguns estudos para a determinação das melhores condições experimentais para o possível desenvolvimento do método analítico, que serão apresentados nos próximos itens.

5.3.2.1. Efeito da ordem de adição dos reagentes

A ordem de mistura dos reagentes foi avaliada em função do $I_{\text{máx}}$ obtido na presença de S(IV). Isso permite avaliar a condição em que o efeito ativador de S(IV) é máximo, de modo a assegurar a maior sensibilidade na detecção do analito. Para isto, soluções de luminol, Ni(OH)_2 e S(IV) (ou água, utilizada como branco) foram misturadas seqüencialmente em todas as combinações possíveis.

A melhor ordem de adição obtida foi a seguinte: adição com micropipeta de um volume de solução de S(IV) no tubo; seguida da adição com micropipeta de um volume da suspensão de Ni(OH)_2 . Por último uma solução de luminol foi adicionada automaticamente pelo injetor 1 do equipamento.

Foi ajustado também o intervalo de tempo entre a injeção da suspensão de Ni(OH)_2 e a injeção da solução de luminol. O melhor tempo obtido foi de 10 s de intervalo entre as injeções.

Figura 10. Intensidade de radiação emitida em função do tempo decorrente de mistura de 300 μL de S(IV) $5,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, 300 μL de suspensão de Ni(II) $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. $T = 25,0^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar. *Figura interna:* mesmas condições experimentais na ausência de S(IV) (“branco”).

5.3.2.2. Efeito da temperatura

A velocidade da reação aumenta com a temperatura (figura 11), melhorando portanto a sensibilidade do método analítico.

Cabe salientar que o emprego de soluções de concentrações de S(IV) da ordem de 10^{-8} mol L⁻¹ origina um significativo sinal analítico. Escolheu-se 25°C como temperatura de trabalho.

A água usada para preparar as soluções diluídas de S(IV) e Ni(II) foi termostatizada por pelo menos 10 minutos. A solução diluída de S(IV) foi preparada imediatamente antes da mistura de todas as soluções (também termostatizadas) dos demais reagentes.

Todos esses cuidados especiais são necessários a uma solução muito diluída, já que o S(IV) é oxidado pelo oxigênio dissolvido, não sendo estável por um longo período (5–10 minutos).

5.3.2.3. Curva analítica para S(IV)

Para a obtenção da curva analítica as seguintes soluções foram termostatizadas a 25°C e misturadas na seguinte ordem:

- 1º: 300 µL de S(IV) ($5,0 \cdot 10^{-8}$ – $1,0 \cdot 10^{-5}$) mol L⁻¹;
- 2º: 300 µL de suspensão de Ni(II) $7,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ / NaOH $5,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹;
- 3º: Após 10 segundos adição de 50 µL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹.

Figura 11. Variação de $I_{\text{máx}}$ com a concentração de S(IV) em diferentes temperaturas. Mistura de reagentes na seguinte ordem 300 μL de S(IV) $(0,5\text{--}20) \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, 300 μL de suspensão de Ni(II) $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Soluções saturadas com ar.

A relação do valor máximo $I_{\text{máx}}$ com a concentração de S(IV) foi linear na faixa de $5,0 \cdot 10^{-8}$ a $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção calculado de $1,3 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (figura 12). Quando considerada a área do respectivo sinal quimiluminescente, a faixa de linearidade foi relativamente estreita (figura 13). Desse modo, optou-se pelo uso de $I_{\text{máx}}$ como sinal analítico.

5.3.2.4. Determinação de S(IV) em amostras de vinho e açúcar refinado.

Separação do analito da matriz

Vários estudos apresentados no capítulo 1 demonstraram que, na presença de íons metálicos na faixa de concentração de $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, S(IV) ao nível de $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (solução aquosa saturada com ar) é totalmente oxidado após cerca de duas horas. Para soluções mais diluídas de S(IV) este é um efeito que não pode ser negligenciado, ainda mais se considerado que Fe(III) pode estar presente em níveis próximos a $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ mesmo em água altamente purificada.⁽³⁰⁾ Deste modo, todas as soluções de S(IV) foram utilizadas imediatamente após a preparação, a partir de diluição direta de solução estoque $1,00 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

Íons metálicos de transição podem ocasionar sinergismo positivo ou negativo no que se refere à autooxidação de complexos de Ni(II) na presença de S(IV).⁽²¹⁾ Açúcares ou quaisquer substratos orgânicos que possam atuar como seqüestrantes de radicais impedem as etapas de propagação da cadeia envolvendo radicais de enxofre.

Figura 12. Variação de $I_{\text{máx}}$ em função da concentração de S(IV). Mistura dos reagentes na seguinte ordem: 300 μL de S(IV) ($5,0 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$) mol L^{-1} , 300 μL de suspensão de Ni(II) $7,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. $T = 25,0^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar.

Figura 13. Variação da área do pico em função da concentração de S(IV). Mistura dos reagentes na seguinte ordem: 300 μL de S(IV) ($5,0 \cdot 10^{-8} - 1,0 \cdot 10^{-5}$) mol L^{-1} , 300 μL de suspensão de Ni(II) $7,0 \cdot 10^{-5}$ mol L^{-1} / NaOH $5,0 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} e 50 μL de solução luminol $1,0 \cdot 10^{-5}$ mol L^{-1} / NaOH $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol L^{-1} . T = 25,0°C. Soluções saturadas com ar.

O método proposto no presente trabalho foi aplicado para determinação de S(IV) livre em amostras de vinhos e açúcar refinado. Foi empregado um processo de separação a partir de um sistema de difusão gasosa⁽¹⁰⁾, representado pela figura 2. A amostra contendo S(IV) é misturada em fluxo a uma solução de ácido sulfúrico para liberação de dióxido de enxofre. A solução resultante é introduzida em um módulo de difusão gasosa contendo uma membrana microporosa. Neste módulo, o SO₂ é captado em um fluxo acceptor e direcionado para o detector. Este tratamento permite a determinação de S(IV) livre na amostra. Já a determinação do S(IV) total requer uma etapa prévia de adição de solução de NaOH para liberação do SO₂ ligado a certos compostos orgânicos, tais como aldeídos⁽³¹⁾, não sendo alvo destes estudos.

Empregando-se o sistema de difusão gasosa para preparação de amostra de S(IV) $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, verificou-se que o aproveitamento global do SO₂ liberado foi de 78%, a partir da mistura com solução de H₂SO₄ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ por uma solução acceptora de NaOH $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

O sistema de detecção quimiluminescente proposto pode ser empregado para detectar concentrações muito baixas de S(V) (da ordem de $10^{-8} - 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), e um pré-tratamento de amostras tão diluídas não é adequado. Procedimentos de adição e recuperação nestes níveis de concentração também não são recomendados, pois a oxidação de S(IV) pelo oxigênio dissolvido altera significativamente a concentração de analito em um curto espaço de tempo. A curva de $I_{\text{máx}}$ vs. [S(IV)] (figura 12) é linear para concentração de S(IV) no intervalo de $5 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Para concentrações de S(IV) maiores que $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, a curva se desvia da reta ajustada (valores de $I_{\text{máx}}$ obtidos são menores do

que os esperados). Assim, as amostras de vinho e açúcar foram diluídas de modo a obter uma solução na faixa de concentração de $5,0 \cdot 10^{-7}$ a $5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Determinação de S(IV) livre em amostras de vinho

Empregando-se a curva analítica (figura 12) foi determinada a concentração de S(IV) livre para amostras de vinhos branco e tinto, conforme representado na tabela 2. As amostras foram diluídas convenientemente, de modo a resultar em soluções de concentração da ordem de $5,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, e introduzidas no sistema em fluxo de separação do analito da matriz conforme descrito no item 5.2.2.4. A seguir, 300 μL de solução aceptora contendo S(IV) foram coletados e analisados para S(IV) conforme descrito no item 5.2.2.5.

Tabela 2. Determinação de S(IV) livre em amostras de vinhos branco e tinto, através de detecção quimiluminescente (n = 3).

Amostras	S(IV) livre / mol L^{-1}
Vinho Branco 1	$(3,41 \pm 0,03) \cdot 10^{-4}$
Vinho Branco 2	$(3,35 \pm 0,02) \cdot 10^{-4}$
Vinho Tinto 1	$(1,39 \pm 0,04) \cdot 10^{-4}$
Vinho Tinto 2	$(1,44 \pm 0,03) \cdot 10^{-4}$

Observa-se que amostras de vinho branco possuem mais S(IV) livre do que amostras de vinho tinto. Verifica-se, ainda, que todas as amostras analisadas encontram-se dentro dos limites máximos permitidos pela legislação para S(IV) total nos vinhos⁽³²⁾ expressos como: 0,035 g SO_2 / 100 mL de vinho ($5,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$).

Determinação de S(IV) livre em amostras de açúcar refinado

A determinação de S(IV) livre em amostras de açúcar refinado envolveu a dissolução de cerca de 4 g de amostra em 100 mL de água deionizada em balão volumétrico. A solução resultante foi introduzida no mesmo sistema em fluxo para separação do analito da matriz, com subsequente análise da solução aceptora contendo S(IV) de maneira análoga ao já discutido para as amostras de vinhos. Foram realizadas análises de soluções de açúcar às quais alíquotas definidas de solução-padrão de S(IV) foram previamente adicionadas (ensaio de adição e recuperação).

A tabela 3 relaciona os resultados obtidos a partir da análise de S(IV) em duas marcas de açúcar refinado, assim como os valores de recuperação para as adições de S(IV). É possível verificar que os valores de recuperação das adições de S(IV) são muito próximos a 100%. Além disto, os resultados obtidos são condizentes com aqueles esperados em amostras de açúcar refinado, que variam tipicamente de 0,3 a 4,8 μg de S(IV) total expresso como SO_2 por grama de amostra, de acordo com estudo de conformidade realizado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro) com 9 marcas de açúcar refinado de procedência nacional em 1999.⁽³³⁾ O limite previsto pela legislação brasileira para açúcar refinado é de 20 μg de S(IV) total (expresso como SO_2) por grama de amostra.⁽³²⁾

Tabela 3. Valores de S(IV) livre obtidos para duas amostras de açúcar refinado (n = 3) e valores de recuperação para as adições de soluções-padrão de S(IV).

Amostras de açúcar	[S(IV)] livre / $\mu\text{g de SO}_2 \cdot \text{g}^{-1}$ de amostra	[S(IV)] na solução da amostra dissolvida/ mol L^{-1}	Recuperação adição de S(IV) $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ / %	Recuperação adição de S(IV) $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ / %
Açúcar 1	$2,8 \pm 0,1$	$(1,75 \pm 0,07) \cdot 10^{-6}$	$93,2 \pm 0,8$	100 ± 1
Açúcar 2	$3,4 \pm 0,2$	$(2,09 \pm 0,09) \cdot 10^{-6}$	$97,4 \pm 0,9$	102 ± 1

5.4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A velocidade da reação de autooxidação do complexo de Ni(II)/G₄ induzida por S(IV) é alterada na presença de acetaldeído ou formaldeído devido à formação de aductos. Para mesmas concentrações de Ni(II)/G₄ e S(IV), quanto maior a concentração do aldeído presente, menor o I_{máx} obtido, porém mais eficiente é a reação dos radicais formados com o luminol.

Uma comparação foi feita para a reação quimiluminescente na presença de formaldeído e acetaldeído. A supressão do I_{máx} foi maior para o formaldeído, portanto, um método analítico utilizando este último na reação é mais sensível.

O método quimiluminescente pode ser empregado para determinação de formaldeído ($(5,0 \cdot 10^{-5} - 1,0 \cdot 10^{-2}) \text{ mol L}^{-1}$) e acetaldeído ($(1,0 \cdot 10^{-4} - 0,10) \text{ mol L}^{-1}$), não sendo possível detectar separadamente cada um desses aldeídos.

Amostras de álcool combustível foram utilizadas para se determinar a concentração de acetaldeído através do método analítico quimiluminescente desenvolvido neste trabalho. Adicionando-se luminol ao meio reacional, há emissão de radiação a qual foi relacionada com a concentração do aldeído na amostra. É importante ressaltar que como a quantidade de formaldeído na amostra é muito pequena, considerou-se a concentração de aldeído total igual a de acetaldeído.

Ensaio de adição e recuperação foram realizados com amostras de álcool combustível. As porcentagens de recuperação ficaram entre 95% e 99%, validando o método proposto para determinação de acetaldeído em amostras de álcool combustível.

Assim, o método proposto é simples, de baixo custo e de rápida análise.

A mistura de soluções de luminol e Ni(OH)_2 é acompanhada de emissão de radiação de baixíssima intensidade. A posterior adição de S(IV) a esta mistura aumenta a intensidade de emissão. Este aumento é função da concentração da solução de S(IV) adicionada, possibilitando a detecção de S(IV) na faixa de $5,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção estimado de $1,3 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

A temperatura é muito importante no desenvolvimento do método analítico quimiluminescente, já que quanto maior a temperatura mais rápida é a reação e maior a sensibilidade do método.

A fim de se evitar a influência de algumas espécies na reação quimiluminescente, um sistema em fluxo empregando uma unidade de difusão gasosa foi utilizado para separação do analito da matriz das amostras diluídas. O método proposto (diluição ou dissolução das amostras; separação do analito da matriz através de sistema em fluxo com célula de difusão gasosa; detecção "off line" empregando-se a reação quimiluminescente em modo estático) permitiu a determinação de S(IV) livre em amostras de vinhos branco e tinto e açúcar refinado.

Ensaio de adição e recuperação foram realizados com amostras de açúcar refinado. Índices de recuperação entre 93% e 102% foram obtidos, consolidando a validade do procedimento proposto para determinação de S(IV) em amostras de açúcar refinado.

A elevada sensibilidade do sistema de detecção quimiluminescente sugerido possibilita a detecção de S(IV) em amostras ambientais, por exemplo água de chuva, onde S(V) encontra-se presente em baixíssimas concentrações (10^{-7} mol L⁻¹).

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bonifácio, L. R.; Coichev, N.; Chemiluminescent Determination of Sulfite Traces Based on the Induced Oxidation of Ni(II)/tetraglycine Complex by Oxygen in the Presence of Luminol: Mechanistic Considerations. *Anal. Chim. Acta* **2004**, 517, 125–130.
2. West, P. W.; Gaeke, G. C.; Fixation of Sulfur Dioxide as Disulfitomercurate(II) and Subsequent Colorimetric Estimation. *Anal. Chem.* **1956**, 28, 1816–1819.
3. Kuratli, M.; Pretsch, E.; Sulfur Dioxide-Selective Optodes. *Anal. Chem.* **1994**, 66, 85–91.
4. Gong, G. Q.; Xia, H.; Wang, H. G.; A Fluorimetric Method for the Determination of Atmospheric Sulfur-Dioxide with 2'-7'-Dichlorofluorescein. *Anal. Lett.* **1995**, 28, 909–915.
5. Migneault, D. R.; Enhanced Detection of Sulfite by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy with High-Performance Liquid Chromatography. *Anal. Chem.* **1989**, 61, 272–275.
6. Simon, P.; Dasgupta, P. K.; Wet Effluent Denuder Coupled Liquid/Ion Chromatography Systems: Annular and Parallel Plate Denuders. *Anal. Chem.* **1993**, 65, 1134–1139.

7. Alipázaga, M. V.; Kosminsky, L.; Coichev, N.; Bertotti, M.; S(IV) Induced Autoxidation of Cu(II)/tetraglycine Complexes in the Presence of Aldehydes: Mechanistic Considerations and Analytical Applications. *Talanta* **2002**, 57, 375–381.
8. Ekkad, N.; Huber, C. O.; A Coulometer for Determination of Residual Sulfite Following the Dechlorination of Water. *Anal. Chim. Acta* **1996**, 332, 155–160.
9. Smith, V. J.; Determination of Sulfite Using a Sulfite Oxidase Enzyme Electrode. *Anal. Chem.* **1987**, 59, 2256–2259.
10. Tese de Doutorado de Rodrigo Leandro Bonifácio. Título: Estudos Espectrofotométricos e por Quimiluminescência da Autoxidação de Complexos de Ni(II) ou Cu(II)/tetraglicina Induzida por S(IV). Aplicações Analíticas, Universidade de São Paulo - Instituto de Química, **2004**.
11. Zhang, D.; Maeda Y.; Munemori M.; Chemiluminescence Method for Direct Determination of Sulfur Dioxide in Ambient Air. *Anal. Chem.* **1985**, 57, 2552–2555.
12. Takenara, N.; Maeda Y.; Munemori, M.; Zhang, D.; Chemiluminescence Method for the Direct Determination of Sulfur Dioxide. *Analyst* **1988**, 113, 139–143.
13. Huang, Y. L.; Kin, J. M.; Schmid, R. D.; Determination of Sulfite in Wine Through Flow-Injection Analysis Based on the Suppression of Luminol Chemiluminescence. *Anal. Chim. Acta* **1992**, 266, 317–323.
14. Sasaki, S.; Arikawa, Y.; Shimomura, M.; Ikebukuro, K.; Karube, I.; Measurement of Sulfite Using Sulfite Oxidase and Luminol Chemiluminescence. *Anal. Comm.* **1997**, 34, 299–301.

15. Qin, W.; Zhang, Z. J.; Zhang, C. J.; Chemiluminescence Flow System for the Determination of Sulfite. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1998**, 361, 824–826.
16. Gunderman, K. D.; McCapra, F.; *Chemiluminescence in Organic Chemistry*; Springer Verlag, Berlin **1987**, p. 77–108 e 167–191.
17. White, E. H.; Zafiriou, O.; Kagi, H. H.; Hill, J. H. M.; Chemiluminescence of Luminol: the Chemical Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 940–941.
18. Ferreira, E. C.; Rossi, A. V.; A quimiluminescência como ferramenta analítica: do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise. *Quim. Nova* **2002**, 25, 1003–1011.
19. Kaneda, H.; Osawa, T.; Kawakishi, S.; Munekata, M.; Koshino, S.; Contribution of Carbonyl-bisulfite Adducts to Beer Stability. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, 42, 2428–2432.
20. Yoshida, D.; Moya, H. D.; Bonifácio, R. L.; Coichev, N.; Kinetics of Copper(III)/(II) Tetraglycine Reactions with Sulfite. Analytical Potentialities. *Spect. Lett.* **1998**, 31, 1495–1512.
21. Alipázaga, M. V.; Coichev, N.; Synergistic Effect of Some Transition Metal Ions on the Sulfite Induced Autoxidation of Cu(II)/Tetraglycine Complex. Analytical Applications *Anal. Lett.* **2003**, 36, 2255–2275.
22. Moya, H. D.; Neves, E. A.; Coichev, N.; A Further Demonstration of Sulfite-Induced Redox Cycling of Metal Ions Initiated by Shaking. *J. Chem. Educ.* **1999**, 76, 930–932.
23. Pereira, E. A.; Tavares, M. F. M.; Stevanato, A.; Cardoso, A. A.; Avaliação de contaminantes inorgânicos e orgânicos em álcool combustível utilizando eletroforese capilar. *Quim. Nova* **2006**, 29, 66–71.

24. Tanner, R. L.; Miguel, A. H.; De Andrade, J. B.; Atmospheric Chemistry of Aldehydes – Enhanced Peroxyacetyl Nitrate Formation from Ethanol – Fueled Vehicular Emissions. *Environ. Sci. Technol.* **1988**, 22, 1026–1034.
25. Brickus, L. S. R.; Cardoso, J. N.; Neto, F. R. D.; Distributions of Indoor and Outdoor Air Pollutants in Rio de Janeiro, Brazil: Implications to Indoor Air Quality in Bayside Offices. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32, 3485–3490.
26. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 4th, John Wiley & Sons, **1960**.
27. MSDS-Material Safety Data Sheet, <http://www.jtbaker.com>.
28. Vairavamurthy, A.; Roberts, J. M.; Newman, L.; Methods for Determination of Low Molecular Weight Carbonyl Compounds in the Atmosphere: a Review. *Atmos. Environ.* **1992**, 26A, 1965–1993.
29. Cardoso, A. A.; Pereira, E. A.; Importância de Determinação de Traços de Formaldeído no Ar – Uma Revisão. *Anais Assoc. Bras. Quim.* **1999**, 48, 63.
30. Fronaeus, S.; Berglund, J.; Elding, L. I.; Kinetics and Mechanism for Manganese Catalyzed Oxidation of Sulfur(IV) by Oxygen in Aqueous Solution. *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 4527–4538.
31. Falcone, F.; Maxwell, K. C.; Simultaneous Continuous Flow Analysis of Free and Total Sulfur Dioxide in Wine. *J. Agric. Food. Chem.* **1992**, 40, 1355–1357.
32. Diário Oficial da União, 12 de março de 2001, Resolução RDC nº 34, de 9 de março de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).
33. INMETRO. *Home page*. “Programa de análise de produtos: açúcar”: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/acucar.asp>. Outubro de 2006.

Capítulo 6: Algumas considerações finais.

6.1. ALGUMAS CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao final de cada capítulo foram enfatizadas as principais observações de cada estudo, procurando-se efetuar comparações da autooxidação dos vários complexos estudados. No presente capítulo será feita uma abordagem mais geral.

O baixo custo, eficiência e versatilidade fazem com que o dióxido de enxofre seja amplamente utilizado com finalidades industriais. S(IV) (SO_3^{2-} , HSO_3^- e H_2SO_3) é utilizado como antioxidante em indústrias farmacêuticas e alimentícias, agente branqueador de polpa de celulose em indústrias de celulose e papel, seqüestrante de oxigênio em água destinada à geração de vapor e no tratamento de minérios de sulfeto.

A sulfitagem do vinho, como é conhecida a adição de compostos de S(IV) ao mosto de uva, é uma das etapas mais importantes na fabricação desta bebida milenar. Dentre os efeitos da sulfitagem, destacam-se a ação anti-séptica, antioxidante e inibidora de certas enzimas oxidantes. Em dose adequada, a sulfitação promove a seleção do levedo ao eliminar as células menos vigorosas e bactérias contaminantes.

Na fabricação do açúcar, o dióxido de enxofre é adicionado durante a etapa de clarificação. Esta operação é utilizada para o branqueamento do melado da cana, de coloração escura.

Do ponto de vista ambiental, SO_2 é um dos principais poluentes atmosféricos, oriundo principalmente da combustão de combustíveis fósseis. Na literatura encontram-se descritos vários trabalhos que buscam elucidar os mecanismos de oxidação do dióxido de enxofre em fase aquosa pelo oxigênio, pois esta reação é importante para a produção de ácido sulfúrico sob condições atmosféricas.

Traços de íons metálicos (em nuvens, água de chuva e em partículas de aerossol) são importantes na remoção de S(IV) e deve ser considerado no balanço químico global. A elucidação do efeito do íon metálico pode permitir o desenvolvimento de modelos adequados para o controle de poluição especialmente na remoção de S(IV) de gases de exaustão.

O crescimento da exposição humana ao sulfito faz com que seus efeitos tóxicos sejam alvo de preocupação crescente por organismos ligados à saúde humana. Segundo o FDA ("Food and Drug Administration"), uma em cada 100 pessoas é sensível a sulfito, assim como 4 a 8% dos pacientes asmáticos. Embora segura para a maioria da população, a exposição a S(IV) é de imprevisível gravidade para asmáticos e pessoas hiper-sensíveis, podendo levar a dificuldades respiratórias, choque anafilático e urticária.

A preservação de amostras para futura determinação analítica é um grave problema, uma vez que na presença de traços de íons metálicos a oxidação de S(IV) ocorre em segundos. Íons de ferro(III) freqüentemente estão presentes como impurezas na água de reagentes.

Vários esclarecimentos sobre o mecanismo da reação de autooxidação de íons metálicos puderam ser obtidos pelo acompanhamento da concentração do íon metálico no estado de valência 3+, do consumo de oxigênio e pela detecção do radical $\text{SO}_3^{\bullet-}$.

A oxidação rápida do íon metálico (Ni(II), Co(II) e Cu(II)) e de S(IV) na presença de oxigênio, pode ser claramente entendida na presença de um meio contendo um ligante (G_n) adequado que forma um complexo estável com o íon metálico no estado de oxidação 3+. Em alguns casos um ciclo de reações redox pode ser verificado. A combinação de estudos cinéticos com equilíbrios de formação

de complexos permitiu acompanhar as variações no estado de oxidação do íon metálico por medições espectrofotométricas com desenvolvimento de método analítico sensível para S(IV) (limite de detecção da ordem de $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$).

Formaldeído e acetaldeído, que formam aductos com S(IV), mudam a velocidade de autooxidação do íon metálico aumentando o período de indução. Assim a reação é mais lenta e menos efetiva na presença de formaldeído. Esses aldeídos podem interferir na determinação de S(IV). Em amostras de vinho, S(IV) é encontrado como uma fração livre e como aducto. Nos estudos⁽¹⁾ realizados pelo nosso grupo de pesquisa foi possível verificar o efeito de aldeídos em concentrações muito baixas ($10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), usualmente presente em amostras ambientais (água de chuva, “fog”, aerossol e soluções empregadas como coletoras de SO₂ do ar).

Baseado na formação do aducto de S(IV) e aldeídos, no presente trabalho foi desenvolvido um método analítico quimiluminescente para determinação de acetaldeído em álcool combustível.

O estudo de mecanismos de reações de autooxidação de íons metálicos empregando diferentes técnicas (espectrofotometria, ressonância paramagnética nuclear, quimiluminescência e eletroquímica) permitiram realizar experimentos com os reagentes em concentrações muito baixas (da ordem de $10^{-7} - 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$).

A importância do estudo dessa reação é ainda mais ampla e justifica o cuidadoso estudo cinético não só para o desenvolvimento de métodos analíticos e interesse na química ambiental. Finalmente, da apreciação da literatura e de outros estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa^(2,3), concluiu-se que os danos no DNA promovidos pela autooxidação de S(IV), na presença de íons metálicos de transição, claramente envolvem radicais de óxidos de enxofre (SO₃^{•-}, SO₄^{•-}, SO₅^{•-})

e outras espécies (HSO_5^- , $\cdot\text{OH}$) formadas durante este processo oxidativo. Os estudos aqui apresentados também indicaram a existência de condições críticas (pH, concentração dos reagentes, natureza do íon metálico, ligante e concentração de oxigênio) a serem consideradas na etapa inicial da reação. A identificação das espécies envolvidas nem sempre pode ser realizada com segurança.

O radical $\text{SO}_3^{\bullet-}$ ($E^{\circ}_{\text{SO}_3^{\bullet-}/\text{SO}_3^{2-}} = 0,76$ vs. ENH), formado inicialmente, não deve ser o responsável pela oxidação da guanina devido ao seu potencial de redução relativamente baixo. Portanto outras espécies devem estar envolvidas no dano ao DNA. O ânion HSO_5^- ($E^{\circ}_{\text{HSO}_5^-/\text{SO}_4^{2-}} = 1,75$ vs. ENH) e o radical $\text{SO}_4^{\bullet-}$ ($E^{\circ}_{\text{SO}_4^{\bullet-}/\text{SO}_4^{2-}} = 2,43\text{--}3,08$ vs. ENH), que são oxidantes potentes, devem oxidar não somente a guanina, mas também os outros nucleosídeos. A reação de $\text{SO}_5^{\bullet-}$ ($E^{\circ}_{\text{SO}_5^{\bullet-}/\text{HSO}_5^-} = 1,10$ vs. ENH) com nucleosídeos ainda não foi descrita na literatura. Alguns autores sugerem que a reação de complexos de Cu(II) com HSO_5^- , podem produzir $\text{SO}_4^{\bullet-}$ e $\cdot\text{OH}$, os quais poderiam oxidar os quatro nucleosídeos. Muitos dados mostram que a natureza do íon metálico é muito importante na autooxidação de S(IV) e na eficiência da quebra das fitas de DNA.^(2,3)

Caso o leitor tenha interesse sobre lesões em DNA induzidas pela autooxidação de S(IV) na presença de íons metálicos de transição recomendamos a leitura das referências 4 e 5, artigos de revisão de divulgação, com amplo levantamento bibliográfico.

6.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bonifácio, R. L.; Coichev, N.; Chemiluminescent reaction of sulfite autoxidation in the presence of Ni(II)/tetraglycine and ruthenium(II)/bipy complexes. Mechanistic considerations. *Luminescence* **2005**, 20, 428–434.
2. Alipázaga, M. V.; Moreno, R. G. M.; Linares, E.; Medeiros, M. H. G.; Coichev, N.; Oxidative DNA damage induced by autoxidation of microquantities of S(IV) in the presence of Ni(II)/Gly-Gly-His. *Dalton Trans.* **2005**, 3738–3744.
3. Moreno, R. G. M.; Alipázaga, M. V.; Medeiros, M. H. G.; Coichev, N.; DNA damage induced by sulfite autoxidation catalyzed by copper/tetraglycine complexes. *Dalton Trans.* **2005**, 1101–1107.
4. Pezza, H. R.; Ferreira, C. L.; Suárez-Iha, M. E. V.; Coichev, N.; Cinética e mecanismo da reação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição. *Quim. Nova* **1999**, 22, 529–440.
5. Moreno, R. G. M.; Alipázaga, M. V.; Medeiros, M. H. G.; Coichev, N.; Lesões em DNA induzidas pela autooxidação de S(IV) na presença de íons metálicos de transição. *Quim. Nova* **2006**, 29, 1086–1093.

REAGENTES E SOLUÇÕES

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de pureza analítica (Merck, Aldrich ou Sigma) e água deionizada pelo sistema Nanopure – Ultrapure Water System da Barnstead, $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$.

(a) Solução estoque de $\text{Co}(\text{ClO}_4)_2$ $0,965 \text{ mol L}^{-1}$

Foi preparada da reação direta de carbonato de $\text{Co}(\text{II})$ com ácido perclórico. A padronização foi feita com EDTA.⁽¹⁾

(b) Solução estoque de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ $0,200 \text{ mol L}^{-1}$

Foi preparada a partir da dissolução de 1,27 g de fios de cobre (99,99%, Sigma) com ácido nítrico bidestilado seguido pela diluição em 100 mL de água deionizada. A padronização foi realizada com EDTA, usando murexida como indicador.⁽¹⁾

(c) Solução estoque de $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ $0,200 \text{ mol L}^{-1}$

Foi preparada pela dissolução de 1,17 g de pó de níquel (99,99% Sigma) com ácido nítrico bidestilado seguido pela diluição em 100 mL de água deionizada. A padronização foi feita com EDTA.⁽¹⁾

(d) Soluções estoque de tampão borato $0,100 \text{ mol L}^{-1}$

Os tampões borato de valores de pH 7,51; 7,92; 8,48; 8,79; 9,05; 9,30 foram preparados dissolvendo-se a mesma massa (2,38 g) de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ em cerca

⁽¹⁾ Flaschka, H. A.; *EDTA Titrations*; Pergamon Press; London, **1959**.

de 100 mL de água deionizada em balão volumétrico de 250 mL, seguido da adição de solução padronizada de HClO_4 $1,09 \text{ mol L}^{-1}$ (tampões de valores de pH 7,51; 7,92; 8,48; 8,79; 9,05) ou da adição da solução de NaOH $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ (tampão de valor de pH 9,30) e água até completar o volume do balão. Em todas as soluções tampão foi adicionado perclorato de sódio de modo que a força iônica da solução final foi ajustada em $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. Para as medições dos valores de pH utilizou-se um pHmetro Metrohm modelo 713 equipado com eletrodo de vidro Metrohm (preenchido com NaCl $3,0 \text{ mol L}^{-1}$).

A solução de HClO_4 $1,09 \text{ mol L}^{-1}$ foi obtida a partir da adição de 20,8 mL de HClO_4 de $\tau = 72\%$ e $d = 1,68 \text{ g/mL}$ a cerca de 150 mL de água em balão volumétrico, completando o volume do mesmo a 250 mL com água deionizada. A solução de NaOH $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada a partir da dissolução de cerca de 8,00 g de lentilhas de NaOH em 200 mL de água deionizada em balão volumétrico.

(e) Solução de sulfito $0,0100 \text{ mol L}^{-1}$

Foi preparada diariamente dissolvendo-se 0,0969 g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ em 100 mL de água deionizada isenta de oxigênio (pelo borbulhamento prévio de nitrogênio). Em solução aquosa, um mol de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ gera dois mols de HSO_3^- (eq. 1). A padronização foi efetuada iodometricamente.⁽²⁾

Para preparar as soluções diluídas de sulfito, pequenos volumes de solução estoque foram diluídos com água saturada com ar.

⁽²⁾ Vogel, A. I.; Bassett, J.; Espinola, A.; *Análise Inorgânica Quantitativa*, Ed. Guanabara Dois, Rio de Janeiro, **1981**.

PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

A autooxidação do complexo de Ni(II)/G₄ na presença de S(IV), oxigênio e Ru(II)/bipiridila ocorre com emissão de radiação. Os oxidantes fortes gerados como espécies intermediárias ($\text{SO}_5^{\bullet-}$, $\text{SO}_4^{\bullet-}$, $^{\bullet}\text{OH}$ e HSO_5^-), oxidam Ni(II) e Ru(II). A intensidade de radiação gerada depende da concentração de cada um dos reagentes. Estudos anteriores⁽¹⁾ mostraram que o mecanismo dessa reação é complexo com oxidação dos dois íons metálicos em solução, em um processo cíclico de reações de oxidorredução. O complexo de Ru(III)/bipiridila é reduzido pelo S(IV) ainda presente em solução. A regeneração de Ru(II)/bipiridila no final desse ciclo de reações, é uma evidência para investimento na pesquisa de um possível sensor para S(IV) sem o consumo do reagente Ru(II)/bipiridila, o qual poderia ser imobilizado sobre um suporte sólido.

Formaldeído em concentrações de $10^{-6} - 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ inibe parcialmente esta reação quimiluminescente, havendo também possibilidade de desenvolvimento analítico.

⁽¹⁾ Bonifácio, R. L.; Coichev, N.; Chemiluminescent reaction of sulfite autoxidation in the presence of Ni(II)/tetraglycine and ruthenium(II)/bipy complexes. Mechanistic considerations. *Luminescence* **2005**, 20, 428–434.

CURRICULUM VITAE

Luciana Batista de Carvalho

- Nascida em 24 de fevereiro de 1981 em Guarulhos - SP - Brasil.

FORMAÇÃO ACADÊMICA:

- Aluna de doutoramento em Ciências, área de Química Analítica, no Instituto de Química da Universidade de São Paulo, desde março de 2003.
- Aluna de Iniciação Científica (Bolsista CNPq/PIBIC) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo, de agosto de 2000 a 2002. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nina Coichev.
- Bacharel em Química, pelo Instituto de Química da Universidade de São Paulo, em 2002.
- Licenciada em Química, pelo Instituto de Química da Universidade de São Paulo, em 2002.

EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL:

- Monitoria na disciplina oferecida para alunos de graduação do curso de Química da USP de agosto a dezembro de 2003: QFL 2241 - Princípios de Análise Química sob a supervisão de Prof^a. Dr^a. Maria Encarnación V. Suarez Iha (Programa de Aperfeiçoamento de Ensino - PAE).

CONGRESSOS, REUNIÕES E SIMPÓSIOS:

- Carvalho, L. B.; Coichev, N. *Desenvolvimento de método analítico quimiluminescente para determinação de S(IV) em açúcar refinado, vinhos e sucos*. **13º Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA) / 1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica (CIAQA)**, realizado de 12 a 16 de setembro de 2005, Niterói - RJ.
- Carvalho, L. B.; Alipázaga, M. V.; Coichev, N. *Synergistic effect of Ni(II) and Co(II) ions on the sulfite induced autoxidation of Cu(II)/pentaglycine and hexaglycine complexes*. **XII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry / II Joint Brazilian/Italian Inorganic Chemistry Meeting**, realizado de 08 a 11 de setembro de 2004, São Carlos - SP.
- Carvalho, L. B.; Coichev, N. *Estudos comparativos da autoxidação dos complexos de Ni(II) com tetra, penta e hexaglicina na presença de S(IV)*. **XXVI Congresso Latinoamericano de Química (CLAQ) / 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**, realizado de 30 de maio a 02 de junho de 2004, Salvador - BA.
- Participação no Workshop on Environmental Chemistry durante o **XXVI Congresso Latinoamericano de Química / 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, realizado nos dias 28 e 29 de maio de 2004, Salvador - BA.
- Carvalho, L. B.; Alipázaga, M. V.; Coichev, N. *Estudos do mecanismo da reação de autoxidação do complexo Co(II)/tris(hidroximetil)aminometano na presença de S(IV)*. **11º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP**, realizado de 5 a 7 de novembro de 2003, São Carlos - SP.
- Carvalho, L. B.; Alipázaga, M. V.; Coichev, N. *Estudos complementares do mecanismo da reação de autoxidação do complexo Co(II)/tris(hidroximetil)aminometano na presença de S(IV)*. **10º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP**, realizado de 6 a 8 de novembro de 2002, São Carlos - SP.

- Carvalho, L. B.; Alipázaga, M. V.; Coichev, N. *Estudos complementares do mecanismo da reação de autoxidação do complexo Co(II)/tris(hidroximetil) aminometano na presença de S(IV)*. **25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**, realizada de 20 a 23 de maio de 2002, Poços de Caldas - MG.
- Carvalho, L. B.; Coichev, N. *Determinação fluorimétrica de alumínio com lumogallion*. **9º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP**, realizado de 5 a 7 de novembro de 2001, São Paulo - SP.

ARTIGOS SUBMETIDOS E PUBLICADOS:

- Carvalho, L. B.; Alipázaga, M. V.; Moreno, R. G. M.; Coichev, N.; Further studies on the synergistic effect of Ni(II) and Co(II) ions on the sulfite induced autoxidation of Cu(II) penta and hexaglycine complexes. *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido em 2006.
- Carvalho, L. B.; Alipázaga, M. V.; Lowinsohn, D; Bertotti, M.; Coichev, N.; Autoxidation of Ni(II) and Co(II) tetra, penta and hexaglycine complexes accelerated by oxy sulfur radicals. *J. Braz. Chem. Soc.*, **17**, 1400–1408, 2006.
- Carvalho, L. B.; Alipázaga, M. V.; Crivelente, W. C. T.; Coichev, N.; The autoxidation of Co(II)/2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol in the presence of Mn(II) and S(IV). *Inorg. Reac. Mech.*, **5**, 101-108, 2004.