

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Estudos Espectrofotométricos e por Quimiluminescência
da Autoxidação de Complexos de Ni(II) ou Cu(II)/tetraglicina
Induzida por S(IV). Aplicações Analíticas.**

Rodrigo Leandro Bonifácio

Tese de Doutorado - Química Analítica

Profa. Dra. Nina Coichev

Orientadora

São Paulo, 08 de março de 2004

Sem o amor de vocês,
não seria possível.
Com carinho, aos meus pais,
Reinaldo e Rosemary

Sem você para partilhar a vida,
não faria sentido.
Com afeto,
à Ana Cristina

Sem a sua confiança,
não seria viável.
Com admiração,
à Profa. Dra. Nina Coichev.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Reinaldo e Rosemary, por me legarem a melhor educação possível, ferramenta primordial para moldar o presente, modificar o futuro e romper com as amarras do passado;

Aos meus irmãos, Ricardo, Rodolfo e Regina, que me ensinaram a compartilhar e a respeitar limites;

Aos meus avós, Victório, Geralda, Waldemar e Ilva, pelo exemplo de coragem, serenidade e fé perpetrado ao longo de toda uma vida de trabalho e altruísmo;

À Ana Cristina, pelo companheirismo, dedicação e atuação decisiva nos momentos cruciais desta jornada;

À Profa. Dra. Nina Coichev, pelo profissionalismo na orientação deste trabalho e, acima de tudo, pelo voto de confiança;

À família Coelho (Anna, Tata, Ana Maria, Fernando, Ana Paula, Luiz Fernando, Antônia e João) pela acolhida solidária, no momento em que as circunstâncias me impediam de oferecer em troca algo além de palavras e aspirações;

A Paulo Roberto Lazarin, minha profunda reverência, pela concessão das duas oportunidades fundamentais que permitiram a conclusão deste trabalho;

A Maurício G. Folsta, pela leitura do manuscrito e pelas valiosas sugestões;

Aos meus bons amigos, Tyson, Lemão, Rodrigo, Tamarindo, Silva, Alien e Fly, por mostrarem o lado leve e descontraído que a vida pode assumir, mesmo nas ocasiões mais sisudas;

A todos os representantes do bom e velho *rock'n'roll*, por embalarem as longas e extenuantes horas de estudo que culminam com a redação desta tese;

Aos colegas de laboratório Margareth, Horácio, Solange, Laerte, Maria, Luciene, Luciana e Giselle pela rica troca de experiências, que assegura a continuidade de um ciclo de “ensinar-e-aprender” que nunca pode cessar dentro de um grupo de pesquisa;

O indefectível “a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho” pode soar frio e distante, mas é uma tentativa sincera de fazer jus àqueles que, embora não citados nominalmente, participaram efetivamente desta caminhada;

À FAPESP e ao CNPq pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----|
| RESUMO..... | i |
| ABSTRACT..... | ii |
| GLOSSÁRIO..... | iii |
| ABREVIATURAS: SÍMBOLOS E DEFINIÇÕES..... | v |
| PREFÁCIO..... | vii |

Capítulo I: Introdução e objetivos

| | |
|--|----|
| I.1. Introdução..... | 2 |
| I.1.1. Autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição..... | 4 |
| I.1.2. Mecanismo da autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição..... | 6 |
| I.1.3. Relevância do estudo da autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição..... | 10 |
| I.2. Objetivos..... | 13 |
| I.3. Bibliografia..... | 15 |

Capítulo II: Estudos espectrofotométricos da autoxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV)

| | |
|---|----|
| II.1. Introdução..... | 20 |
| II.1.1. Considerações gerais sobre o complexo de Ni(III/II)/tetraglicina..... | 21 |
| II.1.2. Oxidação espontânea de Ni ^{II} G ₄ pelo oxigênio..... | 23 |

| | |
|---|----|
| II.2. Parte Experimental..... | 25 |
| II.2.1. Estudos espectrofotométricos em modo estático..... | 25 |
| II.3. Resultados e Discussão..... | 26 |
| II.3.1. Autoxidação de Ni(II)/tetraglicina na ausência de S(IV)..... | 26 |
| II.3.2. Autoxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV)..... | 29 |
| II.3.3. Estudo da formação de Ni(III)/tetraglicina sob condições de pseudo-primeira ordem..... | 36 |
| II.3.4. Mecanismo da autoxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV) | 39 |
| II.4. Conclusões..... | 42 |
| II.5. Bibliografia..... | 43 |

**Capítulo III: Autoxidação de Cu(II)/tetraglicina induzida por S(IV)
na presença de traços de Ni(II). Desenvolvimento de método
de análise por injeção em fluxo.**

| | |
|--|----|
| III. 1. Introdução..... | 45 |
| III.1.1. Considerações gerais sobre o complexo de Cu(III/II)/tetraglicina..... | 46 |
| III.1.2. Autoxidação de Cu ^{II} G ₄ induzida por S(IV)..... | 47 |
| III.1.3. Efeito sinérgico na reação de autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição..... | 48 |
| III.1.4. Efeito sinérgico de Ni(II) na reação de autoxidação de Cu(II)/tetraglicina induzida por S(IV)..... | 49 |
| III.2. Parte Experimental..... | 52 |
| III.2.1 Sistema de injeção em fluxo..... | 52 |

| | |
|--|----|
| III.2.2 Estudo da influência de algumas espécies na determinação de S(IV) pelo método de injeção em fluxo..... | 54 |
| III.3. Resultados e Discussão..... | 55 |
| III.3.1. Otimização do sistema em fluxo..... | 58 |
| III.3.2. Influência de algumas espécies na determinação de S(IV)..... | 62 |
| III.3.3. Autoxidação de S(IV) catalisada por traços de íons metálicos de transição..... | 63 |
| III.4. Conclusões..... | 68 |
| III.5. Bibliografia..... | 70 |

Capítulo IV: Autoxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV) na presença de Ru(III/II)/bipy. Estudos por quimiluminescência.

| | |
|--|----|
| IV.1. Introdução..... | 73 |
| IV.1.1. Estudos fluorimétricos empregando-se o íon $[Ru(bipy)_3]^{2+}$ como indicador da concentração de oxigênio..... | 74 |
| IV.1.2. Métodos analíticos baseados nas propriedades quimiluminescentes dos complexos de Ru(II)/(III)/bipy..... | 75 |
| IV.1.3. Uso de tensoativos em reações quimiluminescentes..... | 80 |
| IV.2. Parte Experimental..... | 83 |
| IV.2.1. Ensaios de quimiluminescência..... | 83 |
| IV.2.2. Monitoramento do consumo de oxigênio por fluorescência..... | 84 |

| | |
|---|-----|
| IV.3. Resultados e Discussão..... | 86 |
| IV.3.1. Estudos de emissão de radiação por quimiluminescência..... | 86 |
| IV.3.2. Efeito da ordem de mistura dos reagentes..... | 87 |
| IV.3.3. Efeito da adição de tensoativos..... | 88 |
| IV.3.4. Efeito da concentração de Ru(II)/bipy..... | 92 |
| IV.3.5. Estudos da variação da concentração de oxigênio por fluorimetria..... | 94 |
| IV.3.6. Estudos para a elucidação do provável mecanismo da reação quimiluminescente de autoxidação de Ni(II)/tetraglicina na presença de S(IV) e Ru(II)/bipy..... | 97 |
| IV.3.7. Efeito das adições sucessivas de solução de S(IV)..... | 100 |
| IV.3.8. Efeito da concentração de oxigênio dissolvido..... | 102 |
| IV.3.9. Efeito da concentração de Ni(II)/tetraglicina..... | 105 |
| IV.3.10. Efeito da acidez do meio..... | 108 |
| IV.3.11. Efeito da concentração de S(IV)..... | 110 |
| IV.3.12. Efeito da presença de formaldeído..... | 115 |
| IV.4. Conclusões..... | 117 |
| IV.5. Bibliografia..... | 119 |

Capítulo V: Autoxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV) na presença de luminol. Desenvolvimento de método analítico para determinação de S(IV) livre por quimiluminescência.

| | |
|--|-----|
| V. 1. Introdução..... | 123 |
| V.1.1. Métodos analíticos para determinação de S(IV) por quimiluminescência..... | 124 |
| V.1.2. Considerações gerais sobre o luminol..... | 130 |

| | |
|---|-----|
| V.2. Parte experimental..... | 135 |
| V.2.1. Preparação das amostras..... | 135 |
| V.2.2. Sistema em fluxo para separação do analito da matriz por unidade de difusão gasosa..... | 136 |
| V.2.3. Determinação de S(IV) por quimiluminescência..... | 136 |
| V.2.4. Comparação dos resultados com metodologia espectrofotométrica para determinação de S(IV)..... | 140 |
| V.3. Resultados e discussão..... | 141 |
| V.3.1. Efeito da ordem de adição dos reagentes..... | 143 |
| V.3.2. Efeito da adição de tensoativos..... | 144 |
| V.3.3. Efeito da concentração de luminol..... | 145 |
| V.3.4. Efeito da concentração de Ni(II)/tetraglicina..... | 147 |
| V.3.5. Curva analítica..... | 150 |
| V.3.6. Separação do analito da matriz..... | 152 |
| V.3.7. Determinação de S(IV) livre em amostras de vinho e sucos concentrados..... | 156 |
| V.3.8. Determinação de S(IV) livre em amostras de açúcar refinado..... | 157 |
| V.3.9. Determinação de S(IV) em água de chuva..... | 159 |
| V.3.10. Algumas considerações sobre o mecanismo da reação..... | 160 |
| V.4. Conclusões..... | 162 |
| V.5. Bibliografia..... | 164 |
| REAGENTES E SOLUÇÕES..... | 168 |
| PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS..... | 176 |
| CURRICULUM VITAE..... | 177 |

RESUMO

O presente trabalho apresenta estudos da reação de autooxidação de Ni(II)/tetraglicina ($\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$) e Cu(II)/tetraglicina ($\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$) induzida por S(IV) em meio aquoso.

Os estudos espectrofotométricos enfocaram a formação do respectivo íon metálico no estado de oxidação 3+. Verificou-se que S(IV) acelera a autooxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em pH = 9,2 (tampão borato). Alguns parâmetros cinéticos desta reação foram determinados.

A autooxidação de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV), caracterizada por marcante efeito sinérgico positivo de Ni(II), foi empregada no desenvolvimento de método analítico para S(IV) na faixa de $(0-12) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Este método foi utilizado para estudo da autooxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição, em meio não-complexante.

Estudos por quimiluminescência abordaram a interação das espécies geradas na autooxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV) com $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ (íon tris-bipiridil-2,2'-rutênio (II)). Foi avaliado o efeito de intensificação da radiação emitida, causado pela presença de alguns tensoativos ou por adições sucessivas de S(IV).

A interação das espécies produzidas na autooxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV) com luminol foi aproveitada para desenvolvimento de método para determinação de sulfito por quimiluminescência. Um sistema em fluxo empregando unidade de difusão gasosa foi utilizado para separação do analito da matriz. S(IV) livre foi determinado em amostras de bebidas, açúcar e água de chuva, com limite de detecção de $2,8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

ABSTRACT

The current work shows studies concerning the sulfite induced Ni(II)/tetraglycine ($\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$) and Cu(II)/tetraglycine ($\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$) autoxidation reaction in aqueous medium.

Spectrophotometric studies focused on the formation of the correspondent metallic ion in the 3+ oxidation state. It was found that S(IV) accelerates $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ autoxidation at pH = 9.2 (borate buffer). Some kinetic parameters of this reaction have been successfully determined.

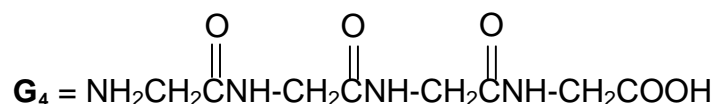
S(IV) induced $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ autoxidation, which is characterized by the remarkable positive synergistic effect of Ni(II), was used in the development of a S(IV) analytical method in the range of $(0-12) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. This method was used to study the S(IV) catalyzed autoxidation of metallic transition ions, in non-complexing medium.

Chemiluminescence studies approached the interaction between Ru(II)/bipy (tris-bipyridil-2,2'-ruthenium(II) ion) and the species generated in the S(IV) induced $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ autoxidation. The emitted radiation intensifying effect, which is caused by the presence of certain surfactants or consecutive additions of S(IV), was evaluated.

The interaction between the species generated in the S(IV) induced $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ autoxidation and luminol was used in the development of a sulfite determination method by chemiluminescence. A flow system containing a gas-diffusion unit was used to separate S(IV) from the matrix. Free sulfite was determined in beverages, sugar and rainwater samples, with a detection limit of $2,8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

GLOSSÁRIO

G_4 = usado como termo geral para o peptídeo tetraglicina



$[M^{II}(\text{H}_x\text{G}_4)]^{(1-x)}$: complexo de M(II) com G_4

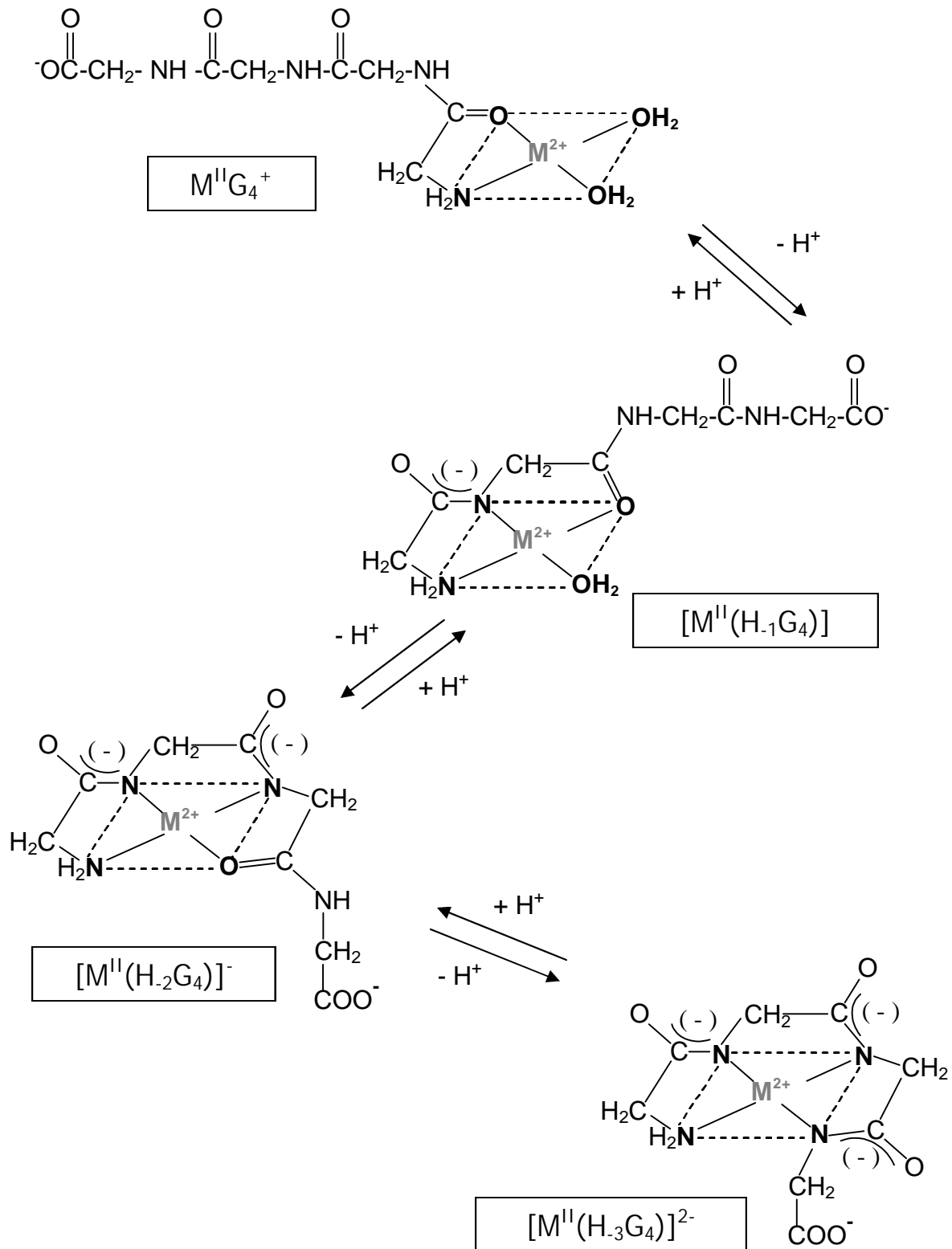
$[M^{III}(\text{H}_x\text{G}_4)]^{(2-x)}$: complexo de M(III) com G_4

$(\text{H}_x\text{G}_4)^{-(x+1)}$: refere-se ao ligante com x nitrogênios peptídicos desprotonados coordenados ao íon metálico (figura na página iv), dado que os complexos de Cu(II) ou Ni(II) com este peptídeo apresentam vários graus de protonação, de acordo com a acidez do meio

$[M^{II}G_4]$: $[M^{II}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{2-} + [M^{II}(\text{H}_2\text{G}_4)]^{-} + [M^{II}(\text{H}_1\text{G}_4)] + [M^{III}(\text{G}_4)]^{+}$
 ou
 M(II)/tetraglicina (a espécie predominante em solução dependerá da acidez do meio)

$[M^{III}G_4]$: $[M^{III}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{-} + [M^{III}(\text{H}_2\text{G}_4)\text{H}] + [M^{III}(\text{H}_3\text{G}_4)\text{H}_2]^{+} + [M^{III}(\text{H}_2\text{G}_4)\text{H}]^{+}$
 ou
 M(III)/tetraglicina (no caso do complexo de $\text{Cu}^{III}G_4$, no pH em que foram efetuados os estudos (pH = 9,2) predomina a espécie $[M^{III}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{-}$)

Equilíbrio ácido-base das espécies complexas de $M^{II}G_4$



Abreviaturas, símbolos e definições

| | |
|-----------------------|--|
| M | Íon metálico |
| A | Absorbância |
| e^- | Elétron |
| E° | Potencial padrão de redução |
| I | Força iônica |
| T | Temperatura |
| S(IV) | Óxidos de enxofre(IV) = H_2SO_3 , HSO_3^- e SO_3^{2-} |
| λ | Comprimento de onda |
| ϵ | Absortividade molar |
| UV | Ultravioleta |
| FIA | Análise por Injeção em fluxo |
| CMC | Concentração Micelar Crítica |
| N | Número de agregação |
| $[O_2]_i$ | Concentração de oxigênio inicial |
| $[O_2]_t$ | Concentração de oxigênio no tempo t |
| $[Ru(bipy)_3]^{2+}$ | Íon tris-bipiril-2,2'-rutênio(II) |
| $^*[Ru(bipy)_3]^{2+}$ | Íon tris-bipiril-2,2'-rutênio(II) fotoexcitado |
| I_o | Intensidade de emissão do íon $[Ru(bipy)_3]^{2+}$ fotoexcitado na ausência de oxigênio |
| I | Intensidade de emissão do íon $[Ru(bipy)_3]^{2+}$ fotoexcitado na presença de oxigênio |
| I_i | Intensidade de emissão inicial do íon $[Ru(bipy)_3]^{2+}$ fotoexcitado |
| I_t | Intensidade de emissão do íon $[Ru(bipy)_3]^{2+}$ fotoexcitado no tempo t |
| k_q | Constante de velocidade bimolecular do processo de supressão |
| τ^o | Tempo de vida do íon $[Ru(bipy)_3]^{2+}$ fotoexcitado na ausência de oxigênio |
| k_{obs} | Constante de velocidade observada |
| λ_{exc} | Comprimento de onda da radiação de excitação (nm) |
| λ_{em} | Comprimento de onda da radiação de emissão (nm) |
| r^2 | Coefficiente de correlação |
| n | Número |
| MEA | Monoetanolamina |
| TEA | Trietanolamina |

| | | |
|-------------------|--|----|
| TRIS | Tris(hidroximetil)aminometano | vi |
| NTA | Ácido nitriloacético | |
| EDTA | Ácido etilenodiaminotetraacético | |
| PTFE | Politetrafluoretileno | |
| Cyclam | 1,4,8,11-tetraazociclotetradecano | |
| FIA-QL | Análise por injeção em fluxo com detecção por quimiluminescência | |
| I_{\max} | Intensidade máxima de radiação emitida | |
| I_{\max} S(IV) | Intensidade máxima de radiação emitida na presença de S(IV) | |
| I_{\max} branco | Intensidade máxima de radiação emitida na ausência de S(IV) | |
| SDS | n-C ₁₂ H ₂₅ SO ₄ Na (Dodecilssulfato de sódio) | |
| Triton X-100 | [(CH ₃) ₃ CCH ₂ C(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄ OCH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) _{9,5} OH] | |
| Tween 20 | [CH ₂ O(CHO) ₄](CH ₂ CH ₂ O) ₂₀ OCOC ₁₁ H ₂₆ | |
| Tween 80 | [CH ₂ O(CHO) ₄](CH ₂ CH ₂ O) ₂₀ OCOC ₁₇ H ₃₆ | |
| Brij 35 | C ₁₂ H ₂₅ (OCH ₂ CH ₂) ₂₃ OH | |
| Brij 76 | C ₁₈ H ₃₇ (OCH ₂ CH ₂) ₁₀ OH | |

PREFÁCIO

Os estudos apresentados no presente trabalho, comparando com a literatura existente, estão descritos nos capítulos a seguir. Optou-se por reportar as referências bibliográficas no final de cada capítulo. A numeração de equações, figuras e tabelas também foram realizadas considerando-se cada capítulo de maneira independente.

Os reagentes e soluções empregados nos estudos estão descritos no final do documento (página 168). Desta maneira, acredita-se que o leitor obterá uma melhor compreensão dos resultados, uma vez que Ni(II)/tetraglicina e Cu(II)/tetraglicina foram estudados separadamente com diferentes técnicas analíticas.

Capítulo I: Introdução e objetivos

I.1.Introdução

O baixo custo, eficiência e versatilidade fazem com que o dióxido de enxofre seja largamente utilizado com finalidades industriais. S(IV) (SO_3^{2-} , HSO_3^- e H_2SO_3) é utilizado como antioxidante em indústrias farmacêuticas e alimentícias, agente branqueador de polpa de celulose em indústrias de celulose e papel, seqüestrante de oxigênio em água destinada à geração de vapor e no tratamento de minérios de sulfeto. A curva de distribuição dos óxidos de enxofre(IV) encontra-se representada na figura 1.

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

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

Do ponto de vista ambiental, SO_2 é um importante poluente atmosférico, oriundo principalmente da combustão de combustíveis fósseis⁽¹⁾. Na literatura encontram-se descritos vários trabalhos que buscam elucidar os mecanismos de oxidação do dióxido de enxofre em fase aquosa pelo oxigênio, pois esta reação é importante para a produção de ácido sulfúrico sob condições atmosféricas.

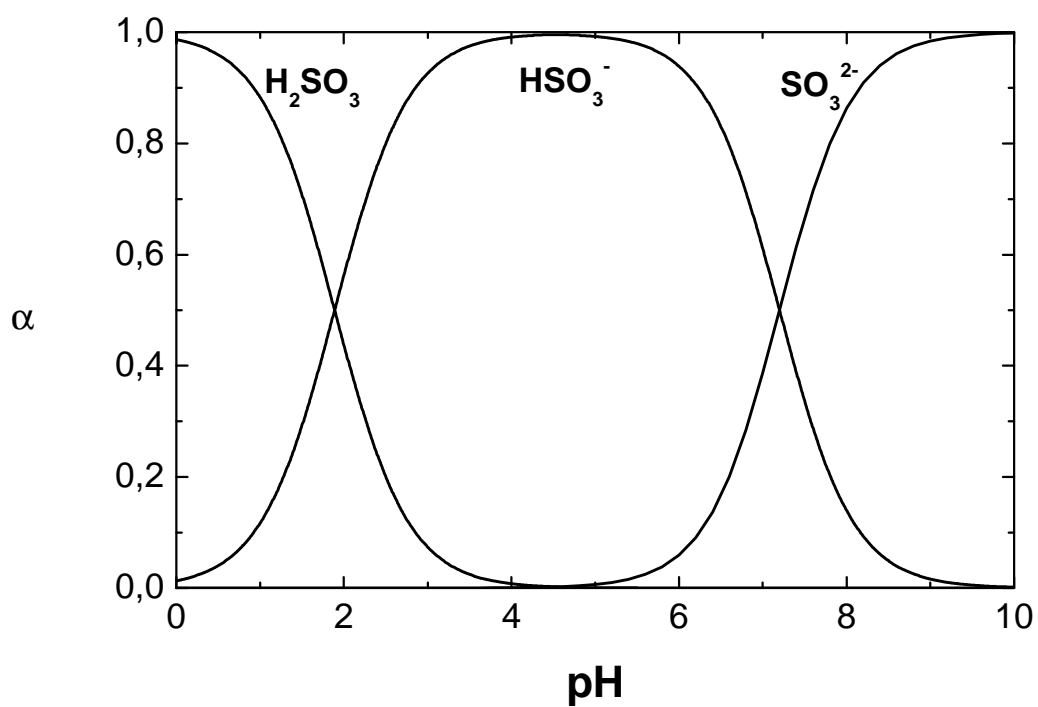


Figura 1: Diagrama de distribuição das espécies de S(IV).

O crescimento da exposição humana ao sulfito faz com que seus efeitos tóxicos sejam alvo de preocupação crescente por organismos ligados à saúde humana. Segundo o FDA ("Food and Drug Administration"), 1 em cada 100 pessoas é sensível a sulfito, assim como 4 a 8% dos pacientes asmáticos⁽²⁾. Embora segura para a maioria da população, a exposição a S(IV) é de imprevisível gravidade para asmáticos e pessoas hiper-sensíveis, podendo levar a dificuldades respiratórias, choque anafilático e urticária⁽³⁾.

No Brasil, a Resolução - RDC nº 34 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), de 9 de março de 2001, estabelece os limites máximos de S(IV) e outros aditivos em alimentos a fim de minimizar os riscos à população. Para vinhos, o limite máximo permitido de sulfito total é de 0,035g/100 mL, expresso em SO₂; para sucos de frutas, 0,020 g/100 mL (exceto suco de caju, cujo limite máximo é de 0,3 g/100 mL) e, para açúcar refinado, 0,002 g/100g.

I.1.1. Autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição

A oxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição é um processo muito importante em química ambiental. Os processos de oxidação de óxidos de S(IV) ocorrem espontaneamente na atmosfera quando SO₂ é emitido na presença de oxidantes como O₂, O₃ e H₂O₂⁽¹⁾. A oxidação de S(IV) por O₂ (também conhecida como **autoxidação** de S(IV)) é um processo termodinamicamente favorável; no entanto, esta reação é extremamente lenta na ausência de um catalisador. Alguns íons metálicos de transição, ou seus complexos, presentes em soluções ou na superfície de partículas de aerossóis, apresentam efeito catalítico na autoxidação de S(IV)^(4,5).

Em 1958, Junge e Ryan⁽⁶⁾ avaliaram a remoção de SO₂ da atmosfera em escala global, considerando-se a presença de traços de íons metálicos que catalisam a oxidação de S(IV) por oxigênio. Acredita-se que a absorção seguida de oxidação em fase aquosa seja o processo dominante de remoção de SO₂ da atmosfera^(7,8).

Data de 1903 um dos primeiros estudos sobre a autooxidação do ânion sulfito, apontando a extrema lentidão da reação na ausência de um íon metálico como catalisador⁽⁹⁾. O efeito catalítico de sais de Cu(II) em concentração de 10⁻¹² mol L⁻¹ na autooxidação de S(IV) também foi caracterizado⁽⁹⁾ e confirmado em trabalhos posteriores⁽¹⁰⁻¹²⁾. Íons metálicos em níveis de concentração da ordem de 10⁻¹² mol L⁻¹ podem ser encontrados mesmo em água altamente purificada, como impurezas.

Desde então, a oxidação espontânea dos óxidos de S(IV) por oxigênio tem sido estudada sem o estabelecimento de um consenso definitivo no que se refere à dependência do pH, velocidade de reação, mecanismos envolvidos, eficiência relativa dos catalisadores e quantidade mínima para ação catalítica. Dados numerosos e por vezes contraditórios são encontrados na literatura⁽¹³⁻²⁰⁾, provavelmente devido às diferentes condições experimentais selecionadas pelos respectivos autores (acidez do meio, temperatura, força iônica, concentrações relativas dos reagentes, natureza dos íons metálicos e presença simultânea de vários íons metálicos).

A maioria dos estudos enfoca a autooxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição (em meio não-complexante) mediante o monitoramento da concentração de S(IV), O₂ ou S(VI) formado como produto da reação⁽¹³⁻²⁰⁾. De maneira geral, a concentração de S(IV) nestes experimentos⁽¹³⁻²⁰⁾ é relativamente alta quando comparada ao íon metálico catalisador.

Alguns trabalhos avaliaram a autoxidação de S(IV) monitorando-se a concentração do catalisador quando complexado a um ligante adequado; nestas condições, o processo pode ser denominado “autoxidação do íon metálico de transição induzida por S(IV)”. Nestes estudos⁽²¹⁻²⁹⁾ foi possível efetuar medidas em condições experimentais tais que a concentração de S(IV) foi mantida baixa (10^{-5} a 10^{-4} mol L⁻¹) em relação ao íon metálico (10^{-3} a 10^{-1} mol L⁻¹). É necessária a avaliação de parâmetros cinéticos e termodinâmicos que envolvem o conhecimento das constantes de equilíbrio e do potencial de oxirredução dos complexos dos íons metálicos envolvidos. Neste contexto, destacam-se os estudos efetuados com os seguintes sistemas: Fe(III)/tris 1,10-fenantrolina⁽²¹⁾, Co(II)/Co(III)/NH₃⁽²²⁾, Fe(II)/Fe(III)/EDTA⁽²³⁾, Fe(II), Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) e V(IV) com ftalocianinas⁽²⁴⁾, Mn(III)/CDTA⁽²⁵⁾, Co(II)/Co(III)/N₃⁻⁽²⁶⁾, Mn(II)/Mn(III)/N₃⁻⁽²⁷⁾, Ni(II)/Ni(III)/cyclam⁽²⁸⁾ e Ni(OH)₂/Ni(OH)₃⁽²⁹⁾. Os resultados do trabalho envolvendo os complexos de Ni(II)/Ni(III)/tetraglicina e Cu(II)/Cu(III)/tetraglicina, a serem abordados respectivamente nos capítulos II e III, apresentam enfoque similar.

I.1.2. Mecanismo da autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição

A maior parte dos íons metálicos de transição que atuam como catalisadores na autoxidação de S(IV) é estável em solução aquosa no estado de oxidação 2+. Estudos disponíveis na literatura demonstram que, para exibirem ação catalítica na autoxidação de S(IV), é necessário que estes íons sejam oxidados a um estado de oxidação mais elevado (3+). Deste modo, foi constatada a existência de um período de indução

quando um íon metálico de transição no estado de oxidação 2+ atua como catalisador na autoxidação de S(IV).

A literatura relaciona sugestões distintas para justificativa do efeito catalítico. Numa primeira etapa, o íon metálico é oxidado (equação 1) preponderando um período de indução associado. Coichev e van Eldik⁽²⁶⁾ sugeriram uma oxidação direta do íon metálico pelo oxigênio (equação 2), ao passo que Anast e Margerum⁽³⁰⁾ propuseram uma reação de desproporcionamento (equação 3). Já Hobson e colaboradores⁽³¹⁾ indicaram a formação de uma espécie complexa entre sulfito e o íon metálico durante o período de indução, que seria prontamente oxidada (equação 4). Outra possibilidade reside na oxidação do íon metálico de transição por impurezas oxidantes, como Fe(III), presente em concentrações da ordem de 10^{-9} a 10^{-8} mol L⁻¹ mesmo em água deionizada^(32, 33).

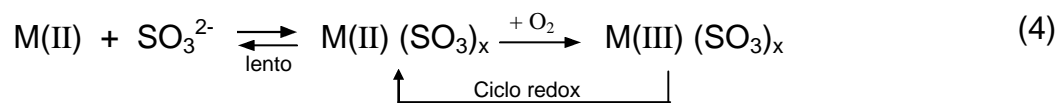
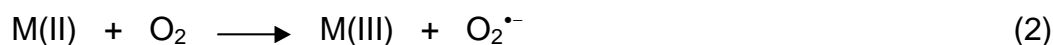


De qualquer modo, é evidente e consensual o papel do íon metálico no estado de oxidação 3+ enquanto catalisador do processo. A reação de catálise é iniciada segundo a equação 5, com a geração do radical sulfito, que rapidamente se combina com o oxigênio para produzir fortes oxidantes como o radical peroxomonossulfato (equação 6) e o ânion peroxomonossulfato (equação 7). Estas espécies, por sua vez, oxidam o íon metálico (equações 7, 9, 10 e 11). Após estas reações segue uma etapa de propagação em cadeia em que alguns dos produtos finais são sulfato, $S_2O_6^{2-}$ e $S_2O_8^{2-}$ (equações 12-29).

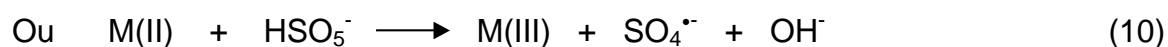
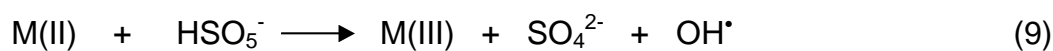
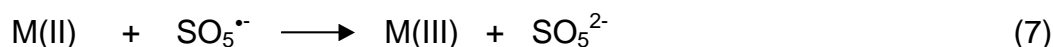
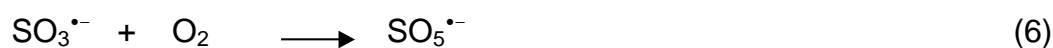
O mecanismo sugerido para a autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição é apresentado no esquema I, no qual encontram-se também as possíveis reações subseqüentes conforme dados da literatura^(12,26).

Esquema I: Mecanismo da autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição^(12,26)

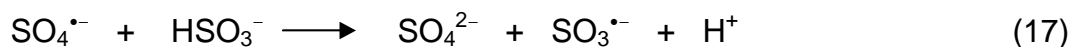
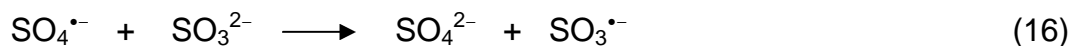
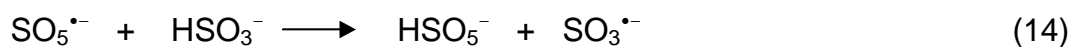
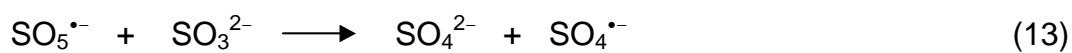
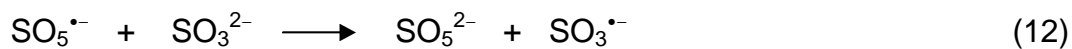
Início (na ausência de M(III) adicionado)



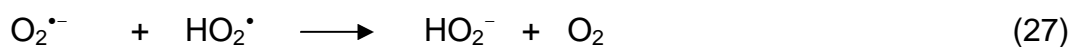
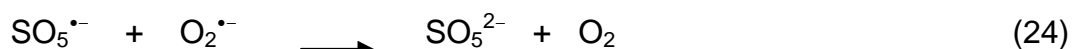
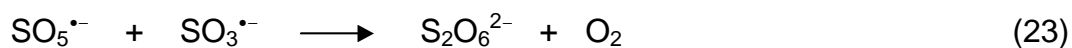
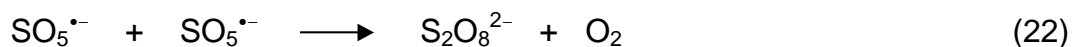
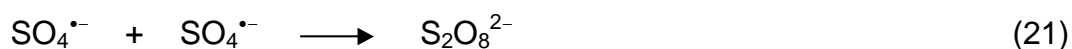
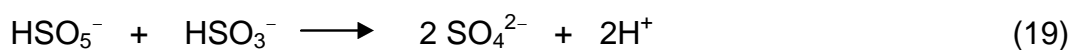
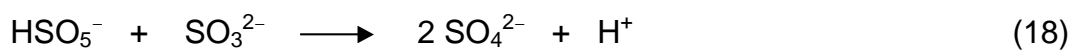
Autocatálise



Propagação da Cadeia



Formação dos Produtos / Término da Cadeia



I.1.3. Relevância do estudo da autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição

A reação de autoxidação de compostos de S(IV) (SO_2 , HSO_3^- e SO_3^{2-}), em fase aquosa e na presença de íons metálicos de transição, exerce um importante papel em química ambiental (ciclo do enxofre e formação de chuva ácida), analítica (preservação de amostras e desenvolvimento de métodos analíticos alternativos para S(IV)), bioinorgânica (lesões de biomoléculas induzidas por S(IV)) e de processos industriais (remoção de SO_2 de gases de exaustão e efluentes industriais). Estes aspectos são abordados a seguir.

• **importância em química atmosférica:** substâncias emitidas para a atmosfera podem retornar à superfície através de processos de deposição seca (sem participação de fase líquida) ou úmida. O termo “chuva ácida” tem sido usado como uma expressão para designar os processos de deposição úmida em geral.

O interesse científico na deposição úmida tem aumentado em decorrência de prejuízos ecológicos e econômicos, oriundos de danos à fauna, flora, edificações, estátuas e obras-de-arte. As substâncias ácidas inorgânicas mais abundantes na atmosfera são H_2SO_4 e HNO_3 .

A fase líquida na atmosfera (chuva, nuvem, neblina) pode ser vista como um sistema no qual várias reações, dentre as quais a oxidação de S(IV), podem ocorrer simultaneamente. A contribuição individual de cada etapa no processo de oxidação de S(IV) depende das condições atmosféricas presentes.

• **remoção de gases em processos industriais:** o dióxido de enxofre é um dos principais constituintes do ar poluído. Sistemas de remoção dos gases em fluxo,

baseados na autoxidação de SO_2 a SO_4^{2-} por íons metálicos de transição (Fe(II) e Mn(II))^(34, 35), têm sido empregados em usinas termoelétricas.

Estudos sobre a remoção simultânea de SO_2 e NO_x foram desenvolvidos nos últimos anos por várias companhias de engenharia e laboratórios de pesquisa. Encontram-se descritos na literatura sistemas aquosos compreendendo complexos quelatos com Fe(II) destinados à remoção simultânea de SO_2 e NO_x ⁽³⁶⁻³⁹⁾. Soluções aquosas de Fe(II)-NTA ⁽³⁶⁾ (ácido nitriloacético) e Fe(II)-EDTA ⁽³⁸⁾ foram, por exemplo, utilizadas como absorvedores de sulfito.

O conhecimento do mecanismo de autoxidação de S(IV) é de cunho fundamental para a otimização de parâmetros que definem a eficiência de remoção de gases em processos industriais.

• **lesões de biomoléculas induzidas por S(IV) :** a exposição humana a S(IV) , advinda da ingestão de alimentos contendo sulfito como aditivo ou da inalação de SO_2 presente em ambientes poluídos, pode causar efeitos tóxicos e danos genéticos. Embora tenha sido alvo de numerosos estudos, a toxicidade do íon sulfito é ainda pouco compreendida.

Diversos estudos têm indicado os radicais $\text{SO}_3^{\bullet-}$, $\text{SO}_4^{\bullet-}$ e $\text{SO}_5^{\bullet-}$ como potenciais oxidantes de membranas celulares, proteínas e ácidos nucleicos (DNA e RNA). No entanto, a maneira através da qual a toxicidade de S(IV) é alterada por íons metálicos de transição, em particular Ni(II) , não é clara. O estudo da autoxidação de S(IV) catalisada por Ni(II) é de grande interesse pois, somada às evidências biológicas da presença de Ni(III) , muitas espécies à base de níquel são carcinogênicas⁽⁴⁰⁾.

• **desenvolvimento de métodos analíticos alternativos para determinação de S(IV) :** apesar de atuarem geralmente como agentes redutores, as espécies de S(IV) são

capazes de induzir a autoxidação de íons metálicos e seus complexos, conforme descrito no item I.1.2. A geração do íon metálico no estado de oxidação 3+ pode ser acompanhada espectrofotometricamente na presença de um agente complexante adequado, propiciando o desenvolvimento de métodos analíticos alternativos para a determinação de S(IV).

A aplicação analítica desta reação foi inicialmente considerada por Senise⁽⁴¹⁾, que desenvolveu uma prova de toque sensível para sulfito baseada na mudança de coloração de uma solução azul do complexo Co(II)/N_3^- , que se torna amarela devido à oxidação a Co(III)/N_3^- . Esta observação abriu perspectivas para novos estudos, enfocando o emprego deste sistema na determinação de S(IV) em água de chuva e ar⁽⁴²⁻⁴⁴⁾. Nestes trabalhos, a concentração inicial de S(IV) é diretamente proporcional à concentração de Co(III)/N_3^- formado. O método é bastante sensível, devido à elevada absorvidade molar do complexo de Co(III)/N_3^- .

Estudos envolvendo o par redox Co(II)/Co(III) em meio de tris(hidroximetil)aminometano permitiram o desenvolvimento de método alternativo para determinação de S(IV) em amostras de produtos de degradação de SF_6^- ⁽⁴⁵⁾.

A reação de oxidação do Mn(II) a Mn(III) induzida por S(IV) foi proposta para a determinação de S(IV) em amostras de vinho, através de análise por injeção em fluxo⁽⁴⁶⁾. Neste sistema, íons Mn(III) gerados na reação de autoxidação reagem com iodato formando iodo. O iodo formado é determinado espectrofotometricamente e relacionado à concentração de S(IV).

I.2. Objetivos

Os estudos descritos nos capítulos a seguir apresentam como objetivos primordiais:

- Investigação do mecanismo da reação de autooxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por sulfito, em meio de tampão borato (pH = 9,2). Determinação de parâmetros cinéticos visando o desenvolvimento de métodos analíticos e o esclarecimento do mecanismo da reação, enfatizando a relevância do O_2 neste processo.
- Elucidação do mecanismo da reação de autooxidação de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por sulfito na presença de traços de Ni(II). Desenvolvimento de método analítico por injeção em fluxo para determinação de S(IV), com detecção espectrofotométrica do complexo de Cu(III) formado.
- Estudo da reação de autooxidação de S(IV) catalisada por traços de íons metálicos de transição em meio não-complexante. Nestes experimentos, a formação de Cu(III)/tetraglicina no sistema em fluxo foi empregada como um indicador da concentração de S(IV) em meio de tampão ácido acético/acetato (pH = 4,7) contendo íons metálicos Fe(II), Fe(III) e Mn(II).
- Verificação da interação das espécies geradas na reação de autooxidação de S(IV) catalisada por $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ com o íon $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ (tris-bipiridil-2,2'-rutênio(II)), empregando-se a técnica de quimiluminescência. Avaliação do efeito de tensoativos na intensificação da radiação emitida por este sistema químico.
- Estudo da interação dos radicais gerados na reação de autooxidação de S(IV) catalisada por $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ com luminol, na ausência de peróxido de hidrogênio.

Desenvolvimento de método analítico para determinação de sulfito por quimiluminescência empregando este sistema químico, aplicado a amostras de água de chuva, açúcar refinado e bebidas.

I.3. Bibliografia

1. Ermakov, A.N., Poskrebyshev, G.A., Purmal, A.P., Sulfite Oxidation: The State-of-the-art of the Problem., **Kinet. Catal.**, **38**, 295-308, 1997
2. Papazian, R., Sulfites: Safe for most, dangerous for some, **FDA Consumer Magazine**, **30-10**, 35-43, 1996
3. American Academy of Allergy and Immunology Committee on Adverse Reactions to Foods and National Institute of Allergy and Infectious Diseases. 1984, Adverse Reactions to Foods, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, 1984, Publication No. 84-2442, US. Government Printing Office, Wahington, DC, USA
4. Coichev, N., van Eldik, R., Metal Catalyzed Atmospheric Oxidation Reactions. A Challenge to Coordination Chemists, **New J. Chem.**, **18**, 123-131,1994
5. Brandt, C., van Eldik, R., Transition metal catalyzed oxidation of sulfur(IV)-oxides. Atmospheric-relevant processes and mechanisms, **Chem. Rev.**, **95**, 119-190,1995.
6. Junge, C.E., Ryan, T.G., Study of SO₂ Oxidation in Solution and its Role in Atmospheric Chemistry, **Q. J. R. Meteorol. Soc.**, **84**, 46-55, 1958.
7. Middleton, P., Kiang, C.S., Mohnen, V.A., Relative Importance of Various Urban Sulfate Aerosol Production Mechanisms, **Atmos. Environ.**, **14**, 463-472, 1980.
8. Möller, D., Kinetic Model of Atmospheric SO₂ Oxidation Based on Published Data, **Atmos. Environ.**, **14**, 1067-1076, 1980.
9. Titoff, A., Beitrage zur Kenntniss der Negativen Kalalyse imm Homogenem System, **Z. Phys. Chem.**, **45**, 641-683, 1903.
10. Reinders, W., Vlès, S.I., Reaction Velocity of Oxygen with Solutions of Some Inorganic Salts. III. The Catalytic Oxidation of Sulphites, **Recl. Trav. Chim. Pays Bas.**, **44**, 249-268, 1925.
11. Backstrom, H.L.J., The Chain-Reaction Theory of Negative Catalysis, **J. Am. Chem. Soc.**, **49**, 1460-1472, 1927.
12. Backstrom, H.J., Der Kettenmchanismus bei der autoxydation von natriumsulfitleösungen, **Z. Phys. Chem.**, **25B**, 122-138, 1934.
13. Chen, T.I., Barron, C.H., Some Aspects of Homogeneous Kinetics of Sulfite Oxidation, **Ind. Eng. Chem. Fundam.**, **11**, 466-469, 1972
14. Duca, A., Matei, F., Ionescu, G., A New Indicator Reaction for Kinetic Determination of Traces of Cobalt, **Talanta**, **27**, 917-919, 1980
15. Hobson, D.B., Richardson, P.J., Hewitt, E.A., Smith, I., Kinetics and Mechanism of the Cobalt-Catalyzed Reaction of Oxygen and Sulfite at Very Low Concentrations, **J. Chem. Soc. Faraday Trans.**, **82**, 869-881, 1986

16. Brinbleconbe, P., Spedding, D.J., Catalytic-Oxidation of Micromolar Aqueous Sulfur-Dioxide. 1. Oxidation in Dilute-Solutions Containing Iron(III), **Atmos. Environ.**, **8**, 937-945, 1974
17. Sato, T., Goto, T., Okabe, T., Lawson, F., The Oxidation of Iron(II) Sulfate with Sulfur Dioxide and Oxygen Mixtures, **Bull. Chem. Soc. Jpn.**, **57**, 2082-2086, 1984
18. Brandt, C., van Eldik, R., The Formation of Dithionate During the Iron(III)-Catalysed Autoxidation of Sulfur(IV)-Oxides, **Atmos. Environ.**, **31**, 4247-4249, 1997
19. Huss, A., Lim, P.K., Eckert, C.A., Oxidation of Aqueous Sulfur Dioxide. 2. High-Pressure Studies and Proposed Reaction-Mechanisms, **J. Phys. Chem.**, **86**, 4229-4233, 1982
20. Ibusuki, T., Barnes, H.M., Manganese(II) Catalysed Sulfur-Dioxide Oxidation in Aqueous-Solution at Environmental Concentrations, **Atmos. Environ.**, **18**, 145-151, 1984
21. Carlyle, D.W., Electron Transfer between Sulfur(IV) and Tris(1,10-phenanthroline)iron(III) Ion in Aqueous Solution, **J. Am. Chem. Soc.**, **94**, 4525-4529, 1972.
22. van Eldik, R., Harris, G.M., Kinetics and Mechanism of the Formation, Acid-Catalyzed Decomposition and Intramolecular Redox Reactions of Oxygen-Bonded (Sulfito)pentaamminecobalt(III) Ions in Aqueous Solution, **Inorg. Chem.**, **19**, 880-886, 1980
23. Dellert-Ritter, M., van Eldik, R., Kinetics and Mechanism of the Complex Formation of Ethylenediaminetetraacetateiron(III) with Sulfur(IV) Oxides in Aqueous Solution, **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, 1037-1044, 1992.
24. Boyce, S.D., Hoffmann, M.R., Hong, P.A., Moberly, L.M., Catalysis of the Autoxidation of Aqueous Sulfur Dioxide by Homogeneous Metal-Phthalocyanine Complexes, **Environ. Sci. Technol.**, **17**, 602-611, 1983
25. Bobba, V.M., Giraudi, G., Mentasi, E., The Kinetics and Mechanism of Reduction of trans-cyclohexane-1,2-diamine-NNN'-tetraacetatomanganate(III) by Sulphite, **Transition Met. Chem.**, **13**, 256-260, 1988
26. Coichev, N., van Eldik, R., Kinetics and Mechanism of the Sulfite-induced Autoxidation of Cobalt(II) in Aqueous Azide Medium, **Inorg. Chem.**, **30**, 2375-2380, 1991
27. Coichev, N., van Eldik, R., A Mechanistic Study of the Sulfite-induced Autoxidation of Mn(II) in Aqueous Azide Medium, **Inorg. Chim. Acta**, **185**, 69-73, 1991
28. Pezza, H.R., Coichev, N., Kinetics and Mechanism of the Induced Redox Reaction of $[\text{Ni}(\text{cyclam})]^{2+}$ Promoted by SO_5 Center, **J. Coord. Chem.**, **47**, 107-119, 1999.
29. Moya, H.D., Neves, E.A., Coichev, N., A Further Demonstration of Sulfite-induced Redox Cycling of Metal Ions Initiated by Shaking, **J. Chem. Educ.**, **76**, 930-932, 1999.

30. Anast, J.M., Margerum, D.W., Trivalent Copper Catalysis of the Autoxidation of Sulfite. Kinetics and the Mechanism of the Copper (III/II) Tetraglycine Reactions with Sulfite, **Inorg. Chem.**, **20**, 2319-2326, 1981.
31. Hobson, D.B., Richardson, P.J., Robinson, P.J., Hewitt, E.A., Smith, I., Kinetics and Mechanism of the Cobalt-catalyzed Reaction of Oxygen and Sulphite at Very Low Concentrations, **J. Chem. Soc., Faraday Trans.**, **82**, 869-881, 1986.
32. Fronaeus, S., Berglund, J., Elding, L.I., Iron-Manganese Redox Processes and Synergism in the Mechanism for Manganese-Catalyzed Autoxidation of Hydrogen Sulfite, **Inorg. Chem.**, **37**, 4939-4944, 1998
33. Fronaeus, S., Berglund, J., Elding, L.I., Kinetics and Mechanism for Manganese Catalyzed Oxidation of Sulfur (IV) by Oxygen in Aqueous Solution, **Inorg. Chem.**, **32**, 4527-4538, 1993
34. Lepentsiotis, V., Prinsloo, F.F., van Eldik, R., Gutberlet, H., Influence of Mixed Sulfur-Nitrogen-Oxides on the Redox Kinetics of Iron Ions in Aqueous Solution, **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, **10**, 2135-2141, 1996
35. Gutberlet, H., Patsch, B., van Eldik, R., Prinsloo, F.F., Power plant chemistry 1993, Technische Vereinigung der Grosskraftwerksbetreiber Feedwater Conference, Essen, 1993
36. Sada, E., Kumakazawa, H., Hikosaka, H., Adsorption of dilute Nitric Oxide into Aqueous-solutions of Na_2SO_3 with Added $\text{Fe}^{\text{II}}\text{NTA}$ and Reduction Kinetics of $\text{Fe}^{\text{III}}\text{NTA}$ by Na_2SO_3 , **Ind. Eng. Chem. Res.**, **26**, 2016-2019, 1987
37. Chang, S.G., Littlejohn, D., Linn, S., Effects of Metal Chelates on Wet Flue Gas Scrubbing Chemistry, **Environ. Sci. Technol.**, **17**, 649-653, 1983
38. Narita, E., Sato, T., Shioya, T., Ikari, M., Okabe, T., Formation of Hydroxylamidobis(sulfate) Ion by the Absorption of NO in Aqueous Solutions of Na_2SO_3 Containing Fe-II-EDTA Complex, **Ind. Eng. Chem. Prod. Des. Dev.**, **23**, 262-265, 1984
39. Littlejohn, D., Chang, S.G., Reaction of Ferrous Chelate Nitrosyl Complexes with Sulfite and Bisulfite Ions, **Ind. Eng. Chem. Res.**, **29**, 10-14, 1990
40. Shi, X., Dalal N., Kasprzak, K.S., Enhanced Generation of Hydroxyl Radical and Sulfur Trioxide Anion Radical from Oxidation of Sodium Sulfite, Nickel(II) Sulfite and Nickel Subsulfide in the Presence of Nickel(II) Complexes, **Environ. Health Perspect.**, **102**, 91-96, 1994
41. Senise, P., Spot Test for Sulfides Based on the Induced Oxidation of Cobalt-Azide Solutions, **Mikrochim. Acta**, **5**, 640-643, 1957

42. Gebert, J., Neves, E.A., Klockow, D., Evaluation of the Sulfur(IV) Catalyzed Autoxidation of Cobalt(II) in an Azide Containing Medium as a Means for the Determination of Sulfite in Precipitation, **Fresenius Z. Anal. Chem.**, **331**, 260-267, 1988.
43. Neves, E. A., Valdes, J., Klockow, D., Determination of Sulfur Dioxide in Air on the Basis of the Catalyzed Autoxidation of Co(II) in an Azide Medium, **Fresenius Z. Anal. Chem.**, **351**, 544-548, 1995
44. Segundo, S.M., Neves, E.A., Klockow, D., The Sulfur(IV)-Cobalt(II)-Azide System and its Application to the Investigation of the Decomposition of Sulfur-Hexafluoride under Electrical Discharges, **Analyst**, **119**, 1075-1076, 1994
45. Leite, H.M.S., Coichev, N., Neves, E.A., The Sulfite Accelerated Autoxidation of Cobalt(II) in the Presence of Tris(hidroxyethyl)aminomethane, **Anal. Letters**, **29**, 2587-2590, 1996.
46. Silva, R.L.G.N.P., Silva, C.S., Nóbrega, J.A., Neves, E.A., Flow Injection Spectrophotometric Determination of Free and Total Sulfite in Wines Based on the Induced Oxidation of Manganese(II), **Anal. Lett.**, **31**, 2195-2208, 1998

II.1. Introdução

A reação de autoxidação do complexo de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ foi estudada por Margerum e colaboradores⁽⁴⁷⁾. Apesar de ser oxidado espontaneamente pelo oxigênio atmosférico, o complexo de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ formado é instável, havendo decomposição por descarboxilação oxidativa do ligante com concomitante retorno do íon metálico ao estado de oxidação 2+.

Não há muitas informações disponíveis a respeito da autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV), uma vez que apenas um trabalho descreve esta possibilidade⁽⁴⁷⁾.

O presente capítulo apresenta os resultados de um estudo espectrofotométrico da formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, na presença e ausência de sulfito, com a determinação de alguns parâmetros cinéticos e proposta de um possível mecanismo de reação.

II.1.1. Considerações gerais sobre o complexo de Ni(III/II)/tetraglicina

A tetraglicina é um peptídeo que apresenta 3 nitrogênios amídicos (provenientes de grupos peptídicos) e um nitrogênio amínico terminal em sua estrutura (vide glossário na página iii). Quando desprotonados, estes nitrogênios propiciam a estabilização de íons metálicos de transição num estado de oxidação trivalente.

$Ni^{II}G_4$ pode existir em solução aquosa em várias formas, dependendo da acidez do meio: $[Ni^{II}G_4]^+$, $[Ni^{II}(H_1G_4)]$, $[Ni^{II}(H_2G_4)]^-$ e $[Ni^{II}(H_3G_4)]^{2-}$ (vide esquema na página iv). Destas espécies, a forma mais reativa é $[Ni^{II}(H_3G_4)]^{2-}$, ou seja, a forma na qual o ligante está triplamente desprotonado. Somente algumas constantes de ionização referentes à perda dos hidrogênios peptídicos foram determinadas por Margerum e colaboradores⁽⁴⁸⁾. Os valores de pK são de 24,22 para a ionização simultânea dos três prótons

$([Ni^{II}(H_3G_4)^{2-}][H^+]^3/[Ni^{II}G_4^+])$, e 8,1 para a ionização do terceiro próton $([Ni^{II}(H_3G_4)^{2-}][H^+]/[Ni^{II}(H_2G_4)^-])$ (tabela 1).

Tabela 1: Algumas propriedades dos complexos de Ni(III/II)/tetraglicina⁽⁴⁷⁾.

| | |
|---|----------------------|
| E^0 vs ENH (V) ^a | 0,790 |
| $\lambda_{\max 1}$ Ni ^{III} G ₄ (nm) * | ≅ 250 |
| $\epsilon_{\lambda_{\max 1}}$ Ni ^{III} G ₄ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹) * | ≅ 11000 |
| $\lambda_{\max 2}$ Ni ^{III} G ₄ (nm) * | 327 |
| $\epsilon_{\lambda_{\max 2}}$ Ni ^{III} G ₄ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹) * | 5420 ± 200 |
| pK [Ni ^{II} G ₄ ⁺]/ [Ni ²⁺][G ₄ ⁻] | -3,7 ⁽⁴⁸⁾ |
| pK [Ni ^{II} (H ₃ G ₄) ²⁻]/[H ⁺][Ni ^{II} (H ₂ G ₄) ⁻] ^b | 8,1 |

^a Valor de E^0 para $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^- + e^- \rightleftharpoons [\text{Ni}^{\text{III}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{2-}$, determinado por voltametria cíclica usando eletrodo de pasta de carbono

^b Constantes de ionização para a perda do terceiro hidrogênio peptídico. T = 25° C, $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, NaClO₄.

* λ_{\max} corresponde ao comprimento de onda de absorvância máxima; $\epsilon_{\lambda_{\max}}$ corresponde à absorvância molar (em λ_{\max}) para o complexo de Ni^{II}G₄.

Em solução aquosa, o complexo de $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{2-}$ apresenta uma geometria quadrada planar, em que Ni(II) encontra-se coordenado ao nitrogênio do grupo amino terminal e a três nitrogênios peptídicos. A coordenação inicial do íon Ni(II) à tetraglicina ocorre pelo nitrogênio da amina terminal, originando um complexo octaédrico⁽⁴⁹⁾. A desprotonação do nitrogênio amínico ocorre em valores de pH elevados (pH = 8-9), havendo a quase simultânea desprotonação dos nitrogênios amídicos restantes. Este evento, relativamente lento, é acompanhado pela transição de uma geometria octaédrica para quadrada planar. A transição é observada pela variação da absorvância em 410 e 250 nm.

II.1.2. Oxidação espontânea de Ni^{II}G₄ pelo oxigênio

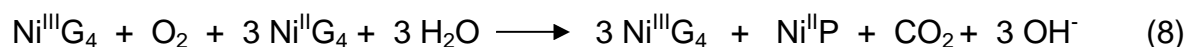
O íon níquel no estado de oxidação 3+ pode ser considerado raro. Atualmente, é conhecida uma extensa variedade de complexos de Ni(III), com aminas macrocíclicas, peptídeos, ditiolatos, fosfinas e cianeto, dentre outros grupos⁽⁵⁰⁾. Muitos complexos de Ni(III) foram inicialmente observados como espécies transitórias em solução (intermediários reativos). O isolamento e caracterização era difícil. No entanto, à medida que complexos cineticamente mais estáveis foram sendo descobertos, foi possível isolar vários deste complexos na forma sólida, como é o caso do complexo de Ni(III)/cyclam (cyclam = 1,4,8,11 - tetraazociclotetradecano)⁽⁵¹⁾.

Ni(II)/tetraglicina, [Ni^{II}(H₃G₄)]²⁻, reage, em pH = 9,0, com oxigênio molecular produzindo pequenas quantidades do complexo do íon trivalente com oxidação do ligante. Margerum e colaboradores⁽⁴⁷⁾ propuseram um mecanismo autocatalítico para a reação, consistente com a velocidade de formação de [Ni^{III}(H₃G₄)]⁻ nos estágios iniciais do processo (equações 1-4):



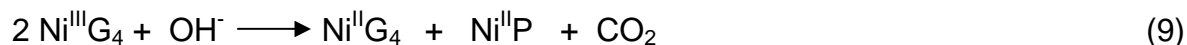
onde L[•] é G₃NHCH₂[•], LO₂[•] é G₃NHCH₂O₂[•], P é G₃NHCH₂OH (triglicil-N-(hidroximetil)amida) e G₄ é (H₃G₄)⁴⁻, isto é, o ligante está triplamente desprotonado (pH = 8,6).

Na presença de traços de $[\text{Ni}^{\text{III}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^-$, as reações 2 e 5 predominam e o complexo do íon trivalente gerado constitui uma fonte de produção de radicais. A espécie $\text{Ni}^{\text{II}}\text{LOOH}$ oxida $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ (equação 6), além de produzir o complexo $\text{Ni}^{\text{III}}\text{P}$ (Ni(III)/triglicil-N-(hidroximetil)amida). Este intermediário também oxida Ni(II)/tetraglicina (equação 7). A soma das equações 1, 2, 5, 6 e 7, representada pela equação 8,



revela uma reação que corresponde ao ganho líquido de duas moléculas de Ni(III) por molécula de oxigênio que reagiu.

À medida que a concentração de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ aumenta, as reações 3 e 4 passam a prevalecer. Estas são reações de terminação, uma vez que levam à decomposição do complexo de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$. Somando-se as equações 1 e 3 ou 1, 2 e 4 obtém-se:



A equação 9 expressa a decomposição de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ sem consumo de oxigênio.

II.2. Parte Experimental

II.2.1. Estudos espectrofotométricos em modo estático

Os testes para avaliação da reação de oxidação do complexo de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ na presença de oxigênio e S(IV) foram realizados misturando-se a solução do complexo em meio de tampão borato (pH = 9,2) com soluções de S(IV) $(0-10) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (ambas termostatizadas a 25°C) na proporção 1:1.

A composição da solução final está indicada na legenda das figuras.

Foram empregadas cubetas do tipo Tandem (caminho óptico 1,0 cm). Estas possuem 2 compartimentos isolados de 1 mL cada, sendo possível efetuar a mistura das soluções momentos antes das medidas.

Utilizando-se água como referência, as soluções foram misturadas por agitação. A absorbância foi registrada na faixa de 190-700 nm a intervalos regulares de tempo. Foi empregado um espectrofotômetro HP 8453 acoplado a um microcomputador para aquisição de dados. A utilização de um compartimento com várias cubetas permitiu que até 5 diferentes soluções fossem monitoradas simultaneamente. A variação de absorbância em 327 nm, característica de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, foi acompanhada com o tempo.

II.3. Resultados e Discussão

II.3.1. Autoxidação de Ni(II)/tetraglicina na ausência de S(IV)

O espectro UV-Visível da solução do complexo $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em $\text{pH} = 9,2$ encontra-se representado na figura 1, curva A. Observa-se a existência de duas bandas de transferência de carga, em 250 e 410 nm. O complexo de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, gerado a partir da autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$, também apresenta uma banda de transferência de carga em 250 nm e outra ao redor de 300 nm (figura 1, curva B).

A formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ foi acompanhada espectrofotometricamente a partir de medidas de absorvância em 327 ou 280 nm. Em 327 nm, apenas o complexo de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ absorve. O ligante tetraglicina, as espécies constituintes do tampão borato e o ânion sulfito não absorvem nesta região espectral.

A figura 2 representa o processo de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em tampão borato ($\text{pH} = 9,2$), na ausência de S(IV). O comportamento observado é consistente com os experimentos relatados por Margerum *et al.*⁽⁴⁷⁾ (equações 1-9). A partir do exame cuidadoso do perfil absorvância/tempo (figura 2), verifica-se a existência de uma etapa inicial em que há aumento de absorvância em 327 nm. Esta etapa, em que há formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, se estende até que seja atingido um valor máximo de absorvância e é descrita pela equação 8. A seguir, a absorvância passa a diminuir com o tempo, caracterizando a etapa terminal em que prevalecem reações de decomposição de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ (equação 9).

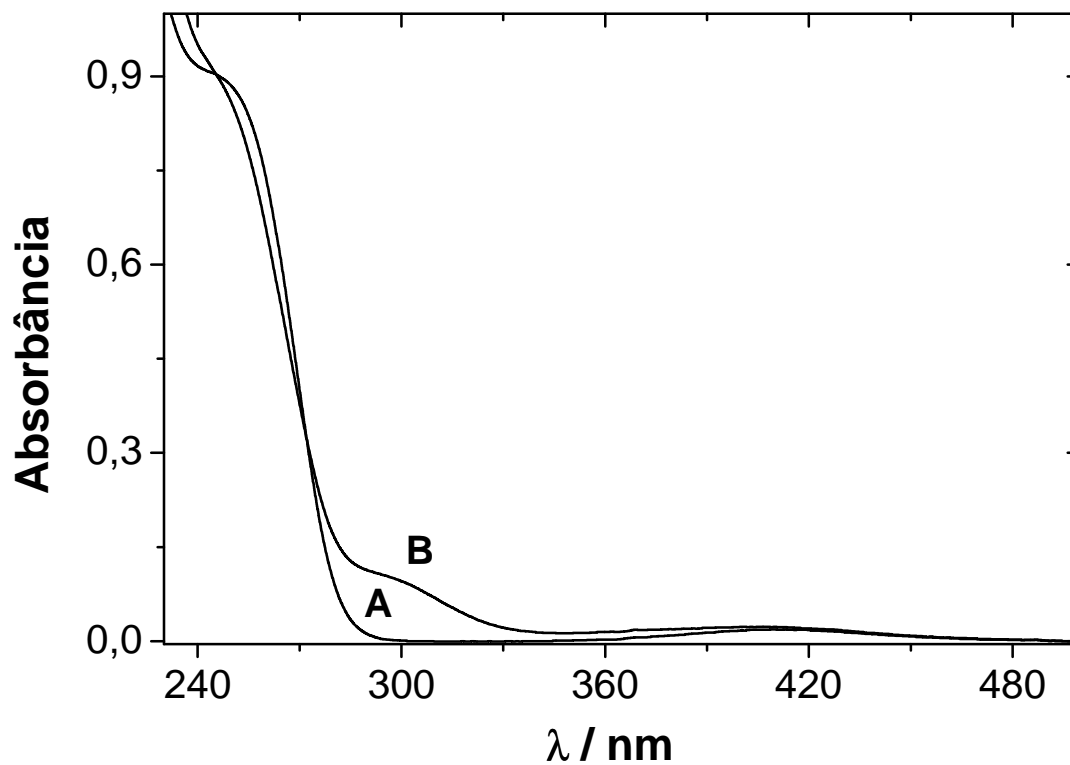


Figura 1: Espectro UV-Visível de (A) $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 0,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 0,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; tampão borato = $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2) e (B) solução resultante da autoxidação da solução A (tempo de reação 2 horas). $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar.

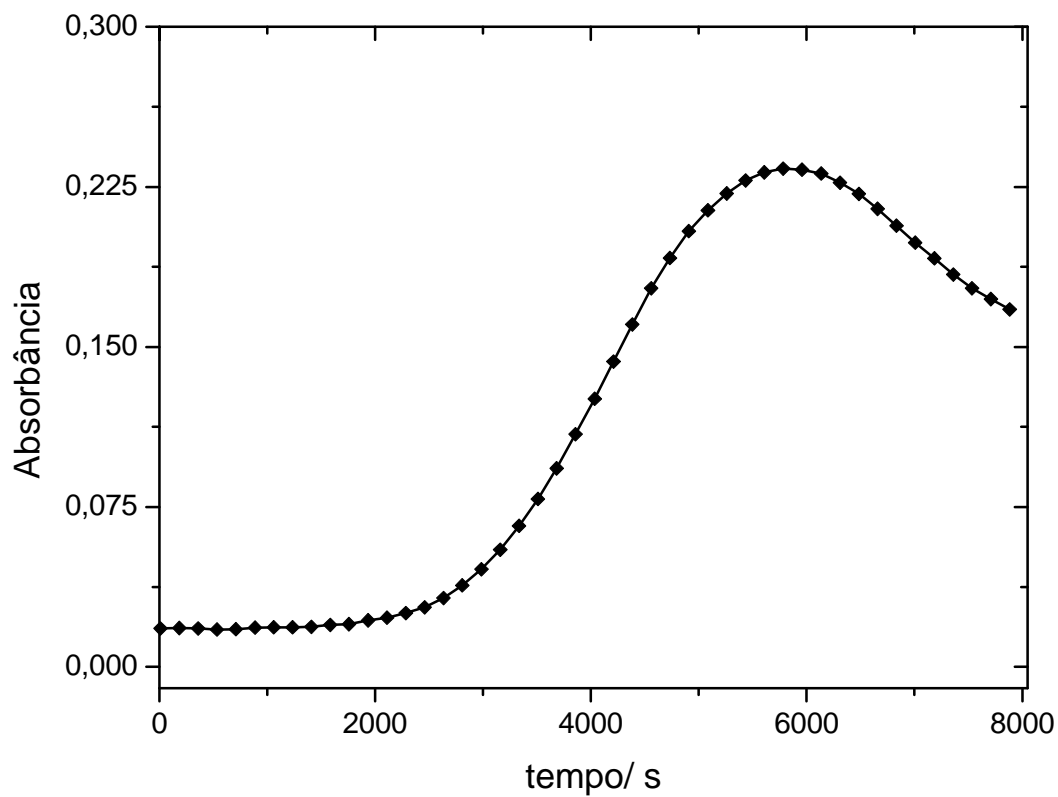


Figura 2: Mudanças de absorbância em 327 nm durante a autooxidação de Ni^{II}G₄. [Ni^{II}G₄] = 2,0x10⁻³ mol L⁻¹; [G₄] = 4,2x10⁻³ mol L⁻¹; tampão borato = 0,01 mol L⁻¹ (pH = 9,2). T = 25,0° C. Soluções saturadas com ar.

Os estudos apresentados no presente trabalho enfocam exclusivamente a etapa em que prevalecem reações que levam à formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$. Esta etapa pode, por sua vez, ser subdividida em outras duas etapas. A primeira etapa refere-se à lenta formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ e é marcada por um período de indução associado. Posteriormente, uma segunda etapa com contínua formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ se instaura, através de um processo em que o próprio produto da reação (no caso, $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$) catalisa a autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$. Pode-se afirmar que, nesta segunda etapa, a velocidade de formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ é máxima.

Verificou-se, ainda, que o aumento da concentração de ligante em excesso retarda a autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$, ao aumentar o período de indução da reação autocatalítica (figura 3).

II.3.2. Autoxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV)

No presente item, são discutidos os resultados de experimentos realizados a partir do monitoramento espectrofotométrico da formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, logo após a mistura de volumes iguais de solução de sulfito com solução recém-preparada de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em tampão borato (pH = 9,2). Ambas as soluções encontram-se saturadas com ar. Para água pura a 25° C saturada com ar (pressão parcial de O_2 igual a 0,20 atm), a concentração de oxigênio dissolvido é de aproximadamente $2,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (52).

A adição de sulfito acelera a reação de autoxidação do complexo de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ com diminuição do período de indução do processo (figuras 4 e 5). A autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$

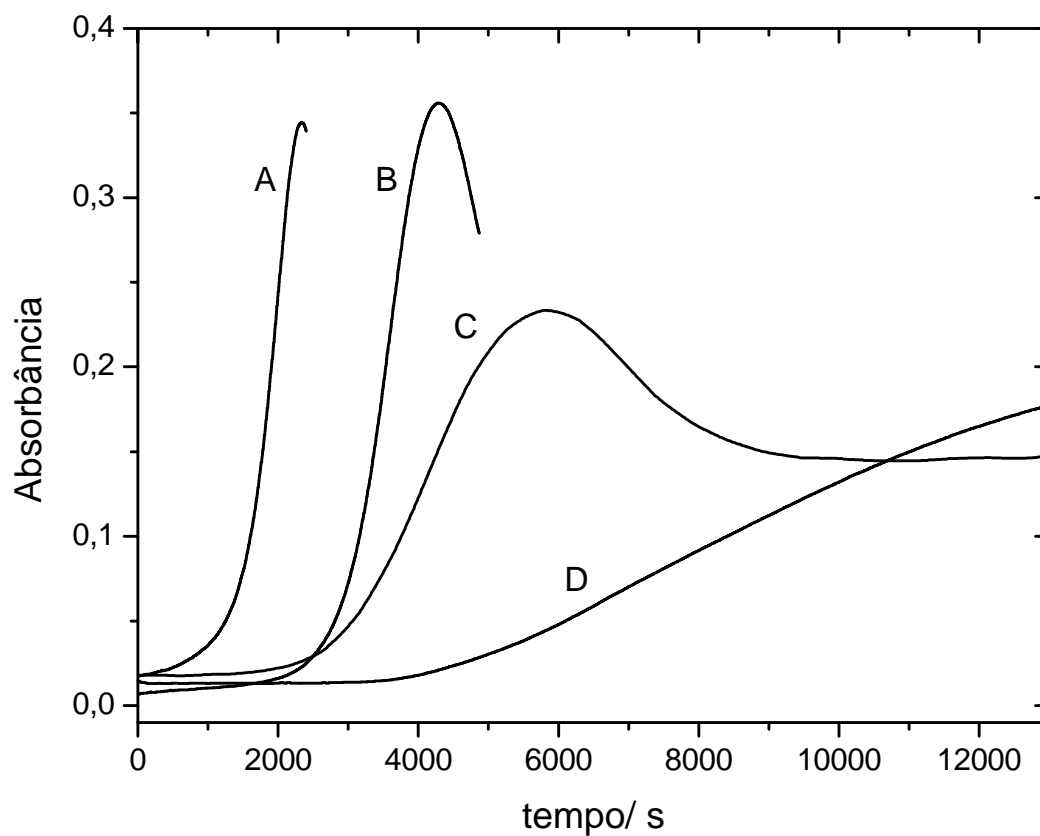


Figura 3: Mudanças de absorbância em 327 nm durante a autoxidação de $Ni^{II}G_4$. $[Ni^{II}G_4] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; tampão borato = $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2); $[G_4]$: A = $0,2 \cdot 10^{-3}$; B = $2,4 \cdot 10^{-3}$; C = $4,2 \cdot 10^{-3}$; D = $6,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. T = 25° C . Soluções saturadas com ar.

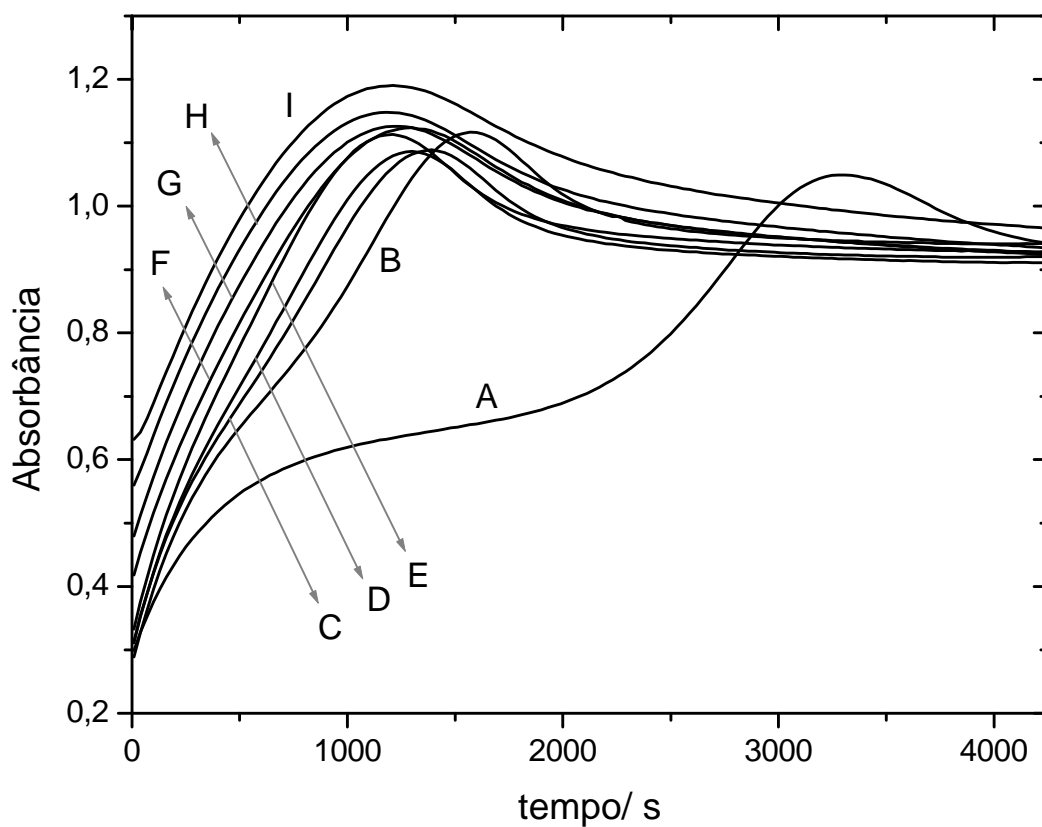


Figura 4: Mudanças de absorbância em 280 nm durante a autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV). $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; tampão borato = $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2); $[\text{G}_4] = 4,2 \cdot 10^{-3}$; [S(IV)]: A = 0; B = $0,25 \cdot 10^{-5}$; C = $0,50 \cdot 10^{-5}$; D = $0,75 \cdot 10^{-5}$; E = $1,0 \cdot 10^{-5}$; F = $2,0 \cdot 10^{-5}$; G = $4,0 \cdot 10^{-5}$; H = $6,0 \cdot 10^{-5}$; I = $8,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. T = $25,0^\circ \text{ C}$. Soluções saturadas com ar.

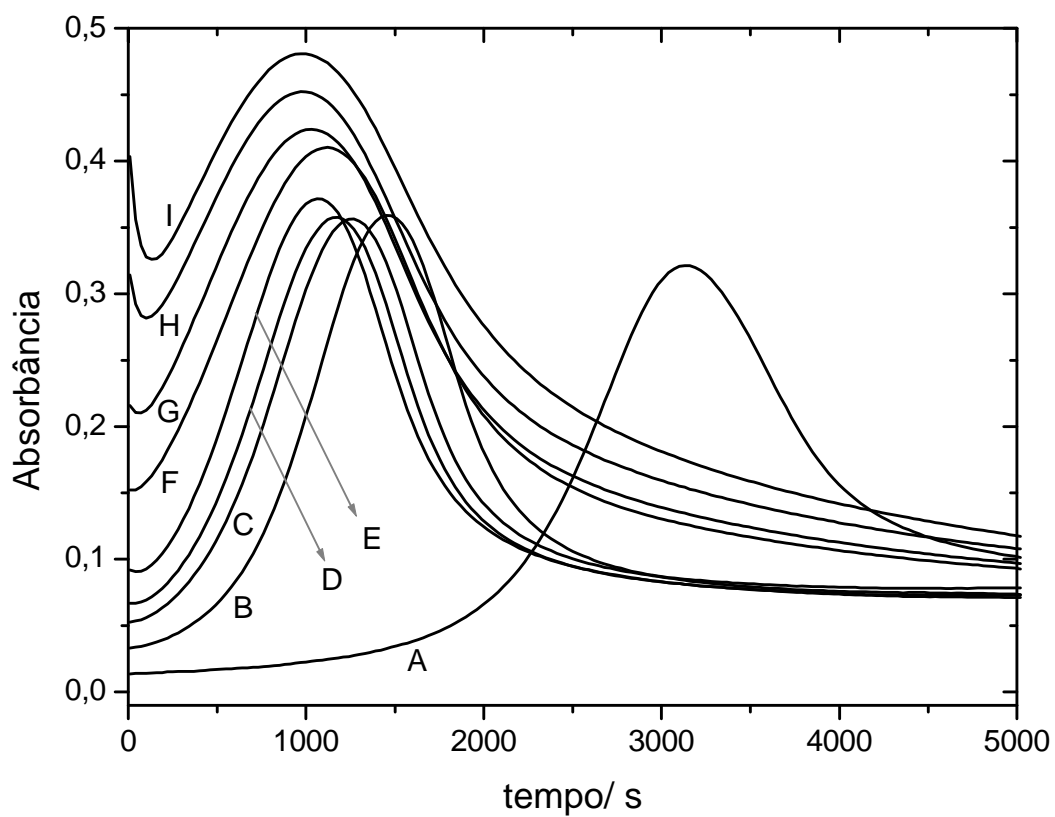


Figura 5: Mudanças de absorbância em 327 nm durante a autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV). $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; tampão borato = $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2); $[\text{G}_4] = 4,2 \cdot 10^{-3}$; [S(IV)]: A = 0; B = $0,25 \cdot 10^{-5}$; C = $0,50 \cdot 10^{-5}$; D = $0,75 \cdot 10^{-5}$; E = $1,0 \cdot 10^{-5}$; F = $2,0 \cdot 10^{-5}$; G = $4,0 \cdot 10^{-5}$; H = $6,0 \cdot 10^{-5}$; I = $8,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. T = $25,0^\circ \text{C}$. Soluções saturadas com ar.

na presença de S(IV) apresenta uma etapa rápida seguida de uma mais lenta. Os estudos aqui apresentados abordam a influência de sulfito na segunda etapa de formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, avaliada sob condições de pseudo-primeira ordem (item II.3.3). A primeira etapa foi estudada com detalhes em meio de menor concentração de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ por Alipázaga⁽⁵³⁾.

Da figura 5, constata-se também que a absorvância após 25 segundos de reação aumenta com a concentração de S(IV) inicial. Esta variação de absorvância refere-se à formação rápida de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, seguida de ligeira decomposição. Este comportamento é mais pronunciado para adição de S(IV) em maiores concentrações ($6,0$ e $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, figura 5, curvas I e H).

A diminuição do período de indução da reação de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em função da concentração de S(IV) adicionado pode ser melhor visualizada a partir da figura 6.

A influência da concentração de ligante livre na reação de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV) encontra-se representada na figura 7. Assim como a autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ na ausência de S(IV), o excesso de ligante retarda a reação com o aumento do período de indução do processo autocatalítico. Comportamento similar foi descrito para o sistema $\text{Co}^{\text{II}}/\text{N}_3^-$ ⁽⁵⁴⁾.

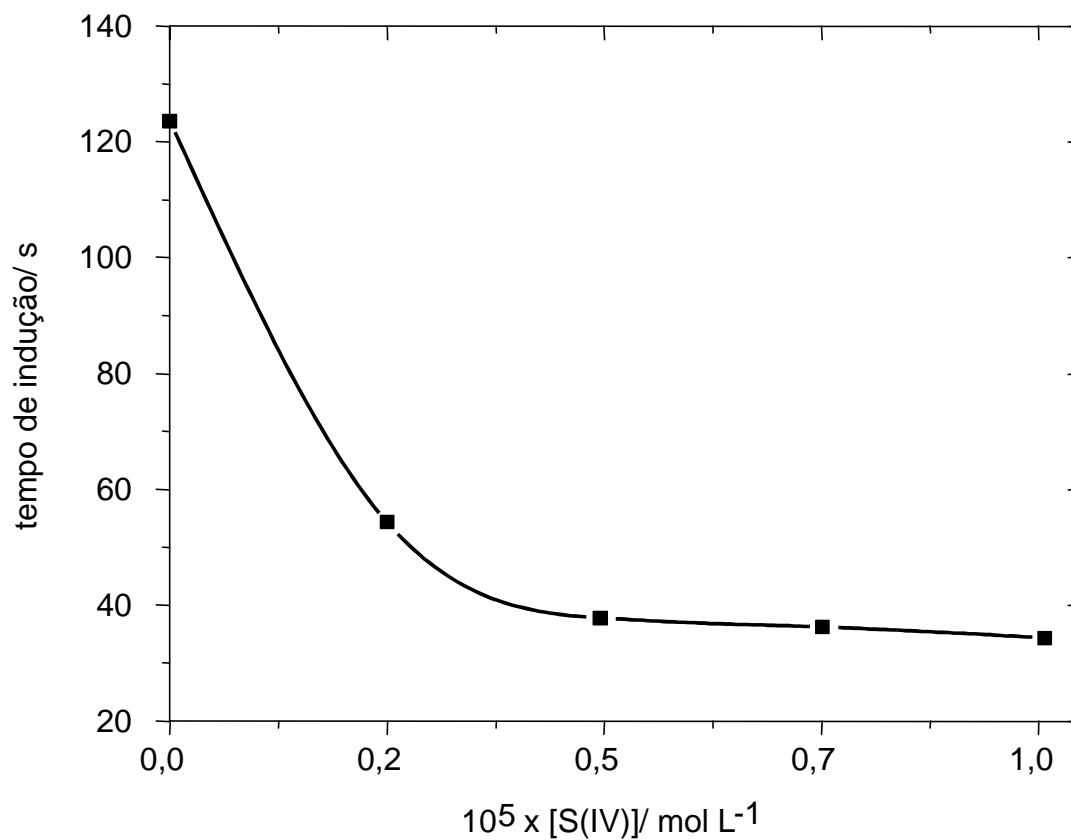


Figura 6: Período de indução em função de $[S(IV)]$, conforme dados da figura 5. O período de indução foi assumido como o tempo necessário para a geração de $8,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de $[\text{Ni}^{\text{III}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^-$, o que corresponde a uma variação de absorbância a 327 nm (a partir de $t = 0 \text{ s}$) de 0,04.

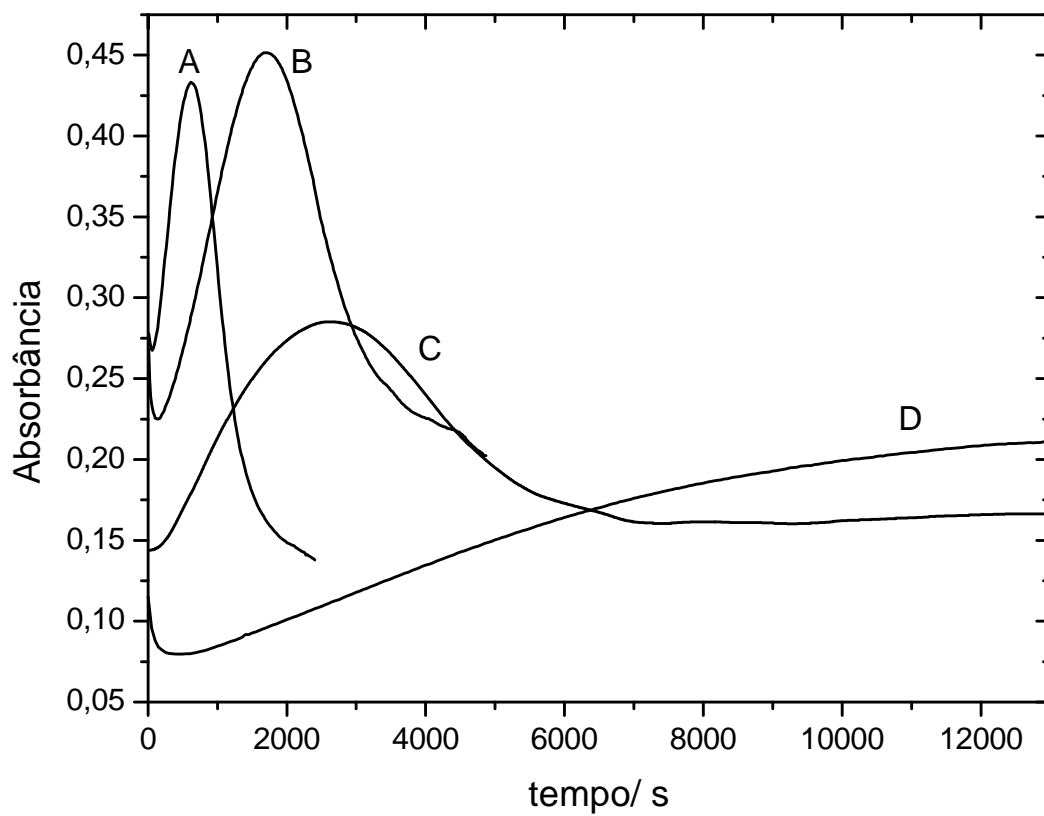


Figura 7: Mudanças de absorbância em 327 nm durante a autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV). $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; tampão borato = $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2); S(IV) = $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4]$: A = $0,2 \cdot 10^{-3}$; B = $2,4 \cdot 10^{-3}$; C = $4,2 \cdot 10^{-3}$; D = $6,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. T = $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar.

II.3.3. Estudo da formação de Ni(III)/tetraglicina sob condições de pseudo-primeira ordem

A formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ foi estudada sob condições de pseudo-primeira ordem, a fim de verificar como a variação na concentração de S(IV) afeta a velocidade de formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$. Considerando-se os demais reagentes encontram-se em excesso ou não apresentam variação significativa de concentração durante a reação, a seguinte suposição pode ser feita:

$$\frac{d[\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4]_t}{dt} = k_{\text{obs}} \cdot [\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4]^1 \quad (10)$$

para uma certa acidez e concentração de ligante em excesso.

A partir do pressuposto de que as condições experimentais são tais que a formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ é de primeira ordem em relação à concentração de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, o gráfico da concentração de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ (em um certo tempo t) em função do tempo deve seguir a forma integrada da equação 10, ou seja:

$$\ln[\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4]_t = \ln[\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4] - k_{\text{obs}} \cdot t \quad (11)$$

cujo coeficiente angular fornece o valor de k_{obs} (constante de velocidade observada). O coeficiente linear da equação 11 fornece o valor da concentração de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ no tempo zero.

Em função das singulares condições experimentais adotadas (pH, concentração de ligante em excesso) e da complexidade do sistema químico em questão (ocorrência de reações simultâneas ou paralelas de geração e destruição do complexo de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$), não é possível afirmar que o coeficiente angular do gráfico que relaciona $\ln[\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4]$ e tempo (figura 8) seja equivalente à constante de velocidade observada, k_{obs} . Neste caso

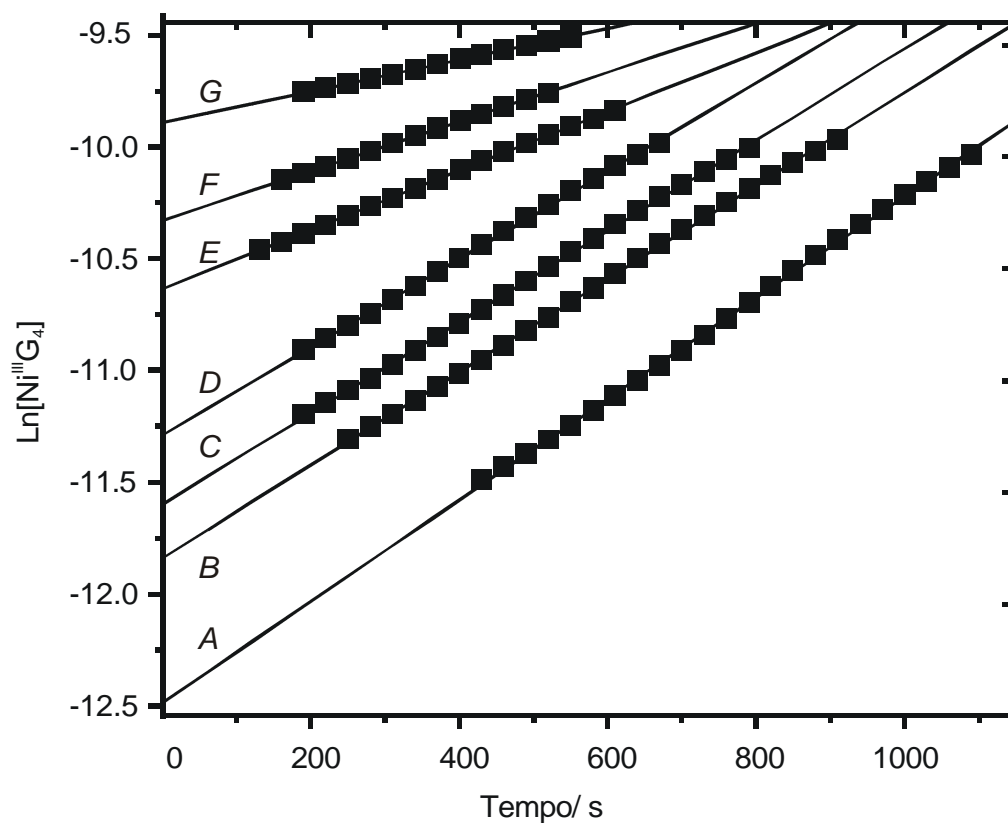


Figura 8: Formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ sob condições de pseudo-primeira ordem. $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; tampão borato = $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2); $[\text{G}_4] = 4,2 \cdot 10^{-3}$; $[\text{S(IV)}]$: A = $0,25 \cdot 10^{-5}$; B = $0,50 \cdot 10^{-5}$; C = $0,75 \cdot 10^{-5}$; D = $1,0 \cdot 10^{-5}$; E = $2,0 \cdot 10^{-5}$; F = $4,0 \cdot 10^{-5}$; G = $8,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. T = $25,0^\circ \text{ C}$. Soluções saturadas com ar.

em particular, o coeficiente angular exprime a máxima velocidade de formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, permitindo a inferência de importantes conclusões semi-quantitativas a partir deste tratamento matemático.

A formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ resultante da reação de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV) encontra-se representada, sob condições de pseudo-primeira-ordem, na figura 8. Os dados foram obtidos a partir dos perfis absorvância/tempo representados na figura 5, desprezando-se o período de indução. Assume-se, para efeito de cálculo, que a absorvância a 327 nm é exclusivamente devida ao complexo de $[\text{Ni}^{\text{III}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^-$ ($\epsilon = 5420 \pm 200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)⁽⁴⁷⁾.

A inclinação das retas que descrevem a formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ sob condições de pseudo-primeira ordem para diferentes concentrações de S(IV) é bastante semelhante para as curvas A, B, C e D na figura 8 ($[\text{S(IV)}] = (0,25-1,00) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Nestas condições, conclui-se que a velocidade de máxima formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ independe da concentração de S(IV) na segunda etapa de formação (mais lenta) de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$.

Deste modo, é possível afirmar que S(IV) acelera o processo de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ devido à formação de radicais fortemente oxidantes ($\text{SO}_3^{\bullet-}$ e $\text{SO}_5^{\bullet-}$) que rapidamente geram $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ em quantidade suficiente para início do processo de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$, com conseqüente diminuição do período de indução. O período de indução depende da concentração inicial de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ e S(IV) (equação 5, capítulo I). Não há modificação na velocidade de formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ na segunda etapa de formação desta espécie, nas condições experimentais estudadas.

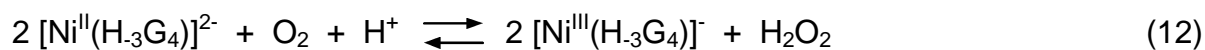
Embora o coeficiente angular das retas A, B, C e D representadas na figura 8 apresente um valor bastante próximo ($\cong 2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$), este valor diminui ligeiramente para

concentrações de S(IV) mais elevadas (por exemplo, $8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Esta variação pode ser explicada pela atuação de S(IV) como agente redutor do complexo de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$. Em concentrações elevadas de S(IV) ($\cong 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), o oxigênio dissolvido, cuja concentração em solução saturada de ar é de $2,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, já não está presente em grande excesso.

O valor do intercepto na figura 8 pode, também, ser relacionado à quantidade de iniciador $[\text{Ni}^{\text{III}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^-$ no princípio da reação (equação 11). Há uma dependência linear da concentração de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ com relação à concentração de S(IV) inicial na faixa $(0,25 - 2,00) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (figura 9).

II.3.4. Mecanismo da autooxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV)

A natureza autocatalítica da formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, na ausência de sulfito, é justificada pela existência de período de indução (figura 6). Traços de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, no princípio da reação, são necessários para iniciar o processo. Embora termodinamicamente desfavorável, $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ pode ser gerado por oxidação direta de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ pelo oxigênio (equação 12). O peróxido de hidrogênio resultante é, por sua vez, capaz de oxidar $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ produzindo $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ em concentração suficiente para início do processo. Margerum e colaboradores⁽⁴⁷⁾ estimaram esta concentração em $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para a reação de autooxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão borato $0,025 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 8,6).



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

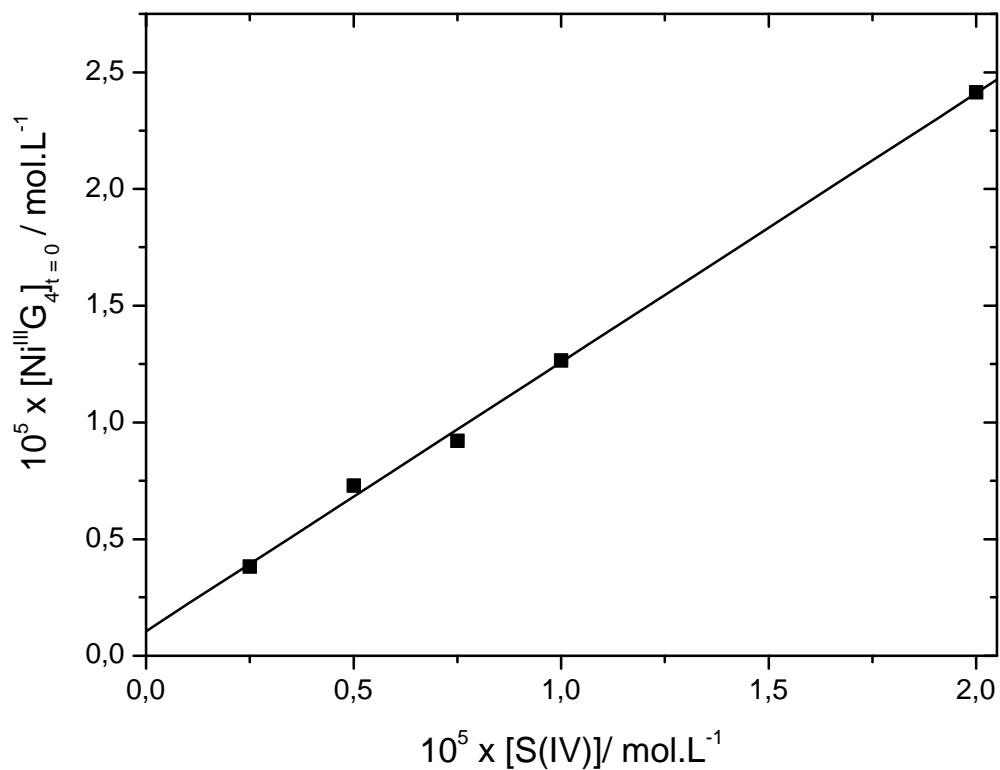
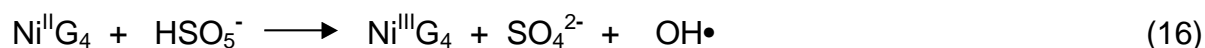


Figura 9: Concentração de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ no tempo zero, obtido por extrapolação gráfica dos dados representados na figura 8, em função de $[\text{S(IV)}]$ inicial na autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV) . $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2); $[\text{G}_4] = 4,2 \cdot 10^{-3}$; $[\text{S(IV)}] = (0,25-2,0) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. T = $25,0^\circ \text{ C}$. Soluções saturadas com ar.

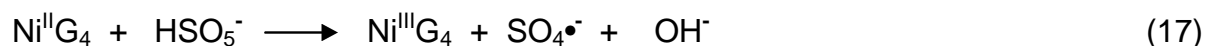
Outra possibilidade decorre da formação do $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{2-} \cdot \text{O}_2$, em que a transferência interna de elétrons produz espécies do tipo $\text{Ni}^{\text{III}} \cdot \text{O}_2$ ⁽⁵⁵⁾. Existem, ainda, diversas possibilidades para iniciação por traços de impurezas oxidantes.

Na presença de traços de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ e SO_3^{2-} é estabelecido processo autocatalítico, conforme descrito no item I.1.2. Inicialmente, ocorre a formação de $\text{SO}_3^{\bullet-}$ (equação 5, capítulo I), que então reage com O_2 produzindo $\text{SO}_5^{\bullet-}$ (equação 6, capítulo I), que por sua vez oxida $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{2-}$ em conjunto com HSO_5^- (equações 7-11, capítulo I). O período de indução, sendo função da concentração inicial de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$, decresce drasticamente (figura 6).

Autocatálise



ou



Uma vez formado $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ em concentração apreciável, inicia-se a segunda etapa de formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$. Esta etapa, em que a velocidade de formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ é máxima, não é afetada pela presença de S(IV). Acredita-se, assim, que a atuação de sulfito limita-se à primeira etapa do processo de formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$.

II.4. Conclusões

A realização dos testes descritos permitiu a formulação das seguintes conclusões:

- o complexo de Ni(II)/tetraglicina, $Ni^{II}G_4$, é oxidado a $Ni^{III}G_4$ pelo oxigênio, com subsequente decomposição do complexo de $Ni^{III}G_4$ gerado.
- S(IV) acelera a reação de autooxidação de $Ni^{II}G_4$, com diminuição do período de indução associado. A reação de autooxidação de $Ni^{II}G_4$ induzida por S(IV) ocorre em duas etapas: uma primeira etapa, em que prevalecem reações que levam à formação de $Ni^{III}G_4$, seguida de uma etapa em que preponderam reações de decomposição desta espécie. A etapa de formação de $Ni^{III}G_4$ pode ser subdividida em duas etapas; a primeira, bastante rápida, é sucedida por outra mais lenta, em que a formação de $Ni^{III}G_4$ foi estudada sob condições de pseudo-primeira ordem. Verificou-se que a velocidade da segunda etapa de formação de $Ni^{III}G_4$ é independente da concentração de S(IV) inicial. Deste modo, atribui-se a ação ativadora de S(IV) à rápida formação do iniciador $Ni^{III}G_4$ através de mecanismo autocatalítico envolvendo radicais fortemente oxidantes ($SO_3^{\bullet-}$ e $SO_5^{\bullet-}$).

II.5. Bibliografia

47. Bossu, F.P., Paniago, E.B., Margeum, D.W., Kirksey Jr., S.T., Trivalent Nickel Catalysis of the Autoxidation of Nickel(II) Tetraglycine, **Inorg. Chem.**, **17**, 1034-1042, 1978
48. Margerum, D.W., Duckes, G.R., In: Metal ions in Biological systems, vol. 1, Chapter 5, Helmut Siegel (Marcel Decker Inc.), New York, p. 157, 1974
49. Martin. R.B., In: Metal ions in Biological systems, vol. 23, Helmut Siegel (Marcel Decker Inc.), New York, p. 123, 1987
50. Margerum, D.W., Anliker, S., In: The Bioinorganic Chemistry of Nickel, Chapter 2, Ed. por Jack R. Lancaster, VCH Publishers, New York, p. 29-51, 1988
51. Linn, D.E., Dragan, M.J., Miller, D.E., Catalysis of the Autoxidation of Aqueous Sulfur Dioxide using $[\text{Ni}^{\text{III}}(\text{cyclam})]$: Evidence for a Novel Radical Chain Mechanism. **Inorg. Chem.**, **29**, 4356-4358, 1990
52. Sasso, M.G., Quina, F.H., Bechara, E.J.H., Ruthenium(II) Tris(bipyridyl) Ion as a Luminescent Probe for Oxygen Uptake. **Anal. Biochem.**, **156**, 239-243, 1986
53. Alipázaga, M.V. "Estudo da autoxidação dos complexos de Cu(II), Ni(II) e Co(II)/tetraglicina induzida por S(IV)", 2003 [Tese de Doutorado, Instituto de Química, USP]
54. Coichev, N., van Eldik, R., Kinetics and Mechanism of Sulfite-induced Autoxidation of Cobalt(II) in Aqueous Azide Medium. **Inorg. Chem.**, **30**, 2375-2380, 1991
55. Michelson, A.M., Studies in bioluminescence. 10. Chemical models of enzymic oxidations, **Biochemie**, **55**, 465-479, 1973

Capítulo III: Autoxidação de Cu(II)/tetraglicina induzida por S(IV) na presença de traços de Ni(II). Desenvolvimento de método de análise por injeção em fluxo.

III. 1. Introdução

Neste capítulo é apresentado o sistema FIA desenvolvido para determinação de S(IV) nos níveis de $(0-12) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. O procedimento se baseia na reação de autooxidação do complexo de Cu(II)/tetraglicina ($\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$) em tampão borato (pH = 9,2) na presença de traços de Ni(II), a qual é sensivelmente acelerada por S(IV). Neste processo, a concentração do complexo de Cu(III)/tetraglicina gerado é função direta da concentração de S(IV) presente no meio. A formação do complexo de Cu(III)/tetraglicina é, por sua vez, acompanhada espectrofotometricamente a 365 nm.

Foi realizado um estudo visando a otimização das condições experimentais para obtenção do melhor sinal analítico, além da verificação de possíveis interferências nesta determinação.

Estudos da cinética de autooxidação de S(IV) catalisada por traços de íons metálicos foram também realizados. Para tal, empregou-se a formação de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$, no sistema em fluxo, como um indicador da concentração de S(IV) em meio de tampão acetato/ácido acético contendo íons metálicos.

Nestes estudos, procurou-se efetuar um estudo comparativo do efeito catalítico proporcionado pelos íons Fe(II), Fe(III) e Mn(II), quando no mesmo nível de concentração. Alguns experimentos foram realizados no sentido de avaliar o efeito de diferentes concentrações do íon metálico Mn(II) no processo de autooxidação de S(IV), com destaque para o efeito sinérgico de Fe(III) na presença de Mn(II).

III.1.1. Considerações gerais sobre o complexo de Cu(III/II)/tetraglicina

O complexo de Cu(III)/tetraglicina foi o primeiro complexo peptídico de cobre trivalente caracterizado em solução aquosa⁽⁵⁶⁾. De maneira análoga aos estudos com Ni(II)/Ni(III)/tetraglicina⁽⁵⁷⁾, a formação de Cu^{III}G₄ foi primeiramente observada a partir do estudo de reação de oxidação de Cu^{II}G₄ pelo oxigênio^(58,59).

Cu^{II}G₄ pode existir em solução aquosa em várias formas, de acordo com a acidez do meio: [Cu^{II}G₄]⁺, [Cu^{II}(H₋₁G₄)], [Cu^{II}(H₋₂G₄)]⁻ e [Cu^{II}(H₋₃G₄)]²⁻ (vide esquema na página iv). Destas espécies, a forma mais reativa é [Cu^{II}(H₋₃G₄)]²⁻, ou seja, a forma em que o ligante está triplamente desprotonado. Encontram-se descritas, na tabela 1, algumas propriedades físico-químicas relevantes dos complexos Cu(III/II)/tetraglicina.

Tabela 1: Algumas propriedades dos complexos de Cu(III/II)/tetraglicina.

| | |
|--|----------------------------|
| E ^o vs ENH (V) ^a | 0,631 ⁽⁶²⁾ |
| λ _{max} Cu ^{II} G ₄ (nm) * | 520 ⁽⁶²⁾ |
| ε _{λ_{max}} Cu ^{II} G ₄ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹) * | 145 ⁽⁶²⁾ |
| λ _{max} Cu ^{III} G ₄ (nm) * | 365 ⁽⁶²⁾ |
| ε _{λ_{max}} Cu ^{III} G ₄ (mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹) * | 7120 ± 200 ⁽⁶²⁾ |
| pK [Cu ^{II} G ₄ ⁺]/[Cu ²⁺][G ₄] ⁻ | -5,4 ⁽⁶³⁾ |
| pK [Cu ^{II} (H ₋₁ G ₄)][H ⁺]/[Cu ^{II} G ₄ ⁺] ^b | 5,6 ⁽⁶³⁾ |
| pK [Cu ^{II} (H ₋₂ G ₄)][H ⁺]/[Cu ^{II} (H ₋₁ G ₄)] ^c | 6,8 ⁽⁶³⁾ |
| pK [Cu ^{II} (H ₋₃ G ₄) ²⁻][H ⁺]/[Cu ^{II} (H ₋₂ G ₄)] ⁻ ^d | 9,16 ⁽⁶³⁾ |

^a Valor de E^o para [Cu^{II}(H₋₃G₄)]⁻ + e⁻ ⇌ [Cu^{II}(H₋₃G₄)]²⁻, determinado por voltametria cíclica usando eletrodo de pasta de carbono

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

* λ_{max} corresponde ao comprimento de onda de absorvância máxima; ε_{λ_{max}} corresponde à absorvância molar (em λ_{max}) para o complexo de Cu^{II}G₄.

Os centros de coordenação envolvidos na formação do anel quelato do complexo de $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{2-}$ compreendem um nitrogênio da amina terminal e três nitrogênios peptídicos desprotonados do ligante tetraglicina^(56,60). Um arranjo geométrico quadrado planar é obedecido.

Complexos de cobre trivalente caracterizam-se, de maneira geral, pela reação rápida em processos de transferência de elétrons na oxidação de diferentes substratos⁽⁶¹⁾, tais como ascorbato, iodeto, ferrocianeto e sulfito. O espectro UV-Visível de solução do complexo de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$ revela a existência de duas bandas fortes de transferência de cargas em 250 e 365 nm. Em virtude da alta absorvidade molar de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$ em 365 nm, a formação desta espécie pode ser convenientemente monitorada através de medidas espectrofotométricas neste comprimento de onda.

$[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^-$ apresenta estabilidade moderada em meio de pH neutro (tempo de vida médio de 5,5 h a 25° C), mas sofre decomposição em meios ácido e básico. A reação de decomposição resulta na redução de cobre 3+ ao estado de oxidação 2+, com oxidação do peptídeo⁽⁶⁴⁾. Tanto em meio básico quanto ácido verifica-se a participação dos produtos de reação na catálise da reação de decomposição de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$. A distribuição dos fragmentos peptídicos resultantes da reação de decomposição também é dependente do pH^(58,64,65).

III.1.2. Autoxidação de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV)

$\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ é oxidado espontaneamente pelo oxigênio em pH 7-9 através de um processo autocatalítico⁽⁵⁹⁾. A autoxidação é lenta, mas pode ser acelerada na presença

de sulfito⁽⁶⁶⁾. Anast e Margerum⁽⁶⁶⁾ realizaram detalhado estudo cinético desta reação. Foi evidenciado um mecanismo autocatalítico cuja velocidade depende da formação de traços de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$ nos estágios iniciais da reação.

O mecanismo proposto é essencialmente consistente com aquele descrito no esquema I do capítulo I. Os traços de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$ necessários para início do processo podem advir da reação direta com oxigênio (equação 2, capítulo I) ou através de reação de desproporcionamento de $\text{Cu}(\text{II})$ em $\text{Cu}(\text{I})$ e $\text{Cu}(\text{III})$ (equação 3, capítulo I).

O efeito ativador de sulfito é explicado pela geração de radicais $\text{SO}_3^{\bullet-}$ e $\text{SO}_5^{\bullet-}$ (equações 5 e 6, capítulo I), além de agentes oxidantes, como peroxomonossulfato (equações 7 e 8, capítulo I), capazes de oxidar $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ (equações 7 a 11, capítulo I).

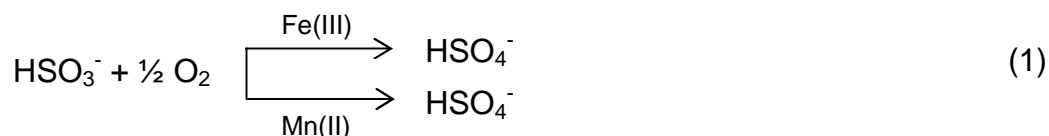
III.1.3. Efeito sinérgico na reação de autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição

Sinergismo ou efeito sinérgico refere-se à ação simultânea de dois efeitos distintos, atuando conjuntamente na criação de um efeito maior ou menor que a simples soma das ações individuais independentes.

Muitos autores têm reportado efeitos sinérgicos positivos ou negativos para a autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição em solução aquosa⁽⁶⁷⁾. O *sinergismo positivo* é definido como a aceleração na oxidação de óxidos de S(IV) catalisada por metais de transição, que resulta da ação de dois ou mais íons metálicos de transição cataliticamente ativos. A aceleração proporcionada pela adição de $\text{Cu}(\text{II})$ em relação à autoxidação de S(IV) catalisada por $\text{Fe}(\text{III})$ ⁽⁶⁸⁾ é um exemplo de sinergismo

positivo. Já por *sinergismo negativo* entende-se a diminuição da atividade catalítica do íon metálico de transição em decorrência da presença de outro íon metálico. Por exemplo, a oxidação de S(IV) catalisada por Fe(III) é inibida pela adição de sais de V(IV) ou Fe(II)^(69, 70).

O efeito sinérgico de dois íons metálicos de transição (Cu(II) e Fe(II)) durante a oxidação de óxidos de S(IV) foi primeiramente descrito por Titoff⁽⁷¹⁾. O sinergismo entre dois íons metálicos não pode ser descrito como a soma de duas reações individuais, conforme esquematizado abaixo para efeito sinérgico entre os íons Fe(III) e Mn(II):



e pode advir de dois efeitos: a) ação dos íons metálicos como catalisadores individuais, resultando em uma velocidade de reação que não corresponde à soma das velocidades individuais ou b) existência de ciclo redox, ocorrendo rápida re-oxidação de um dos íons metálicos.

III.1.4. Efeito sinérgico de Ni(II) na reação de autoxidação de Cu(II)/tetraglicina induzida por S(IV)

A influência de Ni(II) na reação de autoxidação de Cu^{II}G₄ induzida por S(IV) foi estudada com detalhes por Coichev e Alipázaga⁽⁶⁷⁾. Estes autores verificaram que a “aceleração da autoxidação de Cu^{II}G₄ induzida por S(IV)” é insignificante na presença de um segundo íon metálico, como Ni(II) ou Co(II). Na presença de pequenas

quantidades destes íons metálicos de transição, a aceleração da autooxidação de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV) é marcante.

A figura 1 mostra as mudanças de absorvância em 365 nm durante a autooxidação de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV) em meio de tampão borato (pH = 9,2). Na ausência de Ni(II), a reação é muito lenta e pouco efetiva. A introdução de Ni(II) em baixas concentrações afeta de maneira significativa a cinética de reação, ao acelerar a formação de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$ e diminuir o período de indução. A eficiência de reação também aumenta, ou seja, $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$ é formado em maior quantidade na presença de Ni(II).

A figura 1 demonstra, ainda, que o efeito sinérgico positivo depende da concentração de Ni(II). No entanto, mesmo concentrações bastante baixas de Ni(II), como $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, são suficientes para acelerar a reação consideravelmente.

Alipázaga⁽⁶⁷⁾ justificou que o efeito sinérgico positivo de Ni(II) é devido à oxidação mais rápida de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ pelo oxigênio (equação 2, capítulo I), originando o íon metálico no estado de oxidação 3+, o qual reage com sulfito para formar o radical $\text{SO}_3^{\bullet-}$ (equação 5, capítulo I). O início do ciclo de reações por $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$, resultante da oxidação direta de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ pelo oxigênio, é menos provável, uma vez que esta reação é muito lenta comparativamente à oxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ pelo oxigênio.

Através de um processo autocatalítico similar àquele descrito no item I.1.2., $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ (em grande excesso) será oxidado a $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$ (equações 7, 9, 10 e 11, capítulo I). $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ também pode ser oxidado a $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ por $\text{SO}_5^{\bullet-}$, SO_5^{2-} , HSO_5^- e $\text{SO}_4^{\bullet-}$ para participar do ciclo redox de maneira análoga às reações propostas para $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$.

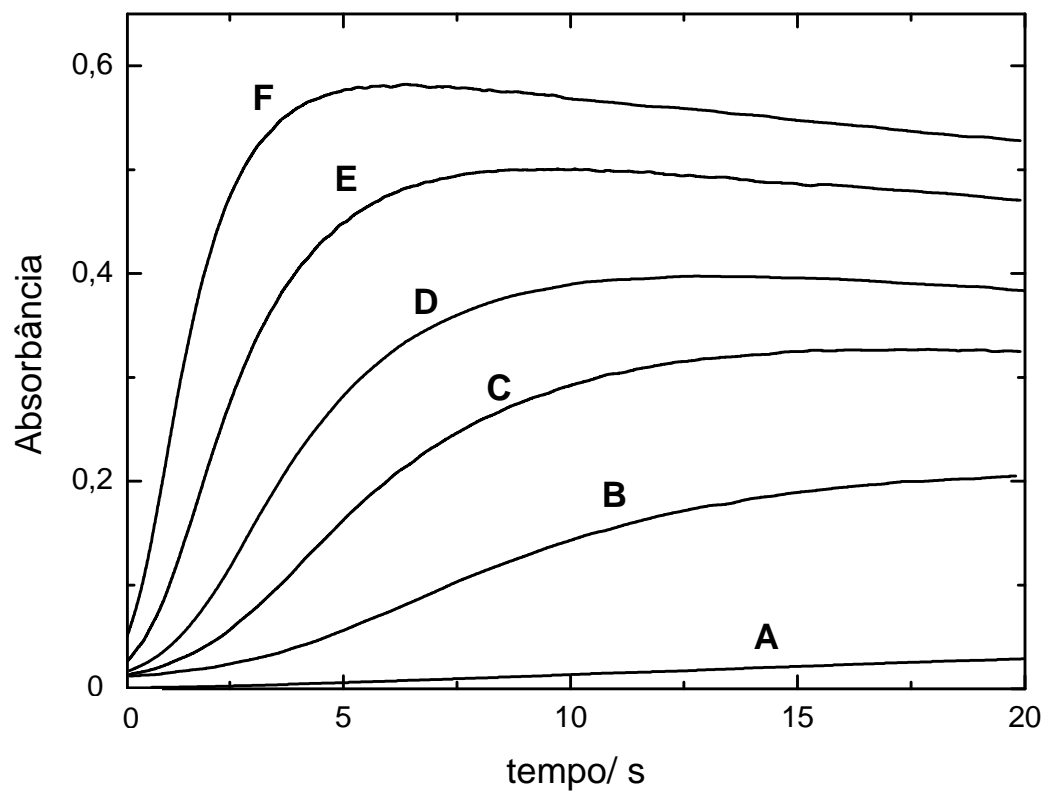


Figura 1 (extraída da referência 67): Mudanças de absorbância durante a autoxidação de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por $\text{S}(\text{IV})$ na presença de $\text{Ni}(\text{II})$. $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4] = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,0); $I = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{S}(\text{IV}) = 5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ni}(\text{II})]$: A = Zero, B = 1×10^{-6} , C = 3×10^{-6} , D = 6×10^{-6} , E = 1×10^{-5} e F = $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. T = $25,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar.

III.2. Parte Experimental

III.2.1 Sistema de injeção em fluxo

Um sistema de injeção em fluxo foi empregado no estudo da formação de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$ em função de $[\text{S(IV)}]$, conforme ilustrado na figura 2. Como o ligante tetraglicina apresenta o inconveniente de ser relativamente caro, foi empregado um sistema FIA em que o reagente (e não a amostra) é injetado no fluxo carregador de borato.

Neste sistema, soluções de tampão borato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$) e de S(IV) $(0,10-1,2) \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foram misturadas num sistema em fluxo ($0,4 \text{ mL min}^{-1}$) no qual $60 \mu\text{L}$ de solução de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ contendo traços de Ni(II) (*solução A, figura 2*) foram posteriormente introduzidos por uma válvula de injeção manual. Para tal, um tubo de 200 cm de comprimento foi acoplado ao sistema como reator.

Utilizou-se uma bomba peristáltica Minipuls 3 Gilson para conduzir os reagentes através de tubos de polietileno (diâmetro interno $0,8 \text{ mm}$) até uma cubeta de quartzo própria para sistemas em fluxo (caminho óptico 1 cm e volume $100 \mu\text{L}$). A absorbância a 365 nm , devida ao complexo de $\text{Cu(III)/tetraglicina}$, foi continuamente monitorada em função do tempo com um espectrofotômetro Micronal B342II acoplado a um registrador OmniScribe D5000 Recorder.

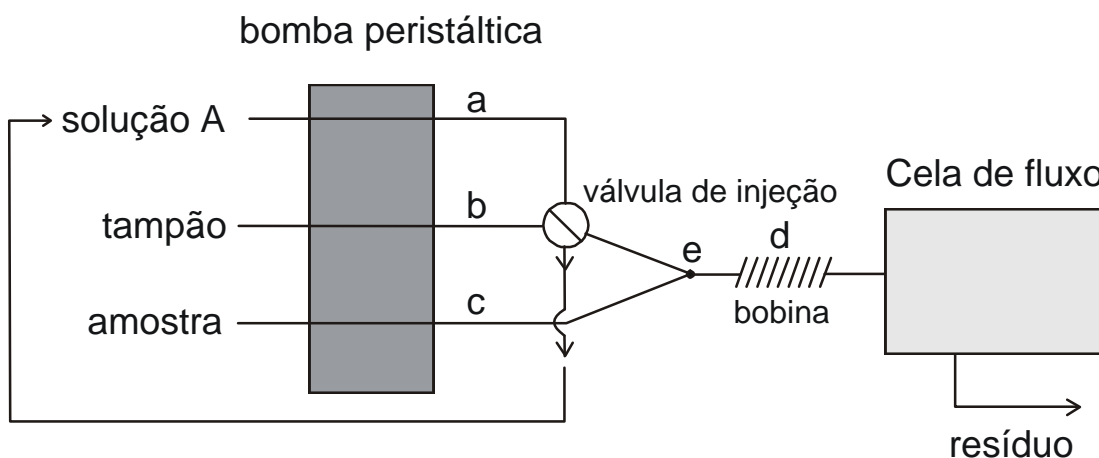


Figura 2: Sistema FIA usado para determinação espectrofotométrica de S(IV): a , b e c = tubos de polietileno ($a = b = 19,4$ cm; $c = 27,5$ cm), d = bobina para mistura (200 cm) e e = ponto de confluência. Tampão: borato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH= 9,2). Solução A: mistura contendo $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4] = 2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ni}(\text{II})] = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão borato $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2). Amostra: solução de sulfito $(1-12) \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$. Volume de injeção: $60 \mu\text{L}$. Vazão: $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, para todas as soluções.

III.2.2 Estudo da influência de algumas espécies na determinação de S(IV) pelo método de injeção em fluxo

Estes estudos foram conduzidos adicionando-se diferentes espécies à solução de sulfito $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a fim de se avaliar a variação do sinal analítico no sistema em fluxo. Verificou-se a influência das seguintes espécies:

- cátions metálicos de transição: Mn(II), Ni(II), Co(II), Fe(II), Fe(III), Ni(II) e Cu(II) em meio de tampão acetato/ácido acético (pH = 4,7)
- aminas TRIS, TEA e MEA; ânions PO_4^{3-} e CO_3^{2-} ; formaldeído.

III.3. Resultados e Discussão

Estudos iniciais, realizados a partir da mistura de soluções de sulfito com soluções de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ em tampão borato ($\text{pH} = 9,2$) na presença de traços de $\text{Ni}(\text{II})$, demonstraram que após 25 s do início da reação, a absorvância a 365 nm é linearmente dependente da concentração de $\text{S}(\text{IV})$. A figura 3 mostra as mudanças espectrais antes e depois da adição de sulfito a uma solução de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ em tampão borato ($\text{pH} = 9,2$) contendo traços de $\text{Ni}(\text{II})$. Observa-se que, na região de 365 nm, apenas o complexo de $\text{Cu}(\text{III})$ absorve (a contribuição do complexo de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ pode ser desprezada, considerando-se que o mesmo encontra-se em concentração muito baixa na solução e apresenta máxima absorção em 327 nm). A elevada absorvidade molar do complexo de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$ em 365 nm ($\epsilon = 7200 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$) e a dependência linear da absorvância com a concentração de sulfito caracterizam as potencialidades analíticas inerentes a este sistema químico.

Uma vez que o tempo decorrido para a formação de $\text{Cu}(\text{III})$ é relativamente curto (25 s), é possível o desenvolvimento de método de análise por injeção em fluxo (FIA). Os resultados obtidos empregando-se o sistema de injeção em fluxo descrito na figura 2 mostraram que a altura de pico (figura 4), referente a medidas de absorvância a 365 nm, é função da concentração de sulfito na amostra introduzida no sistema FIA.

A curva analítica obtida empregando-se o sistema em fluxo, com seis pontos, apresentou uma relação linear entre a máxima absorvância (altura de pico) e a concentração de $\text{S}(\text{IV})$ inicial, na faixa de $(0,1-1,2) \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A equação da reta obtida foi $\text{Absorvância} = 0,0253 + 0,0466 \times 10^5 \cdot [\text{S}(\text{IV})]$, com coeficiente de correlação igual a 0,998.

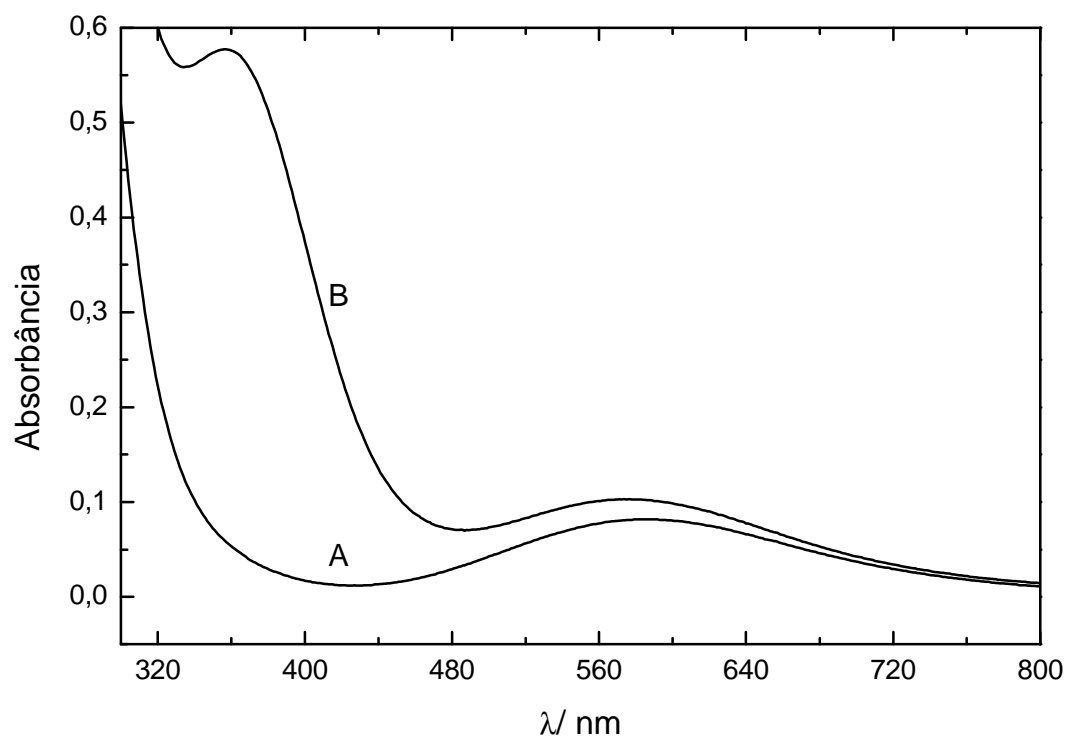


Figura 3: Espectro UV-Visível de (A) solução contendo $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4] = 2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ni}(\text{II})] = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão borato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$) na ausência de S(IV) e (B) solução resultante após adição de S(IV) $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ à solução A (25 segundos de reação) na proporção 1:1. $T = 25,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Soluções saturadas com ar.

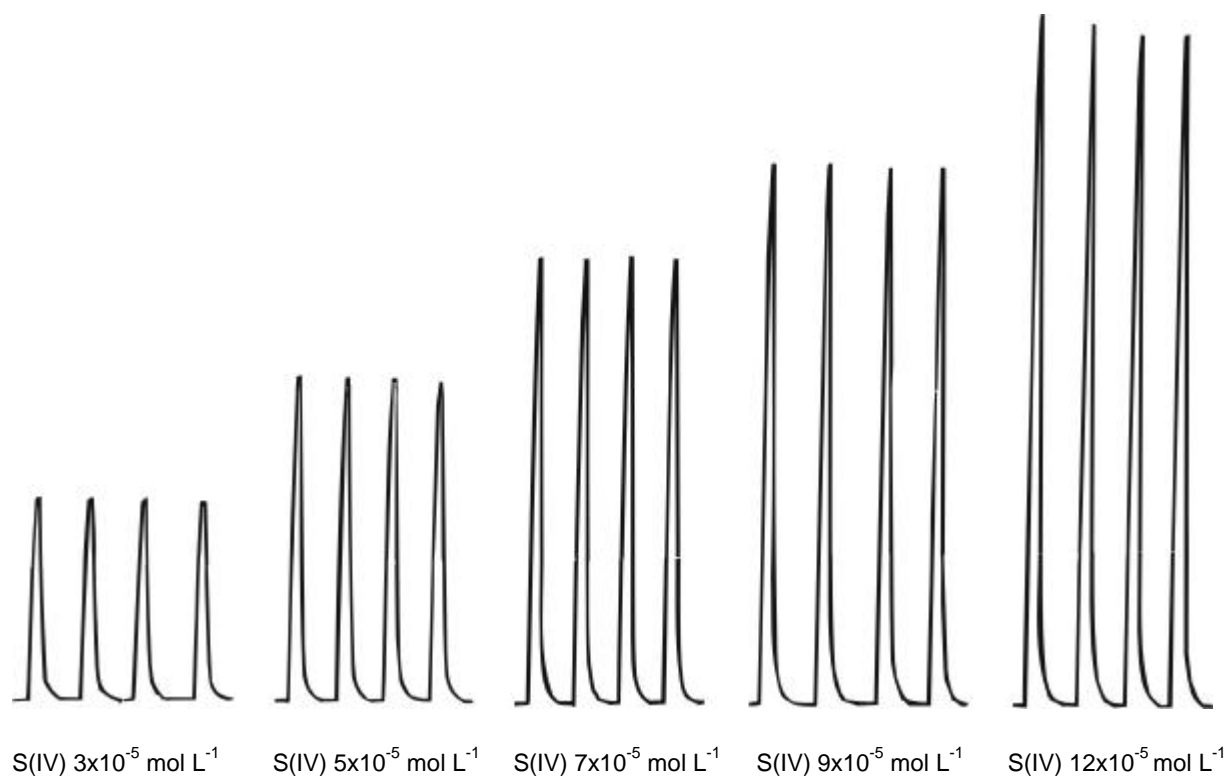


Figura 4: Sinais analíticos registrados a partir do sistema de injeção em fluxo, conforme condições descritas na figura 2, para soluções de S(IV) de diferentes concentrações.

O limite de detecção estimado foi de 7×10^{-6} mol L⁻¹ (3 vezes o desvio padrão do coeficiente linear dividido pelo coeficiente angular), com desvio padrão relativo de 0,02% para 5 determinações de $[S(IV)] = 7,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

A concentração máxima de $[S(IV)]$ detectável é limitada pela concentração de oxigênio no meio reacional ($2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹), devido à existência de um balanço crítico entre a concentração das duas espécies. O emprego de soluções de S(IV) de concentração superior a 2×10^{-4} mol L⁻¹ leva ao rápido esgotamento de oxigênio dissolvido. Resta excesso de S(IV), que reduz parte do $Cu^{III}G_4$ gerado. Deste modo, a relação de linearidade entre a absorbância a 365 nm e $[S(IV)]$ é comprometida.

III.3.1. Otimização do sistema em fluxo

Os parâmetros estudados para fins de otimização do sistema em fluxo proposto para determinação de sulfito são apresentados a seguir:

III.3.1.1. Concentração dos reagentes

Alipázaga⁽⁶⁷⁾ demonstrou que a concentração final de $Cu(III)$ formado na reação de autoxidação induzida por S(IV) aumenta gradativamente com a concentração de $Cu^{II}G_4$ na faixa de $(0,1-1) \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, atingindo um valor limite quando $[Cu^{II}G_4] = 1 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹. Deste modo, a concentração do complexo foi mantida em 2×10^{-3} mol L⁻¹, mesmo considerando-se que a concentração final no sistema em fluxo

será definida pelo volume de amostra introduzido através da alça de amostragem. A concentração de Ni^{2+} foi fixada em $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

A concentração de Ni(II) foi definida como a menor possível capaz de acelerar significativamente a reação através de efeito sinérgico (figura 1), sem induzir a erros no valor das medidas de absorvância a 365 nm devido a eventual formação complexo de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ ($\epsilon = 5420 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ a 327 nm).

III.3.1.2. Volume de injeção de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$

Verifica-se na figura 5a que o aumento do volume de injeção de solução de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ leva ao aumento do sinal analítico até um patamar praticamente constante na faixa de 60-80 μL . Adotou-se, deste modo, uma alça de amostragem com volume de injeção de 60 μL .

III.3.1.3. Vazão dos reagentes

A figura 5b mostra que o sinal analítico diminui com o aumento da vazão das soluções no sistema em fluxo. No entanto, este valor permanece aproximadamente constante para vazões entre 0,2 e 0,4 mL min^{-1} . A fim de assegurar uma condição de boa sensibilidade sem detrimento da frequência de amostragem, a vazão de 0,4 mL min^{-1} foi adotada para todos os reagentes.

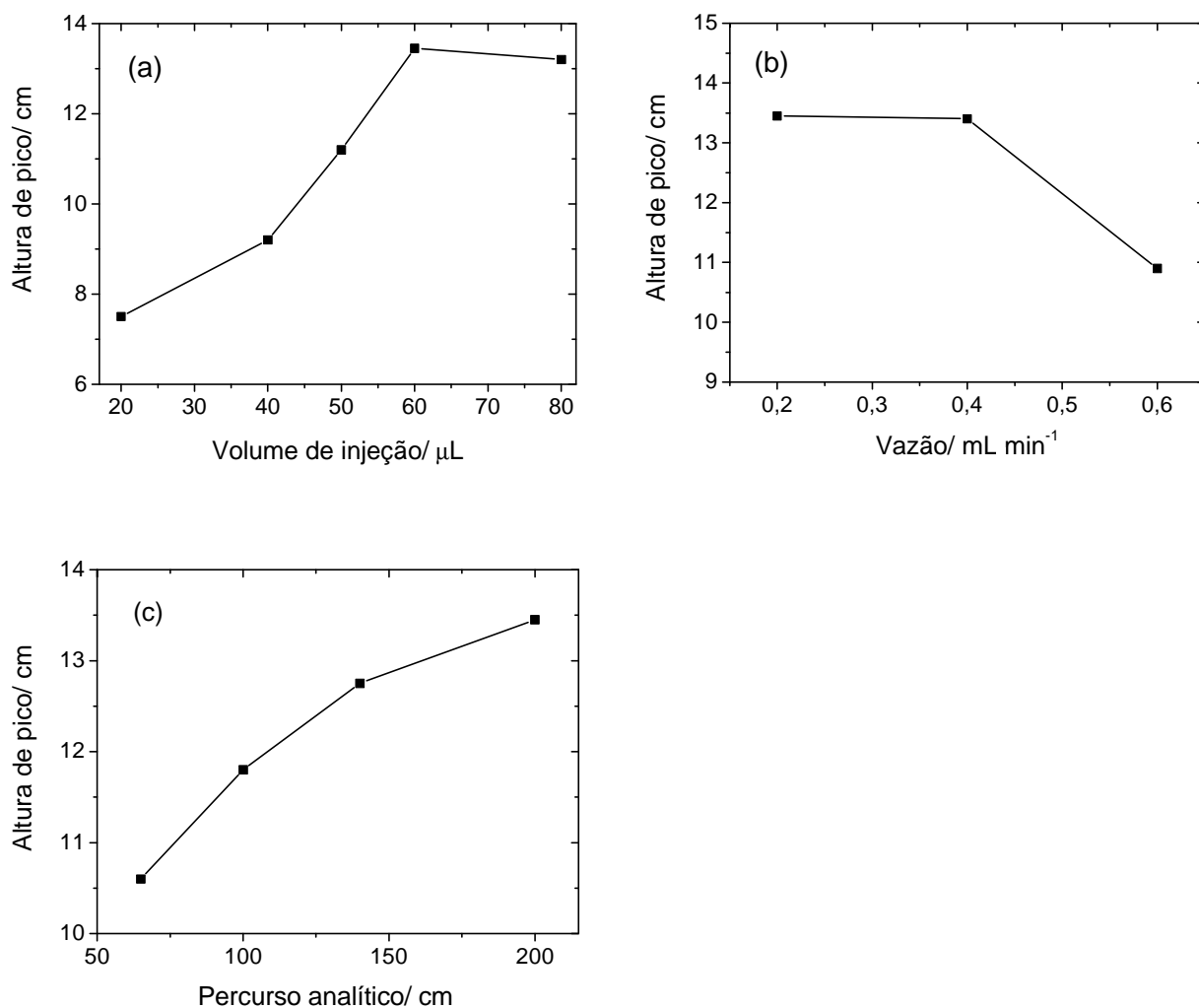


Figura 5: Otimização das condições experimentais no desenvolvimento do sistema em fluxo para determinação de sulfito, conforme apresentado na figura 2. *Solução A:* mistura contendo $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4] = 2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{Ni}(\text{II})] = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão borato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$). Amostra: solução de sulfito $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$.

a) efeito do volume de *solução A* injetada. Vazão: $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ (todas as soluções). Percurso analítico: 200 cm.

b) efeito da vazão dos reagentes (todas as soluções). Percurso analítico: 200 cm. Volume de injeção de *solução A*: $60 \mu\text{L}$.

c) efeito do percurso analítico. Volume de injeção de *solução A*: $60 \mu\text{L}$. Vazão: $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ (todas as soluções).

III.3.1.4. Percurso analítico

A influência do comprimento da bobina de reação, que define o percurso analítico do sistema em fluxo, encontra-se representado na figura 5c. Observa-se o aumento de sinal analítico com o aumento do comprimento da bobina de reação entre 60 – 200 cm.

Mantendo-se o comprimento da bobina em 200 cm e a vazão em $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, o tempo decorrido até que o máximo do pico seja atingido é de cerca de 90 segundos. Percursos analíticos maiores não foram testados, pois haveria um aumento excessivo do intervalo de tempo necessário para duas determinações consecutivas de S(IV). Nestas condições, o emprego do sistema FIA para acompanhamento da autoxidação de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição (descrito no item III.3.3) seria prejudicado, levando a um gráfico [S(IV)] *versus* tempo com poucos pontos. O percurso analítico foi, então, fixado em 200 cm para estudos posteriores.

A tabela 2 sintetiza as condições otimizadas para obtenção do melhor sinal analítico a partir do sistema em fluxo esquematizado na figura 2:

Tabela 2: Condições ótimas do sistema em fluxo para determinação de sulfito (figura 2).

| Parâmetro | Condição Ótima |
|--------------------|---|
| Solução A | $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4 \ 2 \times 10^{-3}$; $\text{Ni}(\text{II}) \ 2 \times 10^{-5}$; $\text{G}_4 \ 0,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão borato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2) |
| [tampão borato] | $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2) |
| Vazão | $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ |
| Volume de injeção | $60 \ \mu\text{L}$ |
| Percurso analítico | 200 cm |

III.3.2. Influência de algumas espécies na determinação de S(IV)

O efeito de várias espécies na determinação de S(IV) foi observada adicionando-se a espécie interferente a uma solução-padrão de sulfito $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, antes da introdução desta solução no sistema em fluxo.

No presente trabalho, TRIS, fosfato e TEA ($2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), MEA ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$) (MEA) e formaldeído ($9 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) suprimiram totalmente o pico. Carbonato e MEA ($2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) não afetaram o sinal.

Estes estudos são importantes uma vez que MEA, TEA e TRIS, em concentrações de $(0,05 - 0,2) \text{ mol L}^{-1}$, têm sido usadas como agentes estabilizantes de S(IV) em solução em pH acima de $10,5^{(72)}$. No presente trabalho, MEA poderia ser empregada em concentrações em torno de $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ sem interferência.

As constantes de velocidade das reações de $[\text{Cu}^{\text{III}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^-$ e $[\text{Ni}^{\text{III}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^-$ com TRIS, HCO_3^- e HPO_4^- estão reportadas na literatura⁽⁶³⁾. Essas espécies interagem com o íon Cu(II), deslocando o peptídeo a partir do estabelecimento de um equilíbrio competitivo. Entretanto, a interferência pode ser desprezada caso estas espécies estejam presentes em concentrações baixas (menores que $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), como no caso de amostras ambientais.

Os cátions Mn(II), Ni(II), Co(II), Cr(III) e Fe(II)/(III), quando no mesmo nível de concentração do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ ($10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), podem complexar com o peptídeo ou sofrer hidrólise em pH elevado, atuando assim como espécies interferentes.

III.3.3. Autoxidação de S(IV) catalisada por traços de íons metálicos de transição

Os estudos da influência de íons metálicos, tais como Mn(II), Ni(II), Co(II), Cr(III) e Fe(II)/(III), quando adicionados a uma solução de S(IV) $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ao nível de concentração de $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, mostraram que esses íons metálicos (com exceção de Ni(II)), catalisam a oxidação de S(IV) pelo oxigênio dissolvido. Depois de duas horas, todo o S(IV) foi oxidado. Os íons de Fe(II)/(III) interferem ao sofrer reação de hidrólise neste nível de concentração.

A autoxidação de sulfito catalisada por traços de íons metálicos se processa a uma velocidade muito mais lenta que as reações observadas com o complexo $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$. Dessa maneira, para acompanhamento da cinética de oxidação catalisada de S(IV), foi possível usar a formação de $\text{Cu}^{\text{III}}\text{G}_4$, no sistema em fluxo, como um indicador da concentração de S(IV) em meio de tampão acetato/ácido acético (pH= 4,7) contendo íons metálicos ($10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$).

Estes estudos foram realizados mantendo-se um fluxo constante de amostra contendo S(IV) $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e íon metálico $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão acetato/ácido acético, introduzindo-se no sistema FIA a cada 100 segundos uma nova alíquota de solução de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$. A variação de absorvância, considerando o gráfico de calibração construído no início de cada experimento com soluções-padrão de S(IV), permitiu o cálculo da concentração de S(IV) ao longo do tempo.

A figura 6 mostra o efeito catalítico de Mn(II), Fe(II) e Fe(III) na autoxidação de S(IV). Para uma mesma concentração, constata-se que Mn(II) é mais efetivo que Fe(III) e Fe(II). No caso da autoxidação de S(IV) catalisada por Fe(II), é clara a existência de período de indução quando a concentração do íon metálico foi mantida em 1×10^{-5}

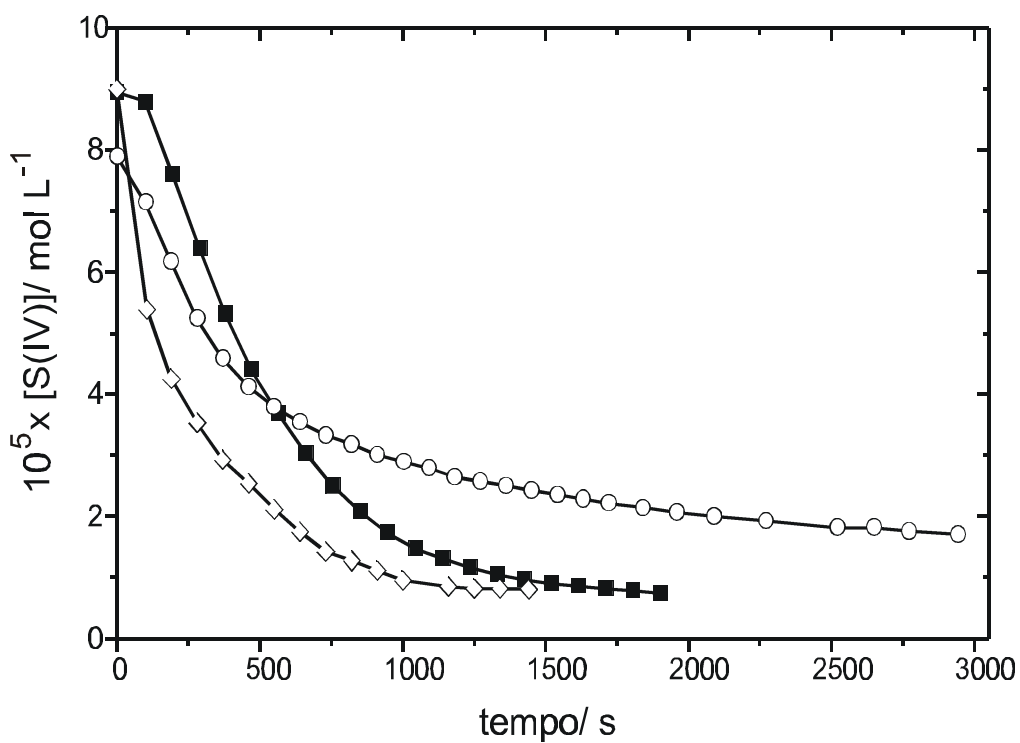


Figura 6: Efeito catalítico de alguns metais de transição ($1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) na autooxidação de S(IV). Solução da amostra contendo: $[S(IV)] = 9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; tampão acetato/ácido acético = $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,7) e íons metálicos: ■ = Fe(II); ○ = Fe(III) e ◇ = Mn(II). T = 25,0 °C. Soluções saturadas com ar.

mol L⁻¹. Em cerca de 20 minutos, praticamente todo o sulfito é oxidado. Este tempo é muito longo se comparado ao tempo necessário para injeção de solução do complexo de Cu^{II}G₄, de modo que o erro relativo das medidas é pequeno. Co(II), Ni(II), Cu(II) e Cr(III) 1x10⁻⁵ mol L⁻¹ não levaram a qualquer variação na concentração de S(IV) ao longo deste período.

A figura 7 mostra o efeito catalítico de Mn(II), em diferentes concentrações, e o efeito sinérgico positivo de Fe(III) na autooxidação de S(IV).

Conforme destacado no I.1.3, o íon metálico trivalente é o catalisador no processo de oxidação de sulfito, o qual pode reagir com SO₃²⁻ para iniciar a cadeia de reações descritas no esquema I (equações 2 – 29, capítulo I). Caso Fe(III) esteja presente, este reage com S(IV) (equação 5, capítulo I), formando rapidamente o radical peroxomonossulfato pela reação com o oxigênio (equação 6, capítulo I).

Assim, SO₅^{•-} pode oxidar Mn(II) a Mn(III). As reações subseqüentes envolvem a redução de Mn(III) por SO₃²⁻ (equações 7-11, capítulo I). Fe(III) encontra-se presente como impureza em muitos reagentes e até mesmo em água altamente purificada, na qual é possível a presença deste íon ao nível de concentração de 8x10⁻⁸ mol. L⁻¹(73).

O nível de concentração de S(IV) e de catalisador empregado no presente trabalho (10⁻⁵ mol. L⁻¹) é muito próximo daquele encontrado em condições ambientais. Outros métodos propostos para este estudo não foram suficientemente sensíveis para acompanhar a concentração de S(IV), havendo estudos reportados na literatura ao nível de concentração 10⁻⁴ a 10⁻³ mol L⁻¹ (73-75).

A ordem de atividade catalítica de diversos íons metálicos na autooxidação de S(IV) é, por sua vez, dependente das condições experimentais adotadas (acidez do

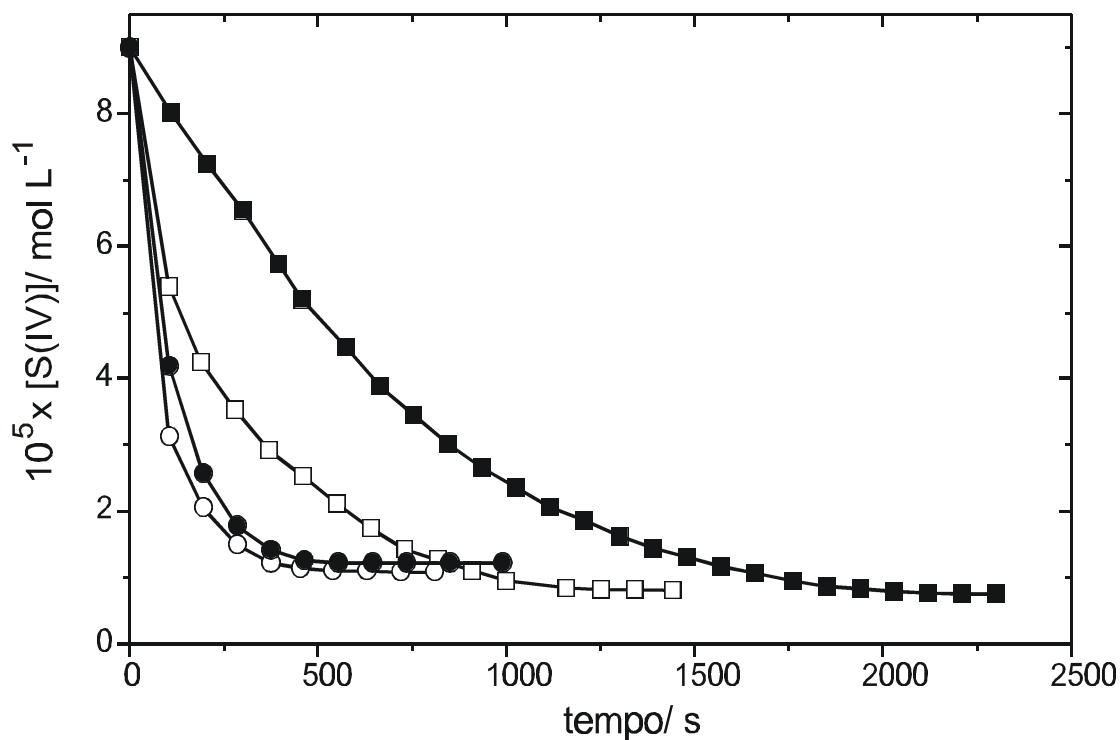


Figura 7: Efeito catalítico de Mn(II) e efeito sinérgico de Fe(III) na autoxidação de S(IV). Solução da amostra contendo: $[S(IV)] = 9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; tampão acetato/ácido acético = $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 4,7) e íons metálicos ■ = Mn(II) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; □ = Mn(II) $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; ○ = Mn(II) $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e ● = mistura de Mn(II) $1,5 \times 10^{-5}$ e Fe(III) $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. T = 25,0 °C. Soluções saturadas com ar.

meio, temperatura, força iônica, concentrações relativas dos reagentes). As condições selecionadas nos mais diversos estudos justificam a existência de dados discrepantes e, até mesmo contraditórios, na literatura.

III.4. Conclusões

A seguir são apresentadas as conclusões mais relevantes do trabalho apresentado ao longo deste capítulo:

- A reação de autooxidação do complexo de Cu(II)/tetraglicina em tampão borato (pH = 9,2), na presença de traços de Ni(II), é sensivelmente acelerada por S(IV). Verificou-se que a concentração do complexo Cu(III)/tetraglicina gerado, monitorado espectrofotometricamente a 365 nm, é função direta da concentração de S(IV) presente no meio nos níveis de $(0 - 12) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Esta reação foi aproveitada para desenvolvimento de um sistema FIA destinado à determinação de S(IV).
- o efeito de algumas espécies nesta determinação (aminas TRIS, TEA e MEA; ânions PO_4^{3-} e CO_3^{2-} e formaldeído) foi investigado. Verificou-se que MEA $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ não interfere na reação de detecção de S(IV) no sistema em fluxo. Deste modo, esta amina pode ser usada como agente estabilizante para determinação de S(IV) empregando-se o procedimento proposto.
- o sistema FIA desenvolvido foi empregado para avaliação da reação de autooxidação de S(IV) catalisada por traços de íons metálicos. Constatou-se a oxidação total de S(IV) $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em meio de tampão acetato/ácido acético (pH = 4,7), contendo Mn(II), Co(II), Cr(III) e Fe(II)/(III) $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Conclui-se, por conseguinte, que estas espécies catalisam a autooxidação de uma solução de S(IV) $9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ nas condições descritas.
- quando numa mesma concentração ($1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$), pode-se constatar que Mn(II) leva à autooxidação de S(IV) de maneira mais rápida que Fe(III) e Fe(II) em meio de

tampão acetato/ácido acético ($\text{pH} = 4,7$). No caso da autoxidação de S(IV) catalisada por Fe(II), por exemplo, é clara a existência de um período de indução. Deste modo, conclui-se que Mn(II) é mais efetivo que Fe(III) e Fe(II), pela ordem, na autoxidação de S(IV) sob as condições experimentais adotadas.

- o efeito sinérgico de Fe(III) em relação à catálise por Mn(II) na reação de autoxidação de S(IV) foi evidenciado. O resultado é consistente com a ação de um íon metálico de transição no estado de oxidação $3+$ nos estágios iniciais do processo autocatalítico, que aumenta a velocidade de autoxidação de S(IV) e diminui o período de indução da reação.

III.5. Bibliografia

56. Margeum, D.W., Chellapa, K.L., Bossu, F.P., Burce, G.L., Characterization of a Readily Accessible Copper(III)-Peptide Complex, **J. Amer. Chem. Soc.**, **97**, 6894-6896, 1975
57. Bossu, F.P., Paniago, E.B., Margeum, D.W., Kirksey Jr., S.T., Trivalent Nickel Catalysis of the Autoxidation of nickel(II) tetraglycine, **Inorg. Chem.**, **17**, 1034-1042, 1978
58. Burce, G.L., Paniago, E.B., Margerum, D.W., Photochemical inhibition of reactions of Copper(II) Peptide Complexes with Molecular-Oxygen, **J. Chem. Soc.**, **7**, 261-262, 1975
59. Kurtz, J.L., Burce, G.L., Margerum, D.W., Trivalent Copper Catalysis of the Autoxidation of Copper(II) Tetraglycine, **Inorg. Chem.**, **17**, 2454-2460, 1978
60. Kirksey Jr., S.T., Margeum D.W., Oxidative Decarboxilation of Glyoxylate Ion by a Deprotonated-Amine Copper(III)-Peptide Complex, **Inorg. Chem.**, **18**, 966-970, 1979
61. Kirksey, S.T., Neubecker, T.A., Margerum, D.W., Thermally Stable Copper(III)-Tripeptide and Nickel(III)-Tripeptide Complexes and their Photo-Chemical Decomposition in Acid Solution, **J. Am. Chem. Soc.**, **101**, 1631-1633, 1979
62. Bossu, F.P., Chellapa, K.L. e Margerum, D.W., Ligand Effects on the Thermodynamic Stabilization of Copper(III)-Peptide Complex, **J. Am. Chem. Soc.**, **99**, 2195-2203, 1977
63. Margerum, D.W., Duckes, G.R., Metal ions in Biological systems, vol. 1, Chapter 5, Helmut Siegel (Marcel Decker Inc.), New York, p. 157, 1974
64. Rybka, J.S., Kurtz, J.L., Neubecker, T.A., Margerum, D.W., Reactions of Copper(III) Tetraglycine, **Inorg. Chem.**, **19**, 2791-2796, 1980
65. Kirschbaum, L.J., Meyerstein, D., Oxidation, Reduction, and Copper-Carbon Bond Formation in the Reactions of Copper(II) Tetraglycine with Pulse Radiolitically Generated Free Radicals, **Inorg. Chem.**, **19**, 1373-1378, 1980
66. Anast, J.M., Margerum, D.W., Trivalent Copper Catalysis of the Autoxidation of Sulfite. Kinetics and the Mechanism of the Copper (III/II) Tetraglycine Reactions with Sulfite. **Inorg. Chem.**, **20**, 2319-2326, 1981
67. Alipázaga, M.V. "Estudo da autooxidação dos complexos de Cu(II), Ni(II) e Co(II)/tetraglicina induzida por S(IV)", 2003 [Tese de Doutorado, Instituto de Química, USP]
68. Brandt, C., van Eldik, R., Catalysed Oxidation of Sulfur (IV) Oxides. Atmospheric – Relevant Processes and Mechanisms, **Chem. Rev.**, **95**, 119-190, 1995
69. Higginson, W.C.E., Marshall, J.W., Equivalence Changes in Oxidation-Reduction Reactions in Solution: Some Aspects of the Oxidation of Sulphurous Acid, **J. Chem. Soc.**, 447-458, 1957
70. Bronikowski, T., Sulfur-dioxide Oxidation in Aqueous-solutions Containing Metal-cations, **React. Kinet. Catal. Letters**, **10**, 139-142, 1979

71. Titoff, A., Beitrage zur Kenntnis der Negativen Kalalyse imm Homogenem System, **Z. Phys. Chem.**, **45**, 641-683, 1903
72. Guekezian, M., Coichev, N., Suarez-Iha, M.E.V., Neves, E.F.A., Stability of sulfur(IV) solutions in the presence of amines and the tendency of sulfite ions to disproportionate in stock solutions, **Analytical Letters**, **30**, 1423 -1436, 1997
73. Fronaeus, S., Berglund, J., Elding, L.,I. Kinetics and Mechanism for Manganese Catalyzed Oxidation of Sulfur (IV) by Oxygen in Aqueous Solution, **Inorg. Chem.**, **32**, 4257-4538, 1993
74. Coichev, N., Reddy, K.B., van Eldik, R., The Synergistic Effect of Manganese(II) in the Sulfite-induced Autoxidation of Metal Ions and Complexes in Aqueous Solution. **Atmos. Environ.**, **26A**, 2295-2300, 1992.
75. Brandt, C., Fábíán, I., van Eldik, R., Kinetics and Mechanism of the Iron(III)–Catalyzed Autoxidation of Sulfur(IV) Oxides in Aqueous Solution. Evidence for the Redox Cycling of Iron in the Presence of Oxygen and Modeling of the Overall Reaction Mechanism. **Inorg. Chem.**, **33**, 687-701, 1994.

Capítulo IV: Autoxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV) na presença de Ru(III/II)/bipy. Estudos por quimiluminescência.

IV.1. Introdução

Os estudos descritos neste capítulo têm como objetivo avaliar a interação dos radicais gerados da autooxidação de S(IV) por oxigênio catalisada pelo complexo de Ni(II)/tetraglicina com o íon $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ (tris-bipiridil-2,2'-rutênio (II)). A adição de Ni(II)/tetraglicina (em meio tampão borato pH = 9,2) a uma solução contendo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, seguido da adição de sulfito, resulta em emissão de radiação. A intensidade desta emissão pode ser relacionada com a concentração inicial de sulfito, viabilizando perspectivas analíticas ao desenvolvimento do trabalho. No entanto, há também possibilidade de propor modelos que permitam a melhor compreensão do complexo mecanismo da reação.

Alguns tensoativos têm efeito marcante na intensidade de radiação emitida. Deste modo, alguns estudos foram realizados na presença destas espécies.

Para o melhor conhecimento do mecanismo da reação também foram realizados estudos empregando-se a técnica de fluorimetria e o íon tris-bipiridil-2,2'-rutênio(II) que, adicionado ao meio reacional, atua como indicador do consumo de oxigênio.

IV.1.1. Estudos fluorimétricos empregando-se o íon $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ como indicador da concentração de oxigênio

Estudos foram realizados empregando-se o íon tris-bipiridil-2,2'-rutênio(II) que, adicionado ao meio reacional, atua como indicador do consumo de oxigênio⁽⁷⁶⁾. Esse método é baseado no efeito supressor do oxigênio na emissão do íon $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ fotoexcitado. O processo de supressão da intensidade de emissão de radiação por fluorescência de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, pelo oxigênio molecular, obedece à equação de Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + k_q \tau^0 [\text{O}_2] \quad (1)$$

onde I_0 e I são as intensidades do íon excitado na presença e na ausência de oxigênio, k_q ($3,3 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) é a constante de velocidade do processo de supressão em água e τ^0 é o tempo de vida do estado excitado de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ na ausência de oxigênio (620 ns em água à temperatura ambiente). O melhor comprimento de onda para excitação do íon complexo é 450 nm, sendo a emissão registrada em 605 nm.

A quantificação do oxigênio dissolvido requer a determinação das intensidades de emissão de radiação nas condições experimentais de interesse. Estas compreendem: (i) a intensidade de emissão inicial, I_i ; (ii) a intensidade de emissão na ausência de oxigênio, I_0 e (iii) a intensidade de emissão a um certo tempo t , I_t . Nestas condições, a concentração de oxigênio dissolvido a um tempo intermediário t é dada pela equação 2:

$$\frac{[O_2]_t}{[O_2]_i} = \frac{I_o - I_t}{I_t \left(\frac{I_o}{I_i - 1} \right)} \quad (2)$$

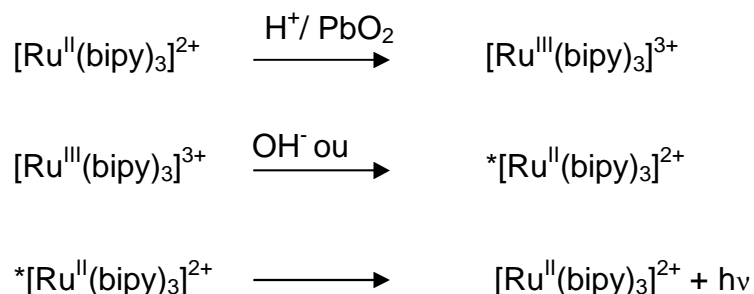
Deste modo, o efeito do oxigênio dissolvido na supressão da fluorescência do complexo de $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$ foi empregado como um processo indicador de $[O_2]$ em alguns experimentos.

IV.1.2. Métodos analíticos baseados nas propriedades quimiluminescentes dos complexos de Ru(II)/(III)/bipy

O primeiro registro da luminescência quimicamente induzida de $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$ data de 1966⁽⁷⁷⁾. Num experimento pioneiro, Hercules e Lytle^(78,79) empregaram uma solução ácida ($H^+ = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$) de $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$, em nível milimolar, que foi oxidado com PbO_2 . Quando à solução de $[Ru^{III}(bipy)_3]^{3+}$ resultante foi adicionado NaOH 9 mol L^{-1} ou hidrazina $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, uma intensa emissão de radiação alaranjada foi observada. Sendo o espectro da radiação emitida idêntico ao espectro de emissão de $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$ fotoexcitado⁽⁷⁹⁾, os autores concluíram que a espécie quimiluminescente seria um estado excitado de $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$, de acordo com o esquema I:

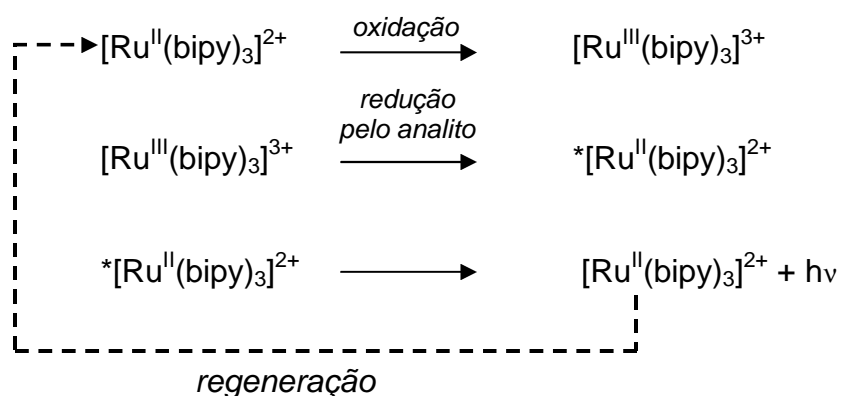
Esquema I - Primeiro registro da luminescência quimicamente induzida de

$[Ru(bipy)_3]^{2+}$ ^(77, 79)



Estudos posteriores mostraram que a intensidade e duração da quimiluminescência era função da proporção $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{hidrazina}^{(79)}$. Estava definida a base para utilização analítica deste sistema que, via de regra, é concordante com a seqüência fundamental mostrada no esquema II:

Esquema II - Utilização das propriedades quimiluminescentes de $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{3+/2+}$ com finalidades analíticas⁽⁸⁰⁾



A partir do esquema II, observa-se a geração do reativo oxidante $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ ($E^{\circ}_{\text{red}} = +1,26 \text{ V}$)⁽⁸¹⁾, seguida por uma reação de redução pelo analito com emissão de luz. Independente do método de oxidação, a intensidade de radiação emitida é função da eficiência e do mecanismo de redução de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ a $*[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$. A aplicação analítica é dependente da emissão de luz, cuja intensidade é indicativa da concentração do analito⁽⁸⁰⁾. É essencial destacar, ainda, que $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ pode ser continuamente regenerado a partir de sua forma oxidada ($[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$), propriedade bastante interessante do ponto de vista analítico para a construção de sensores miniaturizados⁽⁸²⁾ ou eletrodos modificados com $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ imobilizado⁽⁸³⁾.

De modo geral, os métodos analíticos baseados nas propriedades quimiluminescentes de $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{3+/2+}$ podem ser classificados de acordo com o modo de geração do reativo íon $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ (80), a saber:

- **geração química:** oxidantes como ácido nítrico, dióxido de chumbo, cério(IV) e cloro são usados para oxidar $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$. Embora os métodos químicos sejam rápidos e fáceis, apenas 10% dos trabalhos publicados na literatura empregam espécies oxidantes para a geração de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$. Algumas razões que podem explicar a impopularidade desta abordagem concentram-se no consumo excessivo de reagentes e na dificuldade para obtenção de suprimento constante do reagente $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$, principalmente para o desenvolvimento de metodologias de análise por injeção em fluxo.
- **geração eletroquímica:** nesta modalidade, o reagente é gerado numa cela fisicamente distante do sítio de interação com o analito. Trata-se de um “método limpo” para obtenção de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$, uma vez que não há a adição de reagentes oxidantes que possam vir a diminuir o rendimento da subsequente etapa de redução do complexo. Pode haver redução do $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ antes que este seja introduzido na célula de detecção.
- **eletroquimiluminescência “in situ”:** este procedimento experimental caracteriza-se por reunir as etapas de geração, reação e detecção numa mesma cela eletroquímica. Apresenta como vantagens a potencialidade de miniaturização e processos de eletrodo que, além de oxidar $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, podem oxidar também determinados analitos que em sua forma reduzida não levariam a reações com produção de luz. A complexidade associada à construção de celas nas quais etapas de geração, reação e detecção

sejam efetuadas com eficiência é a principal desvantagem inerente aos métodos de eletroquimiluminescência “in situ”.

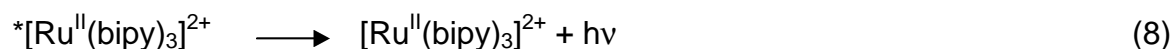
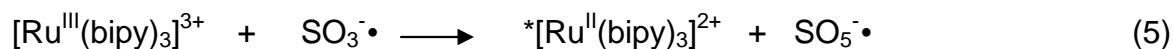
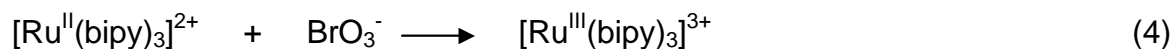
O conhecimento prévio dos processos de supressão e desativação não-radiativa é de cunho fundamental para a compreensão dos fenômenos que regem a quimiluminescência de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, uma vez que todos os efeitos que limitam os rendimentos quânticos de fluorescência ou fosforescência também se manifestam em quimiluminescência. Restrições químicas associadas ao baixo rendimento da produção de espécies excitadas em relação a reações secundárias, que não levam à produção de luz, devem ser consideradas⁽⁸⁴⁾.

Enquanto diversos oxidantes (com a exceção de peróxido de hidrogênio) podem ser empregados para oxidar $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, a literatura descreve que redutores como Ti(III), tiosulfato e cloreto de estanho(II) não geram quimiluminescência a partir da reação com $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ ⁽⁷⁹⁾. Dentre alguns analitos passíveis de reduzir $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ com geração da espécie bivalente excitada e subsequente produção de luz, destacam-se o ânion oxalato⁽⁸⁵⁾, compostos que apresentam grupamentos amina em sua estrutura⁽⁸⁶⁾ (como aminas alifáticas, aminoácidos, alcalóides e outros fármacos) e hidrazina. Abordagens inovadoras e criativas vêm sendo elaboradas para determinação destes compostos, como a imobilização de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ em eletrodo recoberto com Nafion⁽⁸³⁾ para detecção de oxalato, a construção de celas de fluxo para determinação de aminoácidos⁽⁸⁷⁾ ou a elaboração de sensores quimiluminescentes para quantificação de hidrazina⁽⁸²⁾.

Sem a apresentação de maiores detalhes experimentais, Hercules e Lytle⁽⁷⁹⁾ relataram que S(IV) não reduz $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ com emissão de luz. Esta possibilidade foi reavaliada apenas recentemente⁽⁸⁸⁻¹⁶⁾, com o desenvolvimento de alguns métodos

analíticos quimiluminescentes baseados na reação de redução de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ por S(IV). $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ foi imobilizado em resina de troca iônica e gerado por oxidação química a partir de reação com solução ácida de Ce(IV) ou KMnO_4 ⁽⁸⁸⁾. O método proposto foi utilizado com sucesso para determinar S(IV) em amostras de açúcar refinado.

Wu e colaboradores⁽⁸⁹⁾ utilizaram as propriedades quimiluminescentes de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ para desenvolvimento de método estático para determinação de S(IV), na presença de KBrO_3 em meio de H_2SO_4 e tensoativo dodecilbenzenossulfonato de sódio (SDBS), em amostras de açúcar e de ar atmosférico (utilizando trietanolamina como material absorvente). A concentração de S(IV) é diretamente proporcional à intensidade de radiação emitida na faixa de $2,5 \times 10^{-8}$ a $9,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limite de detecção de $3,8 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹. O mecanismo proposto (equações 3-8) é consistente com a ordem de adição dos reagentes ($[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, SDBS, S(IV) e KBrO_3), cuja alteração diminui drasticamente a intensidade do sinal quimiluminescente⁽⁸⁹⁾:



A ação de diferentes tensoativos em relação à intensidade de emissão de radiação foi avaliada, dos quais SDBS mostrou-se o mais efetivo⁽⁸⁹⁾.

$K_2S_2O_8$ ou KIO_4 também podem ser usados para oxidar $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$ em substituição a $KBrO_3$ com resultados similares^(90, 91).

IV.1.3. Uso de tensoativos em reações quimiluminescentes

Num aspecto mais amplo, a utilização de **sistemas organizados** surge como uma promissora ferramenta capaz de superar algumas das limitações ao uso da quimiluminescência enquanto técnica analítica, tais como: baixa solubilidade de alguns substratos e intermediários de reação em água, restrições de pH, falta de especificidade, existência de poucos procedimentos para análise de espécies orgânicas e baixo rendimento quântico global para a maioria dos sistemas analíticos e não-biológicos^(92, 93). Os sistemas organizados podem ser convenientemente divididos em sistemas envolvendo: tensoativos, espécies que atuam como hospedeiros (éteres-coroa e ciclodextrinas) e macromoléculas (poli-íons, polímeros e lípideos).

O termo “micela normal” ou “aquosa” é tipicamente empregado para sistemas organizados formados em água pela agregação de moléculas anfifílicas, ou seja, tensoativos. Dependendo da natureza da cabeça hidrofílica ligada ao esqueleto hidrofóbico, os tensoativos podem ser classificados como catiônicos (exemplo: sais quaternários de amônio), aniônicos (exemplo: alquilssulfonatos de sódio), não-iônicos (exemplo: polioxietilenos) ou zwitteriônicos (exemplo: alquilssulfo-betaínas). Quando presentes em baixa concentração no meio aquoso, os tensoativos existem como monômeros solvatados, que se agregam para formar micelas com o aumento da

concentração. A concentração mínima para a formação destes agregados micelares é definida como concentração micelar crítica (CMC).

Quando a concentração formal de tensoativo encontra-se ligeiramente acima da CMC, as micelas assumem estruturas esféricas de diâmetro que variam entre 1 e 3 nm, contendo cerca de 20 a 160 unidades (conhecido como número de agregação, N). Uma micela não é uma entidade permanente, mas sim uma estrutura dinâmica que existe em equilíbrio com seus monômeros, cujas unidades encontram-se simultaneamente “entrando e deixando” a micela.

Comparativamente ao meio solvente, soluções de sistemas organizados apresentam propriedades bastante singulares que podem ser exploradas em espectroscopia de quimiluminescência⁽⁸⁴⁾. Algumas dessas propriedades são:

1) Solubilização: refere-se à propriedade de micelas em solubilizar e ligar-se a moléculas de soluto pouco solúveis em água. Nestas condições, a solubilização encontra-se intimamente relacionada a processos de formação de micelas, desde que não se observe aumento na solubilidade de um dado soluto até que a CMC do tensoativo seja atingida⁽⁹⁴⁾. Por exemplo, os fluoróforos antraceno e pireno, compostos de baixa solubilidade em água (10^{-7} mol L⁻¹), têm sua solubilidade aumentada em cerca de 100000 vezes em meio micelar⁽⁸⁴⁾.

2) Velocidade de reação e efeitos que interferem no mecanismo da reação: dependendo do tipo de reação e da natureza do sistema organizado, a velocidade de uma reação química e a consequente distribuição dos produtos podem ser alteradas significativamente em função dos diferentes micro-ambientes experimentados pelos reagentes e intermediários^(95,96). Inúmeros exemplos da aplicação de sistemas organizados com esta finalidade encontram-se disponíveis na literatura⁽⁹⁴⁻⁹⁶⁾.

3) Alteração da posição de equilíbrio: sistemas organizados podem perturbar substancialmente a posição de processos de equilíbrio. Este efeito é discutido em termos de um fator intrínseco (efeito de micropolaridade) e de potencial elétrico⁽⁹⁴⁻⁹⁷⁾. No entanto, os resultados podem ser racionalizados através de considerações da alteração da distribuição relativa de produtos e reagentes que encontram-se em situação de equilíbrio em meio solvente e micelar. Um exemplo clássico é a modificação dos valores de pKa para a ionização de algumas espécies orgânicas, por exemplo: o p-nitrofenol (pka em solução aquosa = 7,15; pka em meio micelar = 6,35)⁽⁹⁷⁾ ou o ácido cinâmico (pka em solução aquosa = 4,43; pka em meio de α -ciclodextrinas 0,02 mol L⁻¹ = 5,80)⁽⁹⁸⁾.

4) Propriedades micro-ambientais: um micro-ambiente diferenciado daquele normalmente encontrado em meio solvente (polaridade, viscosidade, constante dielétrica, dentre outras propriedades físico-químicas) é experimentado pelo soluto em meio de sistemas organizados⁽⁹⁴⁻⁹⁶⁾. Em geral, o soluto encontra um ambiente menos polar e mais organizado em meio de sistemas organizados aquosos. Assim sendo, os sistemas organizados podem ser utilizados para manipular efetivamente o micro-ambiente e favorecer propriedades espectrais, de modo a aumentar os rendimentos quânticos de luminescência e levar a uma maior sensibilidade em alguns procedimentos de análise⁽⁸⁴⁾.

IV.2. Parte Experimental

IV.2.1. Ensaios de quimiluminescência

Os ensaios de quimiluminescência foram efetuados utilizando-se um luminômetro Bertold Lumat LB 3507. Neste equipamento, uma cubeta cilíndrica de polipropileno de 1,5 mL, contendo a amostra ou quaisquer outros reagentes, é posicionada num compartimento interno ao abrigo do luz ambiente, em cuja base encontra-se uma fotomultiplicadora que capta a radiação gerada na reação quimiluminescente sem discriminação de comprimento de onda na faixa de 330 a 650 nm. As paredes internas deste compartimento são espelhadas internamente de modo a refletir a luz gerada em direção à fotomultiplicadora, maximizando assim a sensibilidade dos procedimentos de análise.

A mistura seqüencial dos reagentes é obtida a partir da injeção de 10 a 300 μL de um ou dois reagentes dentro de um intervalo mínimo de 0,7 s. Os reagentes são injetados a alta pressão, sendo introduzidos na cubeta de polipropileno a uma velocidade suficiente para promover uma mistura eficiente e instantânea das soluções. Deste modo, são obtidos resultados com ótima reprodutibilidade.

De maneira geral, os estudos foram conduzidos adicionando-se à cubeta 300 μL de solução de complexo de Ni(II)/tetraglicina e 50 μL de tensoativo através de micropipeta. A seguir, esta cubeta foi introduzida no equipamento, seguindo-se a injeção de 50 μL de solução de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ e, após 1 s, a injeção de 300 μL de S(IV) com início imediato da aquisição dos valores de luminescência por um tempo pré-

determinado. Em alguns experimentos, esta ordem de adição foi alterada. As condições otimizadas estão apresentadas no item IV.3.11. A concentração resultante de cada uma das espécies após a mistura é apresentada na legenda das figuras e tabelas.

IV.2.2. Monitoramento do consumo de oxigênio por fluorescência

As medições foram efetuadas com espectrofluorímetro Hitachi 4500, $\lambda_{exc} = 450$ nm, $\lambda_{em} = 605$ nm, tamanho da fenda excitação = 5,0 nm e emissão = 10,0 nm, tensão da fotomultiplicadora = 700 V, em cubeta espectrofluorimétrica de quartzo, caminho óptico 1,0 cm, ($T = 25,0 \pm 0,1$) °C. A cubeta foi fechada com tampa de borracha contendo dois orifícios capilares, para entrada e saída de gás (N_2 ou O_2), e um terceiro orifício para a introdução de pequenos volumes de solução de S(IV) ou dos complexos de Ni(II)/tetraglicina. A mistura dos reagentes foi feita sob agitação magnética na própria cubeta.

A ordem de adição dos reagentes à cubeta foi sempre a seguinte:

- 860 μ L de S(IV) ou água
- 140 μ L de triton X-100 ou água
- 140 μ L de $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$
- 760 μ L de solução tampão
- 100 μ L de $Ni^{II}G_4$

A concentração resultante de cada uma das espécies após a mistura é apresentada na legenda das figuras e tabelas.

A adição dos quatro primeiros componentes foi feita com micro-pipeta, tampando-se a cubeta e colocando-a no compartimento termostaticado de medição. A adição da solução de complexo foi feita com uma seringa Hamilton de 100 μL . Esta seringa foi adaptada a um tubo de 0,5 mm que, por sua vez, foi acoplado à tampa da cubeta. Deste modo, o compartimento da cubeta pôde ser fechado, e a adição de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ foi feita após 10 s após iniciada a medida da radiação emitida por fluorescência. A solução contida na cubeta permaneceu sob agitação magnética durante toda a medição. Este procedimento permitiu o monitoramento do início da reação, mesmo para processos bastante rápidos.

IV.3. Resultados e Discussão

IV.3.1. Estudos de emissão de radiação por quimiluminescência

A seguir serão descritos estudos referentes à emissão de radiação quando a uma solução contendo Ni(II)/tetraglicina e Ru(II)/bipy é adicionada solução de sulfito. A intensidade de radiação emitida foi registrada em função do tempo e as concentrações dos reagentes encontram-se descritas nas legendas das tabelas e figuras. De maneira geral, a ordem de adição dos reagentes adotada foi a seguinte:

- 1) 300 μL de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em meio de tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$);
- 2) adição de 50 μL de tensoativo;
- 3) adição de 50 μL de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$;
- 4) adição de 300 μL de S(IV) $(0-1) \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com início imediato de aquisição de dados.

Os resultados apresentados nas tabelas e figuras referem-se à intensidade máxima de radiação emitida (I_{max}) e o tempo de reação. A reação que ocorre é rápida e geralmente o tempo total de reação foi de 2 a 5 segundos. Os parâmetros experimentais estudados são descritos a seguir.

IV.3.2. Efeito da ordem de mistura dos reagentes

A ordem de mistura das soluções de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de ligante em excesso), S(IV) $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi avaliada em função da intensidade máxima da radiação emitida (I_{max}) (tabela 1).

Tabela 1: I_{max} em função da ordem de adição dos reagentes. Concentrações finais após a mistura: $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} = 7,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S(IV)}] = 1,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2). Soluções saturadas com ar.

| Ordem de adição | | | $10^{-5} \times I_{\text{max}}$ |
|--|---|---|---------------------------------|
| 300 μL $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ | 300 μL S(IV) $4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ | 50 μL $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ | |
| 3 | 2 | 1 | 1,23 |
| 2 | 3 | 1 | 1,19 |
| 3 | 1 | 2 | 1,20 |
| 1 | 3 | 2 | 1,22 |
| 1 | 2 | 3 | 0,05 |
| 2 | 1 | 3 | 0,04 |

Observa-se que não há alteração significativa de I_{max} em função da ordem de adição dos reagentes, exceto quando a solução de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ é a última a ser adicionada. Nesta condição, a emissão de radiação apresenta baixa intensidade e não evidencia um pico claramente definido.

Esta observação demonstra o papel fundamental das espécies intermediárias geradas a partir da reação de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ no mecanismo da reação quimiluminescente. Quando a solução de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ é a última a ser adicionada

(1 segundo após a adição da solução anterior), a interação desta espécie com os intermediários de reação de autoxidação de Ni(II)/tetraglicina é pouco efetiva, em virtude da elevada velocidade da reação de autoxidação (menos de 1 segundo). Em consequência, a intensidade de radiação emitida é baixa.

IV.3.3. Efeito da adição de tensoativos

A adição de alguns tensoativos, sempre mantidos em concentração acima da respectiva CMC, resultou em aumento da intensidade de radiação emitida pelo sistema químico $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4/\text{S}(\text{IV})$. Deste modo, os tensoativos dodecilssulfato de sódio (aniônico), Tween 20, Tween 80, BRIJ 35, BRIJ 76 e Triton X-100 (não-iônicos) (tabela 2) foram adicionados ao meio reacional visando-se constatar sua influência no valor de I_{max} (figura 1).

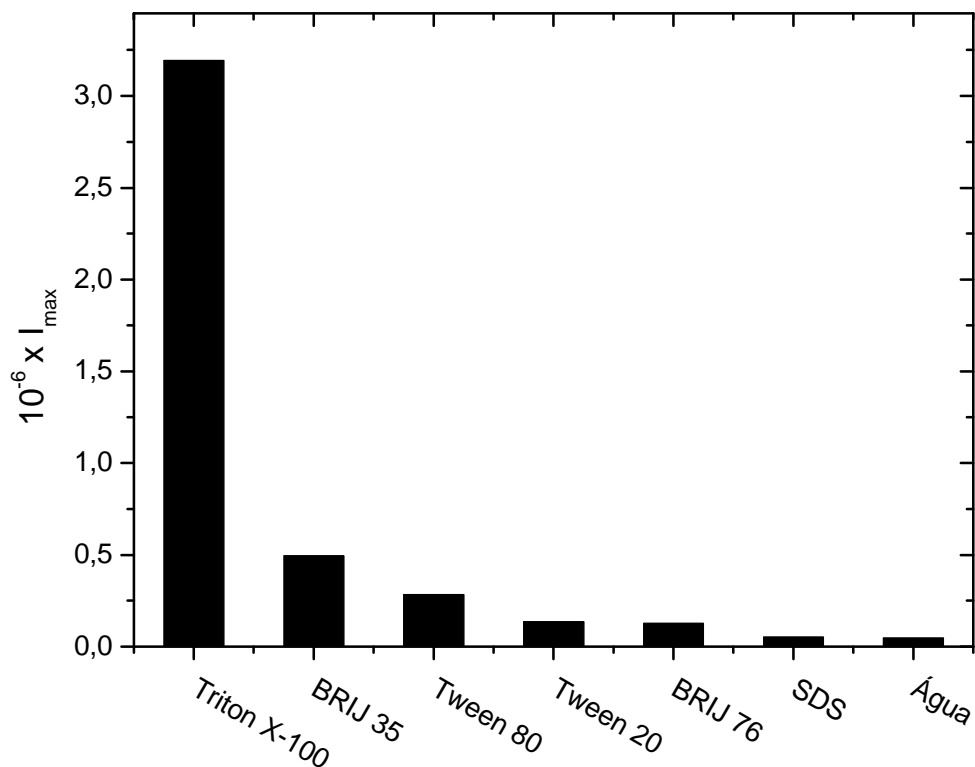


Figura 1: Efeito da natureza do tensoativo na intensidade máxima de radiação emitida (I_{\max}). Concentrações finais após a mistura dos reagentes: $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 4,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 4,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; tensoativo = $10 \times \text{CMC}$; $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} = 7,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S(IV)}] = 4,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2). Soluções saturadas com ar.

Tabela 2: Alguns parâmetros dos tensoativos dodecilssulfato de sódio (SDS), Tween 20, Tween 80, BRIJ 35, BRIJ 76 e Triton X-100^(84, 99).

| Tensoativo | Fórmula Estrutural | CMC ^a mol L ⁻¹ | N ^b | Massa Molar ^c |
|--------------|--|---|----------------|--------------------------|
| SDS | n-C ₁₂ H ₂₅ SO ₄ Na | 8,1x10 ⁻³ | 62 | 288,38 |
| Triton X-100 | [(CH ₃) ₃ CCH ₂ C(CH ₃) ₂ C ₆ H ₄ OCH ₂ CH ₂ (O(CH ₂) ₂) _{9,5} OH] | 2,3x10 ⁻⁴ | 143 | 676 (média) |
| Tween 20 | [CH ₂ O(CHO) ₄](CH ₂ CH ₂ O) ₂₀ OCOC ₁₁ H ₂₆ | 5,9x10 ⁻⁴ | - | 1228 (média) |
| Tween 80 | [CH ₂ O(CHO) ₄](CH ₂ CH ₂ O) ₂₀ OCOC ₁₇ H ₃₆ | 1,2x10 ⁻⁴ | 58 | 1310 (média) |
| Brij 35 | C ₁₂ H ₂₅ (OCH ₂ CH ₂) ₂₃ OH | 1x10 ⁻⁴ | 40 | 711 (média) |
| Brij 76 | C ₁₈ H ₃₇ (OCH ₂ CH ₂) ₁₀ OH | 3x10 ⁻⁶ | - | 1200 (média) |

a Concentração Micelar Crítica. Os parâmetros micelares são dados para soluções aquosas a 25° C e 1 atm, na ausência de quaisquer aditivos.

b Número de agregação.

c Massas molares médias são dadas para tensoativos constituídos por moléculas com cadeias de diferentes comprimentos.

Na figura 1 observa-se que o tensoativo triton X-100 propicia a maior intensificação de sinal em relação aos demais tensoativos. A intensidade de quimiluminescência é aumentada cerca de 400 vezes comparativamente à mistura na ausência de tensoativo. O efeito da concentração de triton X-100 no valor de I_{max} encontra-se representado na figura 2.

Da figura 2 é possível concluir que I_{max} aumenta com a concentração de tensoativo triton X-100, mantendo-se dentro de um patamar constante na faixa de concentração entre 0,7 e 7,14xCMC (concentrações na mistura final). Valores de intensidade mais altos foram obtidos mediante concentrações mais elevadas de tensoativo, mas o risco de introduzir impurezas presentes no tensoativo

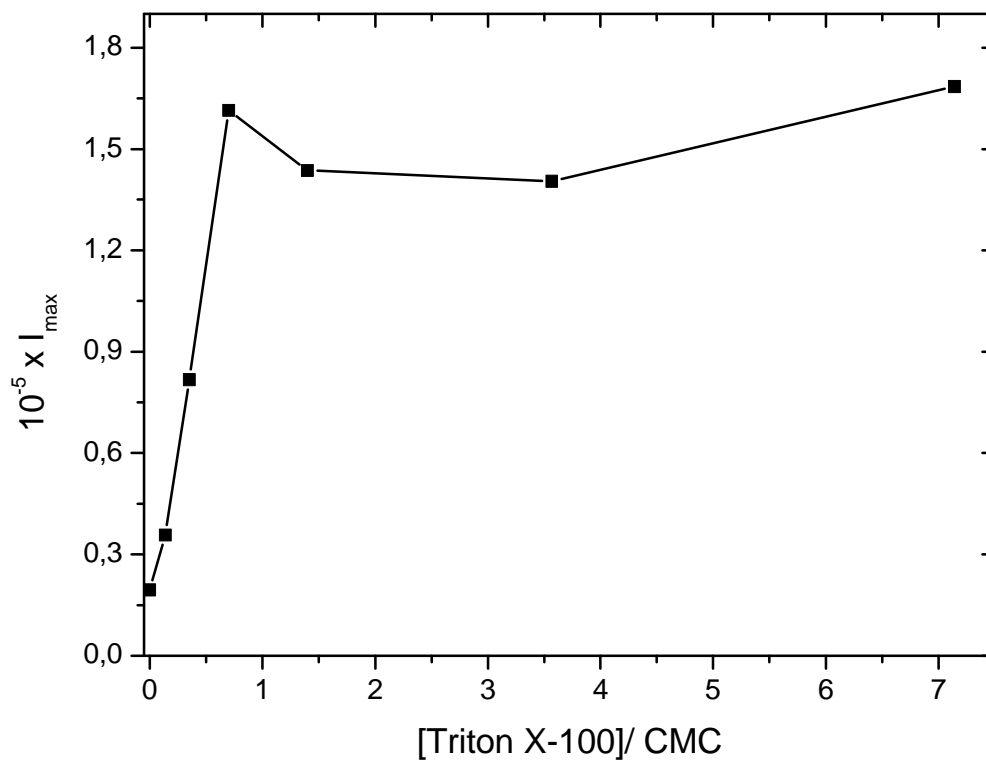


Figura 2: Efeito da concentração final de triton X-100 na intensidade máxima de radiação emitida (I_{\max}). Concentrações finais após a mistura dos reagentes: $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 4,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 4,310^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} = 7,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S}(\text{IV})] = 4,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; [tampão borato] = $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2). Soluções saturadas com ar.

concentrado em concentrações capazes de perturbar o sistema reacional descartou esta alternativa. Estabeleceu-se como concentração ótima de triton X-100 a menor concentração possível que acarretou um aumento significativo de quimiluminescência, ou seja, $0,7 \times \text{CMC}$ ($1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$).

A obtenção de uma intensidade de emissão de radiação significativa, que se mantém constante dentro de uma faixa de concentração de tensoativo usado, empregando-se uma concentração ligeiramente abaixo da CMC, é concordante com o modelo proposto por Mukerjee e Mysels⁽¹⁰⁰⁾. Segundo estes autores, o substrato (no caso, o íon $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$) pode atuar como um sítio de nucleação para formação dos agregados micelares. Há a formação de agregados micela/substrato a uma concentração abaixo da esperada, com a subsequente intensificação de quimiluminescência devido aos mecanismos já abordados⁽⁹²⁻⁹⁸⁾. Em razão deste efeito, uma CMC induzida (*i*CMC) é observada.

IV.3.4. Efeito da concentração de Ru(II)/bipy

A concentração ótima de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ foi avaliada a partir da intensidade máxima de radiação emitida (I_{max}) em função da variação das alíquotas de solução de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} 2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ adicionadas à mistura de Ni(II)/tetraglicina e S(IV). O efeito da diluição dos demais reagentes foi desprezado.

A figura 3 mostra que o máximo de intensidade de emissão de radiação é obtido empregando-se uma alíquota de $50 \mu\text{L}$ $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} 2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, de modo que a

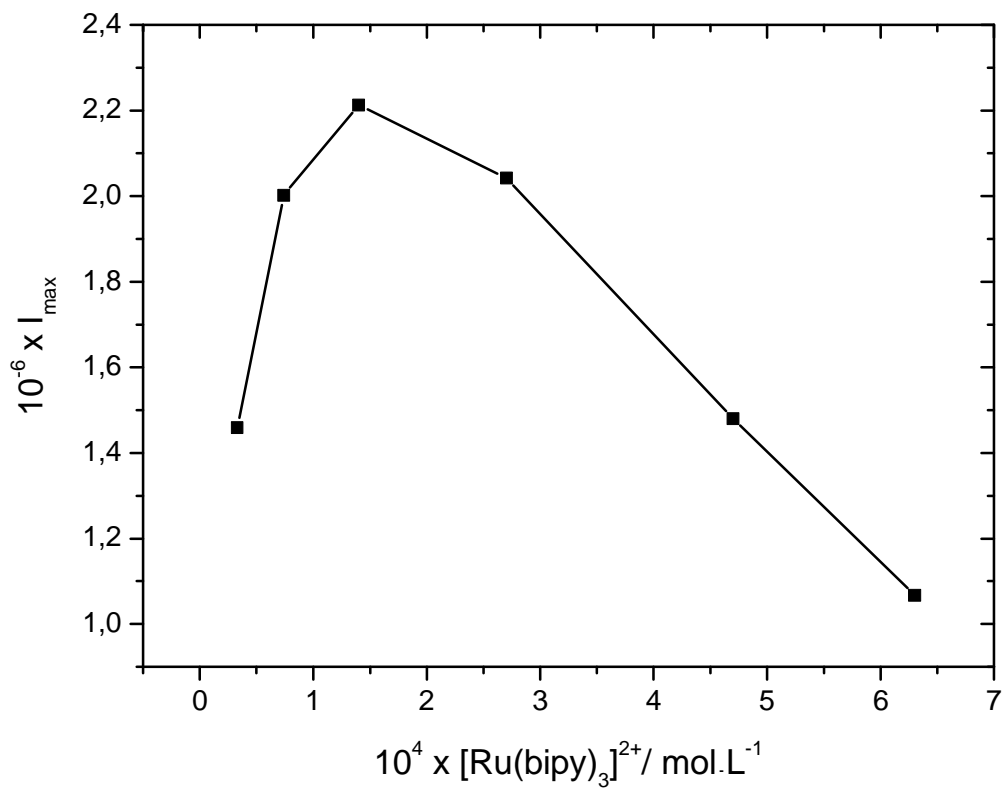


Figura 3: Efeito da concentração final após a mistura de $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$ na intensidade máxima de radiação emitida (I_{\max}). Concentrações finais após a mistura: $[Ni^{II}G_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[G_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[S(IV)] = 2,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2) e $[\text{triton X-100}] = 1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Soluções saturadas com ar.

concentração final da solução obtida foi de $1,4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. O aumento excessivo da concentração de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ resulta na diminuição de I_{max} , possivelmente devido à auto-supressão de quimiluminescência pelo próprio $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ (efeito de filtro).

IV.3.5. Estudos da variação da concentração de oxigênio por fluorimetria

Conforme descrito no item IV.1.1, o consumo de oxigênio pode ser verificado pela variação da intensidade de radiação emitida ($\lambda_{\text{emissão}} = 605$ nm) quando uma solução contendo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ é irradiada em $\lambda_{\text{excitação}} = 450$ nm.

Experimentos para monitoramento do consumo de oxigênio na reação de autooxidação de S(IV) por complexos de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ (figura 4) foram realizados na presença e ausência de triton X-100. Paralelamente, foram realizados experimentos de quimiluminescência resultando em soluções finais de mesma composição em ambos os casos (figura 5). Estes testes objetivaram esclarecer se o aumento de I_{max} pelo tensoativo triton X-100 decorre de uma eventual modificação da velocidade de reação na presença de tensoativo.

Deve-se ressaltar, entretanto, a diferente atuação de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ em cada um dos casos (Figuras 4 e 5), embora a composição do sistema químico seja rigorosamente a mesma. Nos experimentos por fluorescência, $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ é empregado como um indicador luminescente do consumo de oxigênio no meio⁽⁷⁶⁾; já nos experimentos por quimiluminescência, o produto da reação com $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ é a espécie responsável pela geração de luz (conforme será descrito no item a seguir).

Da figura 4, observa-se que na presença de tensoativo o consumo de oxigênio em função do tempo é maior; sendo assim, a reação é mais efetiva.

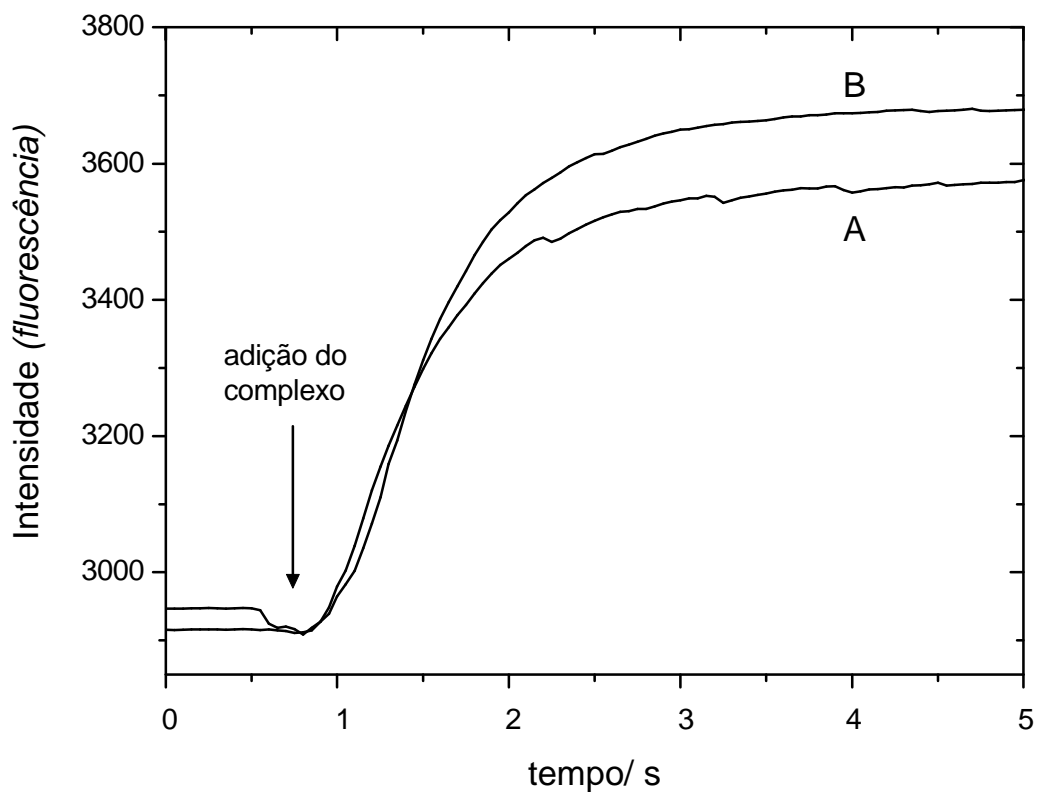


Figura 4: Variação da intensidade de emissão de radiação por fluorescência com o tempo. Concentrações finais após a mistura: $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} = 3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S}(\text{IV})] = 2,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$) e $[\text{triton X-100}] = \mathbf{A}$) sem adição de tensoativo **B)** com adição de tensoativo: $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A seta indica o momento exato da introdução da solução de complexo de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ na cubeta fluorimétrica. Soluções saturadas com ar.

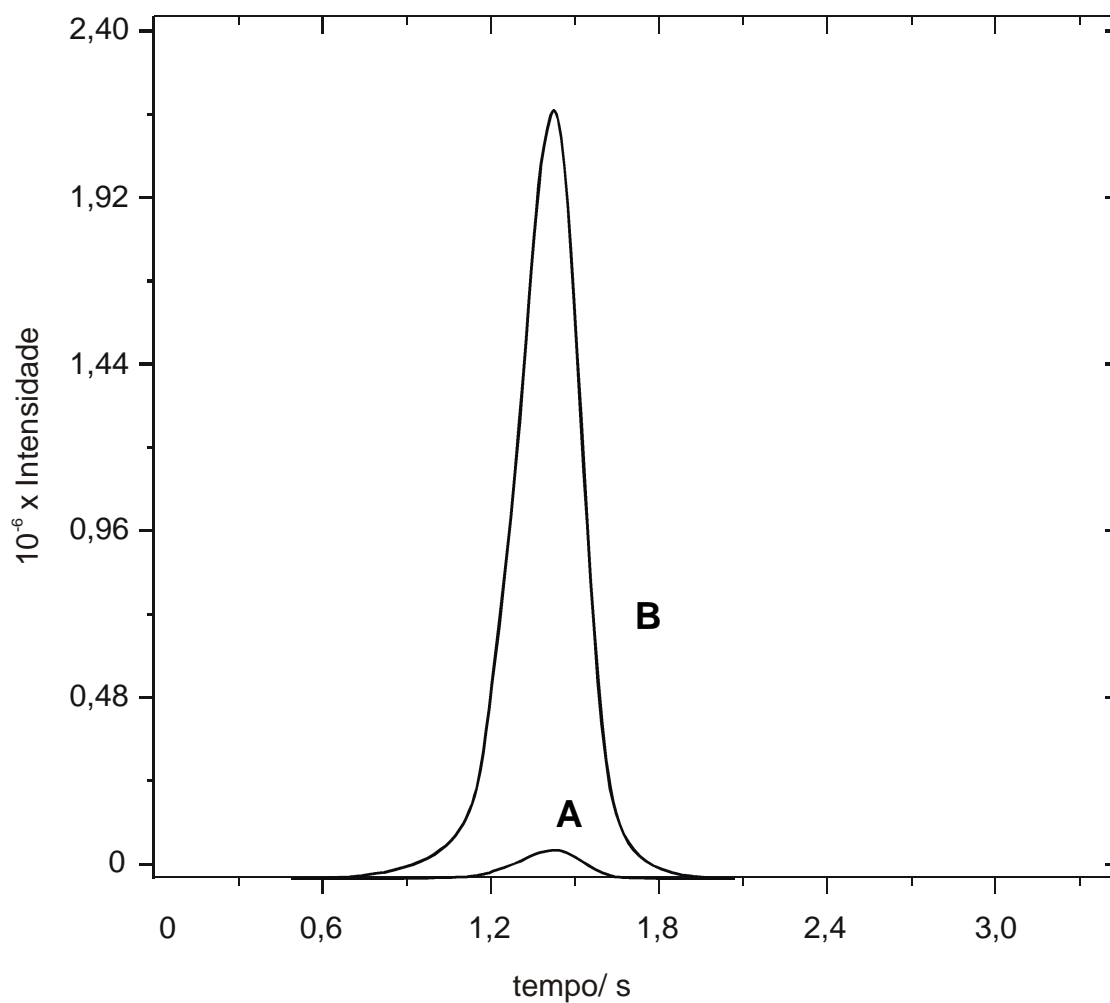


Figura 5: Intensidade de radiação emitida pelo sistema $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4/\text{S}(\text{IV})$ na ausência e presença de tensoativo. Concentrações finais após a mistura: $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} = 3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S}(\text{IV})] = 2,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2) e $[\text{triton X-100}]$: A = 0; B = $1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Soluções saturadas com ar.

IV.3.6. Estudos para a elucidação do provável mecanismo da reação quimiluminescente de autooxidação de Ni(II)/tetraglicina na presença de S(IV) e Ru(II)/bipy

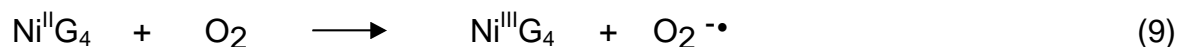
De acordo com Gerardi e colaboradores⁽⁸⁰⁾, toda e qualquer aplicação analítica baseada nas propriedades quimiluminescentes de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ consiste de duas etapas principais:

- 1) oxidação de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ a $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$;
- 2) redução de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ com formação da espécie $*[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ e subsequente emissão de radiação.

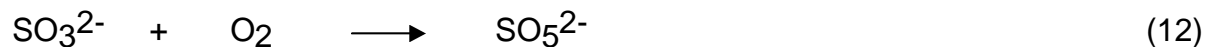
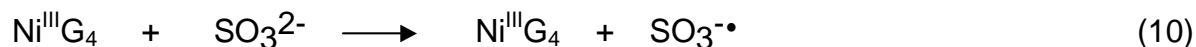
Considera-se que os radicais fortemente oxidantes gerados na reação de autooxidação de S(IV) por $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ seriam as espécies responsáveis pela oxidação de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ e que o excesso de S(IV) seria a espécie envolvida na etapa de redução de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ (esquema III, equação 21).

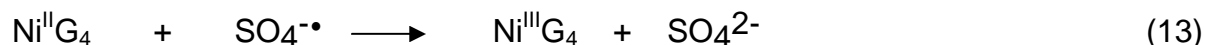
Esquema III - Mecanismo provável da autooxidação de S(IV) na presença de Ni(II)/tetraglicina e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$

Início

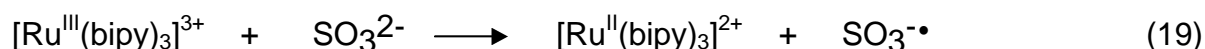
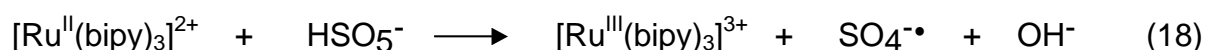
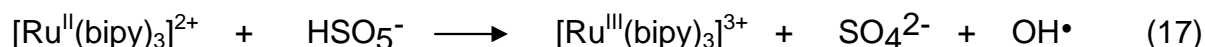
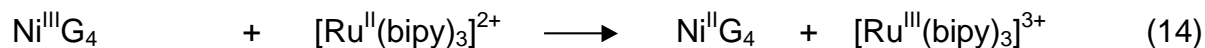


Processo autocatalítico. Ciclo redox de Ni(III/II)/tetraglicina

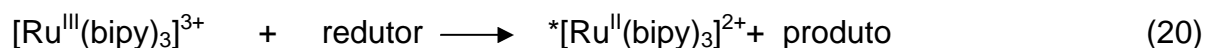




Ciclo redox envolvendo um segundo íon metálico complexado: (Ru(III/II)/bipy).



Emissão de luz



Reações possíveis em meio ácido



Do esquema de reações anterior, descrito pelas equações 9-13, um novo ciclo de reações de óxido-redução envolvendo dois complexos de íons metálicos (Ni(III/II)/tetraglicina e Ru(III/II)/bipy) é esperado (equações 14-19). A emissão de radiação ocorre em função da desativação da espécie excitada de Ru(II)/bipy, ${}^*[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ (equação 22). Uma emissão de fraca intensidade também pode ser atribuída a uma espécie excitada de dióxido de enxofre, ${}^*\text{SO}_2^{(101)}$ (equações 23-25).

A fim de verificar a validade do mecanismo proposto (equações 9-25), $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ foi gerado por oxidação química a partir da adição de ácido nítrico concentrado a uma solução de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, até mudança de coloração de alaranjado para esverdeado (atribuída à presença de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$). A seguir, foram realizados experimentos adicionando-se os prováveis redutores (S(IV) ou $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$) a uma solução contendo $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ e triton X-100. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos a partir da adição final de água à mistura descrita (tabela 3), pois o aumento do pH de uma solução contendo $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ resulta em intensa quimiluminescência^(77, 78).

Tabela 3: I_{max} resultante da adição de 300 μL das soluções dos redutores indicados a 50 μL de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ em meio de ácido nítrico. Meio contendo triton X-100 10xCMC ($2,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). Soluções saturadas com ar.

| reductor | $10^{-6} \times I_{\text{max}}$ |
|---|---------------------------------|
| S(IV) $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ | 1,21 |
| Água | 0,58 |
| $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ | 0,36 |

A tabela 3 mostra que a adição de S(IV) $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a uma solução de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ implica em maior quimiluminescência que aquela registrada quando da adição de 300 μL de água. Fica comprovado, ao menos qualitativamente, que S(IV) é capaz de reduzir $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ com produção de luz (equações 20-22), o que é condizente com estudos recentes descritos na literatura⁽⁸⁸⁻⁹¹⁾.

IV.3.7. Efeito das adições sucessivas de solução de S(IV)

Estudos de autoxidação do complexo de Ni(II)/cyclam induzida por S(IV) em meio de HClO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, nos quais a formação do complexo de Ni(III)/cyclam foi acompanhada espectrofotometricamente, mostraram que o período de indução da reação diminui gradativamente em virtude de adições sucessivas de soluções de S(IV) de mesma concentração^(102,103). Esta é uma característica típica de sistemas autocatalíticos, em que os próprios produtos de reação (no caso o íon metálico no estado de oxidação 3+) catalisam a reação. Uma nova adição de S(IV) faz com que a reação se reinicie numa condição em que os produtos da reação encontram-se presentes no meio reacional numa concentração mais alta, comparativamente à ocasião da primeira adição. Espera-se, por conseguinte, aumento da velocidade de reação e diminuição do período de indução.

Experimentos de adições sucessivas de solução de S(IV) de mesma concentração ao sistema $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4/\text{S(IV)}$, na ausência e presença de tensoativo, permitiram a observação de emissões de radiação mais intensas por ocasião da segunda adição de S(IV) (figura 6). A figura 6 conduz, ainda, a três observações importantes:

(i) o tempo decorrido após a primeira adição de S(IV), para que um máximo de radiação emitida seja atingido, diminui com a segunda adição de S(IV). Este efeito é explicado pela diminuição do período de indução e aumento da velocidade da reação

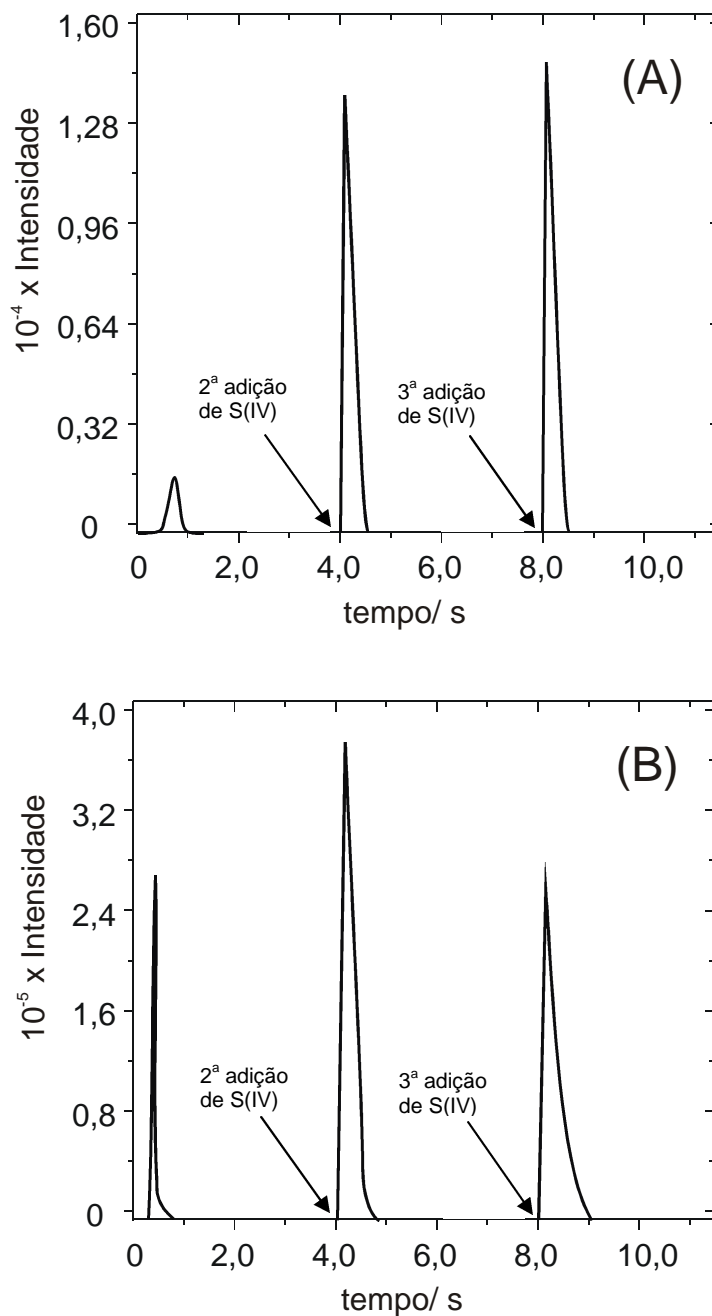


Figura 6: Intensidade de radiação emitida em função do tempo. Efeito das adições sucessivas de 300 μL de S(IV) (A) = $7,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; (B) = $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a 300 μL de mistura contendo $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, G_4 $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2) e 50 μL de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. As setas indicam o momento da adição de solução de S(IV). Soluções saturadas com ar.

de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$, uma vez os produtos da reação (no caso, $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$) encontram-se inicialmente presentes em maior concentração quando da segunda adição de sulfito (equações 10-13).

(ii) adições sucessivas de S(IV) levam a acréscimos de I_{max} cada vez menores, devido ao esgotamento da concentração de oxigênio do meio através da reação de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$. Conseqüentemente, o impacto do efeito supressor de radiação pelo oxigênio é menor.

(iii) a variação relativa de intensidade entre os sinais obtidos a partir de uma série de adições sucessivas é dependente da concentração de S(IV). Considere-se, por exemplo, duas adições de uma solução de S(IV) de mesma concentração a uma mistura de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$. Da figura 6, verifica-se um aumento de intensidade de cerca de 8 vezes da primeira para a segunda adição de S(IV) $7,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Por outro lado, este aumento é de apenas 0,4 vezes ao empregar-se solução de S(IV) $7,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ (neste último caso, a concentração de S(IV) é maior que a concentração de O_2 dissolvido).

IV.3.8. Efeito da concentração de oxigênio dissolvido

A diminuição da concentração de oxigênio dissolvido pela própria reação de autoxidação de S(IV) (equações 11 e 12) auxilia, ao menos parcialmente, na intensificação da emissão de radiação observada com as adições sucessivas de S(IV). O reinício do processo numa condição em que a concentração do supressor (de radiação emitida) oxigênio é menor, certamente resulta em maior rendimento quântico e

maior intensidade de radiação emitida. Por outro lado, o esgotamento ou a falta de oxigênio no meio impede o ciclo de reações descrito pelas equações 10 a 13, o que explica o decréscimo da intensidade de radiação emitida após a quarta ou quinta adição sucessiva de S(IV).

A comprovação deste efeito foi obtida variando-se a concentração de oxigênio entre adições sucessivas e periódicas de S(IV). Assim, a uma mistura de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em tampão borato (pH = 9,2) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, na ausência ou presença de tensoativo, foram adicionadas alíquotas sucessivas de S(IV) a cada 45 segundos. Todas as soluções foram inicialmente saturadas com ar. Num experimento de controle, não houve qualquer tentativa de modificação da concentração de oxigênio final entre as adições sucessivas. Já em outro experimento, a concentração de oxigênio da solução entre as adições foi aumentada qualitativamente pela introdução de ar por agitação vigorosa da cubeta.

Os resultados da figura 7 mostram que, quando O_2 é introduzido na solução (pela simples agitação vigorosa da cubeta) antes da segunda ou terceira adição sucessiva de S(IV), a intensidade da emissão de radiação é menor que aquela obtida sem introdução de O_2 . Este efeito encontra explicação no aumento da concentração do supressor oxigênio, que conduz à desativação não-radiativa de $*[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ e, por conseguinte, à diminuição da emissão de radiação registrada.

Conclui-se, assim, que o aumento da intensidade de radiação emitida resultante de adições sucessivas de S(IV) ocorre devido a: (i) reinício da reação de autooxidação com diminuição do período de indução e aumento de velocidade, havendo maior rendimento na produção de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ a partir dos radicais oxidantes intermediários

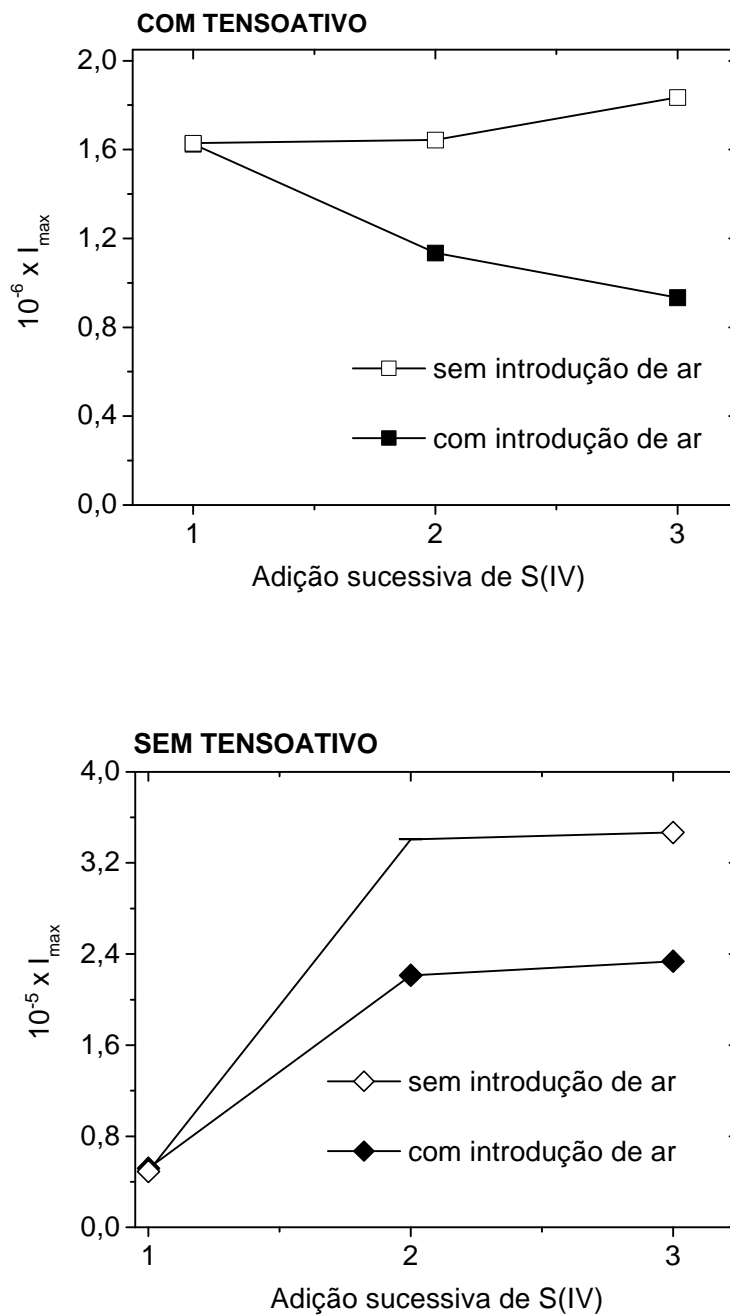


Figura 7: Efeito da variação de $[O_2]$ dissolvido, no valor de I_{\max} (altura de pico), entre adições sucessivas de $300 \mu\text{L}$ de $S(\text{IV})$ $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $300 \mu\text{L}$ de mistura contendo $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e G_4 $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$); $50 \mu\text{L}$ $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e 0 ou $50 \mu\text{L}$ de triton X-100 $2,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Soluções inicialmente saturadas com ar.

e (ii) diminuição da concentração do supressor quimiluminescente oxigênio, parcialmente consumido quando da adição anterior de S(IV) (equações 11-12).

IV.3.9. Efeito da concentração de Ni(II)/tetraglicina

O efeito da intensidade de emissão em função da concentração de Ni^{II}G₄ encontra-se representado na figura 8. Observa-se que I_{max} aumenta a partir da concentração inicial de 1,8x10⁻⁸ mol L⁻¹ até um valor máximo de 3,3x10⁻⁵ mol L⁻¹, a partir do qual há uma diminuição da intensidade de emissão. A existência de uma concentração ótima de Ni^{II}G₄ é governada por dois fatores de ação antagônica no que se refere à intensidade de radiação emitida.

O fator que favorece o aumento da intensidade de radiação emitida é, certamente, o aumento da velocidade de reação associado à maior concentração de Ni^{II}G₄. Estudos do consumo de oxigênio na reação de autoxidação de S(IV) por diferentes íons metálicos de transição, complexados ou não^(76, 104), evidenciam claramente esta relação.

A diminuição de I_{max} (figura 8) do sistema [Ru^{II}(bipy)₃]²⁺/Ni^{II}G₄/S(IV) em concentrações mais elevadas de Ni^{II}G₄ resulta do fato de que o próprio complexo de Ni(II)/tetraglicina é um supressor da luminescência de *[Ru^{II}(bipy)₃]²⁺. Perfis da intensidade de emissão de radiação por fluorescência/tempo, para solução de [Ru^{II}(bipy)₃]²⁺ em meio de tampão borato (pH = 9,2), mostram que a intensidade de radiação emitida por fluorescência diminui quando da adição do complexo de Ni^{II}G₄ (figura 9).

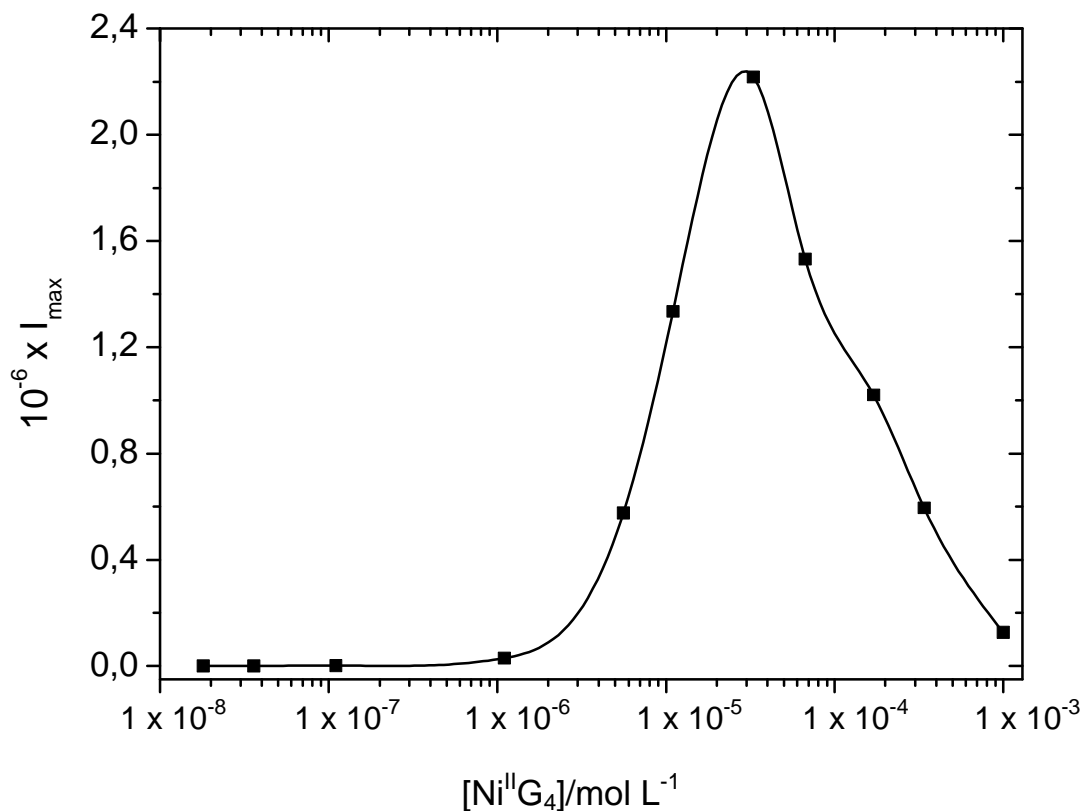


Figura 8: Efeito da concentração final de $Ni^{II}G_4$ (excesso de 100% de ligante) na intensidade máxima de radiação emitida (I_{max}). Concentrações finais após mistura dos reagentes: $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+} = 3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[S(IV)] = 2,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2) e $[\text{triton X-100}] = 1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Soluções saturadas com ar.

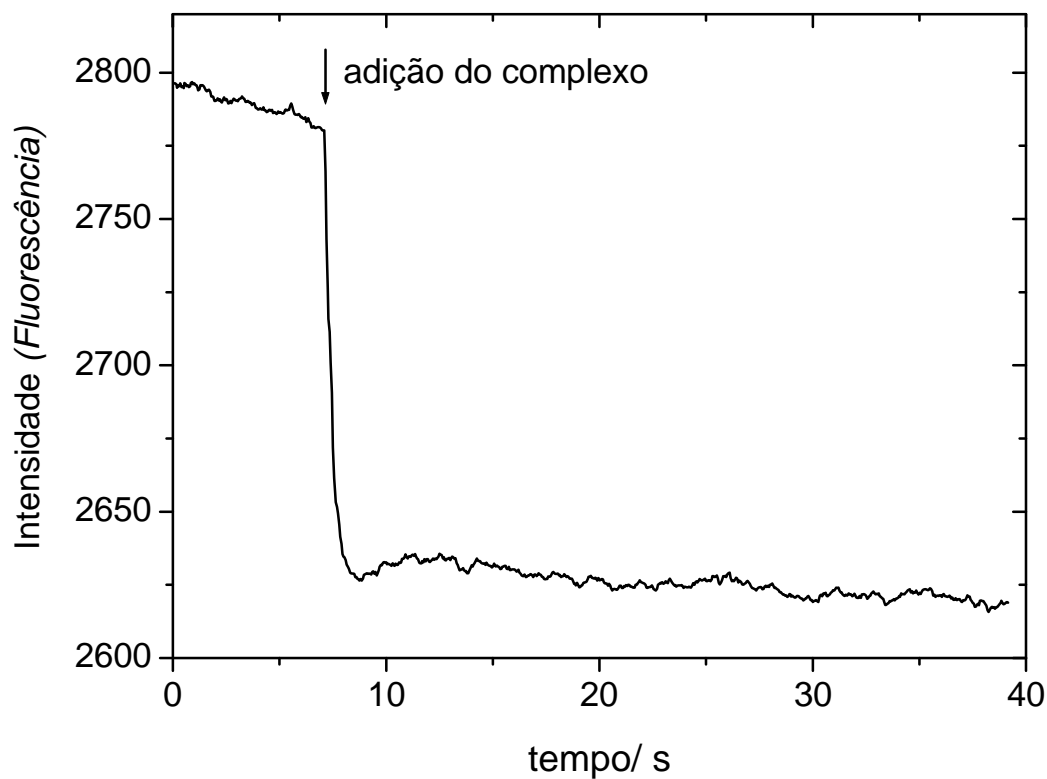


Figura 9: Variação da intensidade de emissão de radiação por fluorescência com o tempo de solução de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão borato $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$). A seta indica o instante da adição do complexo de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ (concentração final após mistura dos reagentes $1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ com 100% de excesso de ligante). Soluções saturadas com ar. $T = 25^\circ \text{ C}$.

Não há sobreposição do espectro de emissão de $^*[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$ (520-780 nm), com os respectivos espectros de absorção molecular de $Ni^{II}G_4$ e $Ni^{III}G_4$ (vide figura 1, capítulo II). Em outras palavras, os complexos de Ni(III/II)/tetraglicina não absorvem na região de emissão de $^*[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$. Acredita-se que o efeito de supressão da emissão de radiação pelo aumento da concentração do complexos de $Ni^{II}G_4$ não seja simplesmente uma questão de absorção da radiação emitida pelo complexo de $Ni^{II}G_4$, conforme observado para sistemas quimiluminescentes envolvendo MnO_4^- e S(IV)^(105, 106).

Pode-se afirmar, assim, que o efeito da concentração do complexo de Ni(II)/tetraglicina resulta do balanço de dois fatores que se contrapõem: supressão da luminescência de $^*[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}$ pelo complexo $Ni^{II}G_4$ e aumento da velocidade de reação de autooxidação de S(IV) com o aumento da concentração de $Ni^{II}G_4$ em solução.

IV.3.10. Efeito da acidez do meio

A relação entre acidez do meio e intensidade máxima de radiação emitida (I_{max}) do sistema $[Ru^{II}(bipy)_3]^{2+}/Ni^{II}G_4/S(IV)$ foi estudada variando-se o pH da solução do complexo de $Ni^{II}G_4$. A figura 10 demonstra que não há variação significativa da intensidade de quimiluminescência na faixa de pH entre 8,0 e 9,2.

A literatura⁽¹⁰⁷⁾ descreve que a reação de oxidação de $Ni^{II}G_4$ pelo oxigênio não ocorre abaixo de pH = 7,0 e que a velocidade de consumo de oxigênio aumenta até pH = 8 para, somente então, começar a diminuir. Este comportamento é explicado pela predominância da forma triplamente desprotonada do complexo de Ni(II)/tetraglicina

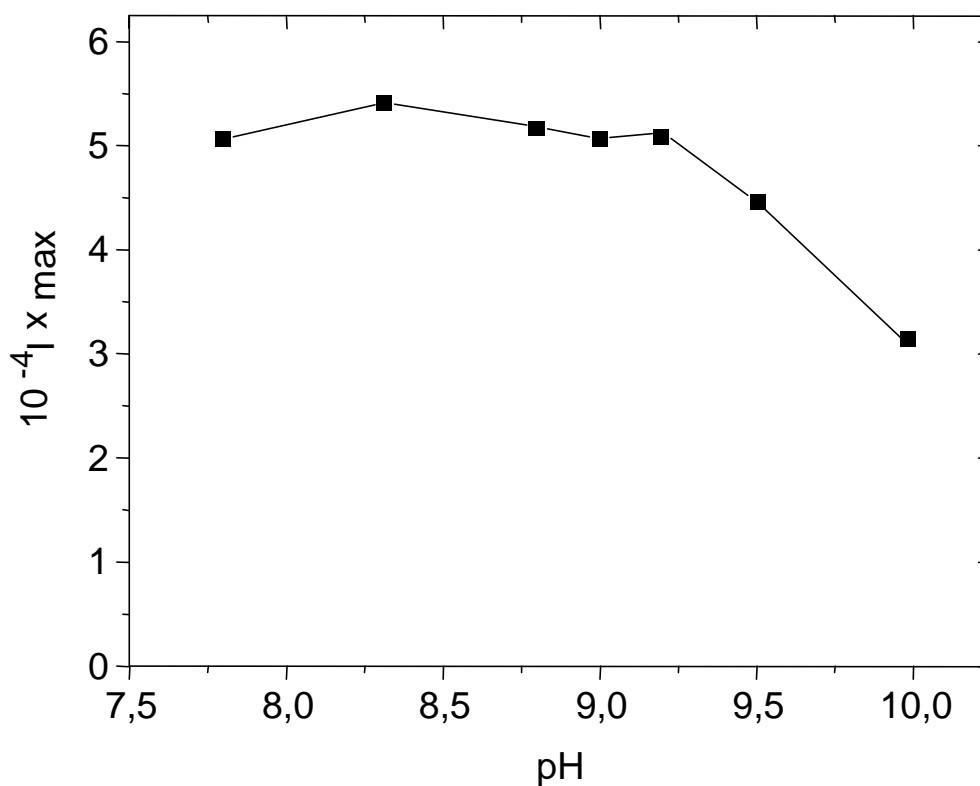


Figura 10: Efeito da acidez do meio na intensidade máxima de radiação emitida (I_{\max}). Concentrações finais após mistura dos reagentes: $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} = 3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S}(\text{IV})] = 4,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0-10,0) e $[\text{triton X-100}] = 1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Soluções saturadas com ar.

($[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{2-}$) em pH acima de 8 (vide esquema na página iv), que apresenta maior reatividade em relação às demais espécies geradas em menores valores de pH.

Embora um máximo de emissão tenha sido observado em $\text{pH} = 8,0$, conclui-se que a variação de pH na faixa entre 8,0 e 9,2 não altera significativamente I_{max} . Portanto, o ajuste do pH do tampão borato dentro deste intervalo é suficiente para observação de emissão de radiação de intensidade satisfatória. Considerando-se, entretanto, que a capacidade tamponante do tampão borato é máxima em $\text{pH} = 9,2$, esta foi a condição adotada para ensaios posteriores.

IV.3.11. Efeito da concentração de S(IV)

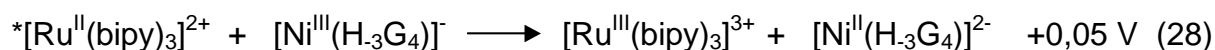
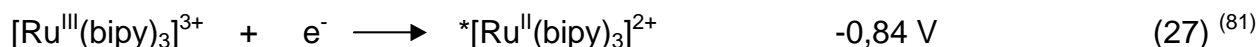
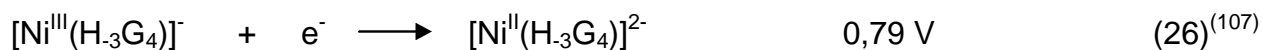
Com a definição das condições gerais capazes de maximizar a emissão de radiação do sistema $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4/\text{S}(\text{IV})$, ou seja,

- $\text{pH} = 9,2$ (tampão borato);
- ordem de mistura dos reagentes: na ordem, soluções de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$, triton X-100 (se aplicável), $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ e, após 1 s, S(IV);
- quantidades ótimas: 300 μL de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de excesso de ligante); 50 μL de triton X-100 $2,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; 50 μL $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$;

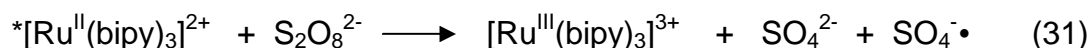
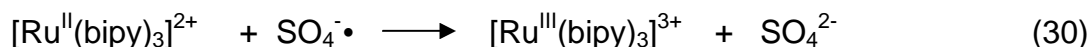
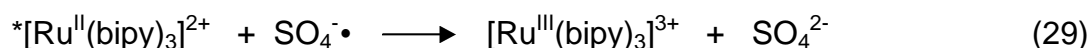
foi possível estudar o efeito da adição de diferentes concentrações de S(IV). Estes ensaios foram realizados na presença e ausência de tensoativo, englobando ainda o efeito das adições sucessivas de S(IV). Nestes estudos, são considerados os valores de I_{max} decorrentes da segunda e da terceira adição de uma solução de sulfito de mesma concentração a uma mistura de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ (tampão borato $\text{pH} = 9,2$).

A figura 11 apresenta os resultados decorrentes da adição inicial de S(IV), na ausência e presença de tensoativo. Verifica-se que I_{\max} aumenta com a concentração de S(IV) dentro do intervalo de concentrações utilizado. O efeito das adições sucessivas de S(IV), na ausência e presença de tensoativo, encontra-se representado nas figuras 12 e 13.

O efeito da diminuição da concentração de oxigênio, supressor da luminescência de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, que é tanto mais consumido quanto maior a concentração de S(IV) adicionado, é um dos fatores contribuintes deste comportamento não-linear. Algumas reações capazes de suprimir a luminescência de $^*[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ (equações 26-31) podem ser mais ou menos efetivas com a variação da concentração de S(IV) adicionado, devido à formação de intermediários (radicais de enxofre) e produtos (tais como $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$) em diferentes concentrações.



A literatura⁽¹⁰⁴⁾ também reporta a reação de $\text{SO}_4^{\cdot-}$ e $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ (um dos possíveis produtos) com $^*[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$.



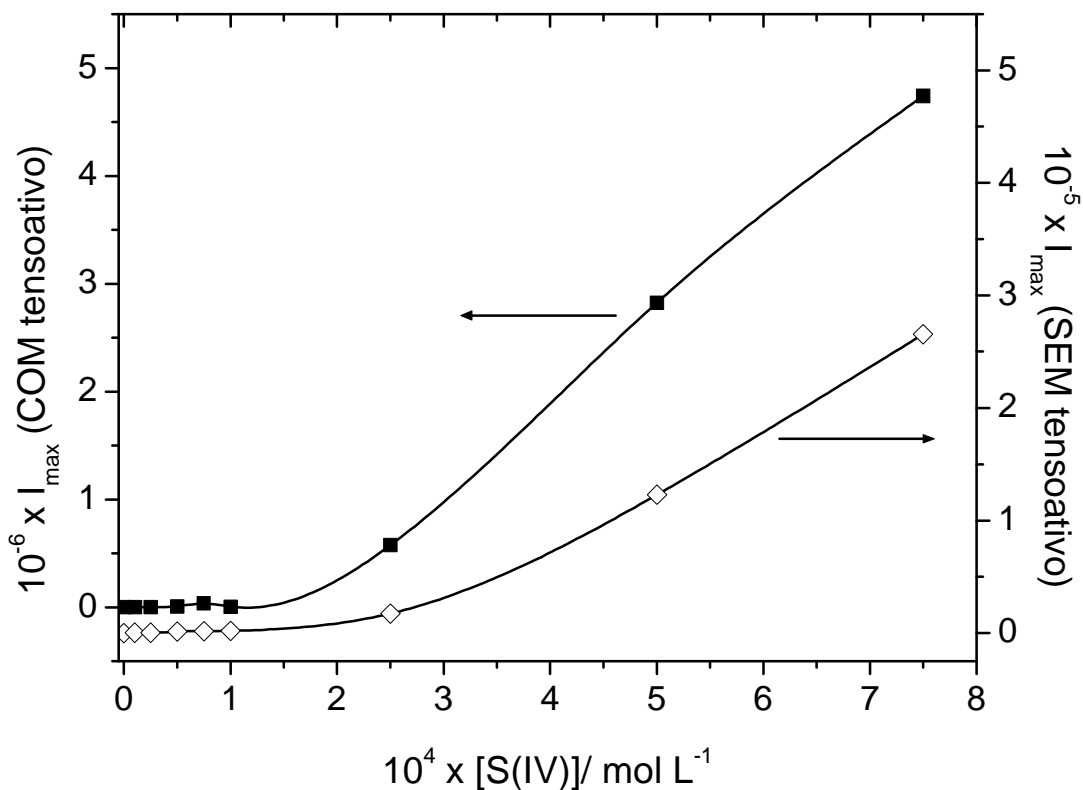


Figura 11: Efeito de S(IV) na intensidade máxima de radiação emitida (I_{max}) decorrente da adição de 300 μL de S(IV) $(0-7,5) \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a 300 μL de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% excesso de ligante) em meio de tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$); 50 μL de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e ■ = 50 μL de triton X-100 $2,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ou ◇ = ausência de triton X-100. Soluções saturadas com ar.

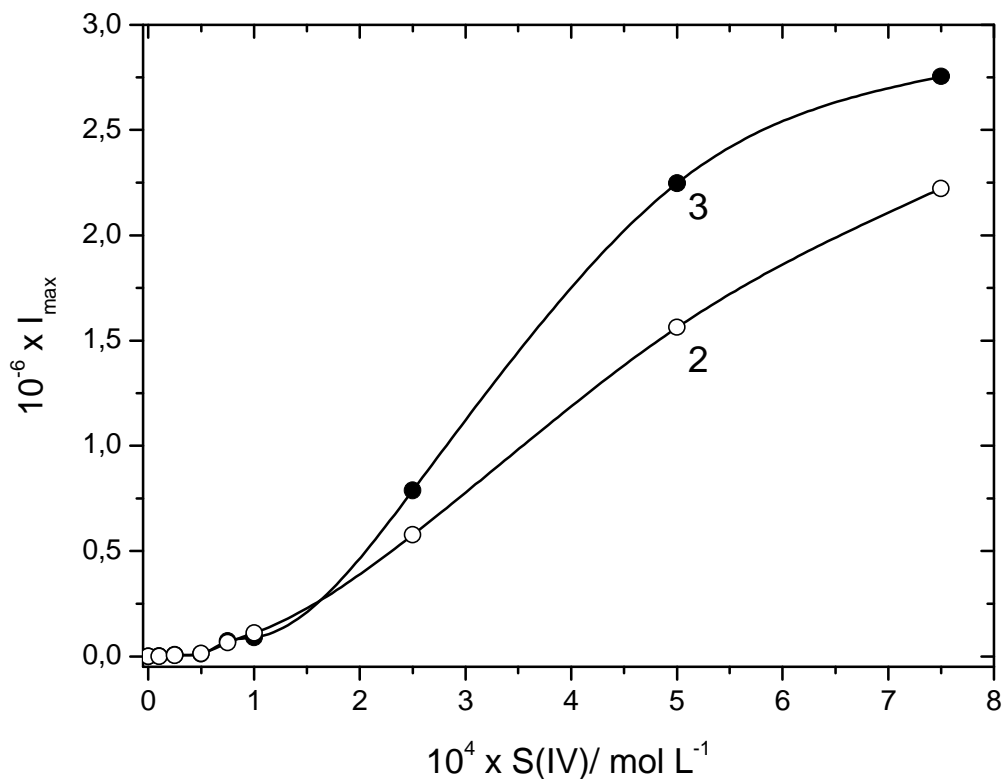


Figura 12: Efeito de S(IV) na intensidade máxima de radiação emitida (I_{max}) decorrente da ○ segunda e ● terceira adições sucessivas de 300 μL de S(IV) $(0-7,5) \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a 300 μL de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de excesso de ligante) em meio de tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$); 50 μL $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e 50 μL de triton X-100 $2,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Soluções saturadas com ar.

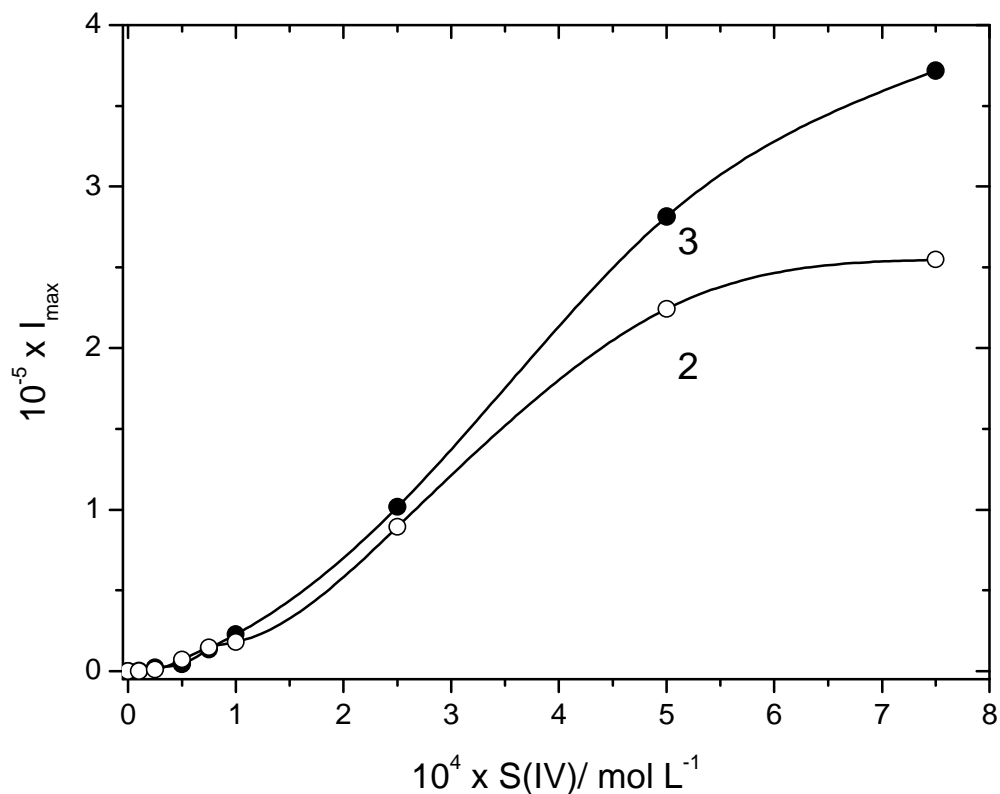


Figura 13: Efeito de S(IV) na intensidade máxima de radiação emitida (I_{\max}) decorrente da \circ segunda e \bullet terceira adições sucessivas de 300 μL de S(IV) $(0-7,5) \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a 300 μL de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de excesso de ligante) em meio de tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$); 50 μL $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, na ausência de tensoativo. Soluções saturadas com ar.

As reações paralelas descritas pelas equações 26 a 31, em conjunto com o efeito da diminuição da concentração de oxigênio, justificam o comportamento não-linear de I_{\max} em função da concentração de S(IV) (figuras 11, 12 e 13).

IV.3.12. Efeito da presença de formaldeído

Formaldeído e acetaldeído formam aductos ou compostos de adição com S(IV)⁽¹⁰⁸⁾, diminuindo a velocidade de reação e aumentando o período de indução do processo autocatalítico⁽¹⁰⁹⁾.

A introdução de formaldeído no sistema $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4/\text{S(IV)}$ implica na diminuição da intensidade de radiação emitida e no aumento do tempo para obtenção do máximo de emissão (figura 14). A influência da velocidade da reação de autoxidação demonstra, neste caso, ser o fator preponderante na determinação da intensidade da emissão de radiação.

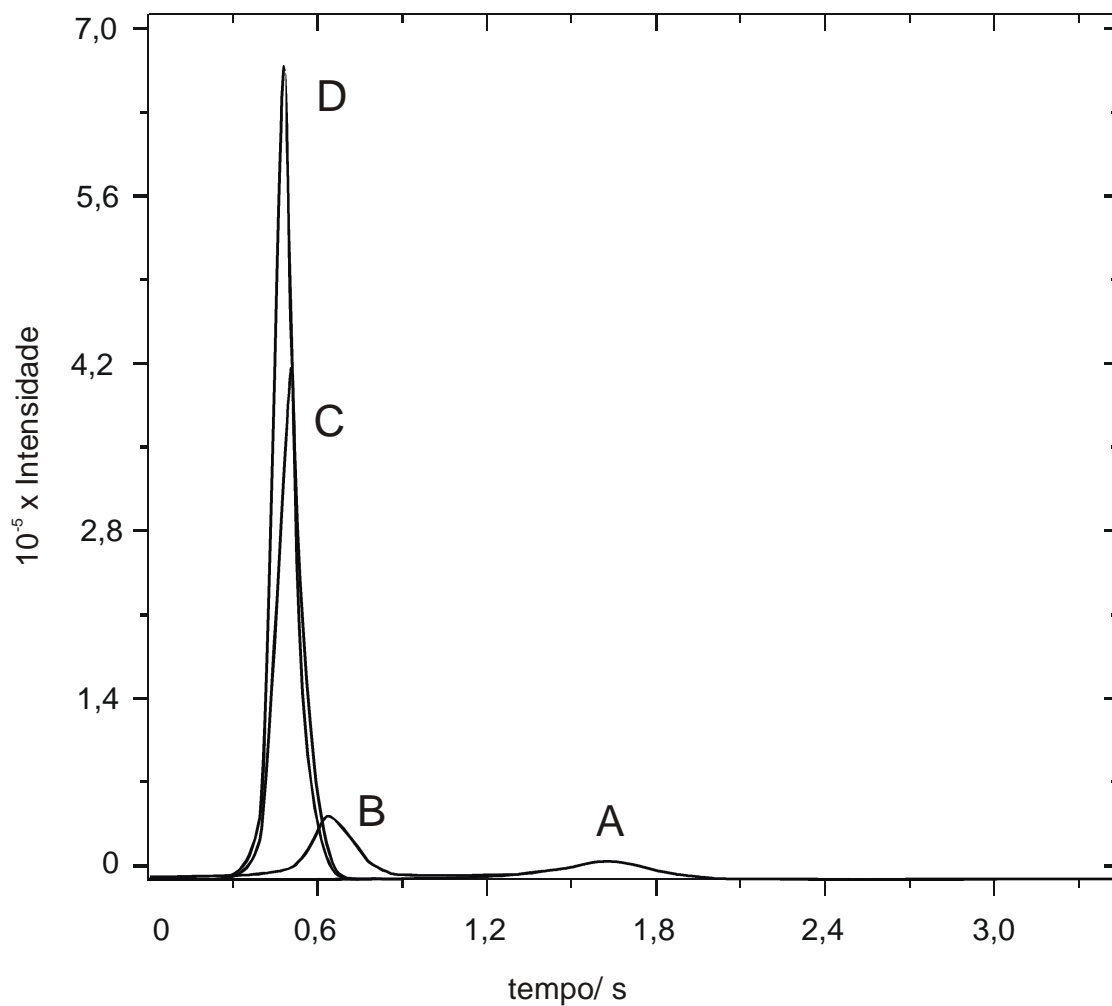


Figura 14: Intensidade de radiação emitida em função do tempo, na presença e ausência de formaldeído. Concentrações finais após mistura dos reagentes: $[\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{G}_4] = 1,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} = 3,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{S}(\text{IV})] = 4,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $[\text{tampão borato}] = 0,04 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2) e $[\text{triton X-100}] = 1,6 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. [Formaldeído]: A = $4,3 \times 10^{-5}$; B = $8,6 \times 10^{-6}$; C = $4,3 \times 10^{-6}$; D = zero. Soluções saturadas com ar.

IV.4. Conclusões

A realização dos testes descritos permitiu a formulação das seguintes conclusões:

- a mistura de soluções de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em tampão borato (pH = 9,2), $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ e S(IV) resulta numa emissão de luz passível de detecção por um luminômetro comercial. A ordem de adição dos reagentes não altera significativamente a intensidade da emissão final, exceto quando a solução de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ é a última a ser adicionada. O mecanismo proposto consiste na oxidação de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ a $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ pelos radicais oxidantes de enxofre gerados como intermediários do processo de autooxidação de S(IV) catalisada por $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$. Há posterior redução de $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{bipy})_3]^{3+}$ pelo S(IV) remanescente, com subsequente decaimento de $^*[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ ao estado fundamental e concomitante emissão de radiação.
- a emissão de radiação do sistema $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4/\text{S(IV)}$ é intensificada pela presença de tensoativos, sendo este efeito mais pronunciado para triton X-100. Estudos por fluorescência demonstraram na presença de tensoativo o consumo de oxigênio em função do tempo é maior; sendo assim, a reação é mais efetiva.
- a intensidade de emissão de radiação aumenta notavelmente com sucessivas adições de S(IV) a uma mistura de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$ em tampão borato (pH = 9,2) na ausência e presença de tensoativo, devido ao aumento da velocidade da reação de autooxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por S(IV) e diminuição da concentração do supressor oxigênio.

- a adição de formaldeído diminui a intensidade da radiação emitida pelo sistema sistema $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4/\text{S}(\text{IV})$, ao aumentar o período de indução e diminuir a velocidade da reação de autoxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ induzida por $\text{S}(\text{IV})$.
- a variação da intensidade de emissão de radiação para diferentes concentrações de $\text{S}(\text{IV})$ foi registrada, revelando uma relação de aumento gradativo sem comportamento linear na faixa de $(0,1-7,5) \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Este comportamento pode ser justificado por (i) variação da concentração de oxigênio, supressor da luminescência de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, cujo consumo é dependente da concentração de $\text{S}(\text{IV})$ adicionado e (ii) ocorrência de algumas reações de oxirredução capazes de suprimir a luminescência de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}$, envolvendo as espécies $\text{SO}_4^{\cdot-}$, $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ e $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$.

IV.5. Bibliografia

76. Lima, S. "Uso do íon $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ como um indicador luminescente do consumo de oxigênio de S(IV) catalisada por íons metálicos de transição", São Paulo, 1999 [Tese de Doutorado, Instituto de Química, USP]
77. Hercules, D.M., Lytle, F. E., Chemiluminescence from Reduction Reactions, **J. Am. Chem. Soc.**, **88**, 4745-4746, 1966.
78. Hercules, D.M., Chemiluminescence from Electron-Transfer Reactions, **Acc. Chem. Res.**, **2**, 301-307, 1969
79. Hercules, D.M., Lytle, F. E., Chemiluminescence from the Reduction of Aromatic Amine Cations and Ruthenium(III) Chelates, **Photochem. Photobiol.**, **13**, 123-133, 1971.
80. Gerardi, R.D., Barnett, N.W., Lewis, S.W., Analytical Applications of Tris(2,2'-bipyridil)ruthenium(III) as a Chemiluminescent Reagent, **Anal. Chim. Acta**, **378**, 1-41, 1999
81. Creutz, C., Sutin, N., Photogeneration and Reactions of Cobalt(I) Complexes, **Coord. Chem. Rev.**, **64**, 321-341, 1985
82. Collins, G.E., Rose-Perhrsson, S.L., Chemiluminescent Chemical Sensors for Inorganic and Organic Vapors, **Sensors and Actuators B.**, **34**, 317-322, 1996
83. Downey, T.M., Nieman, T.A., Chemiluminescence Detection Using Regenerable Tris(2,2-bipyridil)ruthenium(I) Immobilized in Nafion, **Anal. Chem.**, **64**, 261-268, 1992
84. Hinze, W.L., Srinivian, N., Smith, T.K., Igarashi, S., Hoshino, H., Organized Assemblies in Analytical Chemiluminescence Spectroscopy: an Overview. In: Advances in Multidimensional Luminescence, Vol. 1, 149, JAI Press Inc., 1991.
85. Chang, M.M., Saji, T., Bard, A.J., Electrogenerated Chemiluminescence. 30. Electrochemical Oxidation of Oxalate Ion in the Presence of Luminescers in Acetonitrile Solutions, **J. Am. Chem. Soc.**, **99**, 5399-5403, 1977
86. Noffsinger, J.B., Danielson, N.D., Generation of Chemiluminescence upon Reaction of Aliphatic Amines with Tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(III), **Anal. Chem.**, **59**, 865-868, 1987.
87. Jackson, W.A., Bobbitt, D.R., Chemiluminescent Detection of Amino Acids Using in Situ Generated $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$, **Anal. Chim. Acta**, **285**, 309-320, 1994
88. Lin, J., Qu, F., Yamada, M., Chemiluminescent Investigation of Tris(2,2'-bipyridil)ruthenium(II) Immobilized on a Cationic Ion-Exchange Resin and its Application to Analysis, **Anal. Bioanal. Chem.**, **374**, 1159-1164, 2002

89. Wu, F., He, Z., Meng, H., Zeng, Y., Determination of Sulfite in Sugar and Sulfur Dioxide in Air Using $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ - KBrO_3 System, **Analyst**, **123**, 2109-2112, 1998
90. He, Z., Wu, F., Meng, H., Yuan, L., Song, G., Zeng, Y., Chemiluminescence Determination of Sulfite in Sugar and Sulfur Dioxide in Air Using $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+}$ - $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ System, **Anal. Sci.** **14**, 1998, 737-740
91. Wu, F., He, Z., Meng, H., Yuan, L., Li X., Zeng, Y., *Chemiluminescence* Determination of Sulfite in Sugar and of Sulfur Dioxide in Air Using the Tris(2,2'-bipyridil)ruthenium- KIO_4 System, **Fresenius J. Anal. Chem.**, **362**, 1998, 566-570
92. Paul, D.B., Recent Analytical Developments using Chemiluminescence in Solution, **Talanta**, **25**, 377-382, 1978
93. Isacson, U., Wettermark, G., Chemiluminescence in Analytical Chemistry, **Anal. Chim. Acta**, **68**, 339-362, 1974
94. Atwood, D., Florence, A.T., In: Surfactant Systems, Chapman and Hall, New York, 1983
95. Bender, M.L., Komiyama, M., In: Cyclodextrin Chemistry, Springer-Verlag, New York, 1978.
96. Fendler, J.H., Membrane Mimetic Chemistry, **Chemical & Engineering News**, **62**, 25-38, 1984
97. Minch, M.J., Giaccio, M., Wolff, R., Effect of Cationic Micelles on the Acidity of Carbon Acids and Phenols. Electronic and Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectral Studies of Nitro Carbanions in Micelles, **J. Am. Chem. Soc.**, **97**, 3766-3772, 1975.
98. Connors, K.A., Lipari, J.M., Effect of Cycloamyloses on Apparent Dissociation Constants of Carboxylic Acids and Phenols: Equilibrium Analytical Selectivity Induced by Complex Formation., **J. Pharm. Sci.**, **65**, 379-383, 1976
99. Calbiochem. Home page. "Detergents and Buffers" Disponível em <http://www.emdbiosciences.com/SharedImages/TechnicalLiterature/1_CB0603_Detbuf fs.pdf> acesso em (26.12.2003).
100. Mukerjee, P., Mysels, K.J., A Re-evaluation of the Spectral Change Method of Determining Critical Micelle Concentration, **J. Am. Chem. Soc.**, **77**, 2937-2943, 1955
101. Meixner, F.X., Jaeschke, W.A., Detection of Low Atmospheric Sulfur Dioxide Concentrations with a Chemiluminescence Techique, **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, **10**, 51-67, 1981
102. Pezza, H. R., "Estudo da Auto-oxidação de $[\text{Ni}(\text{cyclam})]^{2+}$ Induzida por Óxidos de S(IV)", São Paulo, 1997 [Tese de Doutorado, Instituto de Química, USP]

103. Pezza, H. R., Bonifácio, R. L., Coichev, N., Oxidation of Ni(II)/cyclam and Tetraglycine Complexes by Dissolved Oxygen in the Presence of S(IV). Synergistic Effects of Mn(III) and Co(III), **J. Chem. Research (M)**, 1520-1541, 1999
104. Lima, S., Bonifácio, R.L., Azzelini, G.C., Coichev, N., Ruthenium(II) Tris(bipyridyl) Ion as a Luminescent Probe for Oxygen Uptake on the Catalyzed Oxidation of HSO_3^- , **Talanta**, **56**, 547-556, 2002.
105. Yamada, M., Nakada, T., Suzuki, S., The determination of Sulfite in a Flow Injection System with Chemiluminescence Detection, **Anal. Chim. Acta**, **147**, 401-404, 1983
106. Takeuchi, K., Ibusuki, K., Determination of Traces of Hydrogensulfite by Chemiluminescence with Cerium(IV) Sulfate as the Reagent, **Anal. Chim. Acta**, **174**, 359-363, 1985.
107. Bossu, F.P., Paniago, E.B., Margeum, D.W., Kirksey Jr., S.T., Trivalent Nickel Catalysis of the Autoxidation of Nickel(II) Tetraglycine, **Inorg. Chem.**, **17**, 1034-1042, 1978
108. Guekezian, M., Coichev, N., Suarez-Iha, M. E. V., Neves, E. F. A. Stability of Sulfur(IV) Solutions in the Presence of Amines and the Tendency of Sulfite Ions to Disproportionate in Stock Solutions, **Analytical Letters**, **30**, 1423 – 1436, 1997
109. Alipázaga, M.V. "Estudo da autoxidação dos complexos de Cu(II), Ni(II) e Co(II)/tetraglicina induzida por S(IV)"; São Paulo, 2003 [Tese de Doutorado, Instituto de Química, USP]
110. Bossu, F.P., Chellapa, K.L. e Margerum, D.W., Ligand Effects on Thermodynamic Stabilization of Copper(III)-Peptide Complex, **J. Am. Chem. Soc.**, **99**, 2195-2203, 1977

Capítulo V: Autoxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV) na presença de luminol. Desenvolvimento de método analítico para determinação de S(IV) livre por quimiluminescência.

V. 1. Introdução

Este capítulo enfoca a interação dos radicais gerados na reação de autooxidação de Ni(II)/tetraglicina induzida por S(IV) com luminol. Experimentos demonstraram que a mistura de soluções de luminol e Ni^{II}G₄ em tampão borato (pH = 9,2), na ausência de peróxido de hidrogênio, é acompanhada de emissão de radiação de baixa intensidade. A subsequente adição de S(IV) a esta mistura aumenta a intensidade de emissão. Este aumento na intensidade de emissão de radiação é função da concentração da solução de S(IV) adicionada.

Condições ótimas para detecção de S(IV) por quimiluminescência em modo estático, compreendendo a ordem de adição e as concentrações dos reagentes luminol e Ni(II)/tetraglicina, foram estabelecidas.

A aplicação do sistema quimiluminescente proposto para a determinação de S(IV) livre em amostras comerciais ou ambientais requer pré-tratamento para remoção de eventuais interferentes. Deste modo, um sistema em fluxo empregando unidade de difusão gasosa foi utilizado para separação do analito da matriz das amostras diluídas.

O método proposto (diluição ou dissolução das amostras; separação do analito da matriz através de sistema em fluxo com célula de difusão gasosa; detecção "off line" empregando-se a reação quimiluminescente em modo estático) foi aplicado para determinação de sulfito livre em amostras de vinhos branco e tinto, suco concentrado e açúcar refinado. O sistema também foi utilizado para determinação de S(IV) em amostras de água de chuva.

V.1.1. Métodos analíticos para determinação de S(IV) por quimiluminescência

Na literatura são encontrados vários métodos para a determinação de sulfito em amostras ambientais, de alimentos e outros materiais empregando-se as mais diversas técnicas analíticas, tais como espectrofotometria^(111,112), fluorimetria⁽¹¹³⁾, espectroscopia de emissão atômica⁽¹¹⁴⁾, cromatografia⁽¹¹⁵⁾, métodos eletroquímicos^(116,117) e enzimáticos⁽¹¹⁸⁾. Somente ao longo dos últimos anos foram propostos métodos para determinação de S(IV) por quimiluminescência, a maioria dos quais acoplado a sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA-QL) (tabela 1).

Stauff e Jaeschke⁽¹¹⁹⁾ verificaram que a oxidação de S(IV), por Ce(IV), H₂O₂ ou permanganato em meio de H₂SO₄, resultava numa emissão quimiluminescente de baixa intensidade, passível de medição apenas por um contador de fótons. Entretanto, mesmo atualmente, a utilização deste equipamento é ainda pouco prática, em função da complexidade e custos envolvidos em sua operação. Estes autores atribuíram a fraca emissão de radiação a uma espécie excitada de dióxido de enxofre, SO₂^{*}, cujo espectro de emissão (450-600 nm) foi isolado através de filtros de interferência⁽¹⁴⁴⁾.

A introdução de substratos quimiluminescentes tais como riboflavina⁽¹²¹⁾, [Ru(bipy)₃]²⁺⁽¹⁴³⁾, ou mesmo compostos orgânicos não-fluorescentes, como alguns derivados de ciclohexanona^(124,125,129), permitiu a utilização de equipamento convencional para detecção da radiação gerada pela reação de oxidação de S(IV) por Ce(IV) ou MnO₄⁻ em meio ácido por FIA.

Tabela 1: Alguns exemplos de procedimentos para determinação de S(IV) por quimiluminescência

| Observações | Amostras | Limite de detecção (10^{-7} mol.L ⁻¹) | Faixa Linear (10^{-7} mol.L ⁻¹) | Ref. |
|---|------------------|--|--|------|
| Análise por injeção em fluxo. Oxidação de S(IV) por permanganato em meio de H ₂ SO ₄ . Detector de contagem de fótons. | Coleta de ar | 0,078 | 0,16 - 3,12 | 9 |
| Método Indireto. Titulação de S(IV) com I ₂ , detecção do excesso de titulante a partir da reação quimiluminescente entre I ₂ e luminol em meio alcalino. | Coleta de ar | 1,0 | - | 10 |
| Análise por injeção em fluxo. Oxidação de S(IV) por permanganato em meio de H ₂ SO ₄ , empregando riboflavina ou sulfaflavina como fluoróforo. | - | 11 | 11 - 620 | 11 |
| Análise por injeção em fluxo. Oxidação de S(IV) por Ce(IV) em meio de H ₂ SO ₄ . Detector de contagem de fótons. | - | 0,03 | 0,03 - 7,8 | 12 |
| Sistema em fluxo para análise de SO ₂ gasoso. Efeito ativador de S(IV) na reação entre luminol e NO ₂ . | - | 0,6 ppb SO ₂ gasoso | 1 a 1000 ppb SO ₂ gasoso | 13 |
| Análise por injeção em fluxo. Oxidação de S(IV) por KMnO ₄ em meio de H ₂ SO ₄ , na presença de derivados de ciclohexanona. | - | 7,5 | 31 - 370 | 14 |
| Análise por injeção em fluxo. Oxidação de S(IV) por Ce(IV) em meio de H ₂ SO ₄ , na presença de derivados de ciclohexanona. | Coleta de ar | 100 x 10 ⁻⁵ | 120 - 2500 | 15 |
| Sistema em fluxo para análise de SO ₂ gasoso. Efeito ativador de S(IV) na reação entre luminol e H ₂ O ₂ . | Ar (fase gasosa) | 0,3 ppb SO ₂ gasoso | 1 a 1000 ppb SO ₂ gasoso | 16 |
| Análise por injeção em fluxo. Efeito supressor de S(IV) na reação quimiluminescente de luminol e H ₂ O ₂ catalisada por peroxidase na presença de EDTA. Eliminação de interferentes através de unidade de difusão gasosa. | Vinho | 100 | 100 - 8000 | 17 |
| Bio-sensor de fibra ótica baseado na imobilização de peroxidase e sulfito oxidase em diferentes membranas e seu efeito na quimiluminescência de luminol e H ₂ O ₂ . | Vinho | 5,0 | 10 - 1000 | 18 |

Tabela 1: Alguns exemplos de procedimentos para determinação de S(IV) por quimiluminescência (continuação)

| Observações | Matrizes | Limite de detecção (10^{-7} mol.L $^{-1}$) | Faixa Linear (10^{-7} mol.L $^{-1}$) | Ref. |
|---|-----------------------|--|--|------|
| Análise por injeção em fluxo. Oxidação de S(IV) por Ce(IV) em meio de H ₂ SO ₄ , na presença de ciclo-octilamina. | - | 5,4 | 5,4 - 1000 | 19 |
| Análise por injeção em fluxo. Reação entre sulfito, carbonato de sódio e cobre(II). Eliminação de interferentes via unidade de difusão gasosa. | Vinho | 5,0 | 10 - 5000 | 20 |
| Sensor em fluxo preparado a partir da imobilização de permanganato e fluoróforo riboflavina em resina de troca aniônica. | Vinho e Cerveja | 7,2 | 12 - 12000 | 21 |
| Análise por injeção em fluxo. Método indireto, baseado na geração de H ₂ O ₂ a partir da reação entre sulfito e sulfito oxidase (imobilizada) para posterior reação com luminol e peroxidase. Detector de contagem de fótons. | - | 0,003 | 0,03 - 10 | 22 |
| Sistema de injeção em fluxo. Reação entre S(IV) e luminol em meio fortemente alcalino na presença de O ₂ . | Coleta de ar | 1,0 | 3 - 100 | 23 |
| Sistema estático. Reação entre [Ru(bipy) ₃] ²⁺ , SO ₃ ²⁻ e K ₂ S ₂ O ₈ em meio de tensoativo de dodecilbenzenossulfonato de sódio (SDBS). | Coleta de ar e açúcar | 0,41 | 1,5 - 1000 | 24 |
| Sistema estático. Reação entre [Ru(bipy) ₃] ²⁺ , SO ₃ ²⁻ e KBrO ₃ em meio de tensoativo de dodecilbenzenossulfonato de sódio (SDBS). | Coleta de ar e açúcar | 0,038 | 0,25 - 950 | 25 |
| Sistema estático. Reação entre [Ru(bipy) ₃] ²⁺ , SO ₃ ²⁻ e KIO ₄ em meio de tensoativo de dodecilbenzenossulfonato de sódio (SDBS). | Coleta de ar e açúcar | 0,2 | 1 - 1000 | 26 |
| Sistema estático. Reação entre [Ru(phen) ₃] ²⁺ , SO ₃ ²⁻ e KMnO ₄ em meio de tensoativo de dodecilbenzenossulfonato de sódio (SDBS). | Ar | 0,045 | 1 - 250 | 27 |
| Sistema estático. Reação entre [Ru(phen) ₃] ²⁺ , SO ₃ ²⁻ e KIO ₄ em meio de tensoativo de dodecilbenzenossulfonato de sódio (SDBS). | Ar | 0,007 | 1 - 1500 | 28 |

Tabela 1: Alguns exemplos de procedimentos para determinação de S(IV) por quimiluminescência (continuação)

| Observações | Matrizes | Limite de detecção (10^{-7} mol.L ⁻¹) | Faixa Linear (10^{-7} mol.L ⁻¹) | Ref. |
|--|--------------------------------------|---|---|------|
| Análise por injeção em fluxo. Autooxidação de S(IV) na presença de rodamina-6G em meio de tensoativo Tween-80. Eliminação de íons metálicos por coluna de troca iônica. | Coleta de ar e medi-camento | 1,2 | 1,2 - 620 | 29 |
| Análise por injeção em fluxo. Autooxidação de S(IV) na presença de rodamina-6G em meio de tensoativo Tween-80. | Vinho e cerveja | 3,7 | 6,2 - 1200 | 30 |
| Análise por injeção em fluxo. Oxidação de S(IV) por Ag(II) gerado eletroquimicamente em meio ácido. | Coleta de ar | 1,7 | 4 - 100 | 31 |
| Análise por injeção em fluxo. Oxidação de S(IV) por Mn(III) gerado eletroquimicamente em meio ácido. | Coleta de ar | 0,8 | 3 - 1000 | 32 |
| Análise por injeção em fluxo. Reação entre S(IV) e [Ru(bipy) ₃] ³⁺ (imobilizado em resina de troca iônica) gerado por oxidação química com KMnO ₄ ou Ce(IV) em meio ácido. | Açúcar | 1,0 | 1 - 5000 | 33 |
| Oxidação de S(IV) por Ni(II)/tetraglicina na presença de luminol. Eliminação de interferentes através de unidade de difusão gasosa (método proposto) | Açúcar, sucos, vinho e água de chuva | 0,28 | 0,5 - 50 | |

Townshend e colaboradores⁽¹²⁴⁾ descobriram que a remoção de traços de íons metálicos das soluções de MnO_4^- e de derivados da ciclohexanona suprimia completamente a emissão de radiação decorrente da reação entre estas espécies e S(IV). Traços de íons metálicos de transição estariam, de maneira não elucidada pelos autores, atuando como catalisadores da reação.

Mais recentemente, Ag(II) e Mn(III), gerados eletroquimicamente, foram empregados como agentes oxidantes de S(IV) no desenvolvimento de método analítico para determinação de S(IV) com limite de detecção na faixa de $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ ^(141,142) por quimiluminescência.

Cu(II) em meio de tampão carbonato também é capaz de oxidar S(IV) com emissão de radiação⁽¹³⁰⁾. A emissão quimiluminescente observada foi atribuída a SO_2^* e ao intermediário 1,4-dioxetanodiona, resultante da reação entre o ânion carbonato e radicais gerados a partir da autooxidação de S(IV) catalisada por Cu(II). Este sistema foi utilizado para desenvolvimento de método analítico para determinação de S(IV) em amostras de vinho branco e tinto, empregando-se unidade de difusão gasosa para separação do analito da matriz.

O luminol é um reagente bastante utilizado no desenvolvimento de metodologias para determinação de S(IV) por quimiluminescência. Dióxido de enxofre em fase gasosa pode ser determinado a partir do efeito ativador de SO_2 na reação quimiluminescente entre luminol e NO_2 ⁽¹²³⁾. Posteriormente verificou-se que a utilização de H_2O_2 ao invés de NO_2 implicava em menor tempo de resposta e diminuição da interferência associada a outros gases⁽¹²⁶⁾.

Schmid e colaboradores⁽¹²⁷⁾ focaram o caráter supressor de S(IV) na reação quimiluminescente de luminol e H_2O_2 catalisada pela enzima peroxidase na presença de

EDTA. Um método indireto, no qual a reação enzimática entre sulfito oxidase e S(IV) gera H_2O_2 para posterior reação quimiluminescente com luminol e peroxidase, também encontra-se descrito na literatura⁽¹³²⁾.

Zhang e colaboradores⁽¹³³⁾ descreveram as potencialidades analíticas da reação direta entre luminol e S(IV) em meio fortemente alcalino. A reação entre luminol e o íon radical superóxido, $\text{O}_2^{\cdot-}$, resultante da reação entre S(IV) e O_2 , seria responsável pela emissão quimiluminescente observada⁽¹³³⁾. Huang e colaboradores associaram os radicais envolvidos na reação de autoxidação de S(IV) à geração de SO_2^* , capaz de transferir energia para o rodamina-6G, em meio micelar, com subsequente emissão de luz^(139,140). Ambos os trabalhos descreveram traços de alguns íons metálicos de transição, tais como Cu(II), Mn(II), Fe(II) e Fe(III), como sérios interferentes para a determinação de sulfito. Esta observação é coerente com diversos estudos que demonstram claramente o papel catalítico destes íons metálicos na autoxidação de S(IV), conforme destacado nos capítulos II e III.

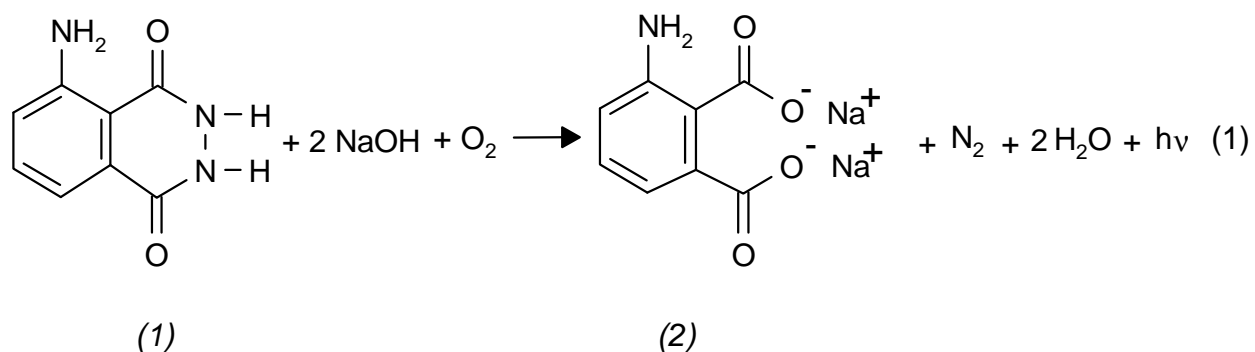
A reação entre $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$, SO_3^{2-} e KBrO_3 , em meio de tensoativo dodecilbenzenossulfonato de sódio (SDBS), permitiu a determinação de S(IV) em amostras de açúcar e ar com grande sensibilidade (10^{-9} mol L^{-1} , em solução aquosa) e boa faixa linear dinâmica ($2,5 \times 10^{-8}$ a $9,5 \times 10^{-5}$ mol L^{-1})⁽¹³⁵⁾. A utilização de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, KMnO_4 ou KIO_4 ao invés de KBrO_3 , assim como a substituição de $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ por $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ ⁽¹³⁴⁻¹³⁸⁾, leva à determinação de S(IV) com limites de detecção notavelmente baixos (10^{-10} a 10^{-8} mol L^{-1}). Equipamento convencional, empregando-se fotomultiplicadora como detector, foi utilizado para detecção da radiação gerada.

O mecanismo proposto é consistente com a ordem de adição dos reagentes ($[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{SDBS}/\text{S(IV)}/\text{KBrO}_3$), cuja alteração diminui drasticamente a intensidade

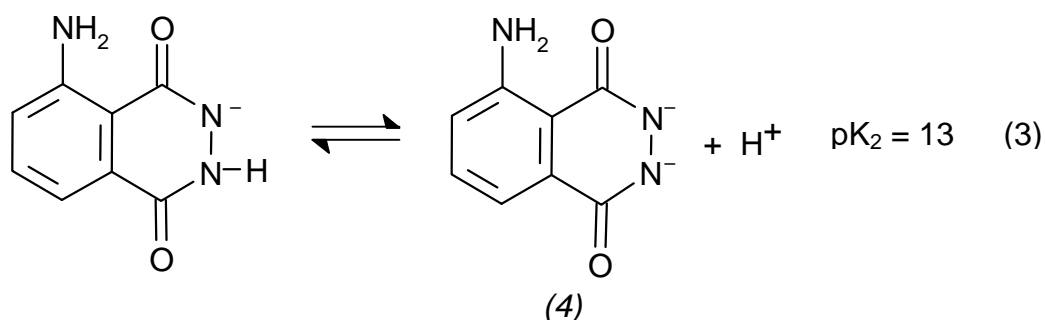
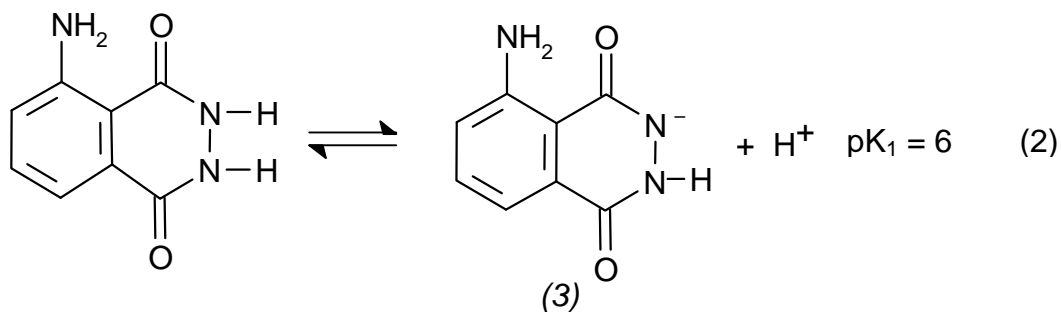
da radiação emitida. Mais uma vez, radicais do tipo $\text{SO}_3^{\cdot-}$ ou $\text{SO}_5^{\cdot-}$ estariam operando neste sistema⁽²⁵⁾ (capítulo IV, equações 3-8).

V.1.2. Considerações gerais sobre o luminol

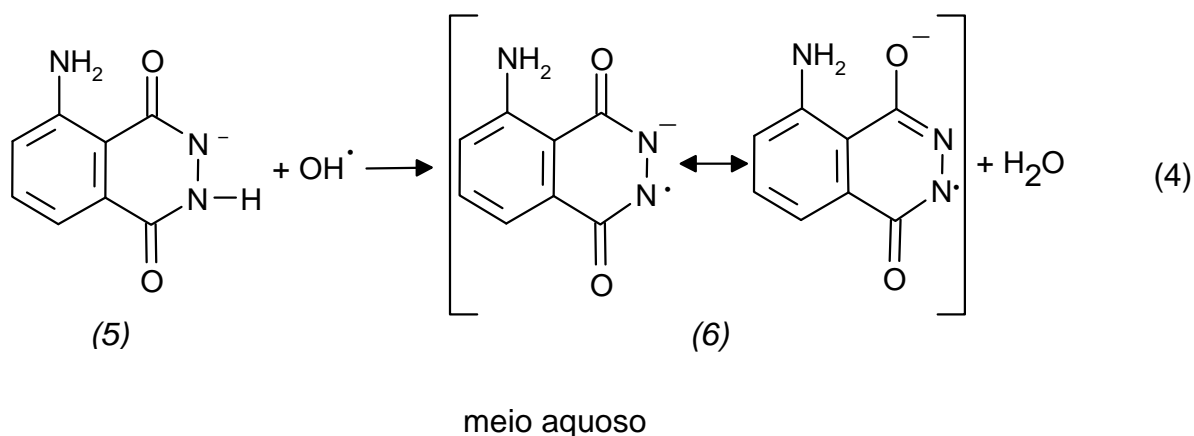
O luminol (5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona) é certamente um dos mais conhecidos substratos empregado em reações quimiluminescentes. A reação de oxidação do luminol por oxigênio ou peróxido de hidrogênio, em meio básico, é representada pela equação 1. O mecanismo conhecido, a ser discutido detalhadamente a seguir, envolve a formação de um ânion radical, que é rapidamente oxidado a uma diazaquinona⁽¹⁴⁶⁾. A diazaquinona, ao reagir com peróxido de hidrogênio, sofre eliminação de nitrogênio com abertura de anel, levando ao íon aminoftalato no estado excitado. Esta espécie, por sua vez, decai ao estado fundamental com emissão de radiação.



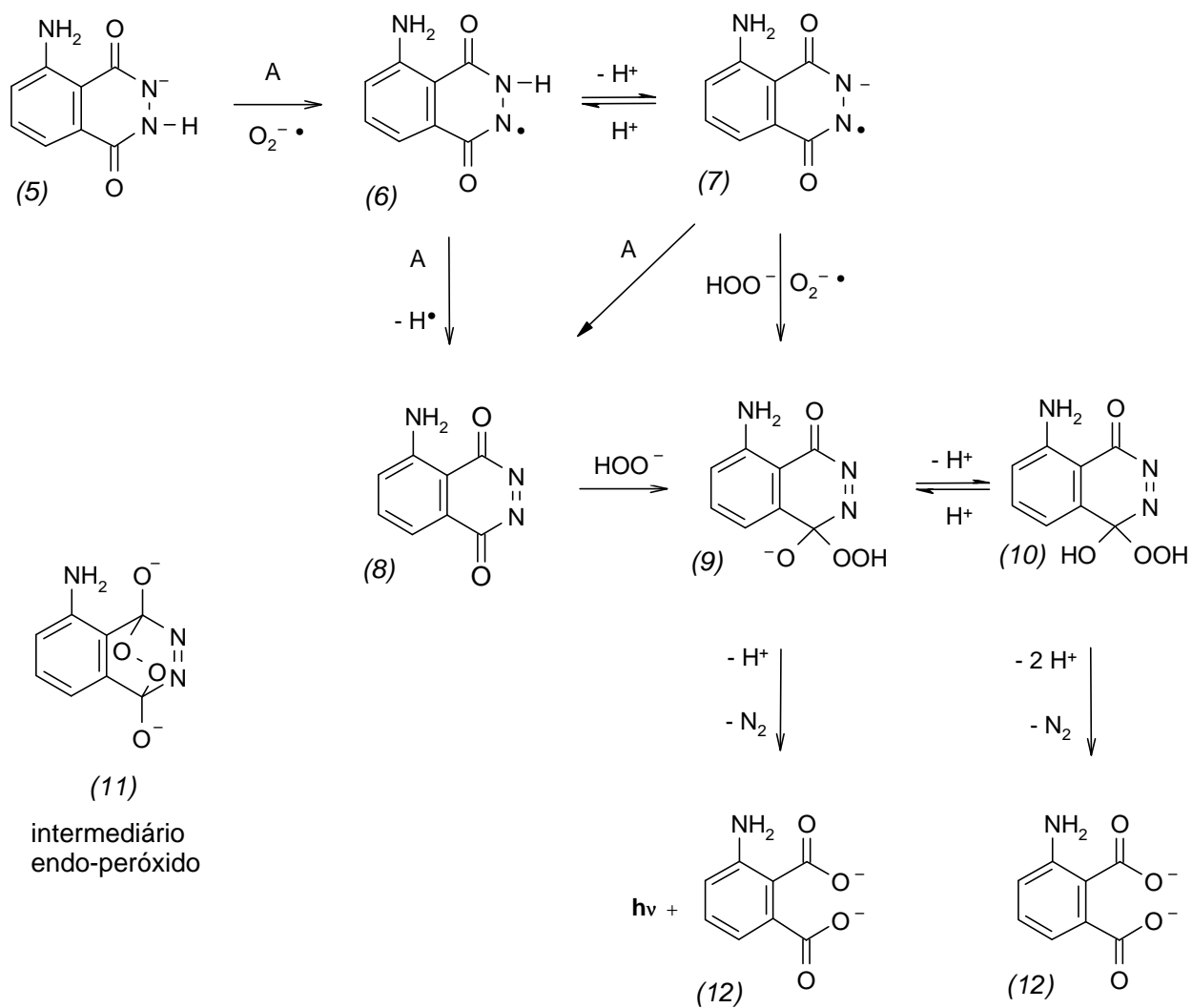
O equilíbrio ácido-base do luminol pode ser escrito como⁽¹⁴⁷⁾:



Em sistemas práticos somente o oxigênio não é suficiente para a oxidação do luminol, sendo necessária a presença de ativadores tais como íons metálicos de transição complexados ou não, além do peróxido de hidrogênio. A hipótese mais razoável é que, em solução aquosa, é necessária a formação do luminol ânion radical **(6)**, que então reage rapidamente com um oxidante (equação 4)⁽¹⁴⁶⁾.



O esquema I representa a sinopse de um provável mecanismo para a reação quimiluminescente⁽¹⁴⁸⁾, oxidado por H_2O_2 .



Esquema I - Esquema simplificado do mecanismo da reação quimiluminescente do luminol em meio alcalino, oxidado por H_2O_2 ⁽¹⁴⁸⁾.

Esta proposta considera, de maneira geral, as seguintes etapas⁽¹⁴⁸⁾:

- 1) oxidação do monoânion do luminol **(5)** por uma espécie oxidante **A** (radicais $\text{OH}\cdot$, O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$, cátions metálicos de transição e seus complexos ou mesmo alguns radicais de luminol);
- 2) estabelecimento do equilíbrio envolvendo o radical do luminol **(7)** e sua espécie desprotonada **(6)**;
- 3) formação do α -hidroxi-hidroperóxido **(9)**, por dois caminhos: (i) reação entre HO_2^- e a diazaquinona **(8)**, resultante da reação de oxidação do monoânion protonado **(7)** ou (ii) reação direta entre o luminol monoânion desprotonado **(6)** e o radical superóxido, formado lentamente a partir da reação entre O_2 e o próprio monoânion (autocatálise).
- 4) decomposição do α -hidroxi-hidroperóxido **(9)** resultando em emissão de radiação.

A etapa de formação de α -hidroxi-hidroperóxido **(9)** será determinada pela concentração de O_2 (que favorece a formação do superóxido) ou pela concentração de H_2O_2 no meio (que aumenta a velocidade de reação entre HO_2^- e a diazaquinona **(8)**). A radiação emitida pela reação com formação de superóxido tem um valor ótimo de intensidade de emissão em meio de pH 9,2, decorrente da reação entre este radical e os radicais **(6)** e **(7)**⁽¹⁴⁸⁾.

O reativo intermediário endo-peróxido **(11)**, provável precursor do produto eletronicamente excitado, ainda não foi detectado. Acredita-se que a elevada velocidade de decomposição desta espécie inviabiliza sua detecção⁽¹⁴⁹⁾.

Apesar da necessidade do conhecimento prévio dos mecanismo de reação e demais fatores essenciais à produção de luminescência para a otimização de métodos analíticos, a utilização da detecção quimiluminescente de maneira empírica tem se mostrado factível⁽¹⁴⁶⁾. A reação quimiluminescente do luminol aplica-se sobretudo à análise de cátions metálicos de transição. Co(II), Cr(III), Fe(III), Fe(II) e Mn(II) ativam ou inibem a reação, apresentando limites de detecção na faixa de 10^{-11} a 10^{-8} mol L⁻¹. As propostas para justificativa da ação catalítica destes cátions incluem a ativação da etapa de produção de radicais do H₂O₂, a formação do α -hidroxi-hidroperóxido ou ainda a decomposição do mesmo⁽¹⁴⁹⁾.

V.2. Parte experimental

A seguir estão descritos os procedimentos experimentais realizados no presente estudo. O preparo das soluções está descrito na página 168.

V.2.1. Preparação das amostras

a) Vinhos Branco e Tinto: preparadas por diluição direta de 0,400 a 2,00 mL de amostra com água deionizada a 100,0 mL em balão volumétrico, de modo a resultar em concentrações finais de S(IV) na faixa de $5,0 \times 10^{-8}$ a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (diluição de 50 a 250 vezes).

b) Sucos naturais concentrados: preparadas por diluição direta de 0,025 a 0,100 mL de amostra com água deionizada a 100,0 mL em balão volumétrico, de modo a resultar em concentrações finais de S(IV) na faixa de $1,0 \times 10^{-7}$ a $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ (diluição de 1000 a 4000 vezes).

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

d) Água de chuva: água de chuva recém-coletada foi analisada sem nenhum pré-tratamento.

V.2.2. Sistema em fluxo para separação do analito da matriz por unidade de difusão gasosa

A separação do analito da matriz das amostras diluídas antes da reação quimiluminescente foi feita empregando-se um sistema em fluxo contendo uma célula de difusão gasosa, conforme figura 1.

Neste sistema, soluções de H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e de amostras diluídas ou soluções-padrão de S(IV) (1×10^{-8} a $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) foram bombeadas a $1,7 \text{ mL min}^{-1}$ em um reator de 20 cm para liberação de dióxido de enxofre (solução doadora). A seguir, a mistura era conduzida até uma célula de difusão gasosa de $920 \mu\text{L}$ construída a partir de dois blocos de acrílico (figura 2). Uma membrana de politetrafluoretileno (PTFE) (tamanho dos poros $0,02 \mu\text{m}$ e espessura $0,45 \mu\text{m}$) foi disposta de modo a cobrir e dividir ao meio um canal de 4 mm de profundidade, 2 mm de largura e 115 mm de comprimento, arranjado no formato de chicanas. Solução aceptora de NaOH $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ foi bombeada em sentido contrário a $0,25 \text{ mL min}^{-1}$ e admitida na secção superior do canal da célula de difusão. A solução de NaOH resultante, contendo S(IV) proveniente da amostra e livre das espécies presentes na matriz, foi então coletada para imediata análise.

V.2.3. Determinação de S(IV) por quimiluminescência

As medidas de quimiluminescência foram efetuadas utilizando-se um luminômetro Bertold Lumat LB 3507. Neste equipamento, uma cubeta cilíndrica de 1,5 mL de polipropileno, contendo a amostra ou quaisquer outros reagentes, é posicionada

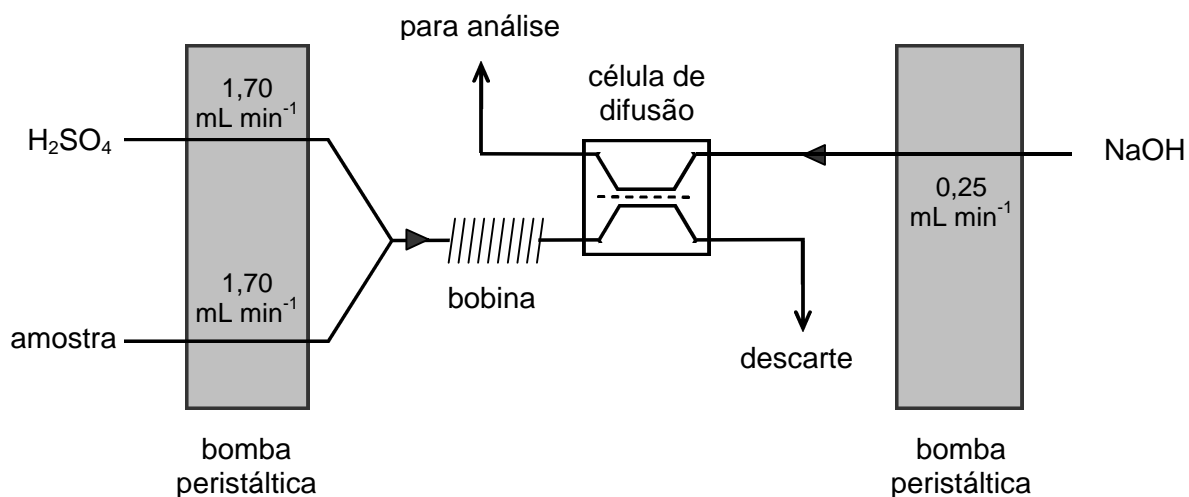


Figura 1: Diagrama esquemático do sistema em fluxo para separação do analito da matriz para determinação de S(IV) por quimiluminescência. H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Comprimento da bobina para mistura 20 cm. Diâmetro interno dos tubos 0,8 mm.

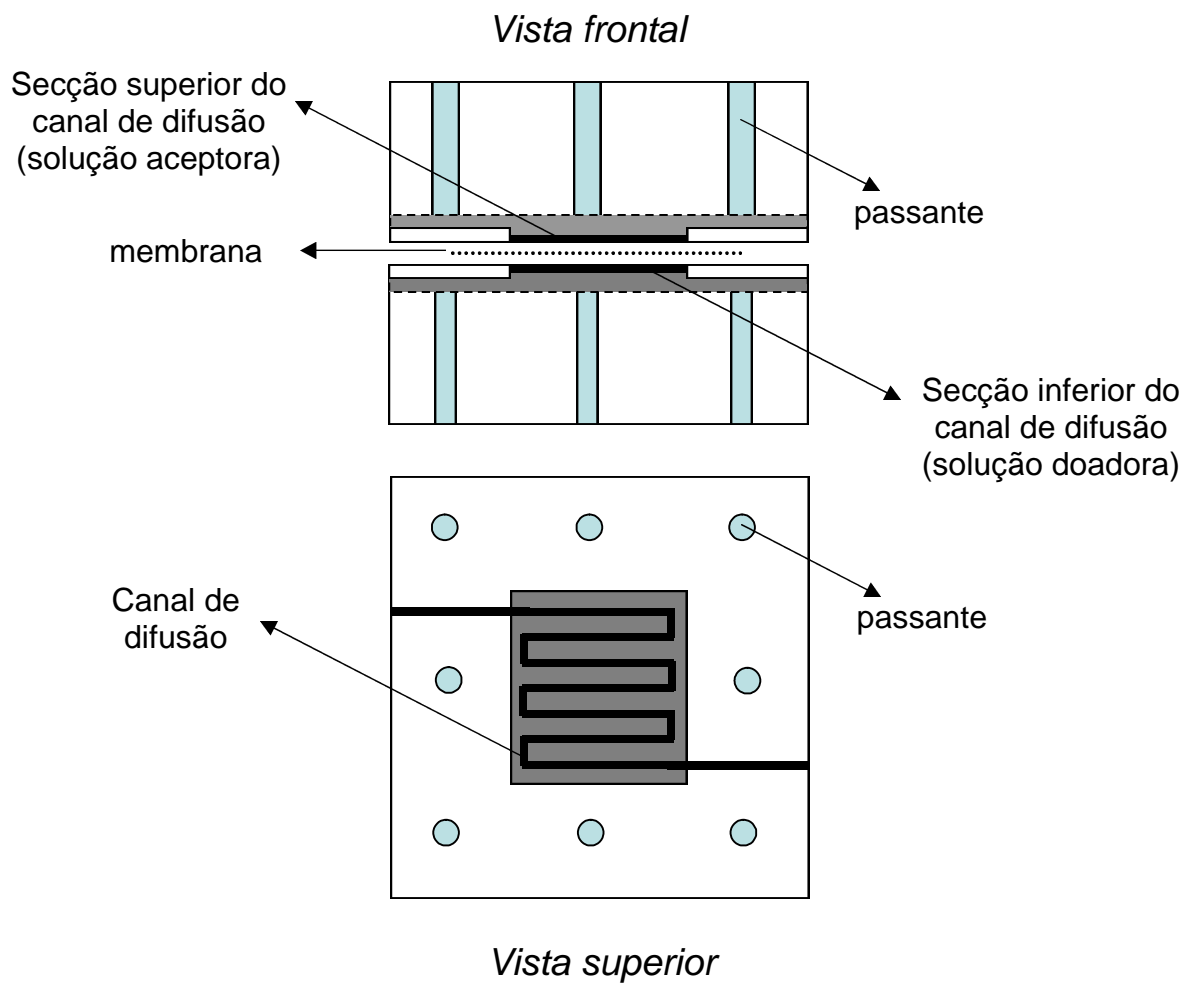


Figura 2: Vistas frontal e superior da célula de difusão empregada no sistema em fluxo para separação do analito da matriz para determinação de S(IV).

em um compartimento interno ao abrigo do luz ambiente, em cuja base encontra-se uma fotomultiplicadora que capta a radiação gerada na reação quimiluminescente sem discriminação de comprimento de onda na faixa de 330 a 650 nm. As paredes internas deste compartimento são espelhadas internamente de modo a refletir a luz gerada em direção à fotomultiplicadora, maximizando assim a sensibilidade dos procedimentos de análise.

A mistura seqüencial dos reagentes é obtida a partir da injeção de 10 a 300 μL de um ou dois reagentes dentro de um intervalo mínimo de 0,7 s. Os reagentes são injetados a alta pressão, sendo introduzidos na cubeta de polipropileno a uma velocidade suficiente para promover uma mistura instantânea e eficiente das soluções. Deste modo, são obtidos resultados com ótima reprodutibilidade.

De maneira geral, os estudos foram conduzidos adicionando-se à cubeta, com auxílio de micropipeta, 300 μL da solução aceptora de $\text{NaOH } 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ contendo S(IV) . A seguir, a cubeta foi introduzida no equipamento, seguindo-se a injeção de 50 μL soluções de luminol $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e, após 1 s, 300 μL de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $6,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de ligante em excesso) em tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$) com início imediato da aquisição dos valores de luminescência por um tempo de 30 segundos.

O sinal analítico foi avaliado a partir do valor de intensidade máxima de radiação emitida (I_{max}). Cada amostra ou solução-padrão foi analisada 5 vezes repetidamente. Uma curva analítica foi construída relacionando a média dos valores de I_{max} com a concentração de S(IV) . Esta curva foi utilizada para a determinação da concentração de S(IV) nas amostras de vinho, suco concentrado ou água de chuva.

V.2.4. Comparação dos resultados com metodologia espectrofotométrica para determinação de S(IV)

A determinação de S(IV) por espectrofotometria foi realizada misturando-se, na proporção 1:1, solução do complexo de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$ $2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$) soluções de S(IV) $(0-10) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ou solução aceptora de NaOH contendo S(IV). Foram empregadas cubetas do tipo Tandem (caminho óptico 1,0 cm). Estas possuem 2 compartimentos isolados de 1 mL cada, sendo possível efetuar a mistura das soluções momentos antes da mistura.

Utilizando-se água como referência, as soluções do complexo e de S(IV) foram misturadas por agitação manual. A absorbância a 365 nm foi registrada com um espectrofotômetro HP 8453, decorridos 30 segundos após a mistura. Uma curva analítica foi obtida, relacionando o valor de absorbância em 365 nm, após 30 segundos de reação, à concentração de S(IV) na faixa de $(0,5-10) \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Estudos anteriores⁽¹¹⁶⁾ demonstraram a concordância dos resultados obtidos empregando-se a metodologia espectrofotométrica proposta e o método padrão de Monier-Williams⁽¹⁵⁰⁾ para a determinação de sulfito em vinhos.

V.3. Resultados e discussão

Estudos demonstraram que a mistura de soluções de luminol e $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em tampão borato (pH = 9,2) é acompanhada de emissão de radiação de baixa intensidade. A subsequente adição de S(IV) a esta mistura aumenta a intensidade desta emissão; este aumento é função da concentração da solução de S(IV) adicionada. A figura 3 mostra os perfis de intensidade de emissão de radiação em função do tempo para diferentes concentrações de S(IV) adicionado a uma mistura de luminol $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $6,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de ligante em excesso) em tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2), demonstrando o efeito de S(IV).

Da figura 3, observa-se que o aumento da concentração de S(IV) altera a intensidade da emissão de luz. Há diminuição da largura e aumento da altura do pico, isto é, a reação é mais rápida e a intensidade de radiação mais intensa. Os perfis de intensidade de radiação emitida em função do tempo demonstram ainda que o tempo decorrido até que o valor de intensidade máxima seja atingido (período de indução) diminui com o aumento da concentração de S(IV). A relação linear de intensidade máxima da radiação emitida (I_{max}) com a concentração de S(IV) permitiu avaliar a concentração de S(IV) na amostra.

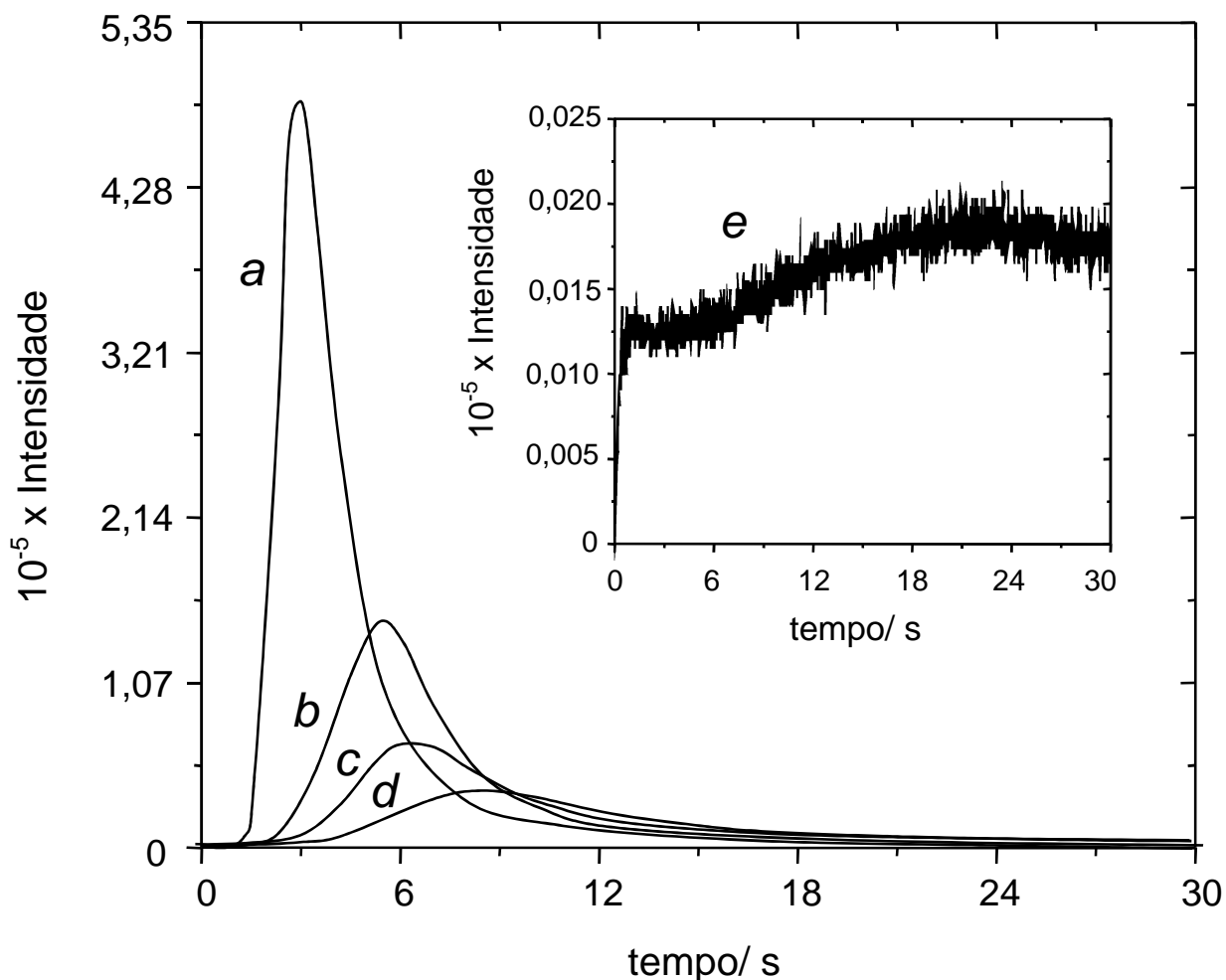


Figura 3: Intensidade de radiação emitida em função do tempo decorrente de mistura de 300 μL de S(IV) ($a = 5,0$; $b = 2,0$; $c = 1,0$; $d = 0,60$; $e = 0$) $\times 10^{-7}$ mol L^{-1} , 50 μL de luminol 1×10^{-5} mol L^{-1} e 300 μL de Ni(II)/tetraglicina $6,6 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} (100% de ligante em excesso) em tampão borato 0,1 mol L^{-1} (pH = 9,2). Soluções saturadas com ar.

V.3.1. Efeito da ordem de adição dos reagentes

A ordem de mistura dos reagentes foi avaliada em função do quociente entre I_{\max} obtida na presença e na ausência de S(IV) ($I_{\max \text{ S(IV)}}/I_{\max \text{ branco}}$). A relação $I_{\max \text{ S(IV)}}/I_{\max \text{ branco}}$ permite avaliar a condição em que o efeito ativador de S(IV) é máximo, de modo a assegurar a maior sensibilidade na detecção do analito. Para isto, soluções de luminol, Ni(II)/tetraglicina e S(IV) (ou água, utilizada com branco) foram misturadas seqüencialmente em todas as combinações possíveis (tabela 2).

Observando-se a tabela 2, é possível concluir que o efeito ativador de S(IV) diminui significativamente apenas quando a solução de luminol é a última a ser adicionada (menor valor do quociente $I_{\max \text{ S(IV)}}/I_{\max \text{ branco}}$). Esta razão se mantém dentro de um patamar praticamente constante considerando-se as outras combinações possíveis. Do ponto de vista operacional, é mais prático adotar um arranjo que permita a adição dos reagentes luminol e Ni(II)/tetraglicina através dos injetores do luminômetro, estando a amostra já presente na cubeta colocada no compartimento próprio do equipamento. Deste modo, a ordem de adição dos reagentes adotada foi a seguinte:

- 1º: S(IV) (adição manual na cubeta através de micropipeta);
- 2º: luminol (injeção automática pelo equipamento via injetor 1);
- 3º: Ni(II)/tetraglicina (injeção automática pelo equipamento via injetor 2).

Tabela 2: Efeito da ordem de adição dos reagentes. Relação $I_{\max S(IV)}/I_{\max \text{branco}}$ obtida a partir da mistura de 300 μL de S(IV) $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ou água, 50 μL de luminol $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e 300 μL de Ni(II)/tetraglicina $6,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de ligante em excesso) em tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2). Soluções saturadas com ar.

| ORDEM DE ADIÇÃO | | | $10^{-3} \times \frac{I_{\max S(IV)}}{I_{\max \text{branco}}}$ |
|---------------------|-----------------|---------|--|
| Ni(II)/tetraglicina | S(IV) (ou água) | Luminol | |
| 1 | 2 | 3 | 0,38 |
| 1 | 3 | 2 | 0,66 |
| 2 | 1 | 3 | 0,39 |
| 2 | 3 | 1 | 0,70 |
| 3 | 1 | 2 | 0,70 |
| 3 | 2 | 1 | 0,68 |

V.3.2. Efeito da adição de tensoativos

O efeito de diferentes tensoativos na intensidade de radiação emitida pelo sistema S(IV)/luminol/ $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ foi novamente avaliado a partir da relação $I_{\max S(IV)}/I_{\max \text{branco}}$. Experimentalmente, 50 μL de solução de tensoativo (concentração 10 vezes acima da respectiva CMC) foi adicionado a uma cubeta contendo água ou S(IV) $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, seguindo-se a injeção de 50 μL de solução de luminol $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e 300 μL de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ $6,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de ligante em excesso) em tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os tensoativos utilizados neste estudo foram: dodecilssulfato de sódio (aniônico), Tween 20, Tween 80, BRIJ 35, BRIJ 76 e Triton X-100 (não-iônicos).

De maneira geral, verificou-se que a presença de tensoativos no meio não altera a intensidade de emissão da reação entre S(IV), luminol e Ni(II)/tetraglicina. Por outro

lado, o valor de I_{\max} na ausência de S(IV) ($I_{\max \text{ branco}}$) foi aumentado em até 10 vezes por todos os tensoativos, traduzindo-se por uma relação $I_{\max \text{ S(IV)}}/I_{\max \text{ branco}}$ mais desfavorável.

Acredita-se que impurezas presentes nos tensoativos concentrados, a partir do qual as soluções foram preparadas, sejam responsáveis por interagir com o complexo de Ni(II)/tetraglicina e assim oxidar luminol na ausência de S(IV). Dentre estas impurezas, figura o peróxido de hidrogênio, presente ao nível de $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em soluções concentradas comerciais de tensoativos como triton X-100 e BRIJ 35⁽¹⁵¹⁾. Na presença de S(IV), não foi observado nenhum efeito devido à estas impurezas.

Soluções de α -ciclodextrina 1×10^{-3} , 1×10^{-4} e $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ também foram empregadas neste estudo. Não foi observada nenhuma modificação na emissão de radiação do sistema químico S(IV)/luminol/Ni(II)/tetraglicina, tanto na ausência quanto na presença de S(IV).

V.3.3. Efeito da concentração de luminol

A dependência do sinal analítico com a concentração de luminol, mais uma vez expresso através da relação $I_{\max \text{ S(IV)}}/I_{\max \text{ branco}}$, encontra-se representada na figura 4. Esta relação aumenta com a concentração de luminol até um valor de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, quando então começa a decair. Este perfil pode ser justificado a partir do estabelecimento de um equilíbrio competitivo de complexação pelos íons de Ni(II) entre tetraglicina e luminol, o qual pode agir como um ligante bidentado.

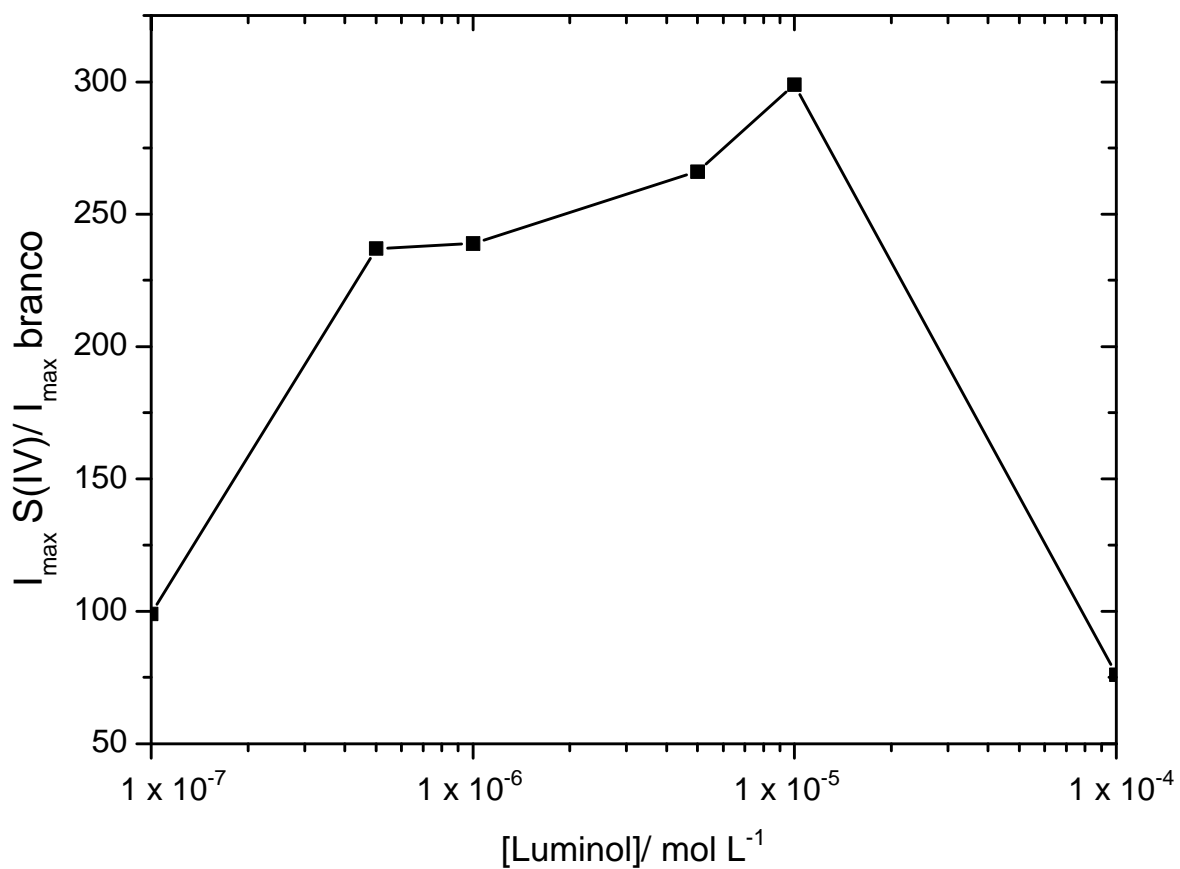


Figura 4: Efeito da concentração de luminol. Relação $I_{\max} S(IV)/I_{\max} \text{branco}$ obtida a partir da mistura de 300 μL de S(IV) $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ou água, 50 μL luminol ($1 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-4}$) mol L^{-1} e 300 μL de Ni(II)/tetraglicina $6,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de ligante em excesso) em tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2). Soluções saturadas com ar.

Deste modo, a concentração de luminol foi fixada em 1×10^{-5} mol L⁻¹ para estudos posteriores.

V.3.4. Efeito da concentração de Ni(II)/tetraglicina

O efeito da concentração do complexo de Ni(II)/tetraglicina, em meio de tampão borato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 9,2), pode ser verificado na figura 5. Quando na concentração de $6,7 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (100% de ligante em excesso), um valor máximo para a relação $I_{\max S(IV)}/I_{\max \text{ branco}}$ é atingido. Esta foi, portanto, a concentração de Ni(II)/tetraglicina adotada para estudos posteriores.

Para concentrações de Ni(II)/tetraglicina acima de 1×10^{-4} mol L⁻¹, a intensidade máxima de radiação emitida (I_{\max}) na ausência de S(IV) é muito elevada. Este efeito pode ser atribuído ao subsequente aumento na concentração dos intermediários da reação de oxidação de Ni(II)/tetraglicina pelo oxigênio. De acordo com Margerum e colaboradores⁽¹⁵²⁾, alguns destes intermediários incluem o radical superóxido, peróxido de hidrogênio e um hidroperóxido do ligante tetraglicina oxidado complexado a Ni(II) (equações 1-9, capítulo II). Estas espécies podem, por sua vez, ser responsáveis pela oxidação direta de luminol com emissão de radiação na ausência de S(IV) (esquema I).

É importante ressaltar que a solução de Ni(II)/tetraglicina $6,7 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (100% de ligante em excesso) deve ser utilizada dentro de um período máximo de uma hora após a preparação. Ultrapassado este prazo, a emissão de radiação decorrente da mistura das soluções do complexo e luminol na ausência de S(IV) é muito intensa (figura 6) e não há período de indução (comparar com figura 3).

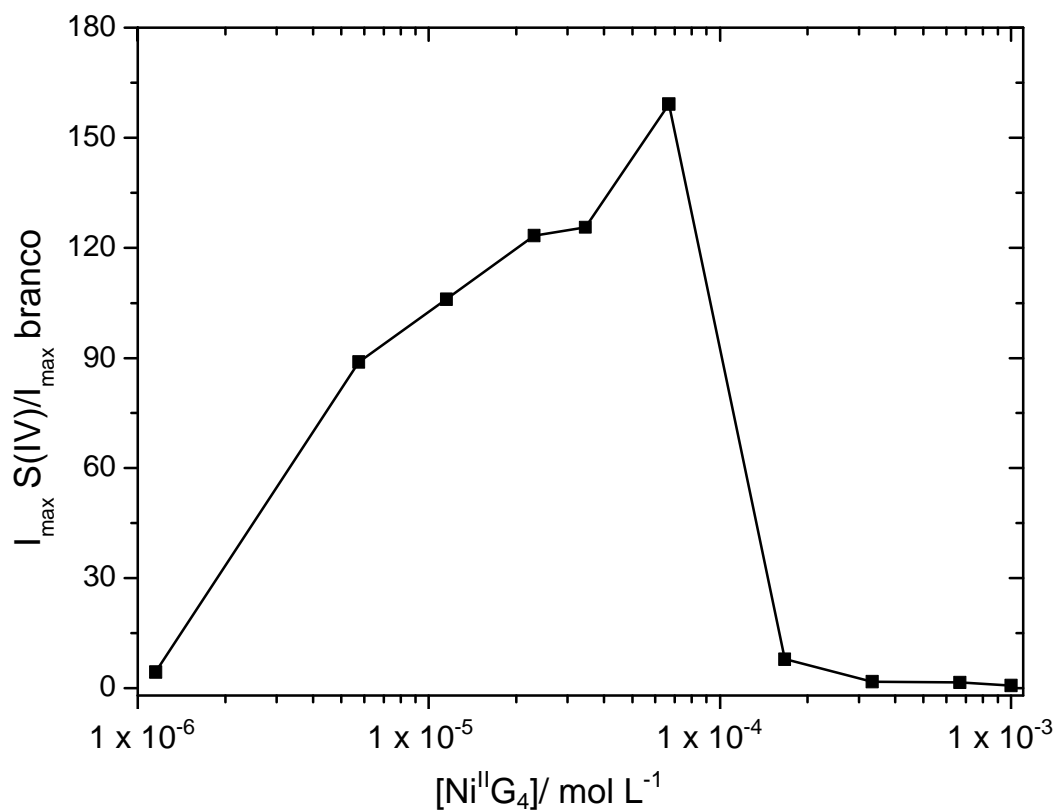


Figura 5: Efeito da concentração de Ni(II)/tetraglicina. Relação $I_{max\ S(IV)} / I_{max\ branco}$ obtida a partir da mistura de 300 μL de S(IV) 1×10^{-6} mol L^{-1} ou água, 50 μL luminol 1×10^{-5} mol L^{-1} e 300 μL de Ni(II)/tetraglicina $(0-1) \times 10^{-3}$ mol L^{-1} (100% de ligante em excesso) em tampão borato 0,1 mol L^{-1} (pH = 9,2). Soluções saturadas com ar.

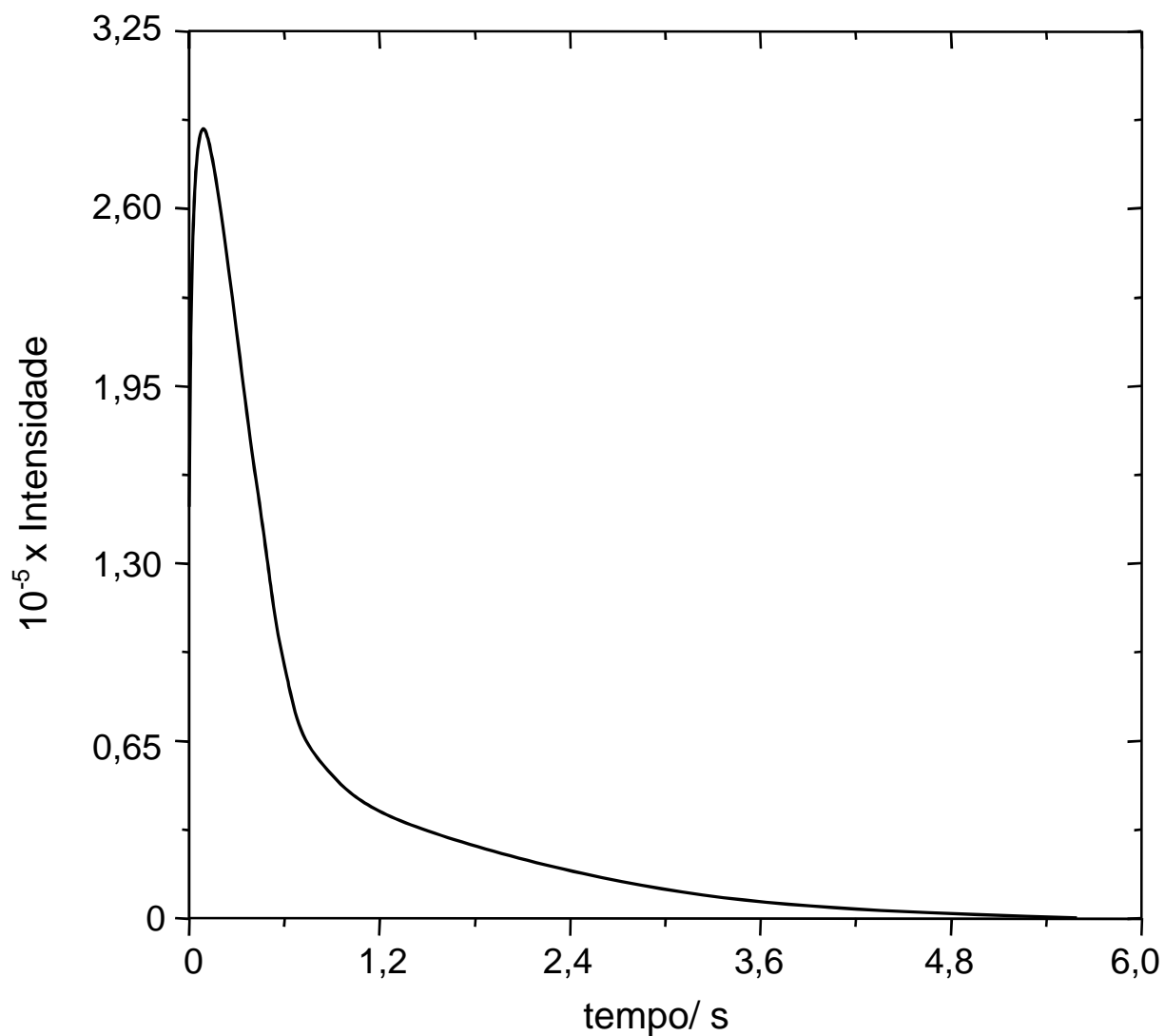


Figura 6: Intensidade de radiação emitida em função do tempo decorrente da adição de 50 μL luminol $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a 300 μL de solução Ni(II)/tetraglicina $6,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de ligante em excesso) em tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$) mantida em repouso por duas horas após a preparação. Soluções saturadas com ar.

V.3.5. Curva analítica

De acordo com as condições ótimas para detecção de S(IV) discutidas nos itens V.3.1 a V.3.4 e descritas na tabela 3, foram elaborados experimentos para obtenção de uma curva analítica para S(IV) (figura 7).

Tabela 3: Condições ótimas para a detecção de S(IV).

| Parâmetro | Condição Ótima |
|--|--|
| [luminol] | $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ |
| [Ni ^{II} G ₄] em tampão borato 0,1 mol L ⁻¹ (pH = 9,2) | $6,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de ligante em excesso) |
| Volume de solução de luminol | 50 μL |
| Volume de solução de Ni ^{II} G ₄ | 300 μL |
| Volume de amostra | 300 μL |
| Ordem de adição dos reagentes | 1º S(IV); 2º luminol; 3º Ni ^{II} G ₄ |

Foi obtida uma relação linear entre I_{max} e S(IV) na faixa de 5×10^{-8} a $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 10$, $r^2 = 0,9998$), com limite de detecção estimado de $2,8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (3 vezes o desvio padrão do coeficiente linear dividido pelo coeficiente angular da equação da curva analítica). Quando considerada a área do respectivo sinal quimiluminescente, a faixa de linearidade é menor (5×10^{-8} a $2,5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), assim como o coeficiente de correlação da reta obtida ($r^2 = 0,9986$). Deste modo, optou-se pelo uso de I_{max} como sinal analítico.

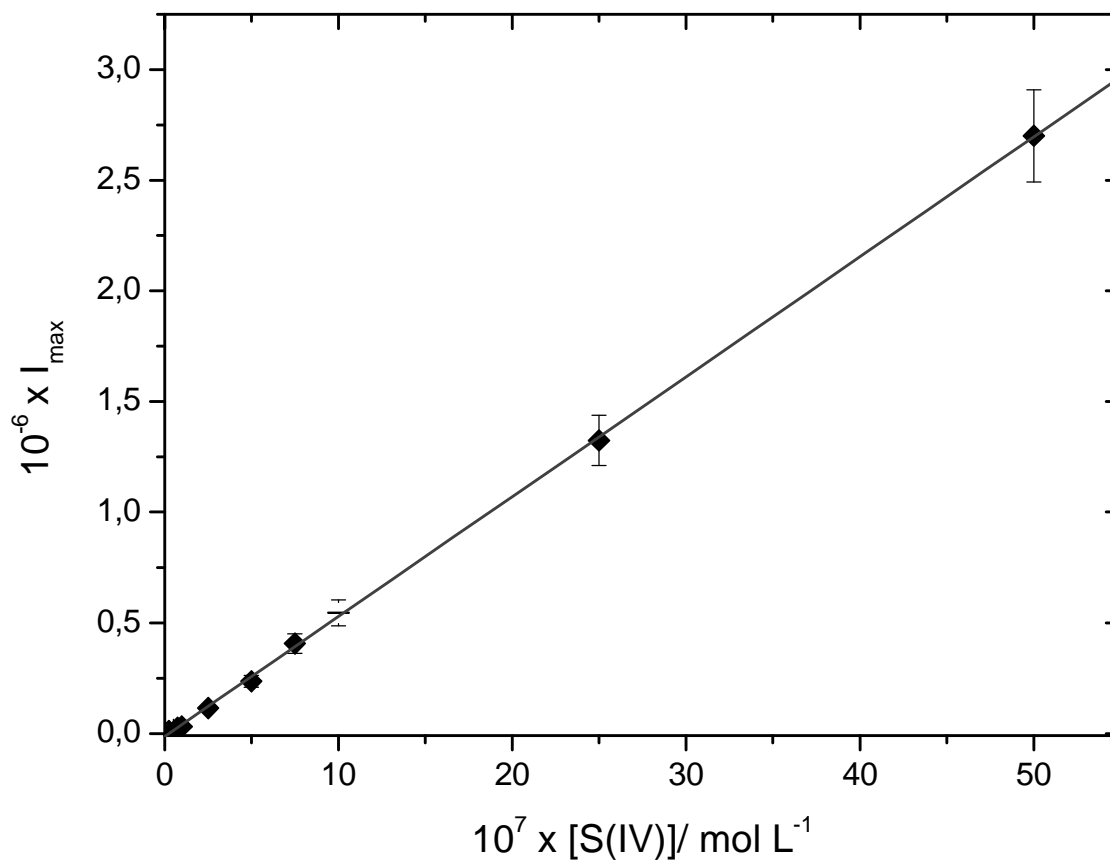


Figura 7: Curva analítica para S(IV). I_{max} obtido a partir da mistura de 300 μL de S(IV) (5×10^{-8} - 5×10^{-6}) mol L^{-1} , 50 μL luminol 1×10^{-5} mol L^{-1} e 300 μL de Ni(II)/tetraglicina $6,6 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} (100% de ligante em excesso) em tampão borato $0,1$ mol L^{-1} (pH = 9,2). Soluções saturadas com ar.

É importante ressaltar que os valores utilizados referem-se à média de 5 determinações de uma mesma solução de S(IV). Os estudos apresentados no capítulo III (item III.3.3) demonstraram que, na presença de íons metálicos na faixa de concentração de 1×10^{-4} mol L⁻¹, S(IV) ao nível de 9×10^{-5} mol L⁻¹ (solução aquosa saturada com ar) é totalmente oxidado após cerca de duas horas. Para soluções mais diluídas de S(IV) este é um efeito que não pode ser negligenciado, ainda mais se considerado que Fe(III) pode estar presente em níveis próximos a 10^{-8} mol L⁻¹ mesmo em água altamente purificada⁽¹⁵³⁾. Deste modo, todas as soluções de S(IV) foram utilizadas imediatamente após a preparação, a partir de diluição direta de solução estoque 1×10^{-3} mol L⁻¹.

V.3.6. Separação do analito da matriz

A aplicação do sistema quimiluminescente proposto para determinação de S(IV) em amostras comerciais ou ambientais requer um pré-tratamento eficiente para remoção de eventuais interferentes. Íons metálicos de transição podem ocasionar sinergismo positivo ou negativo no que se refere à autooxidação de S(IV) catalisada por Ni(II)/tetraglicina. Açúcares ou quaisquer substratos orgânicos que possam atuar como seqüestrantes de radicais impedem as etapas de propagação da cadeia envolvendo radicais de enxofre. Peróxido de hidrogênio, na presença de traços de íons metálicos, oxida luminol com produção de luz.

Neste contexto, o uso de processos de separação a partir de sistemas de difusão gasosa surge como uma solução atraente para remoção destes interferentes. Uma das vantagens inerente a esta abordagem consiste na substituição de procedimentos

clássicos (filtração, extração, precipitação, dentre outros), normalmente dispendiosos e demorados, por métodos de análise “on-line”. Encontram-se descritos na literatura diversos trabalhos que empregam sistemas de separação através de membrana microporosa, para separação de sulfito a partir de matrizes complexas, acoplado a diferentes técnicas para detecção de S(IV)^(127, 130, 154-156).

Na maioria das montagens experimentais propostas, a amostra contendo sulfito é misturada em fluxo a uma solução de ácido sulfúrico para liberação de dióxido de enxofre. A solução resultante é então introduzida em um módulo de difusão gasoso contendo uma membrana microporosa. Neste módulo, o SO₂ é captado em um fluxo acceptor e direcionado para o detector. Este tratamento permite a determinação de sulfito livre na amostra. Já a determinação do S(IV) total requer uma etapa prévia de adição de solução de NaOH para liberação do SO₂ ligado a certos compostos orgânicos, tais como aldeídos⁽¹⁵⁷⁾, e não foi alvo destes estudos.

O sistema de difusão gasoso utilizado para preparação de amostras baseia-se essencialmente no mesmo princípio (figura 1). Verificou-se que o aproveitamento global do SO₂ liberado a partir da mistura de S(IV) 1x10⁻⁶ mol L⁻¹ com solução de H₂SO₄ 1 mol L⁻¹ por uma solução acceptora de NaOH 1x10⁻⁴ mol L⁻¹, sob condições ótimas, é bastante elevado. Estas condições incluem a admissão das soluções doadora e acceptora respectivamente nas secções inferior e superior da célula de difusão gasosa em contracorrente, a diferentes vazões. A tabela 4 mostra como a diferença de vazão entre as soluções acceptora e doadora altera o aproveitamento global do processo de liberação e captação de SO₂ a partir de solução aquosa de S(IV), mediante comparação com o sinal analítico resultante da detecção da mesma solução de S(IV) não submetida ao pré-tratamento proposto.

Tabela 4: Efeito das vazões de solução aceptora ($\text{NaOH } 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e doadora ($\text{H}_2\text{SO}_4 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{S(IV) } 1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) no sistema em fluxo para separação do analito da matriz (figura 1). Detecção quimiluminescente obtida a partir da mistura de 300 μL de solução contendo S(IV) , 50 μL luminol $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e 300 μL de Ni(II) /tetraglicina $6,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (100% de ligante em excesso) em tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 9,2$). Soluções saturadas com ar.

| Vazão de solução de H_2SO_4 e amostra/ mL min^{-1} | Vazão da solução de NaOH / mL min^{-1} | $10^{-5} \times I_{\text{max}}$ |
|---|--|---------------------------------|
| 0,22 | 0,22 | 0,23 |
| 0,45 | 0,45 | 0,22 |
| 0,86 | 0,22 | 2,3 |
| 1,70 | 0,25 | 5,6 |
| 1,70 | 0,10 | 5,8 |
| $\text{S(IV) } 1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ sem pré-tratamento | | 9,6 |

Embora o sinal analítico aumente com a diferença de vazão, é necessária a escolha de uma condição que não comprometa a freqüência de amostragem. Deste modo, foi estabelecido um fluxo de $1,70 \text{ mL min}^{-1}$ para solução doadora e $0,25 \text{ mL min}^{-1}$ para a solução aceptora (tabela 5). Esta condição permite uma freqüência de amostragem de cerca de $12 \text{ determinações.h}^{-1}$, levando-se em conta um tempo médio de 5 minutos para obtenção de pouco mais de $1000 \mu\text{L}$ de solução aceptora contendo com S(IV) . Outros autores^(127, 130) optaram por maximizar o rendimento do processo de difusão gasosa de SO_2 mantendo a célula de difusão em banho termostático a uma temperatura de 50°C , o que aumenta a complexidade da montagem experimental.

Tabela 5: Condições ótimas para a separação do analito da matriz para determinação de S(IV) empregando-se sistema em fluxo com célula de difusão gasosa (figura 1).

| Parâmetro | Condição Ótima |
|--|---|
| [H ₂ SO ₄] | 1,0 mol L ⁻¹ |
| [NaOH] | 1,0x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ |
| Vazão de solução de H ₂ SO ₄ | 1,70 mL min ⁻¹ |
| Vazão de amostra | 1,70 mL min ⁻¹ |
| Vazão de solução de NaOH | 0,25 mL min ⁻¹ (em contra-fluxo) |
| Comprimento de bobina de mistura | 20 cm |
| Volume da célula de difusão | 920 µL |

A célula de difusão gasosa empregada no presente estudo também foi utilizada por Corbo⁽¹⁵⁴⁾. Originalmente, este autor desenvolveu um sistema em fluxo em que uma célula amperométrica para detecção de S(IV) foi acoplada à unidade de difusão gasosa em questão (figura 2). A metodologia proposta foi aplicada para determinação de sulfito livre em amostras de vinhos branco e tinto e os resultados foram concordantes com aqueles obtidos a partir de metodologia padrão de Monier-Williams⁽¹⁵⁰⁾. Todavia, não foi relatado o efeito da diferença de vazão das soluções aceptora e doadora no aproveitamento global do processo de difusão gasosa de SO₂.

O efeito de carbonato e etanol no sinal analítico foi avaliado adicionando-se individualmente estas espécies a uma solução de S(IV) 1x10⁻⁶ mol L⁻¹. Este estudo de interferência é justificado por (i) possibilidade de ocorrência de um processo de difusão de CO₂ em moldes similares àquele descrito para SO₂ e (ii) comprovação de que a membrana de PTFE utilizada na construção da célula de difusão permite a permeação de uma pequena fração de metanol e etanol presente na amostra de vinho⁽¹⁵⁴⁾. Verificou-se, todavia, que ambas espécies não alteram a resposta analítica do sistema

de detecção quimiluminescente para S(IV) até um nível de concentração de 10^{-2} mol L⁻¹ para carbonato e 10% (v/v) de etanol.

V.3.7. Determinação de S(IV) livre em amostras de vinho e sucos concentrados

A tabela 6 apresenta os resultados obtidos para a determinação de S(IV) livre para amostras de sucos, vinhos branco e tinto através do método proposto. As amostras foram diluídas convenientemente, de modo a resultar em soluções de concentração da ordem de 5×10^{-8} mol L⁻¹ a 5×10^{-6} mol L⁻¹, e introduzidas no sistema em fluxo de separação do analito da matriz conforme descrito no item V.2.3. A seguir, 300 µL de solução aceptora contendo S(IV) foram coletados e analisados para S(IV) conforme descrito no item V.2.4.

Tabela 6: Determinação de S(IV) livre em amostras de sucos concentrados e vinhos, através de detecção por métodos quimiluminescente e espectrofotométrico (n = 3).

| Amostra | S(IV) livre/ mol L ⁻¹ | |
|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | Espectrofotometria | Quimiluminescência |
| Vinho Branco 1 | $(3,48 \pm 0,05) \times 10^{-4}$ | $(3,50 \pm 0,01) \times 10^{-4}$ |
| Vinho Tinto 1 | $(1,4 \pm 0,2) \times 10^{-4}$ | $(1,37 \pm 0,01) \times 10^{-4}$ |
| Vinho Tinto 2 | $(1,5 \pm 0,2) \times 10^{-4}$ | $(1,49 \pm 0,02) \times 10^{-4}$ |
| Suco de Caju 1 | $(2,00 \pm 0,06) \times 10^{-3}$ | $(1,98 \pm 0,03) \times 10^{-3}$ |
| Suco de Abacaxi 1 | $(4,30 \pm 0,02) \times 10^{-4}$ | $(4,3 \pm 0,1) \times 10^{-4}$ |

Os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos a partir de metodologia de detecção espectrofotométrica de S(IV) (vide item V.2.4). O processo de preparação das amostras foi idêntico ao destinado à detecção quimiluminescente. Houve a precaução de adequação da diluição da amostra original à faixa de trabalho do método espectrofotométrico, ou seja, $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

O método espectrofotométrico se baseia na reação de oxidação do complexo de Cu(II)/tetraglicina ($[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{H}_3\text{G}_4)]^{2-}$) em tampão borato (pH = 9,2) em meio aquoso na presença de traços de Ni(II), a qual é sensivelmente acelerada por S(IV) mediante o consumo de oxigênio⁽¹¹⁶⁾. Neste processo, a concentração do complexo Cu(III)/tetraglicina gerado é função direta da concentração de S(IV) presente no meio. A formação do complexo Cu(III)/tetraglicina é, por sua vez, acompanhada espectrofotometricamente a 365 nm (capítulo III, item III.1.4).

Da tabela 6, constata-se a plena concordância dos resultados obtidos empregando-se a detecção de S(IV) livre pelas duas metodologias. Verifica-se, ainda, que todas as amostras analisadas encontram-se dentro dos limites máximos permitidos pela legislação para sulfito total⁽¹⁵⁸⁾, expressos como SO_2 : 0,035g/100 mL ($5,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), para vinhos; 0,020 g/100 mL ($3,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), para sucos de frutas e 0,3 g/100 mL ($4,7 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), exclusivamente para suco de caju⁽¹⁵⁹⁾.

V.3.8. Determinação de S(IV) livre em amostras de açúcar refinado

A determinação de S(IV) livre em amostras de açúcar refinado envolveu a dissolução de cerca de 4 g de amostra em 100 mL de água deionizada em balão volumétrico. A solução resultante foi introduzida no mesmo sistema em fluxo para para

separação do analito da matriz, com subsequente análise da solução aceptora contendo S(IV) de maneira análoga ao já discutido para as amostras de vinhos e sucos. Foram realizadas análises de soluções de açúcar às quais alíquotas definidas de solução-padrão de S(IV) foram previamente adicionadas (ensaios de adição de recuperação).

A tabela 7 relaciona os resultados obtidos a partir da análise de S(IV) em duas marcas de açúcar refinado, assim como os valores de recuperação para as adições de S(IV). É possível verificar que os valores de recuperação das adições de S(IV) são muito próximos a 100%. Além disto, os resultados obtidos são condizentes com aqueles esperados em amostras de açúcar refinado, que variam tipicamente de 0,3 a 4,8 μg de sulfito total expresso como SO_2 por grama de amostra, de acordo com estudo de conformidade realizado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro) com 09 (nove) marcas de açúcar refinado de procedência nacional em 1999⁽¹⁶⁰⁾. O limite previsto pela legislação brasileira para açúcar refinado é de 20 μg de S(IV) total, expresso como SO_2 , por grama de amostra⁽¹⁵⁸⁾.

Tabela 7: Valores de sulfito livre obtidos para amostras de açúcar refinado (n = 3).

| Amostra | [S(IV)] livre/ μg de $\text{SO}_2 \cdot \text{g}^{-1}$ de amostra | [S(IV)] na sol. da amostra dissolvida/ mol L^{-1} | Recuperação adição de S(IV) $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1} / \%$ | Recuperação adição de S(IV) $2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1} / \%$ |
|----------|--|--|--|--|
| Açúcar 1 | $3,00 \pm 0,07$ | $1,51 \times 10^{-6}$ | $104,4 \pm 2,5$ | $101,7 \pm 1,3$ |
| Açúcar 2 | $3,38 \pm 0,07$ | $2,20 \times 10^{-6}$ | $100,4 \pm 4,7$ | $99,1 \pm 0,5$ |

V.3.9. Determinação de S(IV) em água de chuva

O sistema de detecção quimiluminescente proposto também foi utilizado para determinação de S(IV) em amostras de água de chuva. Neste caso, as amostras recém-coletadas foram analisadas diretamente, sem nenhum pré-tratamento ou diluição. O pequeno volume de amostra necessário para a determinação permitiu a coleta de água de chuva diretamente em béquer de vidro. Os resultados obtidos para algumas amostras de água chuva coletadas no Instituto de Química da USP, São Paulo, ao longo da primeira quinzena de março de 2003, encontram-se descritos na tabela 8.

Dada a baixíssima concentração de S(IV) presente nestas amostras ambientais, estudos para comparação de resultados com metodologia sem a utilização de técnicas especiais de conservação de amostra (como, por exemplo, criogenia) não foram efetuados. Procedimentos de adição de recuperação nestes níveis de concentração também não são recomendados, pois a autoxidação de S(IV) altera significativamente a concentração de analito num espaço curto de tempo.

Tabela 8: Valores de S(IV) encontrados em amostras de água de chuva coletadas no Instituto de Química – USP (n = 3).

| Data e horário da coleta | S(IV)/ mol L ⁻¹ |
|--------------------------|----------------------------|
| 18/03/2003 11:50 hs | 2,2x10 ⁻⁷ |
| 20/03/2003 08:20 hs. | 1,5x10 ⁻⁷ |
| 20/03/2003 10:10 hs. | 1,4x10 ⁻⁷ |

V.3.10. Algumas considerações sobre o mecanismo da reação

A observação de que a simples mistura de soluções de Ni(II)/tetraglicina envelhecida e luminol é acompanhada de intensa emissão de radiação sem período de indução (figura 6) comprova que as espécies geradas no processo de autooxidação de $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$, na ausência de S(IV), estão envolvidas no mecanismo da oxidação de luminol. Analogamente, a mistura de soluções recém-preparadas de Ni(II)/tetraglicina e luminol não é acompanhada de emissão de radiação devido à ausência de Ni(III)/tetraglicina e demais intermediários de reação ao longo do período de indução.

Um mecanismo condizente com aquele descrito no esquema I pode representar o processo preponderante na emissão de radiação no sistema Ni(II)/tetraglicina/sulfito/luminol, mesmo na ausência de peróxido de hidrogênio inicialmente adicionado. O complexo de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ estaria atuando como um dos oxidantes descritos como a espécie **A** no esquema I. Peróxido, superóxido, hidroperóxido ligante $\text{Ni}^{\text{II}}\text{LOOH}$ e o radical $\text{Ni}^{\text{II}}\text{LO}_2^\bullet$, sugeridos como intermediários da reação de autooxidação (capítulo II, equações 1-9), seriam as espécies envolvidas na geração do α -hidroxi-hidroperóxido (esquema I).

Verificou-se, todavia, que a intensidade da radiação gerada é maior quando S(IV) é adicionado ao meio (figura 3). Conforme os estudos abordados no capítulo I, a ação ativadora de S(IV) deve-se à geração de radicais fortemente oxidantes $\text{SO}_3^-\bullet$, $\text{SO}_5^-\bullet$ e $\text{O}_2^-\bullet$ (capítulo I, equações 5-17) e à rápida formação de $\text{Ni}^{\text{III}}\text{G}_4$ em níveis necessários para que o mecanismo autocatalítico seja desencadeado. Na presença de S(IV), estes

radicais poderiam estar atuando juntamente com Ni(III)/tetraglicina na oxidação do monoânion do luminol (esquema I) de maneira mais efetiva. Novamente, peróxido, superóxido, $\text{Ni}^{\text{II}}\text{LOOH}$ e o radical $\text{Ni}^{\text{II}}\text{LO}_2^\bullet$ estariam envolvidos na geração do α -hidroxi-hidroperóxido (esquema I).

V.4. Conclusões

A realização dos testes discriminados permitiu a formulação das seguintes conclusões:

- a mistura de soluções de luminol e $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4$ em tampão borato (pH = 9,2) é acompanhada de emissão de radiação de baixíssima intensidade. A posterior adição de S(IV) a esta mistura aumenta a intensidade de emissão. Este aumento é função da concentração da solução de S(IV) adicionada, possibilitando a detecção de sulfito na faixa de $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção estimado de $2,8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.
- a fim de se evitar a influência de alguns concomitantes na reação quimiluminescente, um sistema em fluxo empregando unidade de difusão gasosa foi utilizado para separação do analito da matriz das amostras diluídas. O método proposto (diluição ou dissolução das amostras; separação do analito da matriz através de sistema em fluxo com célula de difusão gasosa; detecção "off line" empregando-se a reação quimiluminescente em modo estático) permitiu a determinação de S(IV) livre em amostras de vinho branco e tinto, suco concentrado e açúcar refinado.
- os resultados proporcionados pelo sistema de detecção quimiluminescente proposto e por metodologia espectrofotométrica, utilizando complexo de Cu(II)/tetraglicina, validam os resultados obtidos para amostras de sucos concentrados e vinhos.
- ensaios de adição de recuperação foram realizados com amostras de açúcar refinado. Índices de recuperação entre 104% e 98% foram obtidos, consolidando a validade do procedimento proposto para determinação de sulfito em amostras de açúcar refinado.

- a elevada sensibilidade do sistema de detecção quimiluminescente sugerido possibilitou a detecção de S(IV) em amostras de água de chuva, nas quais o analito encontra-se presente em baixíssimas concentrações (10^{-7} mol L⁻¹).

V.5. Bibliografia

111. West, P.W., Gaeke, G.C., Fixation of Sulfur Dioxide as Disulfitomercurate (II) and Subsequent Colorimetric Estimation, **Anal. Chem.** **28**, 1816-1819, 1956
112. Kuratli, M., Pretsch, E., Sulfur Dioxide-Selective Optodes, **Anal. Chem.**, **66**, 85-91, 1994
113. Gong, G.Q., Xia, H., Wang, H.G., A Fluorimetric Method for the Determination of Atmospheric Sulfur-Dioxide with 2'-7'-Dichlorofluorescein, **Anal. Lett.**, **28**, 909-915, 1995
114. Migneault, D.R., Enhanced Detection of Sulfite by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy with High-Performance Liquid Chromatography, **Anal. Chem.**, **61**, 272-275, 1989.
115. Simon, P., Dasgupta, P.K., Wet Effluent Denuder Coupled Liquid/Ion Chromatography Systems: Annular and Parallel Plate Denuders, **Anal. Chem.**, **65**, 1134-1139, 1993
116. Alipázaga, M.V., Kosminsky, L., Coichev, N. e Bertotti M., S(IV) Induced Autoxidation of Cu(II)/tetraglycine Complexes in the Presence of Aldehydes: Mechanistic Considerations and Analytical Applications, **Talanta**, **57**, 375-381, 2002
117. Ekkad, N., Huber, C.O., A coulometer for Determination of Residual Sulfite Following the Dechlorination of Water, **Anal. Chim. Acta**, **332**, 155-160, 1996
118. Smith, V.J., Determination of Sulfite Using a Sulfite Oxidase Enzyme Electrode, **Anal. Chem.**, **59**, 2256-2259, 1987
119. Stauff, J., Jaeschke, W., A Chemiluminescence Technique for Measuring Atmospheric Trace Concentrations of Sulfur Dioxide, **Atmos. Environ.** **9**, 1038-1039, 1975.
120. Hardy, W.M., Seitz, W. R., Hercules, D. M., Analytical Studies Using Iodine-Luminol Chemiluminescence, **Talanta**, **24**, 297-302, 1977.
121. Yamada, M., Nakada, T., Suzuki, S., The determination of Sulfite in a Flow Injection System with Chemiluminescence Detection, **Anal. Chim. Acta**, **147**, 401-404, 1983
122. Takeuchi, K., Ibusuki, T., Determination of Traces of Hydrogensulfite by Chemiluminescence with Cerium (IV) Sulfate as the Reagent, **Anal. Chim. Acta**, **174**, 359-363, 1985
123. Zhang, D., Maeda Y., Munemori M., Chemiluminescence Method for Direct Determination of Sulfur Dioxide in Ambient Air, **Anal. Chem.**, **57**, 2552-2555, 1985
124. Al-Tamrah, S.A., Townshend A., Wheatley, A.R., Flow Injection Chemiluminescence Determination of Sulphite, **Analyst**, **112**, 883-886, 1987

125. Koukli, I. I., Sarantonis E. G., Calokerinos, A. C., Continuous-Flow Chemiluminescence Determination of Sulphite and Sulphur Dioxide, **Analyst**, **113**, 603-608, 1988
126. Takenara, N., Maeda Y., Munemori, M., Zhang, D., Chemiluminescence Method for the Direct Determination of Sulphur Dioxide, **Analyst**, **113**, 139-143, 1988
127. Huang, Y.L., Kin, J.M., Schmid, R.D., Determination of Sulphite in Wine Through Flow-Injection Analysis Based on the Suppression of Luminol Chemiluminescence, **Anal. Chim. Acta**, **266**, 317-323, 1992
128. Hlavay, J., Guilbault, G. G., Determination of Sulphite by Use of a Fiber-Optic Biosensor Based on a Chemiluminescent Reaction, **Anal. Chim. Acta**, **299**, 91-96, 1994
129. Paulls, D.A., Townshend, A., Sensitized Determination of Sulfite Using Flow Injection with Chemiluminescent Detection, **Analyst**, **120**, 467-469, 1995
130. Lin, J., Hobo, T., Flow Injection Analysis with Chemiluminescent Detection of Sulphite Using $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3\text{-Cu}^{2+}$ System, **Anal. Chim. Acta**, **323**, 69-74, 1996
131. Qin, W., Zhang, Z., Zhang, C., Reagentless Chemiluminescence Flow Sensor for Sulfite, **Anal. Chim. Acta**, **361**, 201-203, 1998
132. Sasaki, S., Arikawa, Y., Shimomura, M., Ikebukuro K., Karube, I., Measurement of Sulfite Using Sulfite Oxidase Luminol Chemiluminescence, **Anal. Comm.**, **34**, 299-301, 1997
133. Qin, W., Zhang, Z., Zhang, C., Chemiluminescence Flow System for the Determination of Sulfite, **Fresenius J. Anal. Chem.**, **361**, 824-826, 1998
134. He, Z., Wu, F., Meng, H., Yuan, L., Song, G., Zeng, Y., Chemiluminescence Determination of Sulfite in Sugar and Sulfur Dioxide in Air Using $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+} - \text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ System, **Anal. Sci.**, **14**, 737-740,
135. Wu, F., He, Z., Meng, H., Zeng, Y., Determination of Sulfite in Sugar and Sulfur Dioxide in Air using $\text{Ru}(\text{bipy})_3^{2+} - \text{KBrO}_3$ System, **Analyst**, **123**, 2109-2112, 1998
136. Wu, F., He, Z., Meng, H., Yuan, L., Li, X., Zeng, Y., Chemiluminescence determination of sulfite in sugar and of Sulfur Dioxide in Air Using the Tris(2,2'-bipyridil)ruthenium-KIO₄ System, **Fresenius J. Anal. Chem.**, **362**, 566-570, 1998
137. Meng, H., Wu, F., He, Z., Yuan, L., Luo, Q., Zeng, Y., Chemiluminescence Determination of Sulfite and Sulfur Dioxide in Air Using the Tris(1,10-phenantroline)ruthenium-KMnO₄ System, **International J. Environ. Anal. Chem.**, **75**, 299-307, 1999
138. He, Z., Wu, F., Meng, H., Yuan, L., Luo, Q., Zeng, Y., Chemiluminescence Determination of Sulfur Dioxide in Air Using Tris(1,10-phenantroline)ruthenium(II)-KIO₄ System, **Anal. Lett.**, **32**, 401-410, 1999
139. Huang, Y., Zhang, C., Zhang, X., Zhang, Z., A sensitive Chemiluminescence Flow System For the Determination of Sulfite, **Anal. Lett.**, **32**, 1211-1224, 1999
140. Huang, Y., Zhang, C., Zhang, X., Zhang, Z., Chemiluminescence of Sulfite Based on Auto-Oxidation Sensitized by Rhodamine 6G, **Anal. Chim. Acta**, **391**, 95-100, 1999

141. Li, B., Zhang, Z., Wu, M., Flow-Injection Chemiluminescence Determination of Sulfite Using On-line Electrogenerated Silver(II) as the Oxidant, **Anal. Chim. Acta**, **432**, 311-316, 2001
142. Zheng, X., Zhang, Z., Flow-Injection Chemiluminescence Detecting Sulfite with in Situ Electrogenerated Mn^{3+} as the Oxidant, **Sensors and Actuators B: Chemical**, **84**, 142-147, 2002
143. Lin, J., Qu, F., Yamada, M., Chemiluminescence Investigation of Tris(2,2'-bipyridil)ruthenium(II) Immobilized on a Cationic Ion-Exchange Resin and its Application to Analysis, **Anal. Bioanal. Chem.**, **374**, 1159-1164, 2002
144. Meixner, F.X., Jaeschke, W.A., Detection of Low Atmospheric Sulfur Dioxide Concentrations with a Chemiluminescence Techique, **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, **10**, 51-67, 1981
145. Pérez-Bendito, D., Silva, M., In: Kinetic Methods in Analytical Chemistry, Elis Horwood, Chichester, 1988
146. Gunderman, K.D., McCapra, F., Chemiluminescence in Organic Chemistry, Springer Verlag, Berlin, pp. 77-108; 167-191, 1987
147. White, E.H., Zafiriou, O., Kagi, H.H., Hill, J.H.M., In: Chemiluminescence of Luminol: the Chemical Reaction, **J. Am. Chem. Soc.**, **86**, 940-941, 1964
148. Merényi, G., Lind, J., Eriksen, T. E., Luminol Chemiluminescence: Chemistry, Excitation, Emitter, **J. Biolum. Chemilum.**, **5**, 53-56, 1990.
149. Ferreira, E. C., Rossi, A. V., A Quimiluminescência Como Ferramenta Analítica: do Mecanismo a Aplicações da Reação do Luminol em Métodos Cinéticos de Análise, **Química Nova**, **25**, 1003-1011, 2002
150. Monier-Williams, G.W., Determination of Sulfur Dioxide in Foods, **Brit. Food J.**, **29**, 51-53, 1927
151. Liu, J., Li, Y., Chang, W., Measurement of the Peroxidation of Brij-35 in Aqueous Solution by Hemin and Horseradish Peroxidase Catalyzed Fluorogenic Reaction, **Fresenius J. Anal. Chem.**, **365**, 448-451, 1999
152. Bossu, F.P., Paniago, E.B., Margeum, D.W., Kirksey Jr., S.T., Trivalent Nickel Catalysis of the Autoxidation of Nickel(II) Tetraglycine, **Inorg. Chem.**, **17**, 1034-1042, 1978
153. Fronaeus, S., Berglund, J., Elding, L.I., Kinetics and Mechanism for Manganese Catalyzed Oxidation of Sulfur (IV) by Oxygen in Aqueous Solution, **Inorg. Chem.**, **32**, 4527-4538, 1993
154. Corbo, D., "Uso de Eletrodo de Cobre para Determinações Amperométricas em Fluxo de Etanol em Bebidas Alcoólicas e Sulfito em Sucos de Uva e Vinho", São Paulo, 2002 [Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, USP]
155. Prieto, A.M.G., Pavón, J.L.P., Cordero, B. M., Gas diffusion and Micellar Catalysis in the Flow Injection Determination of Sulfite, **Analyst**, **119**, 2447-2452, 1994

156. Silva, R.L.G.N.P., Silva, C.S., Nobrega. J.A., Neves, E.A., Flow Injection Spectrophotometric Determination of Free and Total Sulfite in Wines Based on the Induced Oxidation of Manganese (II), **Anal. Lett.**, **31**, 2195-2208, 1998.
157. Falcone, F., Maxwell, K. C., Simultaneous Continuous Flow Analysis of Free and Total Sulfur Dioxide in Wine, **J. Agric. Food. Chem.**, **40**, 1355-1357, 1992
158. **Diário Oficial da União**, 12 de março de 2001, Resolução RDC nº 34, de 9 de março de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)
159. **Diário Oficial da União**, 14 de janeiro de 2002, Resolução RDC n.º 12, de 10 de janeiro de 2002, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)
160. INMETRO. *Home page*. "Programa de análise de produtos: açúcar." Disponível em <<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/acucar.asp>> acesso em (10.05.2003).

Reagentes e soluções

Água deionizada foi usada no preparo de todas soluções, bem como reagentes com grau analítico Merck ou Sigma.

a) Solução de S(IV)

Uma solução estoque de S(IV) $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 0,10 g do sal metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) em 1,0 L de água previamente fervida e resfriada. Sua padronização exigiu a preparação das seguintes soluções:

- H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$: adicionou-se 14 mL de H_2SO_4 98% a cerca de 150 mL de água em balão volumétrico, completando-se o volume do mesmo a 250,0 mL
- KIO_3 $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$: obtida a partir da dissolução quantitativa de 10,700 g de iodato de potássio, seco a 110°C por duas horas, em água previamente fervida e resfriada em balão volumétrico de 500,0 mL, completando-se o volume do mesmo com água.
- solução de amido 0,5%: dissolveu-se 0,5 g de amido solúvel em 100 mL de água fervente.
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$: dissolveu-se 25 g do sal $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e 0,1 g de Na_2CO_3 em 1L de água previamente fervida e resfriada, observando-se período de repouso de um dia para posterior padronização da mesma. Para tal, foram pipetados 50,00 mL de solução de KIO_3 $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$ (concentração perfeitamente conhecida) para um erlenmeyer de 250 mL imerso em gelo. Dissolveu-se na solução 3 g de KI sólido, seguido da adição de 10,0 mL de H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. A solução resultante foi titulada com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ até que uma coloração amarela-pálida fosse atingida. Neste ponto, adicionou-se à

mesma cerca de 2 mL de solução de amido 0,5%, prosseguindo-se com a titulação até desaparecimento da cor azul.

Para padronização da solução de S(IV) $0,001 \text{ mol L}^{-1}$, uma alíquota de 25,00 mL de KIO_3 $0,1000 \text{ mol L}^{-1}$ foi transferida para um erlenmeyer de 500 mL juntamente com 10 mL de H_2SO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e 25,00 mL de solução de S(IV). A solução resultante foi deixada em repouso por 10 minutos em banho de gelo, seguindo-se a adição de 2,0 g de KI sólido. O iodo gerado, que é equivalente ao iodato não consumido, foi titulado com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ padrão até que a solução se tornasse amarela-pálida. Neste ponto, adicionou-se à mesma 2 mL de solução de amido 0,5% e prosseguiu-se com a titulação até desaparecimento da cor azul resultante.

b) Tampão borato

A solução-tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 9,2) foi preparada dissolvendo-se 9,5 g do sal $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ em cerca de 400 mL de água deionizada em balão volumétrico de 1000 mL, seguindo-se diluição a 1,0 L em balão volumétrico.

c) Solução de nitrato de níquel(II) $0,200 \text{ mol L}^{-1}$:

Preparada a partir da dissolução de 11,7 g de pó de níquel eletrolítico (99,99% de pureza) com ácido nítrico bidestilado, seguindo-se diluição a 1,0 L em balão volumétrico. A padronização foi realizada com EDTA⁽¹⁾.

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

d) Solução de nitrato de cobre(II) 0,200 mol L⁻¹:

Preparada a partir da dissolução de 12,7 g de pó de cobre eletrolítico (99,99% de pureza) com ácido nítrico bidestilado, seguindo-se diluição a 1,0 L em balão volumétrico. A padronização foi realizada com EDTA⁽¹⁾.

e) Solução de nitrato de cobre(II) 0,200 mol L⁻¹ e nitrato de níquel(II) 2,00x10⁻³ mol L⁻¹

Preparada a partir da dissolução de 12,7 g de cobre eletrolítico com cerca de 100 mL de ácido nítrico bidestilado, seguindo-se a adição de 10,0 mL de solução de nitrato de níquel(II) 0,2 mol L⁻¹ e diluição a 1,0 L em balão volumétrico.

f) Solução do complexo de Ni(II)/tetraglicina para estudos espectrofotométricos

A solução contendo o complexo Ni(II)/tetraglicina, Ni^{II}G₄, foi preparada dissolvendo-se 0,0217 g de tetraglicina em 20,0 mL de tampão borato 0,02 mol L⁻¹ (pH = 9,2) e adicionando-se, a seguir, 0,40 mL de Ni(II) 0,200 mol L⁻¹. Uma solução com concentração final de 4,00x10⁻³ mol L⁻¹ de Ni^{II}G₄; 0,02 mol L⁻¹ de tampão borato (pH = 9,2) e 0,4x10⁻³ mol L⁻¹ (10% excesso) de tetraglicina foi obtida. Para alguns testes, a concentração de peptídeo foi alterada. Esta solução foi preparada momentos antes de sua utilização.

g) Solução do complexo de Ni(II)/tetraglicina para estudos por quimiluminescência

A solução contendo o complexo Ni(II)/tetraglicina, Ni^{II}G₄, foi preparada dissolvendo-se 0,0099 g de tetraglicina em 20,0 mL de tampão borato 0,1 mol L⁻¹ e

1. Flaschka, H.A., EDTA Titrations, Pergamon Press, London, 1959

adicionando-se, a seguir, 0,10 mL de Ni(II) 0,200 mol L⁻¹. Foi obtida uma solução com concentração final de 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ de Ni^{II}G₄; 0,1 mol L⁻¹ de tampão borato (pH = 9,2) e 1,0x10⁻³ mol L⁻¹ (100% excesso) de tetraglicina. Soluções de menor concentração foram preparadas por diluição direta da solução estoque com tampão borato 0,1 mol L⁻¹. Todas as soluções foram preparadas momentos antes de sua utilização.

h) Solução do complexo de Cu(II)/tetraglicina com traços de Ni(II) para estudos espectrofotométricos (solução A)

A solução do complexo de Cu(II)/tetraglicina com traços de Ni(II) foi preparada dissolvendo-se 0,0109 g de tetraglicina em 20,0 mL de tampão borato 0,05 mol L⁻¹ (pH = 9,2) e adicionando-se, a seguir, 0,20 mL de solução contendo mistura de Cu(II) 0,200 mol L⁻¹ e Ni(II) 2,00x10⁻³ mol L⁻¹. A solução resultante apresenta concentração final de 2,00x10⁻³ mol L⁻¹ de Cu^{II}G₄; 2,00x10⁻⁵ mol L⁻¹ de Ni^{II}G₄; 0,05 mol L⁻¹ de tampão borato (pH = 9,2) e 0,20x10⁻³ mol L⁻¹ (10% excesso) de tetraglicina. Esta solução foi preparada momentos antes de sua utilização.

i) Solução do complexo de Cu(II)/tetraglicina com traços de Ni(II) para estudos por quimiluminescência

A solução do complexo de Cu(II)/tetraglicina com traços de Ni(II) foi preparada dissolvendo-se 0,0109 g de tetraglicina em 40,0 mL de tampão borato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 9,2) e adicionando-se, a seguir, 0,20 mL de solução contendo mistura de Cu(II) 0,200 mol L⁻¹ e Ni(II) 2,00x10⁻³ mol L⁻¹. A solução resultante apresenta concentração final de 1,00x10⁻³ mol L⁻¹ de Cu^{II}G₄; 1,00x10⁻⁵ mol L⁻¹ de Ni^{II}G₄; 0,1 mol L⁻¹ de tampão

borato (pH = 9,2) e $0,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (10% excesso) de tetraglicina. Esta solução foi preparada momentos antes de sua utilização.

j) Solução do complexo de Cu(II)/tetraglicina para estudos por quimiluminescência

A solução contendo o complexo Cu(II)/tetraglicina, $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$, foi preparada dissolvendo-se 0,0109 g de tetraglicina em 40,0 mL de tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e adicionando-se, a seguir, 0,20 mL de Cu(II) $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. Foi obtida uma solução com concentração final de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Cu}^{\text{II}}\text{G}_4$; $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão borato (pH = 9,2) e $0,10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (10% excesso) de tetraglicina. Soluções de menor concentração foram preparadas por diluição direta da solução estoque com tampão borato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Todas as soluções foram preparadas momentos antes de sua utilização.

l) Soluções estoque de perclorato de cobalto(II) $0,965 \text{ mol L}^{-1}$ e perclorato de manganês(II) $1,837 \text{ mol L}^{-1}$

Preparadas a partir da reação direta de carbonato de cobalto (CoCO_3) ou carbonato de manganês (MnCO_3) com ácido perclórico. A padronização foi realizada com EDTA⁽¹⁾.

m) Soluções estoque de Fe(II), Fe(III) e Cr(III) $0,20 \text{ mol L}^{-1}$

Preparadas, respectivamente, a partir da dissolução de massa estequiométrica dos sais cloreto de ferro (III) (FeCl_3), sulfato de ferro(II) hepta-hidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

1. Flaschka, H.A., EDTA Titrations, Pergamon Press, London, 1959

e nitrato de cromo(III) nona-hidratado ($\text{Cr}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) em 1,0 L de água deionizada, com adição de 10 mL ácido nítrico bidestilado. A padronização foi realizada com EDTA⁽¹⁾.

n) Soluções de fosfato e carbonato de sódio 0,20 mol L⁻¹

Preparadas a partir dos correspondentes sais de sódio, dissolvendo-se a massa estequiométrica do mesmo em 250,0 mL de água

o) Solução de tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) 0,20 mol L⁻¹

Obtida dissolvendo-se 2,4 g de tris(hidroximetil)aminometano sólido em 100,0 mL de água.

p) Solução de trietanolamina (TEA) e monoetanolamina (MEA) 0,20 mol L⁻¹

As soluções-estoque de MEA e TEA, ambas líquidas à temperatura ambiente, foram preparadas diluindo-se alíquotas estequiométricas do reagente concentrado em 100,0 mL de água.

q) Tampão ácido acético/acetato 0,1 mol L⁻¹

O tampão ácido acético/acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH = 4,7) foi obtido mediante diluição de 37 mL de solução de ácido acético glacial 100% em 300 mL de água em balão volumétrico de 500,0 mL. A seguir, 4,1 g de acetato de sódio foram dissolvidos na solução e o volume do balão completado com água.

1. Flaschka, H.A., EDTA Titrations, Pergamon Press, London, 1959

r) Soluções de tensoativos

As soluções de tensoativos foram preparadas a partir de dissolução de massas convenientes de tensoativos sem nenhum tratamento prévio.

- BRIJ 76 $3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (1000xCMC): preparada dissolvendo-se 0,36 g de BRIJ 76 em 100 mL de água deionizada em balão volumétrico.
- BRIJ 35 $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (100xCMC): preparada dissolvendo-se 0,71 g de BRIJ 35 em 100 mL de água deionizada em balão volumétrico
- Tween 20 $6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (100xCMC): preparada dissolvendo-se 0,74 g de Tween 20 em 100 mL de água deionizada em balão volumétrico.
- Tween 80 $1,2 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (1000xCMC): preparada dissolvendo-se 0,21 g de Tween 80 em 100 mL de água deionizada em balão volumétrico.
- Triton X-100 $2,3 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (100xCMC): preparada dissolvendo-se 0,78 g de Triton X-100 em 100 mL de água deionizada em balão volumétrico.
- Dodecilssulfato de sódio $0,40 \text{ mol L}^{-1}$ (50xCMC) : preparada dissolvendo-se 2,92 g de dodecilssulfato de sódio em 25 mL de água deionizada em balão volumétrico.

s) Solução de formaldeído $0,01 \text{ mol L}^{-1}$

A solução de formaldeído $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se 1,1 mL de solução de formaldeído 37% a 1,0 L com água deionizada em balão volumétrico.

t) *solução de α -ciclodextrina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$*

A solução de α -ciclodextrina $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi obtida a partir da solubilização de 0,032 g de α -ciclodextrina com 25,0 mL de água deionizada em balão volumétrico.

u) *solução de $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+} 2,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$*

Preparada por dissolução de 0,15 g de $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 100,0 mL de água deionizada em balão volumétrico.

v) *solução estoque de luminol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$*

Preparada por dissolução de 0,2 g de NaOH e 0,018 g de luminol (pureza 97%) com 100,0 mL de água deionizada em balão volumétrico. Soluções de luminol de menor concentração foram preparadas por diluição direta da solução estoque com água deionizada.

Perspectivas de trabalhos futuros

Algumas propostas futuras para continuidade do trabalho apresentado nesta tese abrangem:

- verificação da reatividade dos complexos de Cu(II) e Ni(II)/tetraglicina em relação a biomoléculas, na presença de S(IV), em condições fisiológicas.
- estudos espectrofotométricos ou por quimiluminescência envolvendo a reação de autooxidação de S(IV) catalisada por complexos de Cu(II) ou Ni(II) com ligantes peptídicos de cadeia mais longa, capazes de estabilizar o íon metálico no estado de oxidação 3+.
- investigação detalhada dos mecanismos responsáveis pelo efeito de intensificação do sinal quimiluminescente do sistema $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bipy})_3]^{2+}/\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4/\text{S}(\text{IV})$ propiciado por alguns tensoativos.
- estudos por quimiluminescência da reação de autooxidação de S(IV) catalisada por complexos de Cu(II) ou Ni(II)/tetraglicina na presença de outros substratos, como rodamina-6G ou fluoresceína.
- desenvolvimento de método de análise por injeção em fluxo para determinação de S(IV) livre e total empregando-se o sistema luminol/ $\text{Ni}^{\text{II}}\text{G}_4/\text{S}(\text{IV})$, englobando as etapas de separação do analito da matriz e detecção quimiluminescente (FIA-QL).

Curriculum vitae

Rodrigo Leandro Bonifácio

- Nascido em 06 de janeiro de 1977 em São Paulo - SP - Brasil.

FORMAÇÃO ACADÊMICA:

- Bacharel em Química, com atribuições tecnológicas, pelo Instituto de Química da Universidade de São Paulo, em 1999.
- Técnico em Petroquímica, Escola Técnica Estadual Conselheiro Antônio Prado, em 1994.

EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL:

- Químico, Laboratório Central da Alcoa Alumínio S/A (Poços de Caldas/MG), desde novembro de 2000.
- Estagiário de Desenvolvimento Analítico, Departamento de Controle Analítico da Rhodia Brasil Ltda. (Paulínia/SP), de janeiro a dezembro de 1999.

CONGRESSOS, REUNIÕES E SIMPÓSIOS:

- Alipázaga, M.V., Bonifácio, R.L., Coichev, N., Estudo da formação de complexos de Cu(II)/Cu(III) com tetra, penta e hexaglicina com possíveis aplicações analíticas. **23^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**, Poços de Caldas - MG, 24 a 27 de maio de 2000
- Yoshida, D., Moya, H.D., Bonifácio, R.L., Coichev, N., Kinetic of Copper (II)/(III) tetraglycine reactions with sulfite. **VII International Conference on Flow Analysis**, Piracicaba-SP, 25 a 28 de agosto de 1997; PI24, p. 121-123

ARTIGOS SUBMETIDOS E PUBLICADOS

- Bonifácio, R.L., Coichev, N., Chemiluminescent Determination of Sulfite Traces Based on the Induced Oxidation of Ni(II)/tetraglycine Complex by Oxygen in the Presence of Luminol. Mechanistic considerations, **Anal. Chim. Acta**, no prelo, 2004
- Alipázaga, M.V., Bonifácio, R.L., Kosminsky, L., Bertotti, M., Coichev, N., Sulfite Induced Autoxidation of Cu(II)/Tetra/Penta and Hexaglycine Complexes. Spectrophotometric and Rotating-ring-disk Glassy Carbon Electrode Studies and Analytical Potentialities, **J. Braz. Chem. Soc.**, **14(5)**, 713-721, 2003.
- Lima, S., Bonifácio, R.L., Azzelini, G.C., Coichev, N., Ruthenium(II) Tris(bipyridyl) Ion as a Luminescent Probe for Oxygen Uptake on the Catalyzed Oxidation of HSO_3^- , **Talanta**, **56**, 547-556, 2002.
- Pezza, H. R., Bonifácio, R. L., Coichev, N., Oxidation of Ni(II)/cyclam and Tetraglycine Complexes by Dissolved Oxygen in the Presence of S(IV). Synergistic Effects of Mn(III) and Co(III), **J. Chem. Research (M)**, 1520-1541, 1999
- Yoshida, D.; Moya, H.D., Bonifácio, R.L., Coichev, N., Kinetics of Copper (III)/(II) Tetraglycine Reactions with Sulfite. Analytical Potentialities, **Spectroscopic Letters**, **31**, 1495-1512, 1998