Investigação dos complexos de Cu (II) com tris-(hidroximetil) Aminometano formados em solução Aquosa por ressonância paramagnética Eletrônica e absorção ótica

Márcio Francisco Colombo

USP/IFSC/SBI



Dissertação apresentada no Instituto de Física e Química de São Carlos para obtenção do título de Mestre em Física Aplicada.

Orientador : Prof. Dr. MARCEL TABAK .

BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE FÍSICA E OSÍMICA DE SÃO CARLOS - USP

			~-								
MEMBROS					ADORA O COLC		ISSER	TAÇAO	DE MES	STRADO DE	
APRESEN <sup>-</sup>							ΕΛU	IMICA	DE SÃO	CARLOS,	DA
UNIVERS	IDAD	DE DE	SÃO	PAUL	.O, EM	1 15	DE	julh	0	_ DE 198 <u>2</u>	•
COMISSÃ	0 Jl	JLGAI	OORA:								
				D.v.		/[	nt.	2 la	W)	Oniont	dan
				Dr.	MARC	ELTAB	AK	<u> </u>		- Orienta	aor
				Dr.		cidas Alla		PANEPI	JCCI		

BBLIOTECA DO BASEAUTO DE MOMO E EL COMO DE SÃO CARLOS - USP

ANTONIO CARLOS MASSABINI

A Bernadete e Maira

#### 'AGRADECIMENTOS

Quero vesta oportunidade agradecer aquelas pessoas que colaboraram com incentivos e críticas para minha forma ção, onde segundo o meu entender esta Tese representa mais um fruto. Permito-me não citar estes nomes a fim de não cometer a injustiça de um possível esquecimento.

Desejo ainda agradecer de maneira explícita:

- ao Professor Marcel Tabak por sua orientação e incentivos:
- aos Professores Otaciro R. Nascimento e Douglas W.Franco, deste Instituto e C. Mélios (DQ Araraquara-UNESP) pela ajuda e críticas substanciais no decorrer do trabalho;
- ao Valdecir e Waldir, técnicos do computador, pela aju da imprescindível, e ao colega Alberto Tanussi pela sugestão de uso e cessão do programa de ajuste;
- ao Sanches e Izabel, técnicos do Laboratório de Biof<u>í</u> sica, pela amizade e ajuda;
- aos amigos do Laboratório de Biofísica, Osvaldo Baffa, João Riggiero, Aldo Tancredo, Ignes Carracelli, Rosimeri Sanches, Roberto Pires, pela ajuda, crítica e discus sões do trabalho;
- ao povo brasileiro que com seu trabalho sustenta entre outras, a Universidade e a Pesquisa.

# INDICE

I. INTRODUÇÃO	1
II. TEORIA	4
II.l - Ligação covalente coordenada	4
II.2 - Equilíbrio em solução	6
II.2.1 - Curvas de formação	7
II.3 - Paramagnetismo eletrônico	9
II.3.1 - Hamiltoniano total das interações.	10
II.3.2 - Efeito de campo cristalino	12
II.3.3 - Hamiltoniano de spin	16
II.3.4 - Análise do espectro de RPE	18
3.4.1 - Largura de linha	18
3.4.2 - Variação angular em um	
cristal simples	23
3.4.3 - Espectro policristalino	26
3.4.4 - Espectro no líquido	27
III. MATERIAIS E MÉTODOS	29
III.1 - Preparação das soluções	29
III.2 - Titulação das amostras	29
III.3 - Curvas de formação	30
III.4 - Obtenção da amostra da cristalina	30
III.5 - Cristalografiă	31
III.6 - Medidas de RPE	32
6.1 - Medidas em solução à temperatura am	
biente	3 2
6.2 - Medidas a baixa temperatura	33
6.3 - Medidas de monocristal	33
III.7 - Medidas do espectro ótico	35
III.8 - Programas computacionais	35
	2.6

IV.1 - Curvas de formação	36
IV.2 - Espectros óticos	41
IV.3 - Espectros de RPE em solução à temperatura	
ambiente	47
IV.4 - Espectros de RPE da solução congelada	5 5
IV.5 - RPE do cristal pelo complexo a pH alto	65
V. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	74
V.1 - Discussão dos resultados	74
V.2 - Conclusão	79
APÊNDICE I	81
APÊNDICE II	88
BIBLIOGRAFIA	96

#### RESUMO

Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE) e Absorção Ótica Eletrônica foram utilizadas para estudar-se os complexos de Cobre(II) com tris-hidroximetil aminometano em solução. A análise dos parâmetros de RPE e óticos medidos na solução a diversos pHs foi feita tendo-se à mão as curvas de formação dos complexos. Estas curvas foram construídas em função do pH da solução, usando os dados de equilibrio químico publicados por K.S. Bai e Martell (J. Inorg. Nucl. Chem. 31(1969) - 1697-1707), numa faixa de concentração de tris na qual este reagente é usado como tampão em estudos biológicos e químicos.

Determinou-se cinco conjuntos de parâmetros de RPE (go, ao, gll e All), correspondentes a diferentes complexos do ion metálico. Cada um destes espectros é encontrado em de terminados intervalos de pH, sendo possível associá-los aos complexos previstos nas curvas de formação. A maior estabilidade dos complexos que se formam a pHs mais altos — segundo as constantes de equilíbrio — é evidenciada pelos valores de gisotrópico (RPE) menores e pelos desdobramentos hiperfino isotrópico ao (RPE) e de campo cristalino (ótica) maiores do que os encontrados nas soluções menos alcalinas.

A formação do complexo quelato neutro a pH alcali no foi obseravada, e obteve-se seu tensor g, das medidas do cristal simples. Este tensor encontra-se em bom acordo com o valor de g isotrópico determinado em solução ( $g_0 = 1/3(g_{xx} + g_{yy} + g_{zz})$ ). Existe evidência de que este complexo seja penta coordenado.

Observou-se similaridade entre os parâmetros para os complexos coordenados por: 2N e 1N+10; 3N e 2N+10; 4N e 2N+20. Isto leva à conclusão de que do ponto de vista ener gético a coordenação do nitrogênio Cu<sup>2+</sup> e a coordenação do oxigênio negativo ao Cu<sup>2+</sup> nestes complexos são equivalentes, pelo menos dentro de nossa resolução experimental.

#### ABSTRACT

visible spetroscopies were used to study the complexes of Cu(II) ion with tris-hidroxymethylamino methane (tris) in solution. Analyses of EPR and optical parameters measured in solution were made using the calculated formation curves of the complexes. These formation curves were calculated as a function of the solution pH, on the basis of the equilibrium constants published by K.S. Bai and Martell (J. Inorg. Nucl.Chem. 31 (1969)-1967-1707), for a concentration of tris normally employed in a buffer in biochemical studies.

Five sets of EPR parameters ( $g_0$ ,  $a_0$ ,  $g_{\parallel}$  and  $A_{\parallel}$ ) we re determined corresponding to different metal complexes. Each set is found in a characteristic pH range and it was possible to make a correlation of these complexes with the complexes which appear in the formation curve plot. The greater stability of the complexes in the high pH range is indicated by the values of  $g_0$ , wich are smaller and the values of the hyperfine splittings  $a_0$  and the crystal field splittings (from optical measurements) which are greater than at the less alcaline solutions.

The formation of the neutral chelate complex at alcaline pH was observed, and its g-factors were obtained from measurements with the single crystal. These g-factors

agree very well with the solution value  $(g_0 = 1/3(g_{xx} + g_{yy} + g_{zz}))$  and the orthorombic symmetry is obtained. Evidence is present that this complex is penta-coordinated.

It was observed a similarity between the EPR parameters for the complexes coordinated by: 2N and 1N+1 0 $^-$ ; 3N and 2N+1 0 $^-$ ; 4N and 2N+2 0 $^-$ . This lead us to the conclusion that from the energetical point of view the coordination of Cu $^{2+}$  to nitrogen or to negative oxigen in these cases are equivalent, at or our resolution is not sufficient to differentiate between them.

### 1. INTRODUÇÃO

fons metálicos de transição comparecem em grande escala em moléculas biológicas, desempenhando papeis funda mentais no metabolismo. hemoglobinas e mioglobinas, hemocia minas e ceruloplasminas são moléculas responsáveis pelo transporte e/ou armazenamento de oxigênio em organismos vivos [1,2]. Nas duas primeiras o oxigênio molecular (02) se liga ao átomo de Fe(II) e nas duas últimas ao de Cu(II). A queima de glicose com oxigênio, um processo altamente rentá vel na obtenção de energia necessária à célula [3], ocorre com o desencadeamento de uma série de reações de oxi-redução envolvendo os íons Fe(II) e Fe(III) dos citocromos-oxidase existentes na mitocrôndia [4].

O estudo da molécula biológica esbarra quase sem pre no problema da similaridade entre o meio de estudo no laboratório e o meio fisiológico. Portanto a precaução de controlar-se as propriedades termodinâmicas do sistema de estudo, tais como temperatura, força iônica e ph é sempre tomada. Para se conhecer o efeito destes parâmetros sobre a molécula biológica, experiências são feitas variando estas grandezas. O controle do ph é feito utilizando-se determina dos reagentes químicos com a capacidade de contrabalancear rapidamente qualquer variação da concentração hidrogeniônica na solução. Exige-se destes reagentes que eles não inte

rajam com as moléculas de estudo, ou na pior das hipóteses, que esta interferência seja bem conhecida. Estes reagentes são chamados de reagentes tamponantes ou simplesmente tampão. Um tampão extensamente usado em estudos biológicos é o trishidroximetil-amino-metano [5], por sua capacidade de estabilizar o pH na região do pH fisiológico [6].

A técnica de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) tem sido usada no estudo de moléculas biológicas, em várias situações [7,8]. Uma quantidade razoável de traba lhos tem aparecido na literatura, estudando a interação de íons metálicos, particularmente o Cu(II), em complexos de peso molecular baixo (aminoácidos e pequenos peptídios) [9,10,11]. Em proteinas e enzimas, muitas vezes o sítio de ligação de um determinado íon ou molécula tem uma conforma ção específica à ligação. A complexação do metal a seus ligantes, exige por sua vez uma disposição geométrica dos áto mos ligantes bastante especial.

As duas últimas asserções têm sido utilizadas para propor o estudo de complexos de peso molecular baixo como sistemas modelos ao entendimento de mecanismos de funcio namento de moléculas biologicamente ativas, geralmente de peso molecular alto [10]. Estas investigações são feitas tanto no estado sólido, quanto em solução. Quando é possível obter-se cristais dos complexos a técnica de RPE pode fornecer o máximo de informação do complexo, qual seja: orientação do fon metálico com relação aos eixos cristalográficos [12]; simetria do campo elétrico no complexo [13]; estabelecimento dos átomos que participam da ligação [14]; caráter covalente da ligação [15]; deslocalização da núvem

eletrônica, entre outras. Já em solução as informações são menos intensivas, mas nem por isso deixam de ser importantes. É possível diferenciar complexos distintos que ocorrema diferentes plis, ter-se ideia da simetria aproximada do campo elétrico, inferir sobre a delocalização da núvem eletrônica [16], etc...

Tendo em vista a importância do fon Cu(II) em mo léculas biológicas, a utilidade do tampão tris-hidroxil-metil-aminometano (tris) em estudos biológicos, a ocorrên cia de trabalhos onde a interação Cu(II) + proteína é estudada na presença de tris [17,18], a falta da caracterização magnética dos complexos Cu(II)-tris que ocorrem em solução em função do pH, é que este estudo foi realizado. Além disso, este trabalho procura sistematizar o estudo dos complexos de Cu(II) formados em solução usando, além de RPE e absorção ótica, os dados de equilíbrio químico do sistema, unindo, desta maneira, técnicas de estudo que na maioria dos casos são utilizadas separadamente.

### II . TEORIA

### II.1 - Ligação covalente coordenada

Na maioria dos complexos de íons de metal de transição com moléculas biológicas a ligação é coordenada covalentemente. Diferente da ligação iônica, que ocorre e é estabilizada pela atração eletrostática, como na reação

$$cu^{2+} + so_4^{-2} \rightarrow [cuso_4]^{\circ}$$
,

e da ligação covalente, que se realiza com o compartilhamen to de eletrons, por dois ou mais átomos a fim de completa rem a camada de valência, como no caso da água e amônia.



A ligação covalente coordenada se realiza entre moléculas polares neutras como ligantes [19,20]. Estas moléculas possuem, na maioria dos casos, um ou mais pares de elétrons não compartilhados, como visto na figura anterior.

A cristalografia mostra que a estrutura de com plexos de metais, coordenados covalentemente, é tal que os ligantes estão orientados apontando os dois elétrons não compartilhados para o ion, como mostrado a seguir.

O fato dos ligantes apontarem com a parte negativa para a núvem eletrônica do metal, havendo interação eletros tática de repulsão entre os elétrons é fator de estabiliza ção do complexo. Na seção II.3.2 (Teoria de Campo Cristalino), será considerado o abaixamento de energia do fon livre quan do complexado.

Um tipo especial de complexação entre ligantes de cadeia longa - 3 ou mais átomos formando a cadeia - com me tais de transição, encontrados com frequência, são os comple xos quelatos. Os agentes quelantes são ligantes que podem o cupar duas ou mais posições de coordenação no quelato. O grupo hemo (Fig.1), centro ativo de transporte de O2 na molécula de hemoglobina, é um exemplo de complexo quelato contendo  $\mathbf{F}^{2+}$ .

Os agentes quelantes são geralmente ligantes de alta estabilidade, encontrados em quase todas as moléculas biológicas onde o metal desempenha papéis fisiológicos importantes.

FIG. 1 - Grupo hemo. A coordenação do fon Fe<sup>2+</sup> é feita atra vés dos 4 nitrogênios da porfirina formando o anel quelato.

# II.2 - Equilíbrio em solução

Na seção anterior foi mencionado a estabilidade de complexos, sem preocupação com o significado estrito da palavra. No que segue, porcurar-se-a deixar mais claro o que se entende por estabilidade de complexos de coordenação em solução do ponto de vista quantitativo.

Para tanto, supõe-se uma reação hipotética entre o metal (M), com número de coordenação 2 (entende-se por número de coordenação o número de ligantes mais próximos do fon metalico). As reações ocorrem de forma a distribuir os ligantes entre os centros metalicos, e para cada reação ilustrada abaixo

$$M + L \stackrel{k_{1}}{\neq} ML$$

$$\dots \qquad (1)$$

$$ML + L \stackrel{k_{2}}{\neq} ML_{2}$$

define-se as constantes de equilibrio dadas por:

$$k_1 = \frac{[ML]}{[M] \cdot [L]} \quad e \quad k_2 = \frac{[ML_2]}{[ML] \cdot [L]} \qquad \dots (2)$$

Das duas constantes obtidas acima, nota-se que quanto maior for uma constante em relação à outra, mais o e quilíbrio estará deslocado no sentido de favorecer a forma ção do complexo com maior k (i=1 ou 2). Complexo mais está vel é aquele que tiver a maior constante de equilíbrio.

#### II.2.1 - Curvas de formação

Um gráfico útil ao entendimento do comportamento de uma solução de concentração total de metal conhecida (C<sub>M</sub>), em função da concentração de ligantes livres em solução ([L]), é o gráfico das frações de concentração de complexos com relação à quantidade[L]. Este gráfico é chamado de Curvas de Formação dos Complexos.

Como em solução podem coexistir metal livre ( M ), e complexos ( ML ,  $\mathrm{ML}_2$  ), a concentração total de metal se rã

$$C_{M} = [M] + [ML] + [ML_{2}]$$

Dividindo esta equação por [M], e definindo a fra ção de metal livre como

$$\alpha_0 = [M]/C_M$$

e usando as constantes de equilibrio definidas em (2) obtemse:

$$\alpha_0^{-1} = 1 + k_1[L] + k_1k_2[L]^2$$
 .... (3.a)

Da mesma forma tem-se que:

$$\alpha_1 = \frac{[ML]}{C_M} = \frac{[MI]}{C_M} \frac{[M]}{[M]} = \alpha_0 k_1 \quad [L] \quad \dots \quad (3.b)$$

$$\alpha_2 = \frac{\left[ML_2\right]}{C_M} = \alpha_1 k_1 \quad [L]$$

onde  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  são as frações do complexo com um e dois ligamentes respectivamente. Se as constantes de equilibrio do sistema  $k_i$  forem conhecidas, as curvas de formação em função de [L] podem ser construídas. Um exemplo de curvas de formação para o sistema Cu(II) - amônia é dada na figura 2.

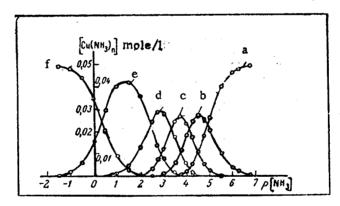


FIG. 2 - Dependência da concentração de ion cobre-hidratado e complexos cobre-amônia em função de -log [NH<sub>3</sub>] = p [NH<sub>3</sub>]: a) ion cobre hidratado; b) monoamim; c) diamim; d) triamim; e) tetraamim; f) pentaamim.

omis

## II.3 - Paramagnetismo eletrônico (23,24,25)

A ressonância paramagnética eletrônica (RPE) é o fenômeno de absorção de energia dos elétrons (um ou mais) não emparelhados de um átomo, molécula ou ion, quando estes se encontram sujeitos a um campo magnético H.

A energia de um dipolo magnético  $\overset{\rightarrow}{\mu}$  em um campo  $\overset{\rightarrow}{H}$  e dada por

$$E = -\stackrel{\rightarrow}{\mu} \stackrel{\rightarrow}{H} \qquad \qquad .... (4)$$

sendo  $\mu = -g_e \beta \stackrel{\Rightarrow}{S}$ 

$$E = g_e \beta \dot{S} \dot{H} \qquad .... (5)$$

onde:  $g_e$  é o fator giromagnético do elétron  $\beta = \frac{e \hbar}{2mc}$  o magneton de Bohr

A componente de  $\vec{S}$  na direção de  $\vec{H}$   $\vec{e}$  m<sub>s</sub> =  $\pm$  1/2, po dendo o elétron encontrar-se em um dos dois estados de  $\underline{e}$  nergia que se seguem:

$$E_{+} = 1/2 g_{e} \beta H$$
 .... (6.a)

$$E_{-} = -1/2 g_{e} \beta H$$
 .... (6.b)

Em um sistema de eletrons não interagindo entre si, os níveis de energia (6.a) e (6.b) estarão ocupados com

população de spins dadas, em primeira aproximação, pelo fator de Boltzman. Transições entre estes níveis poderão ocorrer desde que a energia fornecida ao spin satisfaça a condição de quantização

$$h\nu = E_{+} - E_{-} = g_{e} \beta H$$
 ... (7)

A interação descrita pela equação (5), reescrita na forma do operador Hamiltoniano

$$\mathcal{H} = g \beta \dot{S} \cdot \dot{H} \qquad .... (8)$$

é chamada de interação Zeeman eletrônica.

### II.3.1 - Hamiltoniano total das interações

No que segue, estudar-se-a os casos mais complexos, onde o elétron não emparelhado não se encontra livre, mas sujeito a interações no atomo ou ion.

Os eletrons em um atomo ou ion livre encontram-se sujeitos a um campo eletrico central, com interações descritas pelo hamiltoniano

$$= -\frac{\pi^2}{2m} \sum_{k} \nabla_k^2 + V \qquad ... \qquad (9)$$

onde V e o potencial elétrico que inclue a atração entre elétrons e núcleo e repulsão entre elétrons.

A resolução deste hamiltoniano para um eletron e nucleo, estabelece niveis de energia e funções de onda des

critas pelos números quânticos n, l, m, e m, onde

- n número quântico principal, assumindo valores de 1 a  $\infty$
- l número quântico do momento angular orbital com va lores de 0, 1, ... (n-1) em unidades de న)
- m<sub>l</sub> número quântico do momento magnético orbital com va lores -l ... 0 ... l (unidades de 析) ao longo de uma direção z arbitrária.
- $m_s$  número quântico magnético de spin, com valores  $\pm 1/2$  ao longo de uma direção z arbitrária.

Em fons de transição do grupo do ferro, do qual o Cu(II) faz parte, a configuração de mínima energia é  $\begin{bmatrix} 1s^2 & 2s^2 & 2p^6 & 3s^2 & 3p^6 \end{bmatrix}$  3d<sup>n</sup>. A configuração entre colchetes, camada fechada, é um estado diamagnético, de maneira que o paramagnetismo será determinado pelos <u>n</u> elétrons da subcama da 3d<sup>n</sup>. Este nível (3d<sup>n</sup>) encontra-se degenerado em m<sub>L</sub> e m<sub>s</sub>, e as transições observadas por RPE se darão entre os subníveis criados por campos que levantem esta degenerescência. Assim sendo deve-se considerar o nível 3d<sup>n</sup> como sendo o estado fundamental do spin eletrônico.

A próxima interação a ser considerada para o fon livre, é a interação spin-órbita descrita por

$$\mathcal{L} = \lambda \vec{L} \cdot \vec{S} \qquad \dots \tag{10}$$

Este hamiltoniano descreve a interação entre o momento magnético orbital  $\mu_L$ , e o momento magnético de spin

do elétron  $\mu_s$ . Quando o hamiltoniano spin-orbita  $\lambda$   $\vec{L}$   $\vec{S}$  atua no estado fundamental  $3d^n$  (com S e  $\ell$  definidos)  $\mu_L$  e  $\mu_s$  são acoplados para formar um novo estado fundamental caracterizado pelo momento angular total  $\vec{J}$  =  $\vec{L}$  +  $\vec{S}$ . Este nível será (2J+1) vezes degenerado, e será desdobrado pela interação Zeeman

$$\mathcal{H} = \beta \left( \vec{L} + g_{e} \vec{S} \right) \cdot \vec{H} \qquad \dots (11)$$

que difere da equação (8) por levar em conta o momento magnetico orbital  $\beta \vec{L}$ .

Os valores de energia correspondentes a (11) se rão:

$$E = g_L \beta H m_J \qquad \dots \qquad (12)$$

com 
$$m_J = -J, -J+1, \dots, +J$$

onde 
$$g_L = \frac{3J(J+1)+S(S+1)-L(L+1)}{2J(J+1)}$$
 é o fator de Landé.

#### II.3.2 - Efeito de campo cristalino

Quando o ion está ligado, o campo elétrico que <u>a</u> tua sobre os elétrons perde a simetria esférica do ion livre; o nivel fundamental a ser desdobrado por  $\vec{H}$  não é caracterizado por  $\vec{J}$  e o valor giromagnético medido não será o previsto pela equação (11).

A presença dos ligantes na vizinhança próxima ao fon livre criará sobre os elétrons um potencial eletrostático adicional e V da equação (9) terá duas contribuições.

$$V = V_{1on} + V_{L}$$

onde V<sub>ion</sub> é o potencial esférico

V<sub>L</sub> e o potencial criado pelos ligantes.

Desde que  $V_L << V_{100}$  este potencial será uma per turbação ao nível fundamental  $3d^n$ . Pelo método de campo cristalino os ligantes são substituídos por cargas pontuais negativas, e seu efeito computado em cada um dos orbitais que compõem  $3d^n$  (compõem os orbitais  $3d^n$  os orbitais  $d_{xy}$ ,  $d_{yz}$  e  $d_{xz}$ ; e  $d_{x-y}^2$  e  $d_{z}^2$ ). Para tanto suponha os ligantes dispostos nos vértices de um octaêdro como mostra a figura 3.a, e o fon metálico no centro deste octaêdro. Os orbitais  $t_{2g}$  ( $d_{xy}$ ,  $d_{yz}$  e  $d_{xz}$ ) e  $e_g$  ( $d_{x}^2$ - $g^2$  e  $d_{z}^2$ ) interagem com os ligantes como mostrado na figura 3.b. Devido à sime tria dos orbitais,  $e_g$  sofre maior repulsão, uma vez que as cargas apontam diretamente para seus vértices, e sua ener gia é incrementada.

O desdobramento de 3d<sup>n</sup> e mostrado na figura 3,c para a simetria octaédrica, e octaédrica com distorções te traédrica e rômbica. Nestes níveis os n elétrons do metal serão distribuídos.

Como um exemplo da distribuição dos n elétrons  $3d^n$  considere o ion Cu(II) com nove elétrons d. Seis destes elétrons estarão distribuidos nos orbitais  $t_{2g}$  de menor energia, e os três restantes nos orbitais  $e_g$ . O estado fundamental deste ion é equivalente a uma camada d fechada (com L = 0 e S = 0), com um buraco (carga positiva, com L = 2 e S = 1/2) no orbital  $d_{x-y}^2$ . Os niveis de energia deste bura

BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE 1900 A CARLOS - USP

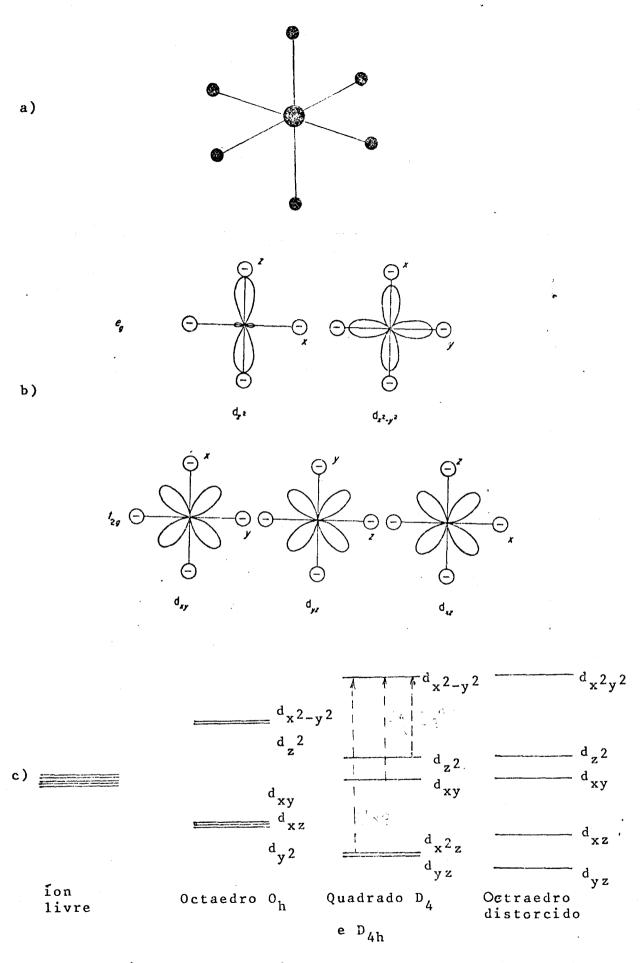


FIG. 3 - a) Simetria octaédrica dos ligantes; b) Dependência angular da parte real do orbital d; c) Des dobramento dos níveis de energia a várias geometrias de ligação

co podem ser descritos pelos níveis da figura 3.c invertidos.

Ao comparar o ion Cu(II) livre com o ligado, nota-se que o estado de spin é o mesmo (S = 1/2), enquan
to que o momento angular orbital foi grandemente reduzido.
Para entender-se isto, basta lembrar que no ion livre o elé
tron está espacialmente degenerado, enquanto que no ion liga
do não. Este efeito é equivalente a restringir o movimento
do elétron, conhecido como "congelamento" do momento angular
orbital.

Ao aplicar-se o hamiltoniano spin orbita ao estado fundamental  $d_{x^2-y^2}$  do buraco no Cu(II), este operador mistura este nível aos excitados, e cria um novo estado fundamental degenerado somente no spin eletrônico  $\vec{S}$ . É sobre este estado que a hamiltoniana de Zeeman ir $\vec{a}$  atuar.

Quando isto é feito, a interação deste estado com o campo magnético H é anisotrópica (no fon livre ela é isotrópica). Esta anisotropia deve-se a que tanto a interação de Zeeman quanto a distribuição eletrônica no orbital 3d são anisotrópicas.

Os níveis de energia, para um complexo com simetria axial, com H paralelo ao eixo de simetria (definido paralelo a z) e perpendicular a este eixo são

H // z : E = 
$$g_{11}$$
  $\beta$  H m  $_{S}$  .... (13)
H  $\perp$  z : E =  $g_{1}$   $\beta$  H m  $_{S}$ 

onde 
$$g_1 = g_e (1 + \frac{4|\lambda|}{\Delta xy}) e g_1 = g_e (1 + \frac{|\lambda|}{\Delta xz})$$

 $\lambda$  = constante de acoplamento spin órbita para o fon livre;  $\Delta$ xy = diferença de energia entre os níveis d<sub>x2-y2</sub> e d<sub>xy</sub>;  $\Delta$ xy = E<sub>xy</sub> - E<sub>x2-y2</sub>  $\Delta$ xz = E<sub>xz</sub> - E<sub>x2-y2</sub>

A expressão (13) demonstra uma propriedade notável do espectro de RPE que é o de refletir a simetria do campo elétrico circundante ao ion paramagnético, na anisotropia de g.

### 3.2.a - Espectro otico (22)

A maioria dos complexos de cobre têm cores do verde ao azul, são tetragonalmente distorcidos com quatro ligações curtas entre o metal e o ligante no plano (xy) e duas ligações mais longas ao longo do eixo z. Nestes complexos o es pectro ótico observado é um espectro de linha larga próximo a  $16.000~{\rm cm}^{-1}$  que pode ser resolvido em no mínimo três componentes. Estas componentes correspondem a transições de  ${\rm d_{xy}}$ ,  ${\rm d_{z}}^2$  e o par  ${\rm d_{xz}}$  e  ${\rm d_{yz}}$  para o nível com um elétron  ${\rm d_{x}}^2$ -y2. Estas transições são representadas por  $\Delta {\rm xy}$ ,  $\Delta {\rm z}^2$  e  $\Delta {\rm xz}$  respectivamente e estão representadas na figura 3.c.

#### II.3.3 - Hamiltoniano de spin

Estabelecido o estado fundamental do elétron não emparelhado com spin  $\vec{S}$ , este estado é (2S+1) vezes degenera do na ausência de campo magnético. Daqui para a frente tra tar-se-a das perturbações de origem magnética sobre este nível, descritos pela Hamiltoniana

$$\frac{1}{C} = \beta \overrightarrow{H} = \overrightarrow{S} + \overrightarrow{S} \overrightarrow{A} \overrightarrow{I} \qquad \dots \qquad (14)$$

O primeiro termo acima é a interação de Zeeman <u>e</u> letrônica e o segundo a interação hiperfina. Î é o spin nu clear, que pode ter uma das projeções m<sub>I</sub> = -I, -I+1,...,+I, na direção do campo H aplicado. O momento magnético nuclear, cria um campo no elétron que provoca o desdobramento do seu nível eletrônico em subníveis separados por uma grandeza da da pela constante de desdobramento hiperfino A.

A hamiltoniana de spin (14) é anisotrópica, e as sim sendo,  $\bar{g}$  e  $\bar{\bar{A}}$  são grandezas tensoriais.

Para  $\vec{S} = 1/2$  e  $\vec{I} = 1/2$  os níveis de energia cria dos por (11) para uma orientação arbitrária do campo magn $\underline{\vec{z}}$  tico são:

E 
$$(1/2, m_I) = 1/2$$
 g  $\beta$  H +  $1/2$   $m_I$ A .... (15)

E 
$$(-1/2, m_I) = -1/2 \text{ g } \beta \text{ H } - 1/2 \text{ m}_I A$$

onde m<sub>I</sub> terá os valores ±3/2 e ±1/2. A transição entre es tes níveis ocorrem satisfazendo as regras de seleção

$$\Delta m_s = 1 \qquad \dots (16.a)$$

$$\Delta m_{T} = 0 \qquad \dots (16.b)$$

A condição (16.a) é coerente ao fenômeno de ressonância paramagnética eletrônica e prevê a mudança do mo

mento magnético de spin de -1/2 para +1/2 quando este absorve energia. Já a condição (13.b) reflete o fato que em experimentos de RPE a projeção do spin nuclear I não varia.

Assim sendo, a condição de ressonância entre dois estados de spin, para  $m_T$  fixo, serã:

$$hv = E (+1/2, m_I) - E(-1/2, m_I) = g \beta H + m_I A$$
 .. (17)

Um exemplo esquemático do desdobramento do nível  $\vec{S}=1/2$  interagindo com spin  $\vec{I}=3/2$  na presença de campo magnético e o espectro de RPE correspondente é dado na figura 4.

II.3.4 - Análise do espectro de RPE

3.4.1 - Largura de linha

As linhas de RPE são normalmente alargadas pelos seguintes proc essos:

a) Mecanismos de relaxação: os elétrons nos níveis de ener gia excitados relaxam para o fundamental por dois cami nhos; um entregando energia para a rede com um tempo ca racterístico T<sub>1</sub>; e o outro trocando energia no sistema de spin com um tempo característico T<sub>2</sub>. T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> estão re lacionados ao tempo que o elétron permanece no estado ex citado, e pelo princípio de incerteza de Heisemberg a indefinição do nível energético é dada

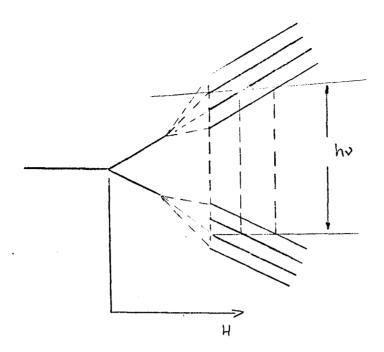


FIG. 4 - Desdobramento do estado fundamental  $\vec{S} = 1/2 \text{ nitrog} \hat{\underline{e}}$ nio com spin nuclear I = 3/2.

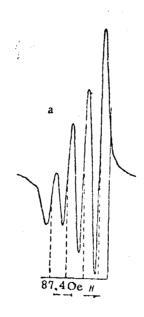


FIG. 5 - Espectro típico de complexo de peso molecular baixo de cobre em solução a temperatura ambiente

o u

$$\Delta v \approx \frac{1}{6}$$

- e dessa maneira quanto menor  $G(T_1 = 0)$  mais larga sera a linha de absorção.
- b) Interação dipolar: Um spin rodeado de dipolos magnéticos "sente" um campo criado por cada um deles. Esta interação depende da distância e da orientação relativa entre eles. O campo magnético que atua sobre o spin se caracteriza por uma distribuição espectral em torno de um dado valor. Esta distribuição se soma à linha de ressonância alargando-a. A origem mais comum destes dipolos são áto mos de hidrogênio e nitrogênio vizinhos ao spin, e complexos paramagnéticos muito próximos.
  - c) Efeito de "movimento" [26]: Este efeito é típico de complexo xos em solução. Suponha um complexo com simetria axial de spin eletrônico s interagindo com um spin nuclear i. Esta interação é descrita pela hamiltoniana

$$\mathcal{H} = \beta \vec{H} \vec{g} \vec{S} + \vec{I} \cdot \vec{A} \cdot \vec{S} \qquad \dots \qquad (18)$$

onde

$$\overline{\overline{g}} = \begin{pmatrix} g_{1} & 0 & 0 \\ 0 & g_{1} & 0 \\ 0 & 0 & g_{1} \end{pmatrix} \qquad e \qquad \overline{\overline{A}} = \begin{pmatrix} A_{1} & 0 & 0 \\ 0 & A_{1} & 0 \\ 0 & 0 & A_{1} \end{pmatrix}$$

Em um dado instante a orientação do campo magnetico com os eixos principais dos tensores (supostos coincidentes) é dada pelo vetor

$$\vec{H} = \begin{cases} sen\theta cos\phi \\ sen\theta sen\phi \\ cos\theta \end{cases} \cdot H \qquad \dots (19)$$

Nesta situação os spins  $\vec{S}$  e  $\vec{I}$  estarão quantizados ao longo do campo magnético H, sendo

$$\vec{S} = S_{\xi} \hat{H} = S_{\xi} \frac{\dot{H}}{\dot{H}} \qquad \dots \qquad (20.a)$$

$$\vec{I} = I_{\xi} \hat{H} = I_{\xi} \frac{\vec{H}}{H} \qquad .... (20.b)$$

onde Ĥ e o vetor unitario na direção de H.

Substituindo as equações (20.a) e (20.b) na hamiltoniana (18) tem-se:

$$= \beta \frac{\overrightarrow{H} \ \overrightarrow{g} \ \overrightarrow{H}}{H} S_{\xi} + \beta \frac{\overrightarrow{H} \ \overline{A} \ \overrightarrow{H}}{H2} I_{\xi} S_{\xi} \qquad \dots \qquad (21)$$

Vamos calcular somente  $\frac{\vec{H} \cdot \vec{g} \cdot \vec{H}}{H}$  uma vez que o cálculo de  $\frac{\vec{H} \cdot \vec{h} \cdot \vec{H}}{H^2}$  é similar.

$$\frac{\frac{1}{H} \frac{\frac{1}{g} + \frac{1}{H}}{\frac{1}{H}} = (\text{sen}\theta \cos\phi, \text{sen}\theta \sin\phi, \cos\theta) \begin{bmatrix} g_1 & 0 & 0 \\ 0 & g_1 & 0 \\ 0 & 0 & g_{\parallel} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \text{sen}\theta \cos\phi \\ \text{sen}\theta \sin\phi \\ \cos\theta \end{bmatrix}$$

$$= g_{\perp}^2 \sin^2 \theta \cos^2 \phi + g_{\perp}^2 \sin^2 \theta \sin^2 \phi + g_{\parallel} \cos^2 \theta =$$

$$\frac{\vec{H} \cdot \vec{g} \cdot \vec{H}}{H^2} = g_1 \sin^2 \theta + g_n \cos^2 \theta$$

Fazendo a substituição:

$$\cos^2\theta = 1/3 (3 \cos^2\theta - 1) + 1/3$$

$$sen^2\theta = -1/3(3cos^2\theta-1) + 2/3$$

na ūltima equação tem-se:

$$\frac{\frac{1}{H} = \frac{1}{g} + \frac{1}{g}}{H^2} = \frac{(2g_1 + g_1)}{3} + 1/3(g_1 - g_1)(3\cos^2\theta - 1) \qquad \dots (22)$$

0 valor de 
$$\frac{\stackrel{\rightarrow}{H} \stackrel{\rightarrow}{\bar{h}} \stackrel{\rightarrow}{H}}{H^2}$$
  $\stackrel{\leftarrow}{e}$ 

$$\frac{H \bar{A} H}{H^2} = \frac{(2A+B)}{3} + 1/3(B-A)(3\cos^2\theta - 1) \qquad ... (23)$$

e a hamiltoniana (21) fica:

$$\mathcal{H} = g_0 \beta H S_{\xi} + a_0 I_z S_z + \mathcal{H}(\theta) \qquad \dots (24)$$

o nd e

$$g_0 = \frac{(2g_1 + g_{11})}{3}$$

$$a_0 = \frac{(2A+B)}{3}$$
; onde  $B = A_{11}$ 

$$\mathcal{H}(\theta) = 1/3(g_{\parallel}-g_{\perp})+1/3(B-A) \quad (3\cos^2\theta-1)$$

No líquido o complexo paramagnético descreve un

movimento brawniano com um tempo característico de movimentação  $\tau_c$ . Portanto a hamiltoniana  $\mathcal{H}(\theta)$  em (24) é uma função dependente do tempo. Se o complexo na solução roda rápido  $\mathcal{H}(\theta)$  é mediado a zero e (24) fica:

$$\mathcal{H} = g_0 \beta H S_{\xi} + a_0 I_z S_z \qquad \dots (25)$$

e será ela que definirá os níveis de energia onde as transições de RPE irão ocorrer.

O efeito de  $\mathcal{H}$  ( $\theta$ ) sobre o espectro de RPE do complexo paramagnático em solução é o de alargar diferenciada mente as linhas de ressonância correspondentes às diferentes projeções de m<sub>I</sub>. Este alargamento é fortemente dependente do tempo de reorientação  $T_c$ , que caracteriza o quão rāpido  $\mathcal{H}(\theta)$  é mediado a zero.

#### 3.4.2 - Variação angular em um cristal simples

No sistema de eixos principais (x,y,z) do tensor, o tensor de interação  $\bar{g}$   $\bar{e}$  diagonal.

O sistema de laboratório (x,y,z) á garalmente de finido por uma base cúbica, onde o cristal é assentado. Mui tas vezes estes eixos não coincidem com os eixos principais do tensor, e o tensor do cristal com relação a esta base é obtido com uma transformação unitária no sistema principal, isto é:

$$\frac{\pi}{g} = R \cdot \begin{pmatrix} g_1 & 0 & 0 \\ 0 & g_2 & 0 \\ 0 & 0 & g_3 \end{pmatrix} \qquad \tilde{R} = \begin{pmatrix} g_{xx} & g_{xy} & g_{xz} \\ g_{xy} & g_{yy} & g_{yz} \\ g_{xz} & g_{yz} & g_{zz} \end{pmatrix} \dots (26)$$

onde R e a matriz dos cossenos diretores dadas por:

$$R = \begin{pmatrix} \cos \theta_{xx}, & \cos \theta_{xy}, & \cos \theta_{xz}, \\ \cos \theta_{yx}, & \cos \theta_{yy}, & \cos \theta_{xz}, \\ \cos \theta_{zx}, & \cos \theta_{zy}, & \cos \theta_{zy}, \end{pmatrix} \dots (27)$$

 $\tilde{R}$  é a matriz R transposta e  $\theta_{ij}$ , é o ângulo entre o eixo i do sistema de laboratório e o eixo j' do sistema de eixos principais do tensor.

A determinação experimental de  $\bar{g}$  se faz rodando o campo magnético em torno das direções x, y e z do labora tório. Por exemplo, considere a rotação em torno de x,  $\bar{H}$  no plano yz, sendo  $\theta$  o ângulo entre  $\bar{H}$  e eixo y, o vetor campo magnético  $\bar{e}$  escrito

$$\frac{1}{H} = \begin{bmatrix} 0 \\ \cos \theta \\ \sin \theta \end{bmatrix} \cdot H \qquad \dots (28)$$

Ao longo de  $\vec{H}$  (direção  $\xi$ ) a hamiltoniana de Zee nan  $\vec{e}$  escrita

$$\mathcal{H} = \beta \vec{S} g \vec{H} = \beta m_S \frac{|\vec{g} \cdot \vec{H}|_{\xi}}{H} \cdot H \qquad \dots (29)$$

onde  $|\vec{g} \cdot \vec{H}|_{\xi}$  a o modulo do produto de  $\vec{g}$  por  $\vec{H}$  na direção  $\xi$ .

= 
$$(g_{xy}\cos\theta + g_{xz}\sin\theta, g_{yy}\cos\theta + g_{yz}\sin\theta, g_{yz}\cos\theta + g_{zz}\sin\theta)$$

e o modulo deste vetor é:

$$g^2 = (g_{xy}^2 + g_{yy}^2 + g_{yz}^2)\cos^2\theta + (g_{xz}^2 + g_{yz}^2 +$$

$$g_{zz}^2$$
)  $\operatorname{sen}^{3\theta} + 2(g_{xy}g_{xz} + g_{yy}g_{yz}g_{zz}) \operatorname{sen}\theta \cos\theta$  .... (30)

Agora deve-se notar que os termos multiplicativos de:

- $sen^2 \theta$   $\tilde{e}$  o produto da terceira linha de g pela terceira ra coluna de g.
- 2sen $\theta\cos\theta$  é o produto da segunda linha de g pela terceira coluna de g, ou da terceira linha pela segunda coluna de g.

Desta maneira consegue-se com a variação angular neste plano (y,z) encontrar-se os elementos  $g_{yy}^2$ ,  $g_{zz}^2$  e  $g_{yz}^2$  e  $g_{zy}^2$  da matriz de  $g^2$  como segue:

$$g^{2} = \begin{cases} x & y & z \\ x & & \\ y & & g_{yy}^{2} & g_{yz}^{2} \\ z & & & g_{zy}^{2} = g_{zy}^{2} & g_{zz}^{2} \end{cases} \dots (31)$$

Ao se fazer a rotação no plano xy, em torno de z, encontra-se pelo mesmo procedimento os elementos  $g_{xx}^2$ ,  $g_{yy}^2$  e  $g_{xy} = g_{yx}$ . Por fim, rodando em torno de y, encontra-se os valores dos elementos de matriz de  $g^2$  restantes  $g_{xx}^2$ ,  $g_{zz}^2$  e  $g_{xz}^2 = g_{zx}^2$ .

Esta matriz de g<sup>2</sup>, pode ser diagonalizada pela transformação que segue

$$g^2 = (Rg_{diag}\tilde{R})^2 = Rg_{diag}\tilde{R}Rg_{diag}\tilde{R} = Rg_{diag}^2\tilde{R}$$

onde R é a matriz (27).

Com isto encontra-se os valores principais do tensor de interação g e a orientação do tensor com relação aos eixos de laboratório. Muitas vezes á possível fazer coincidir o sistema de laboratório com o sistema de eixos cristalográficos, e determinar g com relação a estes eixos.

## 3.4.3 - Espectro policristalino

Em uma solução congelada, a distribuição do com plexo paramagnético é aleatória, todas as orientações dos tensores g e A com relação ao campo magnético externo são possíveis, e têm o mesmo peso estatístico. Para cada orientação a posição de ressonância é dada pelo fator g e desdo bramento a compatíveis com a orientação, e o espectro de poserá a soma de todos os espectros observados.

Na figura 6 é mostrado um espectro a -150°C de co bre com simetria axial. O calculo da forma de linha mostra que a distância entre os picos de absorção em campo baixo correspondem à constante de desdobramento hiperfino  $(\Lambda_{II})$  com o campo magnético paralelo ao eixo de simetria do com plexo. O valor de g<sub>II</sub> é encontrado medindo-se o centro de gravidade destas linhas. Estas duas grandezas - g<sub>II</sub> e  $\Lambda_{II}$  - são bem medidas no espectro congelado. Os valores de g<sub>II</sub> e a<sub>I</sub>, também mostrados na figura, são mal medidos. Para se obter melhores valores destes parâmetros costuma-se calcular a forma de linha por simulação.

### · 3.4.4 - Espectro no líquido

O comportamento básico do complexo paramagnático no líquido foi descrito na secção 3.4.1, quando falou-se em efeito de alargamento de linha devido ao movimento do complexo.

A hamiltoniana (25) descreve o comportamento do espectro em solução reescrita aqui.

$$\mathcal{H} = g_0 \beta H S_{\xi} + a_0 S_{\xi} I_{\xi} \qquad \dots (31)$$

onde  $g_0 = 1/3(g_x+g_y+g_z)$  e  $a_0 = 1/2(a_x+a_y+a_z)$  e os níveis de energia:

$$E_{+}(1/2,m_{T}) = 1/2 g_{0} \beta H + 1/2 a_{0}^{m}I$$

$$E_{-}(1/2, m_{I}) = -1/2 g_{o} \beta H - 1/2 a_{o} m_{I}$$

As transições de RPE ocorrem satisfazendo as regras de seleção  $\Delta m_s$ =1 e  $\Delta m_I$ =0, como definido anteriormente, e a condição de ressonância é dada por:

$$hv = g_0 \beta H + a m_I$$
 .... (32)

O fator giromagnético g<sub>o</sub> é obtido medindo-se o centro de gravidade das linhas de ressonância em campo magnético e efetuando-se o calculo:

$$g_o = \frac{hv}{\beta H} \qquad \dots \qquad (33)$$

A constante de desdobramento hiperfino  $\tilde{e}$  dada  $p\underline{e}$  la distância entre duas linhas de ressonância adjacentes (em gauss).

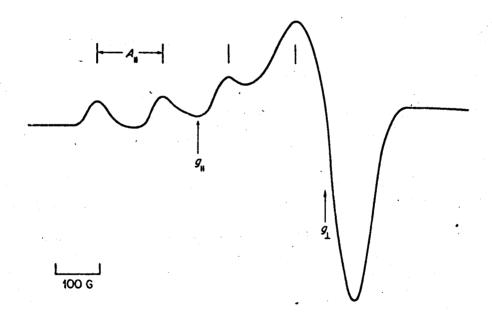


FIG. 6 - Espectro de pó de uma proteína de cobre típica em solução congelada

# CAPÍTULO III - MATERIAIS E MÉTODOS

# III.1 - Preparação das soluções

Todas as soluções foram preparadas com concentração de 5mM de  $CuSO_45H_2O$  e 50mM de tri-hidroximetil-aminometano. A força iônica das soluções foram ajustadas a 0,1~M com KCL.

Os reagentes usados foram obtidos da Merck, sendo usados sem purificação posterior.

### III.2 - Ajuste do pH das Amostras

O pH das soluções apos preparo encontravam-se em torno de nove. As amostras com pH acima deste valor foram a justadas com soluções de NaOH. Para obtenção de pHs abaixo de 9, adicionou-se com soluções de HCL.

As medidas de pH foram feitas com um pHmetro Corning Modelo 130.

As alhiquotas de solução a serem medidas foram con lhidas de duas maneiras. A primeira, estabelecido o pH dese jado, retirava-se a quantidade de amostra necessária às medidas de RPE à temperatura ambiente e de ótica, retornando a amostra à solução. Assim, garantia-se que a variação em concentração da solução na titulação fosse a mínima possí

vel. No segundo procedimento, a cada pH desejado retira-se cerca de 0,5ml de solução para as medidas, e esta quantida de não retornava à solução. Nos dois casos os resultados obtidos foram os mesmos.

### III.3 - Curvas de formação

A fim de poder-se comparar os espectros de RPE dos diversos complexos de Cu(II) com tris que se formam em solução, aos pHs medidos calculou-se as curvas de formação des tes complexos.

As reações propostas a fim de descrever o sistema, e suas constantes de equilíbrio, foram calculadas por K.S. Bai e Martell[5]. No apêndice apresenta-se o cálculo das e quações utilizadas para o cálculo das frações de concentrações dos complexos formados, em função das concentrações de metal e ligante livres em solução e pH.

### III.4 - Obtenção da amostra da cristalina

O complexo a pH alto, acima de 9, foi obtido em forma de cristais simples. Para sua obtenção preparou-se <u>u</u> ma solução de 0,1M de CuSO<sub>4</sub>5H<sub>2</sub>O mais 1M de tris. Deixou-se a solução evaporar dentro e fora da geladeira. No primeiro caso microcristais foram obtidos em aproximadamente duas se manas, de tamanho muito pequeno para medidas de RPE, mas bons para obtenção de dados cristalográficos.

No segundo caso, a evaporação se deu à temperatura ambiente, por mais de dois meses. Com isto obteve-se um unico monocristal de dimensões aproximadas de  $10 \times 10 \times 3$ mm.

O cristal usado nas medidas foi clivado, e tem  $\underline{u}$  ma forma típica mostrado na figura 7.a.

A cristalização de complexos de cobre com um, dois, três e quatro ligantes foi tentada. Para tanto pesou-se quantidades estequiométricas de 1 molécula de CuSO<sub>4</sub>5H<sub>2</sub>O para 1 molécula de tris (1:1), e para 2 (1:2), 3 (1:3) e 4 (1:4) moléculas de tris.

Cada uma destas quantidades foi misturada em <u>āl</u> cool etílico saturado de água (96%) com um agitador magnét<u>i</u> co. Para as quatro razões observou-se a precipitação (duran te a agitação) de pequenos cristais que diferiam na cor do cristal de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, e entre si, indicando formação de algum complexo. A cor do CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O é um azul celeste e o cristal é translúcido. A cor dos complexos formados com adição de tris se mostravam de um azul esverdeado opaco, sendo que o complexo da solução (1:4) era de um esverdeado mais escuro, e à medida que a razão 1:n baixava (n=3,2,1) o esverdeado tornava-se mais claro.

Nenhuma análise química destes cristais foi feita para saber-se de que complexo se tratava. Espectros preliminares de RPE foram feitos para o pó dos precipitados 1:1 e 1:4, notando-se uma pequena diferença na forma de linha deles. Estes espectros não serão apresentados neste trabalho.

# III.5 - Cristalografia

A cristalografia do cristal a pH acima de 9 está sendo feita pelo grupo de cristalografia deste departamento. Os parâmetros iniciais do complexo foram obtidos e serão <u>a</u> presentados nos capítulos de resultados [33].

# III.6 - Medidas de RPE

Os espectros de RPE foram medidos em um espect<u>o</u> metro de RPE da Varian, modelo E-9 de banda X (9GhZ). Cara<u>c</u> terísticas da construção e sensibilidade do aparelho podem ser encontradas no manual do equipamento. Este equipamento trabalha basicamente com opção por duas cavidades ressona<u>n</u> tes: uma retangular (Varian E-231) e uma cilíndrica (Varian E-233)

### 6.1 - Medidas em solução à temperatura ambiente

Pelas medidas feitas em solução, tanto à tempera tura ambiente como congelada, utilizou-se a cavidade retan gular. Esta escolha foi feita com o objetivo de aumentar a sensibilidade do aparelho [27].

Para evitar-se perdas dielétricas devido a presença de água (solvente das soluções) na cavidade, utilizou-se uma célula plana de quartzo como porta amostra. O mínimo de perda ocorre quando a parte larga da célula encontra-se paralela à lateral da cavidade. Nesta situação a amostra en contra-se na região de mínimo campo elétrico e máximo campo magnético de microonda.

BIBLIOTECA DE MISTUETO DE LE COMPANIO DE MARIO DE MISTORIO DE COLOR SE DE CONTRA DE CO

#### 6.2 - Medidas a baixa temperatura

Para congelar-se as amostras utilizou-se o sistema de temperatura variável de Varian. Neste sistema é mantido um fluxo de nitrogênio resfriado por uma sarpentina imeras am nitrogênio líquido, que congela a amostra.

A medida de temperatura foi realizada com um termometro mopar de Cu-Co imerso na amostra e ligado em um termometro Fluck modelo 2.100A.

As amostras de pH abaixo de 7 foi adicionado cerca de 30% de glicerol, no momento da medida. Este procedimento é extensamente usado [28] a fim de evitar-se a aglomeração dos complexos em solução. Esta aglomeração faz com que os complexos fiquem muito próximos, ocorrendo perda de resolução espectral por alargamento das linhas de ressonância pela interação dipolar.

#### 6.3 - Medidas no monocristal

O cristal foi montado em um cristal cúbico de KCL, de maneira que dois eixos cristalográficos coincidissem com dois dos eixos de laboratório. A montagem de cada um dos planos onde o campo magnético foi rotado - de 10° em 10° - são mostrados na figura 7.b, bem como a definição dos eixos cristalográficos.

A variação angular realizou-se utilizando a cavidade cilíndrica. Os valores de g foram medidos no ponto médio da distância entre os máximos da primeira derivada de linha de absorção, como mostra a figura 7.c, usando como padrão de g o DPPM(g=2,0036) e o  $Cr^{3+}$  em MgO(g=1,9797):

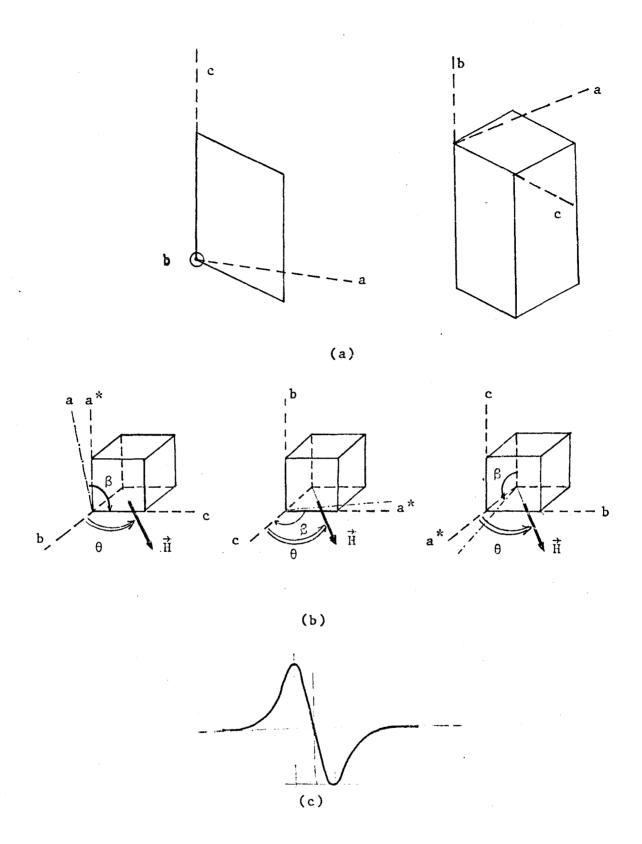


Fig. 7 - (a) Formologia do cristal clivado; os eixos a, b e c são os eixos cristalográficos [33];

- (b) Planos do cristal onde os espectros de RPE fo ram medidos a diferentes ângulos θ. Os eixos b e c do laboratório (definidos pelo paralelepí pedo) coincidem com os eixos cristalográficos, a\* não.
- (c) Medida do g. Centro da linha.

## III.7 - Medidas do espectro ótico

Os espectros óticos das soluções foram medidos no intervalo de 400 a 1100 nm em um espectrofotômetro Beckman modelo DK 20.

Com o objetivo de acompanhar a evolução do espectro de absorção da solução em função do pH foram obtidos dois espectros de cada amostra. Em uma medida colocou-se  $\underline{\tilde{a}}$  gua, na referência do espectômetro, e na outra a amostra com pH anterior.

# III.8 - Programas computacionais

Os programas utilizados para processamento dos dados foram rodados no computador VAX deste depart $\underline{a}$  mento.

# IV.1 - CURVAS DE FORMAÇÃO

A forma do tris é mostrada na figura abaixo.

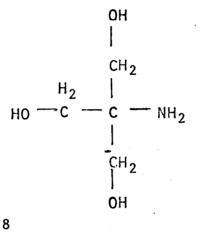


FIG. 8

Em solução o tris encontra-se de duas maneiras: uma espécie neutra, mostrada acima, que representaremos por L; a outra, a espécie com uma carga positiva, L<sup>+</sup>, onde um proton (H<sup>+</sup>) liga-se ao grupo amina (-NH<sub>2</sub>), para compartilhar os dois elétrons do átomo de nitrogênio. O equilíbrio destas duas espécies de tris é descrito pela reação

$$L^{+} \stackrel{\rightarrow}{\leftarrow} L + H^{+} \qquad .... (34.a)$$

que tem uma constante de reação (K) definida por

$$K = \frac{\begin{bmatrix} L \end{bmatrix} \begin{bmatrix} H^+ \end{bmatrix}}{\begin{bmatrix} L^+ \end{bmatrix}} \qquad \dots \qquad (34.b)$$

Pela equação (34), se a concentração de prótons da solução é alta -pH haixo- o equilíbrio estará deslocado para a direita, favorecendo o equilíbrio da concentração da espécie protonada. Se o pH é alto o equilíbrio estará deslocado para a esquerda. A proproção com que o equilíbrio é deslocado ao variar o pH é determinada pela constante de e quilíbrio K.

K.S. Bai e colaborador [5] determinaram o pK = = -log K = 8,09 do grupo amino do tris. Quando o pH é menor que este valor a concentração da forma protonada é maior que a da forma neutra, e vice-versa.

Como discutido na secção II.1, a coordenação do  $1\underline{i}$  gante ao metal se faz com os dois elétrons não emparelhados do átomo ligante apontando para o íon, neste caso o nitrogênio ou o oxigênio dos grupos hidroxil (-OH).

Hall e colaborador [31] e Hanlon e colaborador [32], publicaram as constantes de equilíbrio para os complexos do tris com o íon Cu(II), coordenados pelo nitrogênio baseando--se nas reações:

$$ML_{n-1}^{2+} + L \stackrel{?}{\leftarrow} ML_{n}^{2+}$$
  $n = 1, 2, 3, 4$  ... (35.a)

com constantes de equilíbrio definidas como

$$k_{n} = \frac{\left[ML_{n}^{2+}\right]}{\left[ML_{n-1}^{2+}\right]\left[L\right]} \qquad \dots (35.b)$$

K.S. Bai e colaborador, publicaram posteriormente as constantes de equilíbrio para este mesmo sistema, levando em conta a deprotonação de uma das hidroxilas e a formação de aneis quelatos com carga menor que 2+, e propondo além da

formação dos complexos definidos pelas equações (35.a), cha mados complexos "ordinários", a formação dos seguintes com plexos:

$$ML^{2+} \neq MH_{-1}L^{+} + H^{+}$$
 .... (36.a)

$$2MH_{-1}L^{+} \stackrel{*}{\rightleftharpoons} (MH_{-1}L)_{2}^{2+} \dots (37.a)$$

$$ML_2^{2+} \stackrel{\rightarrow}{\leftarrow} ML(H_{-1}L)^{+} + H^{+}$$
 .... (38.a)

$$ML(H_{-1}L)^{+} \stackrel{?}{\leftarrow} M(H_{-1}L)_{2} + H^{+}$$
 .... (39.a)

onde  $H_{-1}^{L}$  representa um próton removido do ligante tris como segue

$$(\text{HOCH}_2)_2 - \begin{array}{c} \text{OH} & & \text{O}^- \\ \text{CH}_2 & & \text{CH}_2 \\ \\ \text{L} & & \text{(HOCH}_2)_2 - \begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \\ \text{I} \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_{-1} \end{array}$$

sendo as constantes de equilíbrio associadas às reações de (36.a) e (39.a) dadas por:

$$k_{1a} = \frac{\left[MH_{-1}L^{+}\right]\left[H^{+}\right]}{\left[ML^{2+}\right]} \qquad \dots (36.b)$$

$$k_{ad} = \frac{\left[ (MH_{-1}L)_{2} \right]^{2}}{\left[ MH_{-1}L^{+} \right]^{2}}$$
 .... (37.b)

$$k_{2a} = \frac{\left[ML(H_{-1}L)^{+}\right]\left[H^{+}\right]}{\left[ML_{2}^{2+}\right]} \qquad \dots (38.b)$$

$$k_{2b} = \frac{\left[M(H_{-1}L)^{\circ}_{2}\right]\left[H^{+}\right]}{\left[ML(H_{-1}L)^{+}\right]} \qquad \dots (39.b)$$

Os complexos descritos pelas equações (35.a) são coordenados com o átomo de nitrogênio do ligante ao metal, como jã assinalado. A concentração de cada um destes complexos depende da concentração do ligante neutro em solução como definido pelas constantes  $k_n$ .

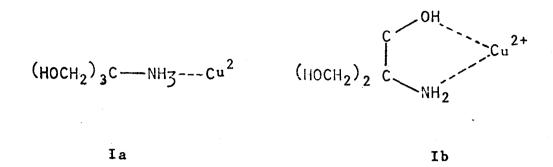
A concentração dos complexos  $M(H_{-1}L)^{2+}$ ,  $ML(H_{-1}L)^{+}$ ,  $(MH-L)^{2+}_2$  e  $M(H_{-1}L)^{0}_2$ , depende da concentração de  $ML^{2+}$ ,  $ML^{2+}_2$ , e do pH da solução.

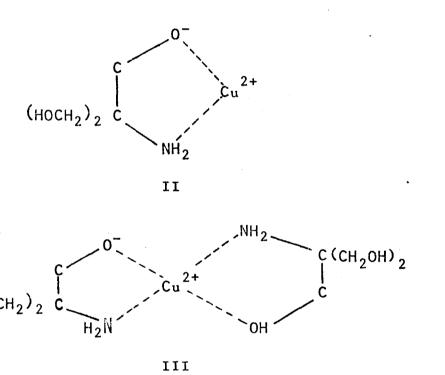
Em virtude da concentração de ligante neutro em solução também depender do pH, o valor desta grandeza determinará qual(is) complexo(s) existe(m) na solução a ser estudada.

Na referência [5] os autores na discussão de seus resultados propõem a esterioquímica da ligação de alguns dos complexos formados, apresentadas na figura 9.a.

Por comparação entre as constantes de formação de ML<sub>1</sub>, quando L é o tris, e quando é amônia (NH<sub>3</sub>), e por serem as constantes de equilíbrio nestes dois casos "grosseiramente as mesmas", apesar do pK do tris ser menor (~ 1 unidade de log) que o pK da amônia, eles optam pela esterioquímica lb. A razão disto é que, pelos argumentos colocados acima, pode-se concluir que o complexo ML<sub>1</sub>, onde L é o tris, é mais estável que o complexo onde L é amônia. Esta estabilidade adicional é o resultado da formação do anel quelato en volvendo uma coordenação fraca com um dos grupos hidroxil.

As esterioquímicas II, III e IV da figura 9.a, são propostas para os complexos  $MH_{-1}L^+$ ,  $MLH_{-1}L^+$  e  $M(H_{-1}L)^0_2$  respectivamente.





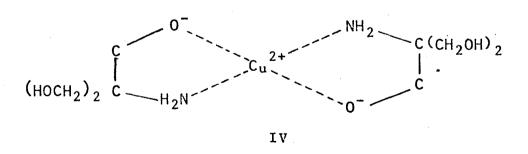


Fig. 9 - A esterioquímica dos complexos de Cu(II)-tris:

ML<sup>2+</sup> (Ia e Ib); MH<sub>-1</sub>L<sup>+</sup> (II); MLHL<sup>+</sup> (III); M(HL)<sup>o</sup>

(IV), propostas por K.S. Bai [5].

Utilizando-se a definição das constantes de equilibrio de (35.b) a (39.b), propostas para descrever o equilibrio em solução do sistema Cu(II)-tris, e seus valores da dos no Apêndice I, calculamos neste trabalho as curvas de formação dos complexos, de maneira similar aquela descrita na secção II.2.1. A construção das equações para este cálculo e os programas utilizados para sua resolução são dados no Apêndice I. Estas curvas são mostradas na figura 10, para soluções de 0,005 M de Cu(II) e 0,05 M de tris.

Estas concentrações de metal e ligante foram esco $\underline{o}$ lhidas por:

- 1 0,05M ser a concentração de soluções tampão geralmente utilizadas em estudos químicos e de sistemas biológicos.
- 2 0,005 M de Cu(II) ser a concentração geralmente usa da de cobre em estudos com proteínas e peptídios.

# IV.2 - Espectros óticos

O espectro de absorção eletrônica no visível para ions de transição é devido, principalmente, a transições d-d. O efeito dos ligantes sobre o estado fundamental 3d<sup>n</sup> do ion livre foi descrito na secção II.3.2. O desdobramento Δ de campo cristalino criado por diferentes ligantes e para todos os ions metálicos encontra-se estabelecido de forma empírica na série conhecida como Série Espectroquímica. Esta série prevê que os ligantes,

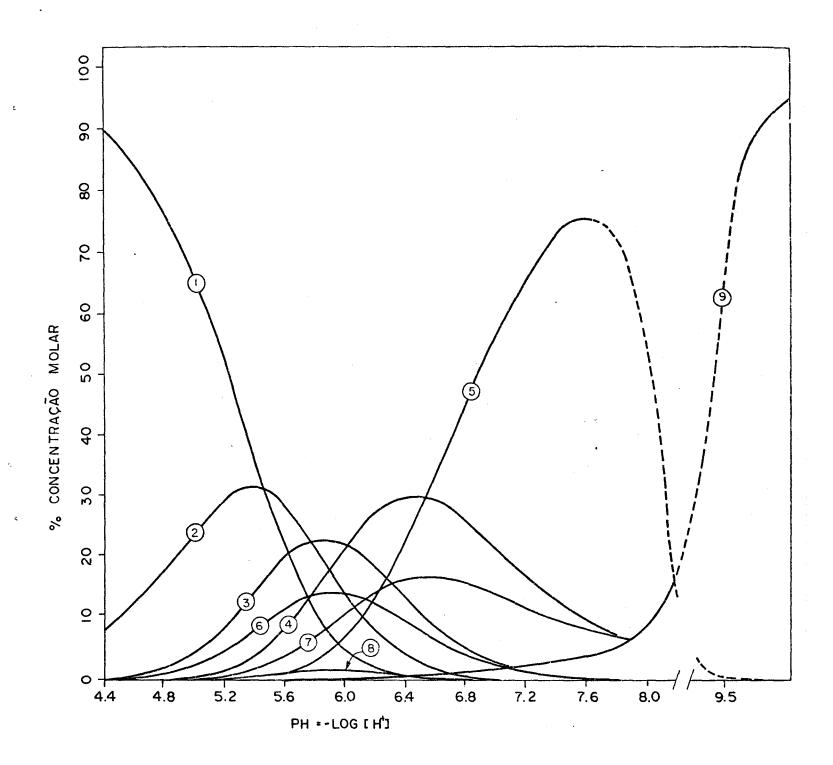


Fig. 10 - Grāfico das curvas de formação das espécies: 1 - M; 2 - ML;  $3 - ML_2$ ;  $4 - ML_3$ ;  $5 - ML_4$ ;  $6 - MH_{-1}L$ ;  $7 - MLH_{-1}L$ ;  $8 - (MHL)_2$ ;  $9 - M(HL)_2$ , para uma solução de 5 mM Cu(II)+50mM tris.

BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE CÉMICA E QUÍMICA DE SÃO CARLOS - USP PLETITA

$$OH^{-} < H_2O < NH_3 < etilenodiamina (*)$$

produzem desdobramento na forma indicada.

O espectro ótico para o íon cobre geralmente con siste de uma única linha larga.

Em complexos octaédricos, e octaédricos com distorções tetragonal, rômbica e quadrado planar, esta linha pode ser resolvida em no mínimo três componentes, correspondentes às transições dos níveis dxy, dz $^2$  e dxz, dyz para o nível fundamental dx $^2$ -y $^2$ .

Na figura 11 os espectros óticos da solução de Cu(II)-tris, obtidos a diferentes pHs, medidos no intervalo de comprimentos de onda de 400 a 1100 nm, são apresentados.

Aquelas linhas correspondentes as soluções com pH superior a 7,4, apresentam dois picos de absorção resolvidos. Para aquelas com o pH menor que este valor, esta resolução não ocorre. Em todo o intervalo de concentração hidrogeniônica as linhas são largas e ligeiramente assimétricas.

A medida que o pH  $\tilde{\mathbf{e}}$  aumentado, os picos de absorção são deslocados para as regiões de menor comprimento de onda, mostrando que os complexos formados a concentrações de H $^{\dagger}$  menores produzem desdobramentos  $\Delta$  de campo cristalino maior que aqueles que se formam a concentrações de H $^{\dagger}$ 

<sup>(\*)</sup> OBS.: A série contém outros ligantes além destes.[20]

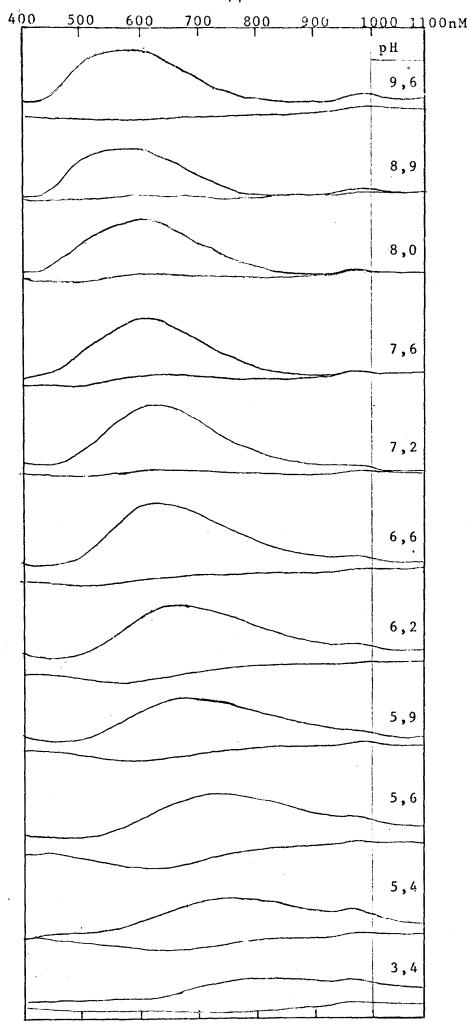


FIG. 11 - Espectros óticos da solução 5mM Cu(II)+50mM tris a diferentes pHs. Dois espectros registrados para o mesmo pH contra 2 referências: agua para o mais in tenso e amostra de pH anterior para o menos intenso.

maiores. A posição do máximo de absorção das linhas -  $\lambda_{max}$  está apresentada em função do pH na figura 12 (\*)

Na figura 12 pode-se observar vários patamares, de  $\lambda_{max}$ , correspondentes à existência de vários complexos que absorvem naqueles comprimentos de onda em concentrações de tectáveis.

Em torno do pH 6,6 as espécies ML<sub>3</sub> e MHLL têm máxima concentração e observa-se apenas um máximo de absorção. O mesmo ocorre em torno de pH 5,9, onde as concentrações de ML<sub>2</sub> e MHL são máximas. Isto indica que a diferença de desdobramento de campo cristalino produzido por cada uma destas espécies em cada um destes grupos, não é maior que a incerte za experimental com que o nível é determinado; ou que um dos complexos tem coeficiente de extinção molar muito menor que o outro.

A região de pH 7,5-8,0 é a de máxima concentração da espécie ML<sub>4</sub>, e o pico de absorção obtido nesta região de pH corresponde a aproximadamente 600 nm. Acima de pH 8, a concentração desta espécie decresce rapidamente e a concentração de M(HL)<sub>2</sub> cresce mais ou menos na mesma proporção. Nesta região, além do pico em 600 nm existe outro de aproximadamente 515 nm.

<sup>(\*)</sup> OBS.: Os gráficos dos parâmetros óticos e de RPE medidos em função do pH e apresentados neste trabalho conterão barras horizontais indicativas da existência dos diver sos complexos de Cu(II)-tris em concentração superior a 10%. Em cada barra haverá uma seta assinalando o pH onde o referido complexo é encontrado em máxima concentração. Estes valores são obtidos das curvas de formação dos complexos - Secção IV.1, figura 10.

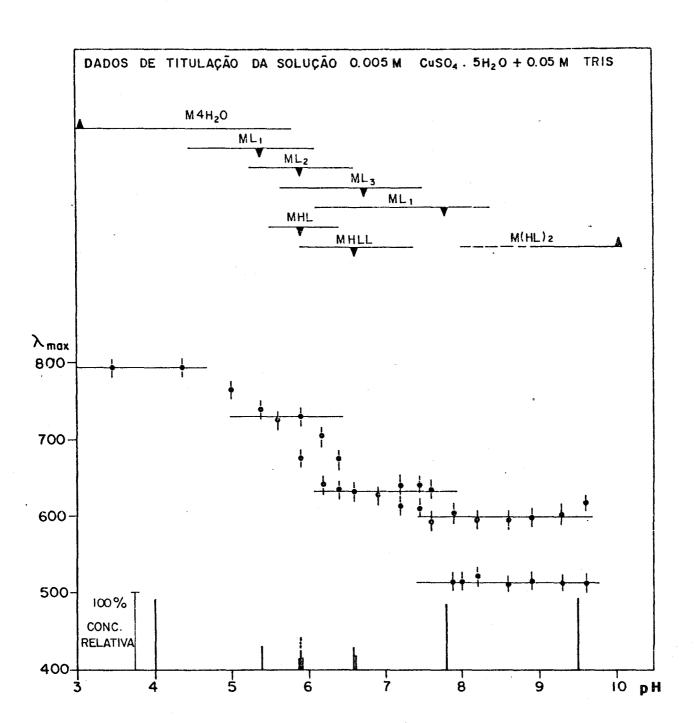


FIG. 12 - Comprimento de onda medido do pico de absorção do espectro ótico.

Os espectros óticos de complexos de Cu(II), com dois picos de absorção resolvidos, são observados geralmente em complexos penta-coordenados em simetrias trigonal bipira midal e quadrado piramidal [22]. O diagrama dos níveis de energia para estas simetrias encontra-se na figura 13.

# IV.3 - Espectros de RPE em solução a temperatura ambiente

Os espectros de RPE da solução de Cu(II)-tris, em varios pHs são apresentados na figura 14. A posição e a forma da linha mudam à medida que o pH é alterado em consequên cia da formação de complexos diferentes, e/ou a variação de suas concentrações.

Nas soluções com pH acima de 8 o espectro não é al terado devido à mudança do pH. A quarta linha - linha de cam po alto - deste espectro está desdobrada em cinco linhas. A constante de interação super-hiperfina do elétron com o spin nuclear do ligante neste complexo é de 9,6 ± 0,3G. Este des dobramento é típico de nitrogênio. Quando em um complexo pa ramagnético existem dois nitrogênios coordenados equivalente (equivalente no sentido que o desdobramento superhiperfino An produzido pelos dois átomos são iguais), o nível fundamental do elétron estará desdobrado em cinco subníveis, como mostrado na figura da página seguinte.

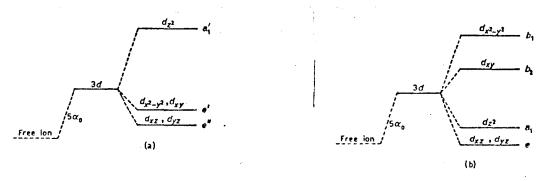
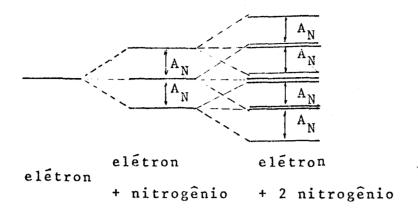


FIG. 13 - Diagramas de desdobramentos para vizinhanças (a) penta-coordenadas bipiramidal e (b) quadrado pira midal.



As intensidades das transições entre estes subníveis são 1:2:3:2:1 (intensidades relativas).

Apesar de não ser possível medir-se razoavelmente a intensidade das linhas desdobradas devido a superposição parcial entre elas, o número e a magnitude do desdobramento são evidências fortes da presença de dois nitrogênios participando da ligação, o que está em perfeito acordo com a especie M(HL)<sub>2</sub> que deve existir predominantemente nesta região de pH.

A medida que o pH é reduzido observa-se o deslo camento das linhas de absorção de RPE para valores de g maiores. Abaixo de pH 7 observa-se a superposição de diferentes espectos devido a presença de mais de um complexo. Sendo a linha de campo mais alto a de maior intensidade nestes complexos, resolveu-se acompanhar a mudança da posição do espectro - definida pelo fator go - medindo-se a posição desta quarta linha em "unidades" de g. A esta medida chamou-se de go4, e vem dada por

$$g_{04} = \frac{hv}{3H_{04}}$$

onde H 6 o campo de ressonância da quarta linha à fre

quência  $\nu$ . A relação entre  $H_{04}$  e o campo de ressonância do complexo à frequência  $\nu$ , e a constante de interação hiperfina  $A_0$  é

$$H_{04} = H_{0} + 3/2 A_{0}$$

e portanto

$$g_{o4} = \frac{hv}{\beta} \left( \frac{1}{H_o + 3/2A_o} \right) \qquad ou$$

$$g_{o4} = \frac{hv}{\beta H_o} \left( \frac{H_o}{H_o + 3/2A_o} \right) = g_o \left( \frac{H_o}{H_o + 3/2A_o} \right) \dots (36)$$

onde  $g_0$  em (36)  $\tilde{e}$  o fator giromagnético do complexo.

O gráfico da medida de g<sub>04</sub> em função do pH encontra-se na figura 15 e os valores medidos a diversos pHs na tabela III. O espectro de RPE do fon cobre livre (hidratado) nas soluções medidas não mostra estrutura hiperfina resolvida, de forma que o gráfico de g<sub>04</sub> em função do pH não contém informação da existência desta espécie.

Pode-se ver neste gráfico quatro patamares de g<sub>04</sub> diferentes; uma tentativa pode ser feita de associá-los aos diferentes complexos previstos na figura 10; isto é indica do pelas barras horizontais. Os valores de g<sub>04</sub>, e os complexos associados encontram-se na tabela I.

O critério usado para medir-se os valores de a<sub>o</sub> e g<sub>o</sub> foi alterado em função da resolução espectral inerente a cada intervalo de pH indicado na tabela I.

COMPLEXO	ΔрН	<sup>8</sup> o 4	g <sub>o</sub> ± 0,003	a <sub>o</sub> (Gauss)	g <sub>o4</sub> Calculado eq. (36)
M(HL) °	> 8	2,030	2,112	82 ± 2	2,031 ± 0,003
ML <sub>4</sub>	7,5 - 8	2,029 ou 2,057	2,119	71 ± 3	2,050 ± 0,003
ML <sub>3</sub> e MHLL	6,5 - 6,8	2,058	2,124	67 ± 3	2,059 ± 0,003
ML <sub>2</sub> e MHL	5,6 - 5,9	2,068	2,134	63 ± 4	2,073 ± 0,005
ML	4,5 - 5,5	2,138	2,173	< 40 ~ 34*	ann and ann ann ann

TABELA I -  $\Delta$ pH - intervalo de pH onde o complexo tem máxima concentração;  $g_{04}$  - posição da quarta linha medida nos espectros;  $g_{0}$  é o fator giromagnético do complexo e a a constante de desdobramento hiperfina;  $g_{04}$  - é o valor de  $g_{04}$  calculado pela expressão (36).

<sup>\*</sup> Valor avaliado com expressão (36).

A espécie  $\mathrm{M(HL}_2)$  existe praticamente isolada para pHs maiores que 8. Assim sendo, as medidas de go e a foram realizadas de maneira usual.

A linha de maior intensidade do complexo  $\mathrm{ML_4}$  - a quarta - está superposta à quarta linha do complexo  $\mathrm{M(HL)_2}$ . No espectro a pH 7,5 isto pode ser visto, notando que a li nha onde o desdobramento de nitrogênio aparece - linha de  $\mathrm{M(HL)_2}$  - está deformada. A deformação da linha de  $\mathrm{ML_4}$  também é esperada, causando o corrimento de seu centro para valores de campo menor, e portanto a um valor de  $\mathrm{g_{04}}$  medido maior que aquele que encontraríamos se não houvesse superposição. Assim sendo o patamar de  $\mathrm{g_{04}}$  igual a 2,058 encontrado no gráfico deve equivaler a dois valores de  $\mathrm{g_{04}}$  não resolvidos; um com aproximadamente este valor, e o outro com valor de  $\mathrm{g_{04}}$  ligeiramente menor.

A medida de a<sub>o</sub> para ML<sub>4</sub> foi feita tomado-se o valor medido do desdobramento das três primeiras linhas de seu espectro, e g<sub>o</sub> foi tomado no centro do desdobramento das duas linhas centrais. Com estes valores e a eq. (36) calculou-se o valor de g<sub>o</sub>4 que se espera encontrar para este espectro sem superposição. A diferença entre os valores de g<sub>o</sub>4; 2,057 e 2,050, medido e calculado respectivamente, fornece um deslocamento da linha de ressonância medida de cerca de 10 gauss. Este valor encontra-se dentro do que se espera, quando avalia-se o deslocamento produzido na linha de ML<sub>4</sub> quando a ela se superpõe a linha de M(HL)<sub>2</sub> no espectro de pH 7,5.

A forma de linha entre os plis 6,5 e 6,8  $\tilde{\epsilon}$  menos distorcida que aquelas encontradas nas regiões de pH um pou co acima e um pouco abaixo. Por isto os valores de a $_0$  e  $_0$ 

foram medidos de maneira usual. O valor de  $g_{04}$ , calculado para este espectro encontra-se em bom acordo com o medido. Os valores de  $a_0$ ,  $g_0$  e  $g_{04}$  estão na tabela I.

Nos espectros com pHs entre 5,6 e 5,9 a ção do desdobramento é sensivelmente reduzida devido a gura das linhas espectrais comparavel ao desdobramento. te espectro constitue-se basicamente da superposição de uma linha larga a campo mais baixo, que contem as três primeira ras linhas do espectro, com uma outra linha que corresponde à quarta linha do espectro, que fica em campo mais alto e é melhor resolvida devido a sua menor largura. Neste caso fi que as três primeiras linhas do espectro evidente (campo baixo) têm uma largura maior que o desdobramento per dendo a sua resolução. A linha no campo alto é assimétrica, indicando que esta superposição mascara a sua intensidade. Nesta faixa de pH as medidas de  $a_0$  e  $g_0$  foram feitas toman do-se um terço da distância entre os desdobramentos mais e $\underline{x}$ ternos (embora mal resolvidos) para a, e o ponto medio des ta distância para g<sub>o</sub>. Tab. I. O valor de g<sub>o</sub>4 calculado maior que o medido, indicando novamente que ocorre a super posição "carregando" o centro da quarta linha para valores de campo mais altos.

Nos pHs logo abaixo de 5 o espectro constitui-se de uma única linha larga, apresentando um desdobramento mal resolvido. A medida de go é feita no centro desta linha e seu valor encontra-se na tabela I. O valor de ao deve ser menor que um quarto da largura de linha, isto é, menor que 40 gauss. Usando-se a expressão (36) avaliou-se ao para esta espécie.



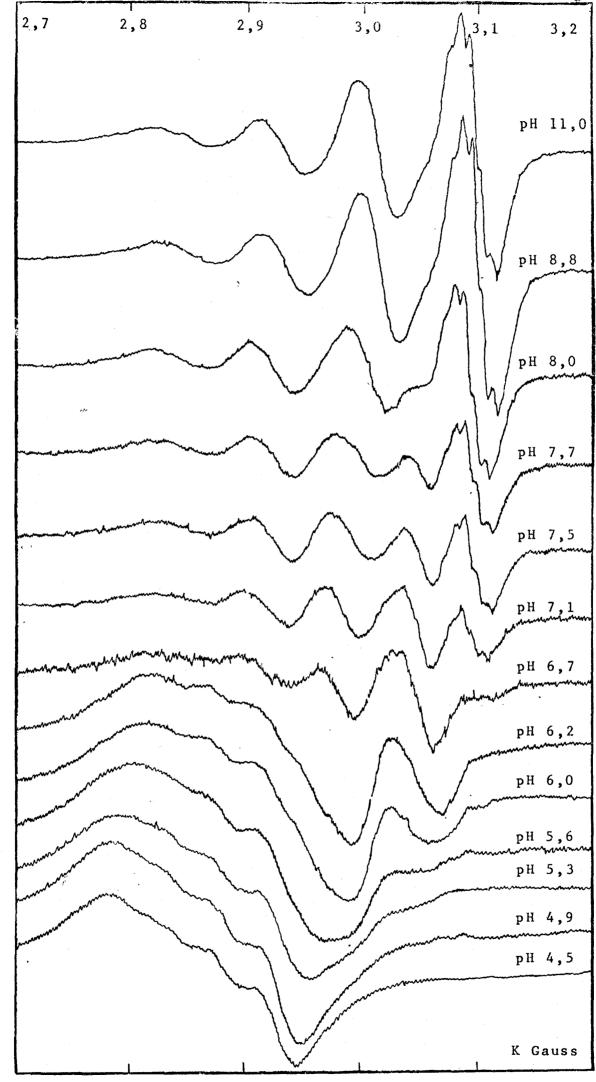
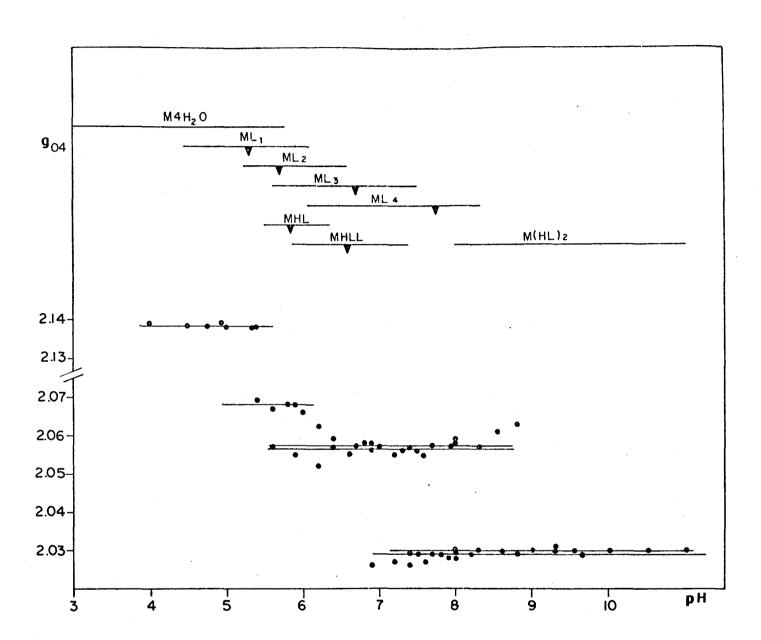


FIG. 14 - Espectro da solução Cu(II)-tris a vários pHs. Temperatura ambiente.

\$



`FIG. 15 - Gráfico g<sub>o 4</sub> em função do pH. OBS.: Para definição de g<sub>o 4</sub> vide texto.

O espectro a pHs menores que 4 tem valores de go correspondentes aos medidos para o ion cobre hidratado em solução.

# IV.4 - Espectros de RPE da solução congelada (~ -150°C)

Os espectros de RPE das amostras, a diversos pHs, congeladas encontram-se na figura 18. Todos os espectros com pH abaixo de 7 foram obtidos misturando-se, préviamente à solução, glicerol, a fim de evitar-se a formação de aglo merados paramagnéticos, e por consequência, alargamento das linhas de ressonância devido a interação dipolar entre os fons paramagnéticos.

Em pHs acima de 8 existe predominantemente um complexo - M(HL), como proposto por K.S. Bai [5] e, evidencia do pelos resultados até aqui apresentados. Nestes pHs não é observado alargamento das linhas de RPE quando a solução sem glicerol é congelada. Para aqueles pHs com valores meno res que 7 o alargamento é considerável. Na figura 17 encontra-se o espectro de uma solução no mesmo pH, com e sem glicerol.

O não alargamento das línhas para as soluções com predominantemente M(HL), pode ser explicado ao considerar-se que este complexo é neutro, como proposto [5]. Ao congelar-se a solução a água procura a situação de mínima energia, que corresponde à máxima entropia; caso nesta solução existam complexos carregados os dipolos da água se orientarão de maneira a baixar a energia do sistema. Se isto ocorrer de maneira isolada para cada ion o sistema terá baixa

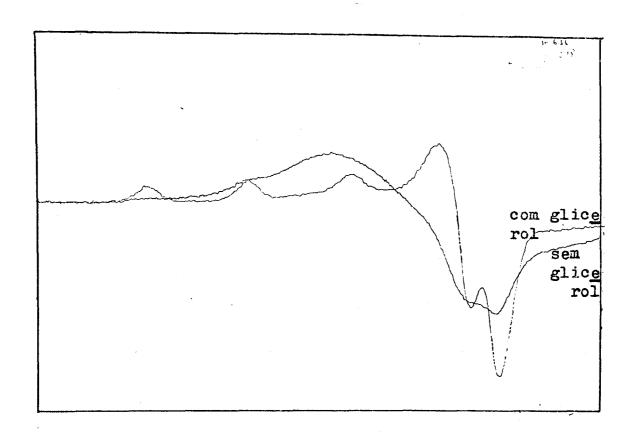


FIG. 17 - Espectros da solução 5mM Cu(II) + 50mM tris a pH 6,6, na solução aquosa e na solução aquosa + 30% glicerol.

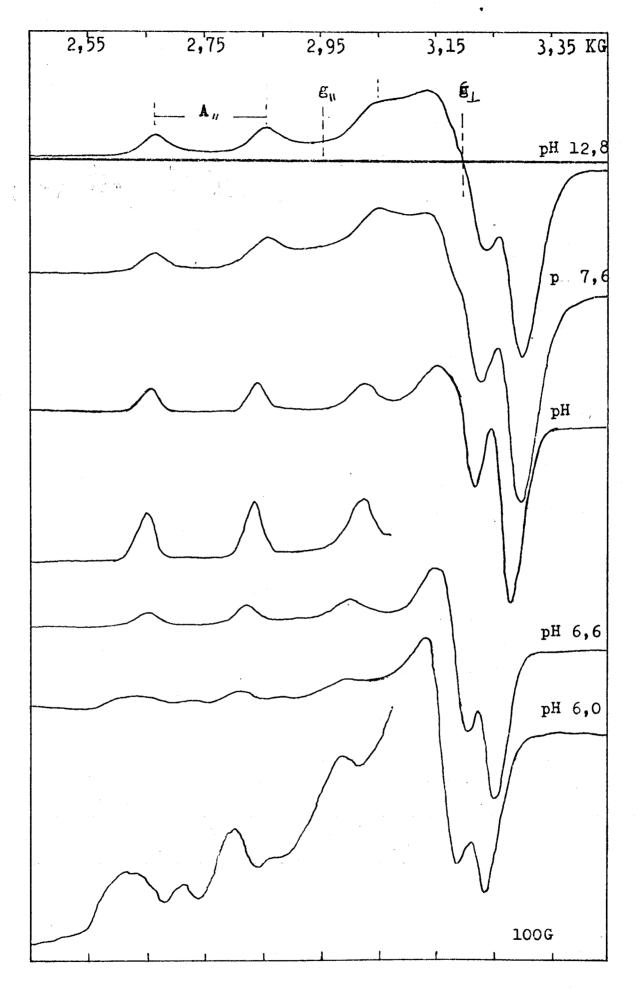


FIG. 18.a - Espectro da solução Cu-tris congelada (-150°C) a vários pHs.

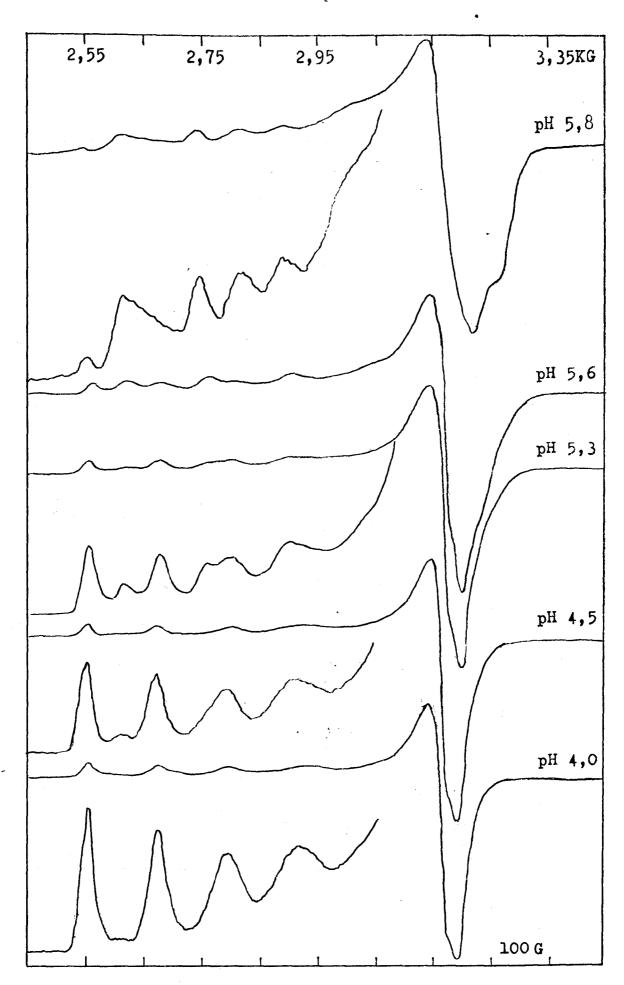


Fig. 18.b - Espectros da solução Cu-tris congelada (-150°C) a vários pHs.

entropia. Entretanto, para que a entropia aumente estas car gas são forçadas a formarem aglomerados, fazendo com que a distância entre os centros paramagnéticos seja pequena, tor nando a interação entre os fons de Cu(II) significativa. Sen do o complexo neutro ele se comportará como mais um dipolo e não ocorre a formação de aglomerados.

Observando o não alargamento para as soluções com pH maior que 8 buscou-se outra evidência da neutralidade da espécie  $M(H_{-1}L)_2^0$ , acrescentando-se solventes orgânicos (butando e cloroformio) à solução aquosa. Após agitação da mistura, observa-se a presença de complexo nas duas fases: aquosa e orgânica.

A análise do comportamento do espectro de RPE das soluções Cu(II)-tris congeladas em toda a extensão de pH estudada foi feita supondo-se simetria axial para as espécies formadas, isto é:

$$g_x = g_y = g_1$$
 e  $A_x = A_y = A_1$ 

е

$$g_z = g_{\parallel}$$
 e  $A_z = A_{\parallel}$ 

As medidas de  $g_{||}$ ,  $A_{||}$  e  $g_{1}$  foram feitas como indica do no espectro em pH 12,2 da figura 18. Em alguns pHs a linha de campo baixo foi registrada duas vezes, sendo que na segun da vez utilizou-se um ganho maior que na primeira, a fim de obter-se melhor resolução espectral nesta região. Nas figuras 19, 20 e 21 encontram-se os gráficos de  $g_{||}$ ,  $g_{1}$  e  $A_{||}$ , respectivamente, em função do pH.

Nos gráficos de g<sub>||</sub> e A<sub>||</sub> existem cinco patamares

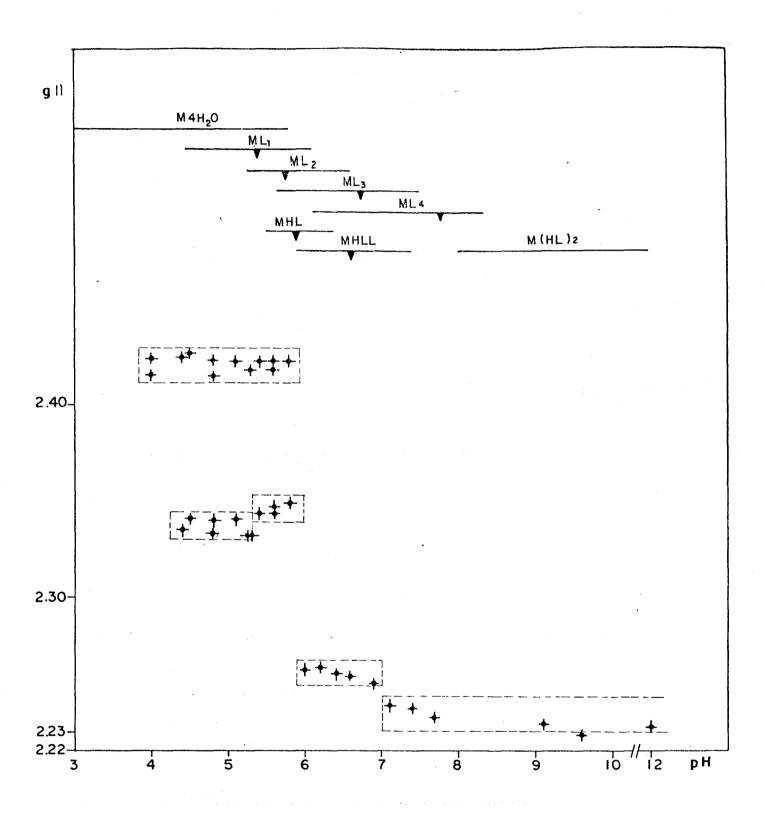


FIG. 19 - Gráfico de g., - medido nos espectros congelados - em função do pH da solução.

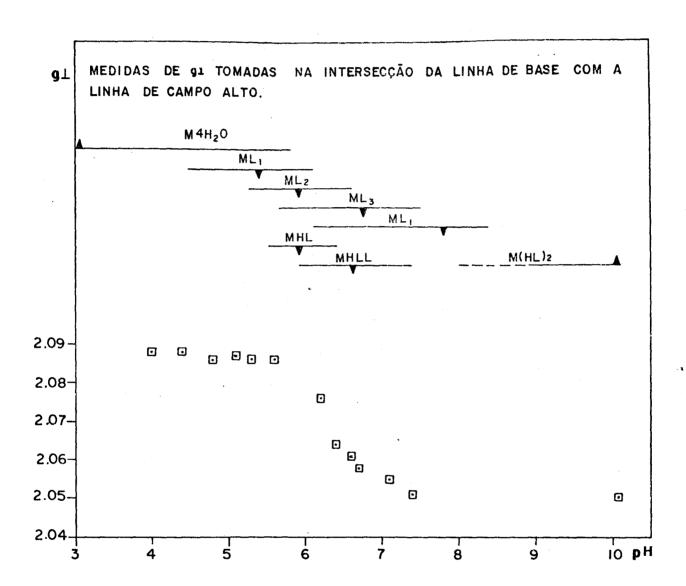


FIG. 20 - Gráfico de g - medido nos espectros congelados - em função do pH da solução.

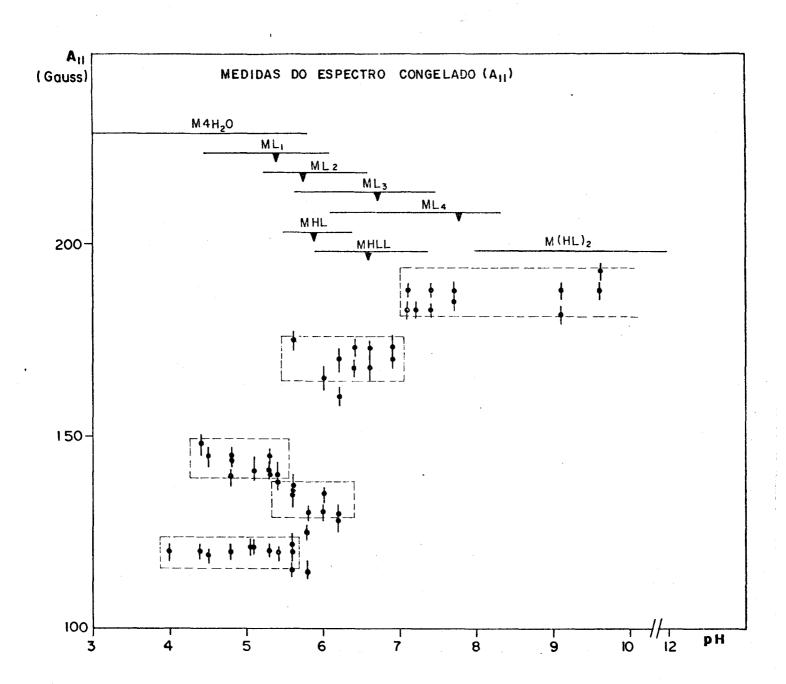


FIG. 21 - Gráfico de A, - medido nos espectros congelados - em função do pH.

que podem ser correlacionados aos cinco grupos de espécies complexadas em solução e indicado pelas barras:

- 1)  $M(H_1L)_2^0 = ML_4^{2+}$
- 2)  $ML_3^{2+}$  e  $MH_3LL_1^{1+}$
- 3)  $ML_2^{2+}$  e  $MH_1L^{1+}$
- 4) ML<sup>2+</sup>
- 5)  $M(H_2^0)_4^{2+}$

Estes patamares estão em acordo com o que é observado nas medidas de  $g_{04}$  (à excessão de  $M(H_20)_4^{2+}$ como mencionado na secção IV.3) e de  $\lambda_{max}$  - figuras 15 e 13 respectivamente.

Os valores de  $g_{II}$ ,  $g_{\underline{1}}$  e  $A_{II}$ , nas cinco regiões onde os máximos das espécies de complexo formadas em solução <u>e</u> xistem, são dados na tabela II. Além disto a tabela contém os valores de  $g_{0}$  calculado a partir das medidas de  $g_{II}$  e  $g_{\underline{1}}$  com o uso da expressão (24), reescrita aqui:

$$g_0 = 1/3 (g_{||} + 2 g_{||})$$

A comparação entre os valores de  $g_o$  calculados na tabela II e os valores de  $g_o$  medidos nos espectros em solução leva a uma boa concordância para os complexos  $M(HL)_2^0$ ,  $ML_3^{2+}$  e  $MHLL_3^{1+}$ ,  $ML_3^{2+}$ . Para o complexo  $ML_4^{2+}$  o valor encontrado de  $g_o$ , a partir dos dados de  $g_{\parallel}$  e  $g_{\parallel}$  são ligeiramente diferentes daqueles medidos em solução. A causa disto é possivelmente a similaridade dos valores dos parâmetros de RPE entre este complexo e o  $M(HL)_2^0$ .

COMPLEXO	ΔрΗ	811	g <sub>1</sub>	A <sub>II</sub> (G)	g <sub>o</sub> (24)
M(HL) °	> 8	2,232 ± 0,002	2,05	188 ± 3	2,111 ± 0,002
ML 2+	7,5 - 8	2,238 ± 0,004	2,05	188 ± 3	2,113 ± 0,004
ML <sub>3</sub> <sup>2+</sup> e MHLL <sup>1+</sup>	6,5 - 6,8	2,257 ± 0,004	2,06	171 ± 3	2,126 ± 0,004
ML <sub>2</sub> +e MHL <sup>1+</sup>	5,6 - 5,9	2,346 ± 0,004	2,07 ± 0,01	135 ± 3	2,162 ± 0,015
ML <sup>2+</sup>	4,5 - 5,5	2,337 ± 0,003	2,086	142 ± 3	2,170 ± 0,003
<b>M</b>	< 4	2,424	2,088	120	2,199

TABELA II - Parâmetros de RPE obtidos das medidas da solução congelada a diversos pHs.

## IV.5 - RPE do cristal pelo complexo a pH alto

Como descrito na secção 3.4, o complexo a pH acima de 8 -  $M(HL_2)^{\circ}$  - foi cristalizado.

Dados preliminares de cristalografia foram obtidos por M.T.P. Gam bardela e S.H. Pulcinelli do grupo de cristalografia. O cristal pertence ao sistema monoclínico com os seguintes parâmetros

- -a = 10,085Å; b = 6,350Å; c = 12,915Å
- $-\alpha = 90^{\circ}$ ;  $\beta = 95,83^{\circ}$ ;  $\gamma = 90^{\circ}$
- volume da celula unitaria V = 821,2513A3
- grupo espacial P2
- número de moléculas por célula unitária z = 4

A montagem do cristal orientado está descrita na secção 3.4 e mostrada na figura 7.b. Nesta montagem os eixos b e c do laboratório coincidem com b e c cristalográficos.

Na rotação do campo magnético em torno do eixo b observa-se uma única linha de absorção, de largura ΔΗ variável entre 75 e 200 gauss. A menor largura ΔΗ e observada para a linha com menor g e a maior largura para a linha com maior g. Os espectros obtidos na rotação em torno dos eixos c e a consistem de linhas de absorção superpostas, e nos dois casos a largura varia entre 70 e 300 gauss. Estas duas linhas correm em direções opostas, de forma que quando uma tem máxima largura a outra tem mínima.

A intensidade da linha menos larga é muitas vezes maior que a outra para quase todas as orientações do campo H em relação ao eixo a e c\*, nos planos a\*b e bc.

A observação de dois espectros nos planos bax e bc deve-se à existência de duas moléculas magnéticamente não equivalentes no cristal. A não resolução espectral das interações do elétron do ion do metal com os spins nucleares tanto do ion mesmo quanto dos ligantes - 2 nitrogênios -, é causada pelo alargamento destas linhas de ressonância pela interação entre os centros paramagnéticos.

O campo de ressonância foi medido no centro da linha de absorção. Nos planos onde ocorre superposição de linhas, so é possível medir-se o centro da linha de maior amplitude. O campo de ressonância medido foi corrigido us sando-se marcadores de campo: Cr3+ com g 3+ = 1,9797 e com g 3+ = 2,0036. Registrou-se simultaneamente os espectros destes marcadores, e supondo correta a medida de frequência feita na fonte de microondas, calculou-se o campo de ressonância para cada espectro. A diferença entre os campos medidos e calculados foi de 2,78 gauss para dppH e de 2,75 gauss para o Cr3+. Assim sendo tomou-se o campo real com o valor medido menos 2,8 gauss.

Nas figuras 23, 24 e 25 encontram-se os gráficos das variações angulares de g em torno dos eixos a\*, b e c respectivamente. Para a obtenção de uma melhor resolução das variações de g, os pontos experimentais foram ajustados com a equação 30, utilizando um programa de ajuste cedido por A. Tanussi. Este programa usa o método de Jacobi

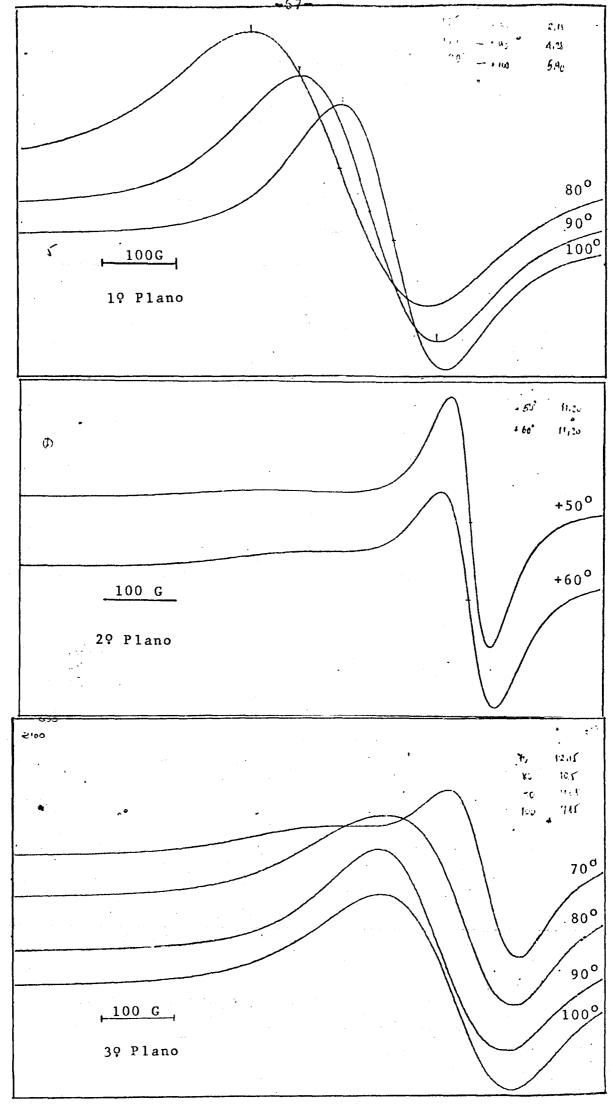
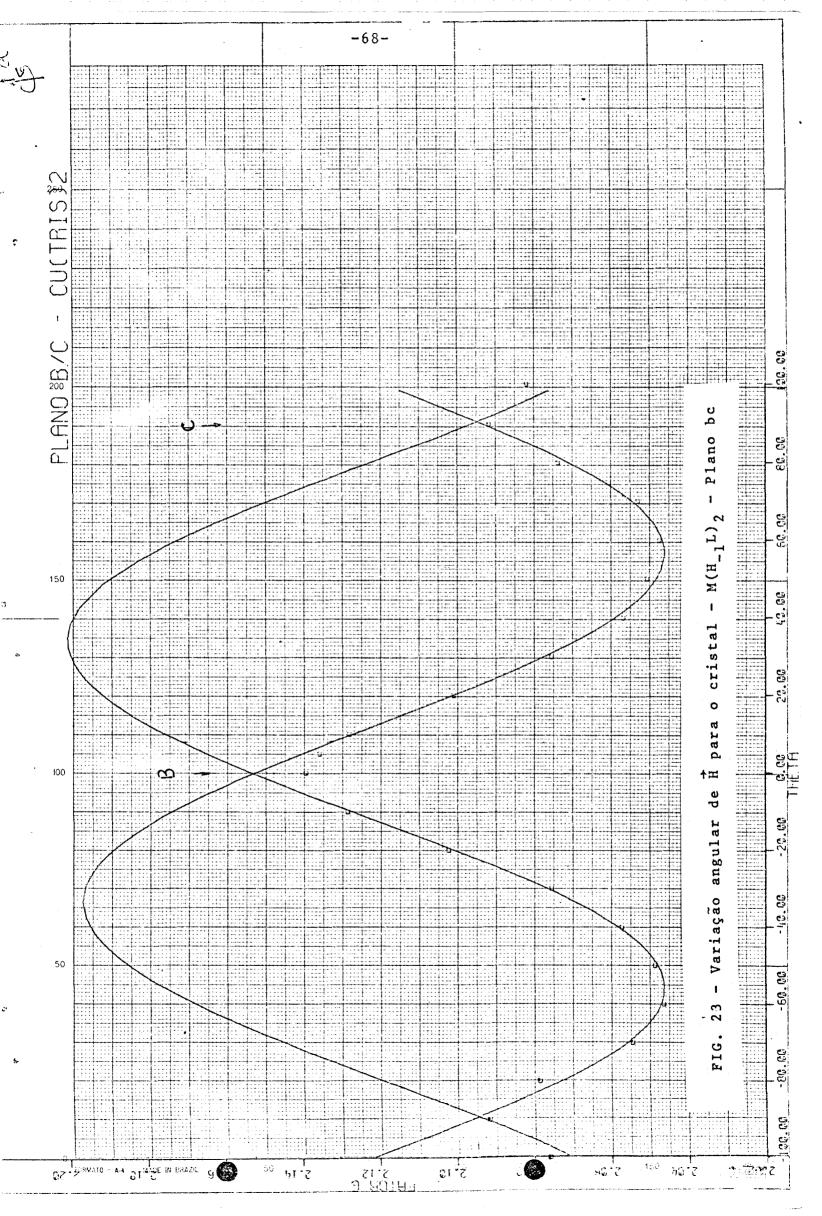
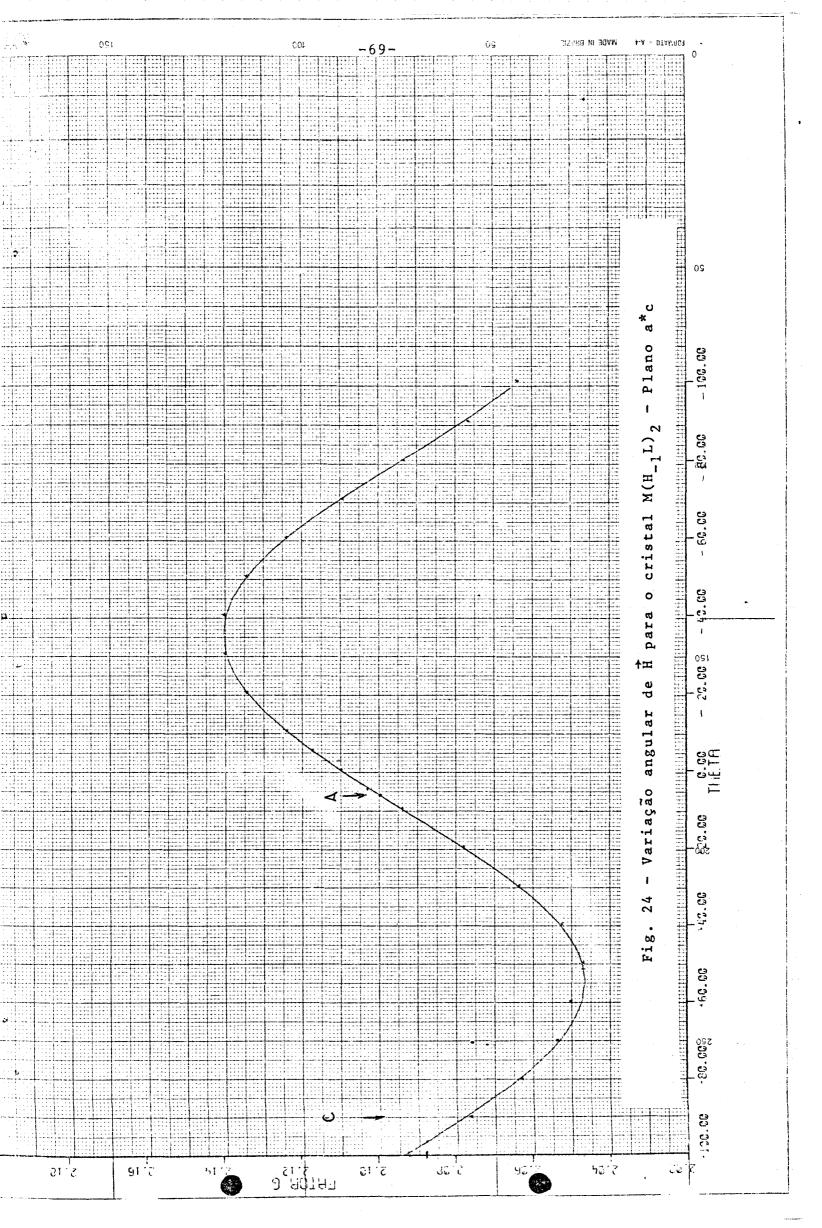
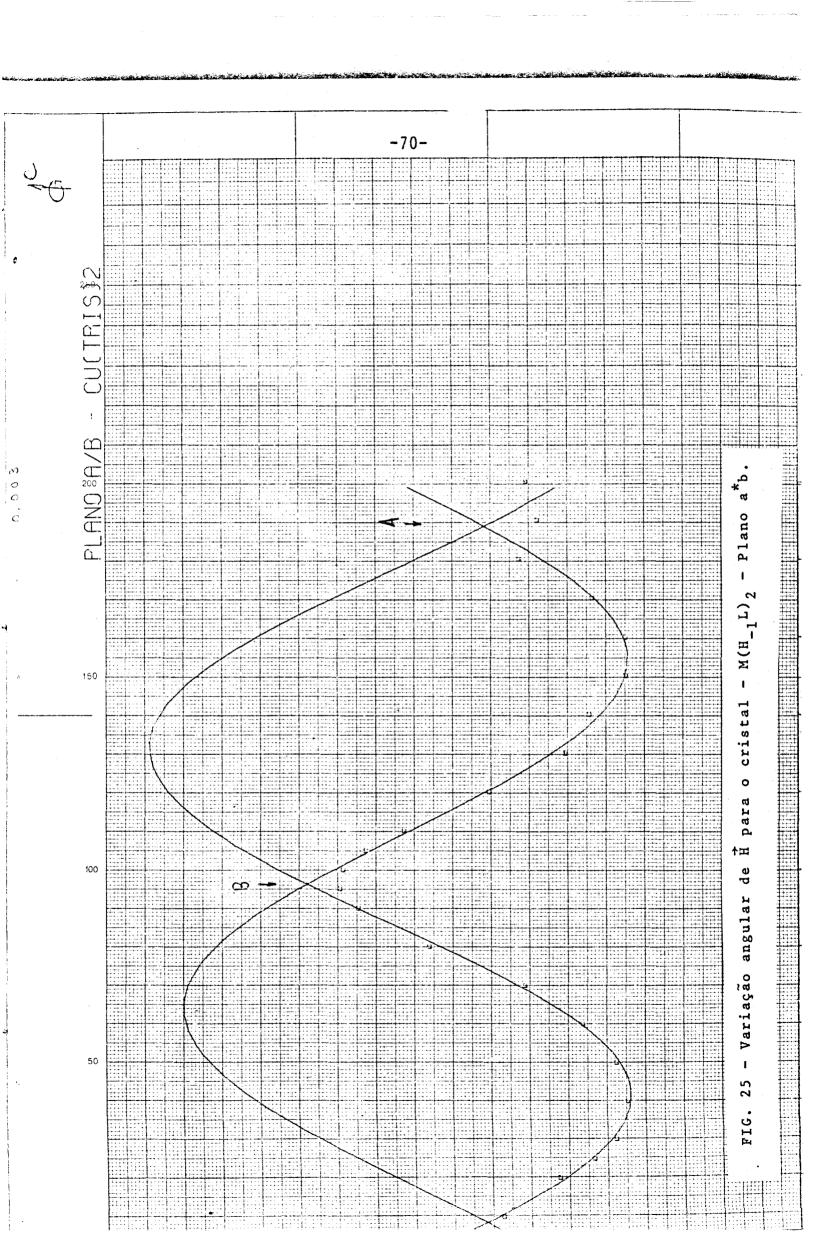


FIG. 22 - Espectros de variação angular nos três planos ind $\underline{i}$  cados.







Para os três planos a equação (30) ajusta-se bem aos pontos experimentais, à excessão dos pontos muito proximos do cruzamento das linhas de absorção, nas variações em torno de a\* e c. Isto se deve à superposição não resolvida de linhas de larguras comparáveis. Além disso, a cur va ajustada teoricamente descreve inclusive a variação de g não resolvida experimentalmente.

A absorção de apenas uma linha na rotação em tor no de b indica que os eixos de simetria do campo elétrico dos dois centros paramagnéticos fazem o mesmo ângulo com relação a este eixo, sendo um a imagem especular do outro. Portanto os dois tensores giromagnéticos são equivalentes para H perpendicular a b.

Desde que as rotações são feitas em planos per pendiculares os valores de g nas direções dos eixos a\*, b e c são determinados duas vezes. No plano a\*c, um único va lor de  $g_{a*a*}$  e  $g_{cc}$  é determinado, uma vez que o espectro consiste de somente uma linha neste plano. Por isso  $g_{a*a*}$  medido no plano a\*b, e  $g_{bb}$  medido no plano cb devem ter um único valor, determinando que os eixos coordenados a\*, b e c encontram-se no cruzamento das linhas de ressonância, e portanto, o ângulo  $\theta = 0^{\circ}$  da variação angular. O valor dos elementos fora da diagonal  $g_{ij}$  é encontrado usando a eq. (30), com g medido a  $\theta = 45^{\circ}$  em cada plano, e valores de  $g_{ii}$  e  $g_{jj}$  (ii,jj=a\*,c; a\*,b; b,c) encontrados. Nos planos a\*b e bc obtém-se dois valores de  $g_{ij}$  correspondentes às duas linhas de RPE encontradas.

Com estes valores constroe-se a matriz de  $g^2$ , a ser diagonalizada, como segue:

•	a*	Ъ	c
a*	4,415 4,405	0,26 0,23	-0,11
ь		4,631 4,609	0,30 -0,30
С			4,381 4,360
<b>(</b> .			

sendo a matriz dos valores médios de g<sup>2</sup>:

	a*	Ъ	c
a*	4,410	±0,25	-0,11
b*		4,620	±0,30
c			4,370

onde os sinais mais(+) e menos(-) nos elementos a\*b e bc definem o tensor g<sup>2</sup> de um e outro complexo no sistema de laboratório. Estas duas matrizes diagonalizadas resultam na matriz diagonal

$$g_{diag} = \begin{pmatrix} 2,208 & 0 & 0 \\ 0 & 2,006 & 0 \\ 0 & 0 & 2.122 \end{pmatrix}$$

e nas matrizes dos cossenos diretores:

$$I = \begin{pmatrix} 0,36 & -0,35 & -0,77 \\ 0,47 & -0,84 & -3x10^{-3} \\ 0,43 & -42 & 0,64 \end{pmatrix} \quad e \quad II = \begin{pmatrix} 0,54 & 0,35 & -0,76 \\ 0,55 & -0,83 & +0,3x10^{-3} \\ 0,64 & 0,42 & 0,64 \end{pmatrix}$$

que definem as direções de um e outro tensor giromagnético com relação aos eixos cristalográficos. Estas orientações encontram-se esquematizadas na figura 26.

O valor médio dos elementos principais do tensor giromagnético para este complexo

$$g_{o} = 1/3 (g_{x} + g_{y} + g_{z}) = 2,112$$

encontrando-se em perfeito acordo com aquele obtido na solução ( $g_0 = 2,112 \pm 0,003$ ). A diferença entre os valores principais de g medidos no cristal, e os valores de  $g_{\parallel} = g_{\perp}$  medidos na solução congelada ( $g_{\parallel} = 2,232$ ;  $g_{\perp} = 2,050$ ), deverse obviamente à simetria ortorômbica do tensor, e não à simetria axial como suposto para a obtenção dos valores no espectro de RPE da solução congelada.

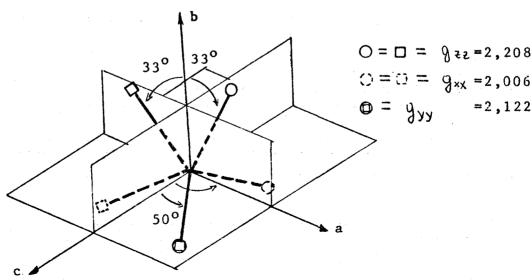


FIG. 26 - Orientação dos tensores g com relação aos eixos cristalográficos.

## v. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

#### V.1 - Discussão dos Resultados

A interação do ion Cu(II) com diferentes ligantes foi tratada por alguns autores [29], usando teoria de orbitais moleculares. O cálculo do efeito dos ligantes sobre o estado fundamental do elétron não emparelhado fornece os fatores giromagnéticos e desdobramentos de campo cristalino (Δ), hiperfino e superhiperfino relacionados aos graus de mistura dos orbitais do metal e dos ligantes na formação do orbital molecular. Estes graus de mistura são interpretados como os graus de covalência das ligações metal-ligante. De maneira geral, se a ligação é mais covalente - maior mistura dos orbitais - os valores de g decrescem e os valores dos desdobramentos Δ, hiper e superhiperfino aumentam.

O comportamento dos parâmetros  $\lambda_{max}$ ,  $g_{04}$ ,  $g_{||}$  e  $A_{||}$  em função do pH está dado nos gráficos das figuras 12, 15, 19 e 20, respectivamente. De maneira geral, os três primeiros parâmetros diminuem quando o pH aumenta e o último,  $A_{||}$ , aumenta, indicando que a covalência dos complexos a pHs maiores é maior que a daqueles complexos a pHs menores. Excessão a esta regra é notada no gráfico de  $g_{||}$  em função do pH, onde, para os complexos  $ML_2$  e MHL o valor de  $g_{||}$  é maior que o valor de ML. Entretanto, pelas curvas de formação os complexos  $ML_2$  e MHL são mais estáveis que ML, ou mais cova

lentes. Esta mudança no comportamento de  $g_{||}$ , neste caso, pode ser atribuído a uma mudança de simetria do complexo.

Um resultado interessante encontrado neste siste ma e a não diferenciação dos parâmetros óticos e de RPE p a ra os pares de complexos: ML2 e MHL; e ML3 e MLHL; e a рe quena diferença encontrada nos parâmetros de RPE para 0.5 complexos ML, e M(HL)2. Esta pode ser uma indicação que substituição de uma molécula de tris, que encontra-se denada pelo nitrogênio, pela segunda coordenação da outra molecula - ja coordenada -, atraves do atomo 0 de um grupos hidroxil, não altera de maneira significativa os veis de energia de um e outro complexo (ML, e MHL por plo). Se esta suposição é correta, as ligações Cu-N e Cu-O, nestes complexos, são equivalentes em termos da energia de estabilização dos complexos.

A determinação do tensor do complexo M(HL), partir das medidas no cristal, forneceu a estrutura rômbica para o tensor giromagnético. O valor de g<sub>||</sub> para este compl<u>e</u> xo e para  $\mathrm{ML}_{\Delta}$  são similares, e segundo os argumentos acima supoe-se que os graus de covalência para estes complexos são similares. Como os parâmetros de das ligações metal-ligante determinam a energia de desdobra mento superhiperfino dos níveis eletrônicos, deveríamos perar que a linha a campo alto do complexo  $\mathtt{ML}_{\mathtt{A}}$  em solução  $\underline{\mathtt{a}}$ presentasse linhas de nitrogênio (9 linhas correspondentes 4 nitrogênios coordenados) a exemplo do complexo M(HL)<sub>2</sub>. A resolução superhiperfina depende da entre o desdobramento A e a largura de cada linha vidual  $\Delta H_{\overline{1}}$ : quando A  $\tilde{e}$  maior que  $\Delta H_{\overline{1}}$  o desdobramento hiperfino e resolvido, e quando A e menor que ΔΗ<sub>T</sub> não.

Espera-se ainda que  $\Delta H_{I}$  seja da ordem da largura total da linha dividida pelo número de desdobramentos. Para o complexo M(HL)<sub>2</sub> a largura da linha de campo alto do espectro em solução é de aproximadamente 25 gauss, e  $\Delta H_{I} \approx 25 \div 5 \approx 5$  gauss. Jã para o complexo ML<sub>4</sub> a largura da quarta linha avaliada é de 40 gauss, e  $\Delta H_{I} \approx 40 \div 9 \approx 4$  gauss. Assim sendo,  $\Delta H_{I}$  são parecidos, o que confirma nossa previsão de que deveríamos observar o desdobramento devido ao nitrogênio. A razão desta não observação pode ser atribuída à não equivalência dos quatro nitrogênios em ML<sub>4</sub>.

K.S. Bai e colaborador [5], propõem a esterio química do complexo ML, que é apresentada na figura 9.a. Nesta esterioquímica a ligação do tris se faz através do nitrogênio do grupo amina e do oxigênio neutro do grupo hidroxil. Estes autores não dizem nada a respeito da coorde nação da segunda molécula de tris ao metal. Caso esta segun da molécula ligue-se ao metal de maneira similar à primei ra, espera-se que ocorra distorção na simetria deste comple xo em relação à espécie ML. Isto pode explicar o valor de g<sub>11</sub> maior para ML<sub>2</sub> que o valor de g<sub>11</sub> para ML.

Se as duas moléculas de tris coordenam-se da ma meira descrita acima, a terceira e quarta coordenação do tris ocorrerão nas quinta e sexta posição de coordenação (eixo z). Desta forma as ligações Cu-N no plano são e quivalentes entre si, mas não são equivalentes às ligações Cu-N fora do plano, podendo-se explicar desta maneira a não observação de desdobramentos para o espectro do complexo ML<sub>4</sub> (vide Figura 27).

Com a simetria de ligação proposta acima para

 $ML_4$ , o tensor g deste complexo, muito possivelmente é otorrômbico, o que explica os valores de gu parecidos para este complexo e  $M(HL)_2$ .

Uma diferença entre os dois últimos complexos tados é encontrada nos espectros óticos. Para ML, o de absorção encontra-se em aproximadamente 600nm, e M(HL), dois picos são observados: um em 510nm, e o outro em 600nm. Ao apresentar-se os resultados óticos, ressaltou-se que o aparecimento de dois picos de absorção é uma caracte rística encontrada em complexos de cobre pentacoordenados. Para efeito de comparação entre o complexo ML, (hexacoorde nado) e o complexo  $M(HL)_2$  (pentacoordenado) o diagrama de níveis de energia para estas espécies é mostrado na figu ra 28. (para efeito de simplicidade estas simetrias supostas sem distorções. Estas distorções, produzidas desdobram os níveis de energia simetrias de ligação generados, mas não irão alterar de forma drástica o ordena mento destes níveis). Como os ligantes são supostos res, espera-se que o desdobramento  $\Delta_1$  para os dois xos tenham a mesma magnitude, e a banda de absorção suple mentar para o quelato M(HL), seja o desdobramento zido pela quinta coordenação ( $\Delta_2$ ).

Em vista da neutralidade da espécie M(HL)<sub>2</sub>, e da observação de somente dois nitrogênios na esfera de coorde nação, espera-se por exclusão, que o quinto ligante neste complexo seja o oxigênio de uma molécula de água. Esta supo sição poderá ou não ser comprovada quando a estrutura cristalográfica deste complexo estiver resolvida.

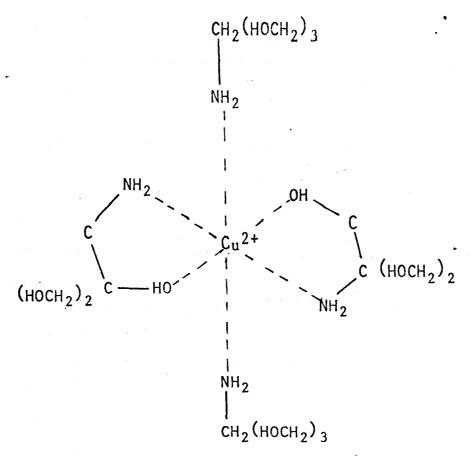


FIG. 27 - Esterioquímica proposta para o complexo ML<sub>4</sub>.

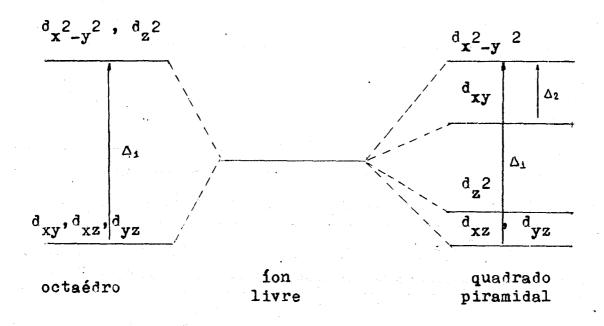


FIG. 28 - Diagrama de desdobramento para os complexos (a)  ${\rm ML}_4$  e (b)  ${\rm M(H}_{-1}{\rm L)}_2$  em vizinhança octaédrica e quadrado piramidal respectivamente.

#### V.2 - Conclusão

O estudo da interação do ion Cu(II) com ligantes em solução é, na maioria das vezes, muito difícil. O ion cobre (II) é um ligante extremamente lábil, o que impede a separação e o estudo individual de cada uma das espécies formadas em solução. Soma-se ainda a isto o número grande destas espécies que podem se formar em solução, dependendo do ligante. No sistema por nos estudado, por exemplo, nove espécies complexas se formam, sendo que muitas delas coexistem a uma dada concentração de ligante livre em solução.

Uma boa parte dos estudos de complexos de peso mo lecular baixo com o ion metálico cobre (II), que têm sido realizados por RPE e ótica, tem se limitado a estabelecer o número mínimo de complexos em solução, em função do número de espectros de RPE e óticos resolvidos. Geralmente, a decisão de qual é a espécie responsável por tal ou qual espectro de absorção é feita de maneira qualitativa, e depende quase que sempre da observação de desdobramentos superhiper finos produzidos por ligantes paramagnéticos.

A associação dos dados de constante de equilíbrio químico do sistema Cu-tris - e a construção das curvas de formação a partir destas constantes - com as técnicas de absorção de RPE e absorção ótica no visível mostrou-se extremamente frutífera. Além de reconhecer-se o número de complexos formados em solução, foi possível estabelecer quais são as espécies complexas responsáveis pela absorção dos diferentes espectros.

Com a informação de quais espécies predominam

em dadas faixas de pH, e da similaridade entre os parâmetros de RPE e ótico, encontrou-se evidências da similarida de entre as perturbações que o ligante nitrogênio (N) e o ligante oxigênio (O) causam no estado fundamental d do fon metálico.

Combinando argumentos esterioquímicos obtidos das constantes de equilíbrio calculadas e argumentos encontra dos nas análises do espectro de RPE e ótico, foi possível propor-se a simetria de ligação dos complexos ML<sub>4</sub> e M(HL)<sup>o</sup><sub>2</sub>. A carga e os ligantes de M(HL)<sup>o</sup><sub>2</sub> foram encontradas, comprovando-se a estrutura proposta por K.S. Bai e colaborado res [5].

No caso discutido de complexos do tris com o Cu<sup>2+</sup> o fato da presença de um grande número de complexos em sol<u>u</u> ção levaria a enorme dificuldade na interpretação dos dados de RPE sem o conhecimento prévio das constantes de equil<u>í</u> brio. Por isso um resultado importante do presente trabalho é a necessidade de utilizar-se métodos complementares neste tipo de estudo: o uso isolado de técnicas de RPE ou dos da dos de equilíbrio químico seria extremamente limitado. A conjugação de ambos permite uma melhor e mais completa com preensão do problema.

# APÊNDICE I

#### CURVAS DE FORMAÇÃO

As constantes de equilibrio dos complexos em sol<u>u</u> ção foram determinadas pelo método potenciométrico por K.S. Bai e A.F. Martell - J. Inorg. Nucl. Chem., 1969, vol. 31, pp. 1697-1707.

Neste trabalho os autores determinam, alem das constantes de equilíbrio dos complexos ordinários, as constantes para as reações que ocorrem entre estes complexos e as hidroxilas da solução. As reações que os autores propõem para descrever os dados potenciométricos são:

$$ML_{n-1}^{2+} + L \neq ML_{n}$$

$$ML^{2+} \neq MH_{-1}^{1+} + H^{+}$$

$$2 MH_{-1}^{1+} \neq (MH_{-1}^{1})_{2}^{2}$$

$$ML_{2}^{2} \neq MLH_{-1}^{1+} + H^{+}$$

$$MLH_{-1}^{1+} \neq M(H_{-1}^{1})_{2}^{0}$$

onde:

M - representando o metal

L - representando o ligante neutro

H\_ - indicando o número de hidrogênios removidos do complexo.

Na tabela AI são apresentados os valores obtidos para as constantes:

k	log k
k 1	3,95
k <sub>2</sub>	3,68
k 3	3,47
k <sub>4</sub>	3,00
k 1a	-6,0
k ad	2,2
k <sub>2a</sub>	-6,32
k <sub>2b</sub>	-7,90

Tabela AI - Constantes de equilibrio para Cu(II)-tris. A 25°C e 0,1M força iônica KNO3.

Se definirmos a fração de metal livre  $\alpha_0 = M/Cm$ , onde M = concentração de metal livre em solução e Cm = concentração de metal utilizada, podemos escrever o restante das frações de concentrações como segue:

$$\alpha_{1} = \alpha_{0} \cdot k_{1} \cdot [L]$$

$$\alpha_{2} = \alpha_{1} \cdot k_{2} \cdot [L]$$

$$\alpha_{3} = \alpha_{2} \cdot k_{3} \cdot [L]$$
Al

$$\alpha_{4} = \alpha_{3} \cdot k_{4} \cdot [L]$$

$$\alpha_{5} = \alpha_{4} \cdot k_{1a}[H]$$

$$\alpha_{6} = \alpha_{5} \cdot k_{ad} \cdot Cm$$

$$\alpha_{7} = \alpha_{6} \cdot k_{2a}[H]$$

$$\alpha_{8} = \alpha_{7} \cdot k_{2b}[H]$$

Uma vez então, fixadas as concentrações analíticas;  $C_m$  de metal e  $C_T$  do ligante, a cada pH teremos uma concentração de metal livre em solução, ou equivalentemente  $\alpha_o$ , e uma concentração de ligante livre perfeitamente determinadas pelas constantes de equilíbrio do sistema. Determinados então H, L e  $\alpha_o$ , teremos determinadas as frações acima para cada conjunto de valores destas variáveis.

A determinação de [H], [L] e  $\alpha_0$  é feita com a ajuda das equações que seguem:

$$C_{m} = \sum_{n=0}^{4} ML_{n} + 2(MHL)_{2} + MLHL + M(HL)_{2} + MHL$$
 .... (1)

$$C_{\tilde{T}} = \sum_{n=1}^{4} n \cdot ML_n + MHL + 2 (MHL)_2 + 2MLHL + 2M (HL)_2 + L + L \cdot H/K$$
.... (II)

onde:

L·H/K corresponde à quantidade de L<sup>+</sup>livre em solução, descrita pelo equilíbrio L<sup>+</sup>  $\stackrel{+}{\downarrow}$  L + H

C - quantidade analítica de metal na solução

 $C_{_{\mathbf{T}}}$  - quantidade analítica de tris na solução.

As equações (I) e (II) refletem o fato de que as concentrações analíticas estão distribuídas em solução na

forma de complexos. Evidentemente a concentração total de metal ou tris, será o somatório das concentrações de cada espécie multiplicados pelo número de vezes que o metal, em um caso, e o ligante no outro, aparecem na fórmula geral da espécie.

As equações (I) e (II), podem ainda ser trabalha das com o objetivo de diminuir o número de variaveis presentes. Para tanto, fazemos uso das equações de equilibrio substituindo as concentrações de cada um dos complexos pelas expressões que se seguem:

$$ML_{1} = k_{1} \cdot M \cdot L = b_{1} \cdot M \cdot L$$

$$ML_{2} = k_{1} \cdot k_{2} \cdot M \cdot L^{2} = b_{2} \cdot M \cdot L^{2}$$

$$ML_{3} = k_{1} \cdot k_{2} \cdot k_{3} \cdot M \cdot L^{3} = b_{3} \cdot M \cdot L^{3}$$

$$ML_{4} = k_{1} \cdot k_{2} \cdot k_{3} \cdot k_{4} \cdot M \cdot L^{4} = b_{4} \cdot M \cdot L^{4} \qquad A3$$

$$MHL = k_{1} \cdot k_{1a} \cdot M \cdot L/H = b_{5} \cdot M \cdot L/H$$

$$(MHL) = k_{ad} \cdot (k_{1} \cdot k_{1a})^{2} \cdot (M \cdot L/H)^{2} = b_{8} \cdot M \cdot L^{2}/H$$

$$MLHL^{2} = k_{1} \cdot k_{2} \cdot k_{2a} \cdot M \cdot L^{2}/H = b_{6} \cdot M \cdot L^{2}/H$$

$$M(HL)_{2} = k_{1} \cdot k_{2} \cdot k_{2a} \cdot k_{2b} \cdot (L/L)^{2} \cdot M = b_{7} \cdot M \cdot L^{2}/H$$

de forma a ficarmos com o sistema abaixo de duas equações do segundo grau em M:

$$c_{m} = (1+b_{1} \cdot L+b_{2} \cdot L^{2}+b_{3} \cdot L^{3}+b_{4} \cdot L^{4}+b_{5} \cdot L/H+b_{6} \cdot L^{2}/H + b_{7} \cdot L^{2}/H^{2}) \cdot M + (b_{8} \cdot L^{2}/H^{2}) \cdot M^{2}$$

$$c_{T} - L - L \cdot H/K = (b_{1} \cdot L+2 \cdot b_{2} \cdot L^{2}+3 \cdot b_{5} \cdot L^{5}+4 \cdot b_{4} \cdot L^{4} + b_{5} \cdot L^{5}+4 \cdot b_{4} \cdot L^{4} + b_{5} \cdot L^{5}+4 \cdot b_{5}$$

+ 
$$b_5 \cdot (L/H) + 2 \cdot b_6 \cdot (L^2/H) + 2 \cdot b_7 \cdot (L^2/H^2) \cdot M + 2 \cdot (b_8 \cdot (L^2/H^2)) \cdot M^2$$

ou, escrevendo de maneira compacta:

$$A_1 \cdot M^2 + B_1 \cdot M + C_1 = 0$$

$$A_2 \cdot M^2 + B_2 \cdot M + C_2 = 0$$

com solução para M dada por:

$$M = -B_1 + (B_1^2 + 4 \cdot A_1 \cdot C_1)^{1/2}/2 \cdot A_1$$

$$M = -B_2 + (B_2^2 + 4 \cdot A_2 \cdot C_1)^{1/2}/2 \cdot A_2$$
A5

As duas equações acima são resolvidas simultanea mente, para duas variáveis, se atribuirmos um dado valor a uma das três variáveis. Sendo as duas equações não lineares os programas citados a seguir foram utilizados para resolução do sistema. Para facilidade nos cálculos as equações foram divididas membro a membro por C<sub>m</sub>, de forma a ficarmos com:

$$-B_{1} + B_{1}^{2} + 4 \cdot A_{1} \cdot C_{1} / 2 \cdot A_{1} \cdot C_{m} - \alpha_{o} = 0$$

$$A6$$

$$-B_{2} + B_{2}^{2} + 4 \cdot A_{2} \cdot C_{2} / 2 \cdot A_{2} \cdot C_{m} - \alpha_{o} = 0$$

Estas duas últimas equações foram programadas de forma a podermos atribuir valores a  $\alpha_0$  - o que foi feito no intervalo de 1 até  $6\cdot 10^{-11}$  - e determinar os valores de L e H correspondentes. Substituiu-se estes valores nas equações (I.a) para obtenção dos  $\alpha_{is}$ .

# A.2 Programas para resolução das equações A6

O sistema de equações A6 foi resolvido com o programa ZSYSTM de IMSL Library 1, 6º edição,1977. Estas equações encontram-se na sub-rotina FUN

#### SUBROUTINE ZSYSTM (F, EPS, NSIG, N, X, ITMAX, WA, PAR, IER)

FUNCTION	- DETERMINATION OF A ROOT OF A SYSTEM OF N
FUNCTION	SIMULTANEOSUS NONLINEAR EQUATIONS IN N
USAGE	UNKNOWNS, F(X) =0, IN VECTOR FORM, N CAN F
PARAMETERS F	- CALL ZSYSTM (F,EPS,NSIG,N,X,ITMAX,WA,PAR,IE - F IS THE NAME OF THE FUNCTION CALLED
PARAMETERS P	BY ZSYSTM TO FURNISH THE VALUES OF THE
	EUNCTIONS WHICH DEFINE THE SYSTEM OF
	EQUATIONS BEING SOLVED. THE USER SPECIFIE
	F BY WRITING A FUNCTION SUBPROGRAM
	F(X,K,PAR) WHICH COMPUTES THE K-TH COMPO
	OF F EVALUATED AT X. (INPUT)
EPS	- FIRST STOPPING CRITERION. A ROOT X(1),
	X(N) IS ACCEPTED IF THE MAXIMUM ABSOLUTE
	VALUE OF F(X,K,PAR) IS LESS THAN OR EQUAL
	TO EPS, WHERE K=1,, N. (INPUT)
NSIG	- SECOND STOPPING CRITERION. A ROOT IS ACCEPT
	IF TWO SUCCESSIVE APROXIMATIONS TO A GIVE
•	ROOT AGREE IN THE FIRST NSIG DIGITS. (IN
	NOTE, IF EITHER, OR BOTH, OF THE STOPP:
	CRITERIA ARE FULFILLED, THE ROOT
	ACCEPTED. (SEE PROGRAMMING NOTES!
al de la companya de	- THE NUMBER OF EQUATIONS (= NUMBER OF UNKNOWN
	(INPUT)
	- THE VECTOR X OF LENGTH N, AS INPUT, IS THE
	INITIAL GUESS TO THE ROOT. AS DUTPUT, IT
	IS THE COMPUTED SOLUTION.
LIMAX	- ON INPUT = THE MAXIMUM ALLOWABLE NUMBER OF
	ITERATIONS AND ON OUTPUT = THE NUMBER OF ITERATIONS USED IN FINDING THE COMPUTED
	SOLUTION.
WA	- AN ARRAY WORK AREA OF SIZE ((N+2)*(N+1))/2
No. Pri	3*N SUPPLIED BY THE USER
PAR	- PAR CONTAINS A PARAMETER SET (POSSIBLY A
1 111	FUNCTION NAME) WHICH IS PASSED TO THE USE
	SUPPLIED FUNCTION F. PAR MAY BE USED TO
	PASS ANY AUXILIARY PARAMETERS NECESSARY I
	COMPUTATION OF THE FUNCTION F.
IER	
	TERMINAL ERROR = 128 + N
-	N = 1 INDICATES FAILURE TO CONVERGE WIT
	ITMAX ITERATIONS.
	N = 2 SINGULAR SYSTEM (JACOBIAN)
PRECISION	- SINGLE DOUBLE

```
IMPLICIT REALKS (A-H, 0-Z)
        EXTERNAL F
        DIMENSION X(2), WA(8)
        TYPE 100
100
        FORMAT("S EPS E NSIG ")
        ACCEPT *, EPS, NSIG
        N=2
        TYPE 200
200
        FORMAT( & FORNECA AH=X1, L=X2 : ")
        ACCEPT *, X(1), X(2)
        TYPE 300
300
        FORMAT('S DE O VALOR DE ALFA=DM/ME DESEJADO 1")
        ACCEPT *, PAR
        ITMAX = 100
        CALL ZSYSTM(F, EPS, NSIG, N, X, ITMAX, WA, PAR, IER)
        TYPE 400
        FORMATI'S GUARDO OS VALORES DE FO, AH=X1, L=X2/SIM?=1, NAO?=0 ( )
400
        ACCEPT *, JK
        IF (JK,EQ.0)GO TO 600
        WRITE(4,500) PAR,X(1),X(2)
500
        FORMAT(3(3X,E10.3))
600
        STOP
        END
        DOUBLE PRECISION FUNCTION F(X,K,PAR)
        IMPLICIT REAL+8 (A+H, 0+Z)
        DIMENSION X(2)
        A = X(5)
        AH# X(1)
        FUNCAD PARA CALCULO DE ILI PARA VALORES DE [H] DADOS
Č
         [L] = X
                   [H] = AH
        81#10.**3.95
        B2=10, **7.63
        B3=10,**11,11
        B4=10.**14.10
        85=10.**=2.05
        B6=10, **1, 51
        87=10, **=6,59
        88#10,***1,90
C
        OS VALORES DE 81 A 88 SAO FUNCOES DAS CONSTANTES DE
C
        EQUILIBRIO DO SISTEMA
C
        CM=CONCETRAGAO DE METAL LIVRE EM SOLUCAO.
Ç
        CT=CONCENTRACAO DE LIGANTE LIVRE EM SOLUCAO
        CM=,005
        CT=.05
        TT=10.***8.09
        TYPE *, AH= , AH
        A1#1,+61*Y+B2*Y**2+B3*Y**3+B4*Y**4+B5*(Y/AH)+B6*(Y**2/AH)
        1+87*Y**2/AH**2
        A2=B1*Y+2,*B2*Y**2+5.*B3*Y**3+4.*B4*Y**4+B5*(Y/AH)
        (5**HA\5**Y) * \6 1 2 4 (HA\5**Y) * 68 4 4 5 + 1
        CIRCM
        C2=CT-Y-(Y*AH/TT)
        5**HA\5**Y*888*,5=10
        02=01
        GO TO (5,10), K
5
        (DMD1 = 2.*U1*C1
        RQDD = SQRT(A1*41*4**D1*C1)
        F=(-A1+RGDD)/DMD1-PAR
        RETURN
10
        10405 = 50401
        TRODD = SORT(A2*A2+4.*02*C2)
        IF= (-A2+EQDD) /DMO2-PAR
        RETURN
```

BIBLIOTECA DO DISTITO

O ÁMICA DE SÃO CARLOS - USP

END

#### APENDICE 2

00 900 I=1,NI 00 900 J=1,I

Segue programa de ajuste dos pontos experimentais gentilmente cedido por A. Tanussi. A subrotina FUN - contém a equação 30.

INCLUDE COMMON.FOR

```
C
C
         DO 2600 IFILE=1.20
¢
C
         ENTRADA DOS PAR. INIC.
C
         TYPE 100, NI
         FORMAT(7x, DE O VALOR APROX DOS", 14, PARAMETROS INICIAIS: ",/)
100
         ACCEPT *, (PAR(I), I=1, NI)
         TYPE 200
200
         FORMATION, "NUMERO DE CICLOS E FATOR DE AMORTECIMENTO: ", /)
         ACCEPT *, NCYCLE, FF
         IF (NCYCLE, EQ. 0) NCYCLE = 1
         IF (FF.EQ.0.0) FF=1.0
         DO 300 K=1,NI
         IF (PAR (K) . EQ. 0.0) PAR (K) =1.0
300
         CONTINUE
C
C**** LE OS DADOS
C
         TYPE 400
400
         FORMAT (///, 7x, "QUANTOS PONTOS IREI LER ?")
         ACCEPT *, NPO
         DO 600 K=1, NPO.5
                                                             Dodos experimentals
         READ (4,502, END=610) (Y(I), X(I), I=K, X+4)
500
         FORMAT (10E13.7)
600
         CONTINUE
610
         CONTINUE
         CALL CLOSE (4)
                                                             *(I) = amparlo ?
         00 615 IT=1,100
         NE=I-IT
         IF (Y(NE).EW. 0.0) GO TO 615
         GO TO 620
615
         CONTINUE
650
         CONTINUE
         DO 625 I = 1, NPO
         XXX = X(I) * (180, /3, 1415926)
                                                          Dados experimentain
625
         WRITE (1,*) XXX,Y(I)
         TYPE 640
                                                          p/grafico
C
640
        FORMAT(///. 5", 7X, "A PARTIR DE, E ATE ONDE VOU FITAR
         17 (FORNECA NIN, NFN) )
        ACCEPT *.NIN.NFN
        DO 1100 NX=1, NCYCLE
C
        DO 800 KF=NIN, NFN
        00 700 I=1,NI
        CALL FUN (DERIV, I, KF)
700
        A(KF,I)=DERIV
C
        CALL FUN (DERIV, NI+1, KF)
        A(KF, NI+1) = Y(KF) = DERIV
        T(KF) = DERIV
800
        CONTINUE
```

```
F=1*(I=1)/S+3
         EN(L)=0
         DO 900 K=1.NE
900
         EN(L) = EN(L) + A(K, I) + A(K, J)
         NCOL=NI+1
C
         DO 1000 I=1,NI
         ATY(I)=0.0
         DO 1000 K=1, NE
         ATY(I) = ATY(I) + A(K, I) * A(K, NCOL)
1000
         CONTINUE
C
         CALL CHOSKI
         CALL INVERT
         CALL RESULT
1100
         CONTINUE
         AIFILE=FLOAT(IFILE)
C
C
         WRITE (3,910) PAR (2), AIFILE
C910
         FORMAT (2E15.7)
         TYPE 1200, (PAR(K), K=1, NI)
1200
         FORMAT ( *0 *, < NI > E 12.6)
C
        PROPOE MONITORAÇÃO
□******
C
1350
         TYPE 1400
1400
         FORMAT(///, 'Sr, 7x, "QUER MONITORAR? (S/N) -->")
         ACCEPT 1500.SN
1500
         FORMAT (A3)
         IF (SN.EG. "S") GO TO 1800
         IF (SN. EQ. 'N') GO TO 1700
         TYPE 1600
1600
         FORMAT (///, 7x, BATA S OU N 1')
         GO TO 1350
1700
         GO TO 2400
         PROPOE GRAFICOS
****
C
         TYPE 1900
1800
1900
         FORMAT(///, 'S', 7X, 'QUER PLOT NO V.T.? (S/N) -->')
         ACCEPT 1500, SN
         IF (SN, EQ. 'S') GO TO 2000
         IF (SN, ER. 'N') GO TO 2100
         TYPE 1600
         GO TO 1800
0000
         CALL GOPL
2100
         TYPE 2200
9500
         FORMAT(///, "$*, 7x, " QUER PLOT NO PAPEL? (S/N) -->*)
         ACCEPT 1500, SN
         IF (SN, EQ. 'S') GO TO 2300
         IF (SN.EQ. 'N') GO TO 2400
         TYPE 1600
         GO TO 2100
2300
         TYPE 2310
         FORMAT(///, 181,7x, 4 PARTIR DE, E.ATE ONDETIFORNECA N, M] 1)
5310
         ACCEPT *, N, M
         CALL DIBUJE (N.M)
2400
         TYPE 2500
         FORMATI///, "$", 7X, " POSSO CONTINUAR, ENTAD? [S/N] -->")
2500
         ACCEPT 1500, SN
```

```
IF (SN.EQ. 'S') GO TO 2600
         IF (SN.EQ. 'N') GO TO 2700
         TYPE 1600
         GO TO 2400
         CONTINUE
2600
2700
         STOP
         END
C****
         ESSAS ROTINAS FAZEM OS DESENHOS NO DISPLAY E NO PAPEL
C
C
C****
         DISPLAY:
C
         SUBROUTINE GOPL
         INCLUDE 'COMMON.FOR'
3000
         TYPE 3100
         FORMAT(///, '$", TX, 'ESCREVO X, E, T(LENTO)? (S/N) -->1)
ACCEPT 1500, SN
3100
1500
         FORMAT (A3)
         IF(SN.EQ.'S') GO TO 3200
IF(SN.EQ.'N') GO TO 3300
         TYPE 1600
1600
         FORMAT(///,7X, BATA S OU N 11)
         GO TO 3000
3200
         K=2
         GO TO 3400
3300
         K=1
         TYPE 3500
3400
3500
         FORMAT(///,'51,7X,'A PARTIR DE, E ATE ONDE? [FORNECA N.M]-->1
         ACCEPT * NYM
         CALL PLOT (K, N, M)
         TYPE 3700
3600
3700
         FORMAT(///, 'S', 7X, 'POSSO APAGAR A TELA ? [S/N] ==>*)
         ACCEPT 1500, SN
1800
         FORMAT (A3)
         IF (SN, EQ. 'S') GO TO 3800
         IF (SN.EQ. 'N') GO TO 3900
         TYPE 1600
         GO TO 3600
3800
         CALL CLEAR
3900
         RETURN
         END
C
C****
C
         SUBROUTINE PLOT(K, N; M)
         INCLUDE *COMMON.FOR*
         INTEGER*2 ISTAT(16)
         BYTE R(6),5(6)
         CALL CLEAR
         DIF=X(M)-X(N)
         ISAV=1
         DO 1310 I=1,600
         XT(I)=X(N)+(FLOAT(I)-1.)*DIF/599.
         CALL FUN (DERIV, NI+2, I)
         TP(I)=DERIV
         1F(I.NE.ISAV) GO TO 1310
         XXX = XT(I) * (180.73.1415926)
         WRITE(1,*) XXX, TP(1)
         ISAV#ISAV+6
         CONTINUE
1310
```

```
CALL NORM (N,M,XMNV,AMNV,XOIF,ETDIF)
        CALL PLOT55 (2, 1+2+4+32+64+512, . ISTAT)
        CALL PLOTS5 (9,0,0,1STAT)
        CALL PLOTSS (10, , ISTAT)
        CALL PLOTSS (7,0,0, ISTAT)
C
  **** PLOTA E(X)
                      (GRAFICO
C*
C
        CALL PLOTSS(1,0,. ISTAT)
        CALL PLOT55 (4,1,0,1STAT)
        CALL PLOTSS (5,0,1, ISTAT)
        GO TO (1020,1002)K
1002
        CALL PLOTSS (9,55,0,1STAT)
        CALL PLOTS (12,, 'X = ', ISTAT)
        CALL PLOTSS(9,55,1,1STAT)
        CALL PLOTSS(12, 'E = ', ISTAT)
1050
        DD 6 I = N.M
        GO TO (2200,2100) K
2100
        ENCODE (6,5,R) X(I)
        FORMAT (F6.2)
5
        ENCODE (6,5,8) Y(1)
        CALL PLOT55(9,62,0,1STAT)
        CALL PLOTSS (12.6, R. ISTAT)
        CALL PLOT55 (9,62,1,1STAT)
        CALL PLOT55(12,6,8,1STAT)
2200
        XPI = (X(I) + (-XMNV))/XDIF
        IX = NINT(XPI*511.0)
        EPI= (Y(I)+(-AMNV))/ETDIF
        IE = NINT(tP1 + 229.0)
        CALL PLOTSS (3, IX, IE, ISTAT)
        CONTINUE
6
C
C***** PLOTA T(X) (GRAFICO ...
                               1)
C
        CALL PLOTSS(1,1,, ISTAT)
        CALL PLOTS5 (4,1,0, ISTAT)
        CALL PLOT55(5,0,1,ISTAT)
        GO TO (1120,1102)K
        CALL PLOTSS(9,55,0,1STAT)
1102
        CALL PLUTS5(12,,"X = ", ISTAT)
        CALL PLOTS5 (9,55,1, ISTAT)
        CALL PLOTSS(12,, T = ", ISTAT)
1120
        DO 61 I = 1,600
        GO TO (2201,2101) K
1015
        ENCODE (6,51,R) XT(I)
51
        FORMAT (F6.2)
        ENCODE (6,51,5) TP(1)
        CALL PLUT55(9,62,0,ISTAT)
        CALL PLOTSS (12,6,R, ISTAT)
        CALL PLOT55(9,62,1,ISTAT)
        CALL PLUTS5 (12,6,5,1STAT)
1025
        XTI = (XT(I) + (-XMNV))/XDIF
        IX = NINT(XTI*511.0)
        TPI= (TP(I)+(-AMNV))/ETDIF
        IT = NINT(1F1 \times 229.0)
        CALL PLOT55(3, IX, IT, ISTAT)
61
        CONTINUE
        RETURN
        END
C
Cananan
                 LIMPA O DISPLAY
```

```
C
         SUBROUTINE CLEAR
         BYTE VT52(5)
         INTEGER*2 ISTAT (16)
         DATA VT52/"33,"133,"77,"62,"154/
         WRITE(5) VT52
        CALL PLOTSS (0, 'SYSSOUTPUT', 5, ISTAT)
         CALL PL0755(2,1+512,2+4+512, ISTAT)
         CALL PLOTS5 (9,0,0,1STAT)
         CALL PLOTS5 (10,,, ISTAT)
         RETURN
         END
C
C
C
         SUBROUTINE NORM (N, M, XMNV, AMNV, XOIF, ETDIF)
         INCLUDE 'CUMMON, FOR'
         XMAV = X(N)
         XMNV = X(N)
         EMAV = Y(N)
         EMNY = Y(N)
         TMAY = TP(N)
         TMNV = TP(N)
         DO 100 I = N+1, M
         IF (XMAV.LE.X(I)) XMAV = X(I)
         IF (XMNV,GE,X(I)) XMNV # X(I)
         IF(EMAV_LE_Y(I)) EMAV = Y(I)
         IF(EMNV*GE*Y(I)) EMNV = Y(I)
100
         CONTINUE
         DO 110 I=1.600
         IF(TMAV_LE_TP(I))TMAV = TP(I)
         IF(TMNV.GE.TP(I))TMNV = TP(I)
110
         CONTINUE
         XTMAY = XMAY
         XTMNV = XMNV
         TYPE *,XMNV,XMAV,EMNV,EMAV,XTMNV,XTMAV,TMNV,TMAV
         XOIF = XMAV-XMNV
         AMAVETMAV
         IF (EMAY.GT, TMAY) AMAY REMAY
         AMNV=TMNV
         IF (EMNY, LT, TMNY) AMNY = EMNY
         ETDIF = AMAV = AMNV
         RETURN
         END
C
C****
        DESENHA NO PAPEL
C
         SUBROUTINE DIBUJE(N, M)
         INCLUDE *COMMON.FOR!
         DIMENSION PLOT (130)
         DATA P,Q,R,S,8/*T*, "E*, ***, *, *, *, */
         IIS=1
         IF (M.GT.150) GO TO 111
         GO TO 123
         TYPE 112, M
111
         FORMAT(///, *5", TX, "QUER PLOTAR OS", 15, " PONTOS ?(S/N) +>")
112
         ACCEPT 3245, SN
3245
         FORMAT (A3)
         IF($N,EQ,*$*)60 TO 1121
IF($N,EQ,*8*)60 TO 1212
```

```
TYPE 1600
1600
         FURMAT(///, TX, PBATA S OU N 1º)
         GO TO 111
1121
         TYPE 113
         FORMAT (///, TX, "VAI GASTAR MUITO PAPEL...", /, 5X, "AINDA QUER ?
113
                                                                              ELIMINE
         INS PARA TER SO 150 1)
1212
         TYPE 114
114
         FORMAT (7//, 7x, DE GUANTOS DEVO SALTAR DE CADA VEZ ? 1/,
         1's', 7x, '(TECLE UM INTEIRO PROXIMO DE (M-N)/1501--->')
         ACCEPT *, 115
         TMA = T(N)
123
         TMI = T(N)
         EMA = Y(N)
         EMI = Y(N)
         DO 1 I=2, M, IIS
         IF (T(I), GT. TMA) TMA=T(I)
         IF(T(I).LY.TMI) TMI=T(I)
         IE (Y(I).GT.EMA) EMA=Y(I)
         IF (Y(I).LT.EMI) EMI#Y(I)
1
         CONTINUE
         AMA # TMA
         IF (EMA.GT.TMA) AMA ... EMA
         AMI # TMI
         IF (EMI.LT.TMI) AMI = EMI
         WRITE (6,2) AMI, AMA
         FORMAT(/,1x, "MINIMO = ",E11.4,92x, "MAXIMO = ",E11.4)
2
         DO 3 1=1,130
3
         PLOT(I) = S
         WRITE (6,4) PLOT
         FORMAT (1X, 130A1)
L.
         00 5 1=2,150
5
         FLOT(1) = 6
         FACTOR = AMA-AMI
         DO 7 1=1,M,IIS
         J = (T(I) + (-AMI)) + 129.0/FACTOR + 1.0
         K = (\gamma(I) + (-AMI)) * 129.0/FACTOR + 1.0
         IF (J.EQ.K) GU TO 6
         PLOT(J) = P
         PLOT(K) = 0
         WRITE (6,4) PLOT
         PLQT(J) = \beta
         PLOT(K) = B
         GO TO 7
         PLOT(J) = R
6
         WRITE (6,4) PLOT
         PLOT(J) = 8
7
         CONTINUE
         RETURN
         STOP
C
         END
C
C
                    SUBROUTINE FUN(DERIV, KF, I)
C*
C
C
         INCLUDE 'FUNCAD FOR'
Ç
C
C
         SUBROUTINE CHOSKI
```

CALCULO DA MATRIZ LOWER TRIANGULAR L TAL QUE TRANS(A) \*A\*

L\*TRANS(L), A MATRIZ ENATRANS(A) \*A E SOBREESCRITA POR L

C

```
SUBROUTINE CHOSKI
        INCLUDE 'COMMON.FOR'
        1 = 1
        EN(1) = SORT(EN(1))
        60 TO 1200
400
        J = 1
        LJJ#1
        LIJ = I * (I-1)/2 + J
        XM = EN(LIJ)
        GO TO 900
        K = 1
500
        XM = EN(LIJ)
        LIK = I * (I-1) /2 + K
600
        LJK = J * (J-1) / 2 * K
        XM = XM - EN(LIK) * EN(LJK)
        K = K + 1
        IF (K.LT.J) GO TO 600
        IF (J.EQ.I) GO TO 1100
900
        EN(LIJ) = xM / EN(LJJ)
        J = J + 1
        LIJ=LIJ+1
        LJJ=J*(J+1)/2
        GO TO 500
1100
        EN(LII) = SORT(XM)
1200
        I = I + 1
        LII = I \times (I+1) / 2
        IF (1.LE.NI) GO TO 400
Ç
        RETURN
        END
C
C
C
Ç
C
        SUBROUTINE INVERT
        SUBREESCREVE EN (#L) COM A INVERSA DE L (L***1)
C
        SUBROUTINE INVERT
        INCLUDE "COMMON.FOR"
        I = 1
        EN(1) = 1./EN(1)
        60 TO 1120
400
        J = 1
500
        K = J
        XM = 0.
        LIK = I * (I=1) / 2 + K
600
        LKJ = K * (K-1) / 2 + J
        XM = XM + EN(LIK) * EN(LKJ)
        K = K + 1
        1F(K,LT.1) GO TO 600
        LIJ = I + (I-1) / 2 + J
        EN(LIJ) = -xM/EN(LII)
        J = J + 1
        IF (J.LT.I) GO TO 500
        EN(LII) = 1./EN(LII)
        1 = 1 + 1
1100
        LII = I * (1+1) / 2
        IF (I.LE.NI) GO TO 400
        RETURN
        END
```

C

```
C
         SUBROUTINE RESULT
C
Ç,
        CALCULA OS PARAMETROS FINAIS
C×
C
C
         INCLUDE "COMMON.FOR"
C
         00 100 I=1,NI
         2(1)=0
         KI=I+(I-1)/2
         00 100 J=1,I
         K=K1+J
         Z(I) #Z(I) +EN(K) *ATY(J)
100
C
         DO 200 J=1,NI
         ATY(J)=0
         10. E 00 1=J.NI
         L=1*(I-1)/2+J
200
         ATY (J) #ATY (J) +EN (L) *Z(I)
C
         IMPRIME O ERRO NOS PARAMETROS
C***
C
         TYPE 5, (ATY(K), K#1, NI)
         FORMAT(«NI>E13.7)
5
         00 1000 1=1,81
1000
         PAR(I)=PAR(I)+ATY(I)*FF
         RETURN
         END
C
```

```
SUBROUTINE FUN (DERIV, I, KE)
         INCLUDE 'COMMON.FOR'
         A FUNCAG G CALCULA O VALOR DE G PARA CADA ANGULO X(KF) *
G=SGRT(PAR(1)*COS(X(KF))*COS(X(KF))*PAR(2)*SIN(X(KF))*SIN
C
         1(X(KF))*2**PAR(3)*COS(X(KF))*SIN(X(KF)))
         GO TO (1,2,3,4,5) [
         DERIV# +5 + CUS(X(KF)) + CUS(X(KF)) /G
1
         RETURN
         QERIV#.5*SIN(X(KF))*SIN(X(KF))/G
2
         RETURN
         DERIVESIN(X(KF)) *COS(X(KF))/G
3
         DERIV#SQRT(PAR(1)*COS(X(KF))*COS(X(KF))*PAR(2)*SIN(X(KF))*SIN
          1(X(KF))+2.*PAR(3)*COS(X(KF))*SIN(X(KF)))
         RETURN
          DERIV=SURT (PAR (1) *COS (XT (KF)) *COS (XT (KF)) *PAR (2) *SIN (XT (KF))
5
          1*SIN(XT(KF))+2.*PAR(3)*COS(XT(KF))*SIN(XT(KF)))
          RETURN
          END
      Obs.: equação
```

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. BRILL, A.S.: "Transition Metals in Biochemistry" Springer-Verlag, N.Y. (1977).
- 2. WILLIAMS, D.R.: "The Metals of Life" Van Nostrand Reinhold Co., Londres (1971).
- 3. LEHNINGER, A.L.: "Bioenergetics" W.A. Benjamin, Inc.
  (1971)
- 4. LEHNINGER, A.L.: "Bioquimica" Edgard Blücher Ltda.
- 5. BAI, K.S. and MARTELL, A.F. J. Inorg. Nucl. Chem. 31(1969)-1697-1707.
- 6. HANDBOOK of the Biological and Biochemical, 1976.
- 7. BOAS, J.F.; PILBROW, J.R.; SMITH, T.D.: "ESR of Cooper in Biological Systems in "Biological Magnetic Ressonance" ed by L.J. Berliner and J. Remben, Plenun Press (1978)
- 8. INGRAM, D.J.E.: "Biological and Biochemical Applications of ESR" Adam Hilger Ltd., London (1969).
- 9. HAY, R.W. and WILLIAMS, D.R.: Metal Complexes of Amino-acids, Peptides, and Proteins in "Amino-Acids,

  Peptides and Proteins".
- 10. KOZLOWSKI, H. and TREZEBIATOWSKA: J. Molecular Structure, 45 (1978) 159-172.

- 11. BEINERT, H. Coord. Chem. Reviews, 33 (1980) 55-85.
- 12. BENNETT, J.E.; GIBSON, J.F. and INGRAM, D.J.E., Proc.
  Roy. Soc., A240 (1957) 67.
- 13. HATHAWAY, B.J. and BILLING, D.E., Coord. Chem. Reviews
  5 (1970) 143-207.
- 14. SPORTELLI, L:; NEUBACHER, H. and LOHMANN, W., Biophys.

  Struct. Mechanism, 3 (1977) 317-326.
- 15. KIVELSON, D. and NEIMAN, R., J. Chem. Phys, 35 (1961) 149-155.
- 16. MALMSTRÖM, B.G.; REINHAMMAR, B. and VÄNNGARD, T., Biochem. Biophys. Acta, 156 (1968) 67.
- 17. RIFKIND, J.M., Biochemistry 18 (1979) 3860-3865.
- 18. COLOMBO, M.F.; TABAK, M.; NASCIMENTO, O.R. and SAY, J.,

  Proceedings of IV Inter. Biophysical Congress Me

  xico 1981.
- 19. BASOLO, F. and JOHNSON, R.C., "Coordenation Chemistry"
  (1964).
- 20. ORGEL, L.E., "Introdução à Química dos Metais de Transição", Ed. Edgard Blücher Ltda. (1970).
- 21. ZAMARAEV, K.I. and TIKHOMIROVA, Zhurnal Struktornoi Kimii, 5 (1964) 691-696.
- 22. LEVER, A.B.P., "Inorganic Eletronic Spectroscopy". Eletronic Spectroscopy". Eletronic Spectroscopy 
  sevier Publishing Co. 1968.
- 23. ABRAGAN, A.; BLEANEY, B., "Electron Paramagnetic Ressonance of Metal Ions", Clarendon Press, Oxford, 1970.

- 24. PAKE, G.E.; ESTLE, T.L., "The Physical Principles of E letron Paramagnetic Ressonance", 2an ed, W.A. Ben-jamin, Inc., (1973).
- 25. KNOWLES, P.F.; MARSH, D.; RATTLE, H.W.E., "Magnetic Resonance of Biomolecules", John Willey and Sons, 1976.
- 26. MCCONNELL, H.M., Journal Chem. Phys., 25(1956) 709-711.
- 27. FEHER, G., "Eletronic Paramagnetic Resonance with Applications to Selected Problems in Biology", Gardon and Breach, Science Publishers (1969), N.Y.
- 28. KNEUBUHL, F.H., J. Chem. Phys. 33 (1960) 1074-1078.
- 29. KIVELSON, D. and NEIMAN, R., J. Chem. Phys. 35 (1961)
  149-155.
- 30. ZAMARAEV, K.I., Zhurnal Strukturnoi Khimi (Transladado p/inglês) 10 (1969) 32-36.
- 31. HALL, J.L.; SWISCHER, J.A.; BRANNON, D.G. and LIDEN T.
  M., Inorg. Chem. 1 (1962) 409.
- 32. HANLON, D.P.; WATT, D.S. and WESTHEAD, E.W., Analyt. Biochem. 16 (1966) 225.
- 33. GAMBARDELA, M.T.P.; PULCINELLI, S.H., Comunicação Pessoal.