

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTUDOS POTENCIOMÉTRICOS E FLUORIMÉTRICOS DOS
EQUILÍBRIOS ÁCIDO-BÁSICOS E DA COMPLEXAÇÃO DE METAIS
COM O OBIDIEN E AS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS. CONTAMINAÇÃO
PELOS METAIS EM SEDIMENTOS DA ILHA DE SANTA CATARINA
(BRASIL).**

**Tese submetida à Universidade Federal de Santa Catarina para a
obtenção do grau de Doutor em Química.**

Marcos Rivail da Silva

**Florianópolis
Santa Catarina - Brasil
Maio de 1996**

**ESTUDOS POTENCIOMÉTRICOS E FLUORIMÉTRICOS DOS EQUILÍBRIOS
ÁCIDO-BÁSICOS E DA COMPLEXAÇÃO DE METAIS COM O OBISDIEN E
SUBSTÂNCIAS HÚMICAS. CONTAMINAÇÃO PELOS METAIS EM SEDIMENTOS
DA ILHA DE SANTA CATARINA (BRASIL).**

Marcos Rivail da Silva

**Esta Tese foi julgada e aprovada em sua forma final pelo Orientador e
membros da Banca Examinadora**

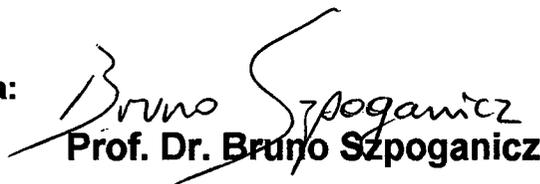

Prof. Dr. Bruno Szpoganicz

Orientador


Prof. Dr. Adilson José Curtius

Coordenador

Banca Examinadora:


Prof. Dr. Bruno Szpoganicz

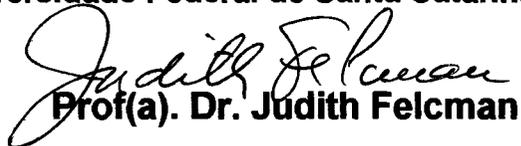
Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC

Prof(a). Dr. Maria Marta de Souza Sierra

Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC


Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira

Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC


Prof(a). Dr. Judith Felcman

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro -PUC-RJ


Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich
Universidade Federal do Paraná -UFPR

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Departamento de Química e a pós-graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina e aos seus professores por me concederem as condições necessárias para o desenvolvimento deste trabalho.

Eu tenho à agradecer muito especialmente ao professor Bruno Szpoganicz, do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, o qual exprimo o meu reconhecimento e amizade, tendo orientado e encorajado estas pesquisas.

Agradeço a Prof(a). Dr. Judite Feldman, Prof(a). Dr. Maria Marta de Souza Sierra, Prof. Dr. Luis Augusto dos Santos Madureira e Prof. Dr. Antonio Salvio Mangrich por terem gentilmente aceitado fazerem parte como membros desta banca de Doutorado, exprimo aqui meu reconhecimento.

À Universidade Regional de Blumenau-FURB e aos professores do Departamento de Química que muito gentilmente assumiram minhas atividades de ensino e pesquisa durante a realização deste trabalho, exprimo aqui a expressão do meu reconhecimento.

Eu agradeço a CAPES pelo financiamento deste trabalho tanto no Brasil como na França e ao COFECUB (França) por ter financiado parte deste trabalho na França.

Aos amigos do curso de Pós-Graduação aqui e na França, pelos anos de convivência e incentivo constante, e pela troca de experiências que tornaram o desenvolvimento deste trabalho mais estimulante.

Agradeço ao prof. Dr. Robert Lesclaux, Diretor do Laboratoire de Photophysique et Photochimie Moléculaire de l'Université de Bordeaux I, por me acolher e pelo interesse que ele demonstrou pelos avanços de meu trabalho.

Quero aqui agradecer muito especialmente ao Prof. Dr. Michel Lamotte, Diretor de pesquisa do Laboratoire de Photophysique et Photochimie Moléculaire de l'Université de Bordeaux I, que durante os dois anos de trabalho na França, esteve sempre disponível para um maior desenvolvimento do trabalho. Seu entusiasmo e

sua confiança permitiram com que minhas atividades de pesquisa se desenvolvessem sempre em excelentes condições.

Agradeço ao Dr. Olivier F.X. Donard, pelo apoio e amizade que ele manifestou durante minha estada na França. Seu entusiasmo muito contribuiu para o bom desenvolvimento deste trabalho.

Quero também agradecer minha esposa e filhas que durante estes últimos anos de trabalho, estiveram constantemente ao meu lado e que apoiaram-me sempre, principalmente nos momentos mais difíceis.

RESUMO

O tema chave do trabalho desenvolvido nesta tese é o transporte e acumulação de metais e espécies orgânicas e inorgânicas nos meios aquosos. Os mecanismos de complexação por ligantes naturais ou artificiais, ocupam uma situação importante nestes processos.

O trabalho desenvolvido consistiu inicialmente na utilização das técnicas de titulação potenciométrica e fluorimétrica para realizar estudos de equilíbrio entre ligantes naturais e artificiais com os íons metálicos e/ou espécies orgânicas e inorgânicas.

A titulação potenciométrica foi utilizada para estudar o comportamento do ligante artificial, o 1,4,7,13,16,19 - Hexaaza - 10,22 - dioxacicotetracosano (OBISDIEN), conhecido por sua reconhecida capacidade para formar complexos mono- e binucleares com íons metálicos e vários ânions orgânicos e inorgânicos. Neste trabalho foram determinadas as constantes de associação e as constantes de formação dos complexos do OBISDIEN com os ânions brometo, sulfato, selenito e selenato na ausência e na presença dos íons metálicos Cu^{2+} , Zn^{2+} e Mg^{2+} . O resultado marcante é a evidência de uma complexação seletiva de íons selenato em presença destes metais, na faixa de pH das águas naturais. Este resultado indica que o ligante, particularmente na presença do íon Cu^{2+} , pode ser utilizada para se desenvolver métodos de extração ou de concentração de selenatos em águas naturais.

Os resultados encontrados para os sistemas envolvendo o complexo receptor OBISDIEN-Cu(II) evidenciam que este complexo forma espécies supramoleculares com os íons brometo, selenito e selenato. O equilíbrio competitivo do íon Br^- e as espécies de selênio mostram que os íons SeO_4^{2-} estão complexados na faixa de pH de 2 a 12 enquanto os íons SeO_3^{2-} e Br^- permanecem livres em solução. Na ausência de metal, foi verificado um comportamento oposto entre selenato apresenta uma constante de associação que diminui com o aumento da protonação, enquanto o selenito apresenta um aumento dessa constante. A explicação pode vir das ligações de hidrogênio, envolvendo o nitrogênio protonado do ligante e os oxigênios do ânion inorgânico uma vez que o selenito, retém um próton em quase

toda a faixa de pH, interagindo assim mais fortemente com as espécies mais desprotonadas do macrocíclico.

Nos sistemas envolvendo os complexos receptores com os Zn^{2+} e Mg^{2+} , a interação entre o ânion e o centro bimetálico desses complexos aumenta na ordem $Br^- < SO_4^{2-} < SeO_3^{2-} < SeO_4^{2-}$. Com estes íons metálicos, as espécies complexadas aparecem acima de pH 6,0. As espécies binucleares predominam em ambos os sistemas e as espécies hidróxidas aparecem em valores de pH mais elevados. Os complexos formados com o íon magnésio são menos estáveis que os formados com o íon zinco.

A titulação potenciométrica foi utilizada ainda neste trabalho para verificar as propriedades ácido-básicas da selênio-cistina e selênio-metionina com o objetivo de precisar as condições ótimas de pH para a separação dos dois complexos por cromatografia líquida acoplada a um ICP/MS, baseada na formação de pares iônicos. O conhecimento dos pKas e da distribuição das espécies permitiu-nos trabalhar na faixa de pH em torno de 3,5, onde as formas zwitteriônicas estão em equilíbrio com as formas carboxílicas monoprotônicas dos selênio aminoácidos.

A titulação fluorimétrica foi utilizada com o objetivo de precisar os limites de aplicação e propor algumas soluções para minimizar as principais dificuldades deste método proposto por Ryan e Weber para determinar as propriedades complexantes das substâncias húmicas fluorescentes. A substância húmica utilizada neste trabalho foi o ácido fúlvico Suwannee River.

Para a determinação de K, é proposto um método baseado na medida da tangente à origem da curva de extinção da fluorescência que permite parametrizar somente dois parâmetros ao invés de três. Este método foi aplicado às águas naturais coletadas no rio Garonne em Bordeaux França porém concluímos que o método proposto por Ryan e Weber não se aplica bem a este sistema porque considera um só tipo de ligante (modelo mono-ligante) enquanto nas águas naturais, as substâncias húmicas parecem ser caracterizadas por constantes de complexação diferentes (modelo multi-ligante). Foram ainda realizados estudos do efeito do pH sobre os espectros de fluorescência onde para os espectros de excitação, nós localizamos duas regiões com comportamentos diferentes. Uma região parece ser dominada por cromóforos contendo grupos carboxílicos e a outra provavelmente por grupos fenólicos.

Posteriormente, foram determinadas as concentrações de Hg, Pb, Cd, Se, As, Sn, U, Zn, Ni, Cu, Sb, Sr, Pd e Ag em sedimentos de superfície provenientes de mangues, lagoas e da Baía Sul, na ilha de Santa Catarina. Os resultados mostram que em vários sítios, as concentrações de metais como Pb, Se, As, Sn, U e Ag são maiores que as respectivas concentrações médias elementares para os sedimentos enquanto metais como, Cd, Zn, Ni, Cu, Cr, Pd, Sb e Sr apresentam baixas concentrações. A análise estatística dos dados ilustra distinções que ocorrem entre as zonas o qual incluem a Baía Sul e o mangue do Itacorubi (sob uma influência antropogênica) e a zona da Lagoa do Peri onde a influência natural é predominante. Na lagoa da Conceição, foram encontradas concentrações de metais muito próximas dos valores médios achados nos sedimentos. Isto é uma evidência de que nesta lagoa aportes naturais e antropogênicos apresentam contribuições claramente definidas.

A ordem decrescente de aportes antropogênicos encontrados é a seguinte: mangue do Itacorubi > baía sul > lagoa da Conceição > mangue do Tavares > mangue do Ratores > lagoa do Peri.

ABSTRACT

The key theme of this work is the transport and accumulation of metals and organic and inorganic species in the aquatic systems. The complexation mechanisms for natural and artificial ligands, are important factors in these processes.

The work in a first moment employed potentiometric titration and fluorimetric titration for the equilibria studies involving natural and artificial ligands, with the metallic ions, and/or organic and inorganic species.

The potentiometric titration was employed to study the behavior of the artificial OBISDIEN ligand, Known for its remarkable capacity to form mono- and binuclear complexes with metallic ions and organic and inorganic anions. In this work, we estimated both the association and the formation constants of OBISDIEN complexes with bromide, sulfate, selenite and selenate anions in absence and presence of the Cu^{2+} , Zn^{2+} and Mg^{2+} ions. The outstanding result is the evidence of a selective complexation of the selenate ion in presence of these metals ions, with a pH range corresponding to natural waters. These results indicate that OBISDIEN can be used to develop selenate extraction or concentration methods applied to natural waters, particularly in presence of Cu^{2+} ions.

The results found for the systems involving the acceptor complex OBISDIEN-Cu(II) shown that this complex form supramolecular species with bromide, selenite and selenate anions. The competitive equilibrium of Br^- ions and the selenium species shows that SeO_4^{2-} ions are complexed in the pH range 2 - 12 while SeO_3^{2-} and Br^- ions stay mostly free in solution. In the metal free system, we observed an opposite behavior between selenate ion for which the association constant decrease as the with the increase of the protonation degree of OBISDIEN increases and while selenite ion shows an increasing value for this constants. This fact could be attributed to the hydrogen bondings involving the protonated nitrogen of the ligand and the oxygen of the inorganic anion because the selenite ion exist mainly as protonated species interacting stronger with the most deprotonated form of the macrocycle.

In systems involving the acceptor complexes and the Zn^{2+} and Mg^{2+} , ions, the strength binding of increases in the order $\text{Br}^- < \text{SO}_4^{2-} < \text{SeO}_3^{2-} < \text{SeO}_4^{2-}$. With the

metallic ions, the complexed species appears above pH 6,0. The binuclear species predominate in both systems and the hydroxo species appears in higher pH values. The complexes formed with the magnesium ion are less stable than zinc ions.

The potentiometric titration was also utilized to verify the acid-base properties of the seleno-cystine and seleno-methionine with the purpose to find the optimal pH values for separation by liquid chromatography coupled with a ICP/MS and based in the pairs-ionic formation. With the pKas and the species distribution we could work at pH values around 3.5 where the zwitterionic forms are in equilibrium with the monoprotinated carboxylic forms of the seleno aminoacids.

The fluorimetric titration was used to verify the application limits of this technique and to suggest solutions to minimize the majors difficulties of Ryan and Weber's method to determine the complexing properties of the fluorescent humic substances. Fulvic acid from the Suwannee River was the humic substance employed.

To determine the K value, we proposed a method based on the fluorescence quenching curve. This method permits to determine two parameters while the Ryan and Weber methods allows three. Our method was applied for natural waters sampled in Garonne river in France however, we observed that this method was not appropriate for this system because it considers only one type of ligand (Mono-ligand model) while the natural waters appear to be characterized by distinct complexation constants (multi-ligand model). We also studied the effect of pH in the fluorescence spectrum where for the excitation spectra, we verified two regions with different behaviors. One region appear to be dominated by carboxylic groups and the other region by phenolic groups.

We also determined the total concentration, of Hg, Pb, Cd, Se, As, Sn, U, Zn, Ni, Cu, Sb, Sr, Pd and Ag in surface sediments of mangroves, lagoons and of the southern bay from Santa Catarina Island. Our results showed that in various sites, metals such as Pb, Se, As, Sn, U and Ag were found in concentration higher than the mean elemental values in sediments. On the other hand, metals such as Zn, Ni, Cu, Cr, Pd, Sb and Sr had very small concentrations. Statistical analysis showed that differences occurred between the south bay and the mangrove of Itacorubi zones (anthropogenic influence) and the Peri lagoon zone where the natural influence is evident. In the Conceição lagoon, of concentration metals near the mean

values were found. This is an evidence that in this lagoon natural and anthropogenic inputs had contributions clearly defined.

The decreasing order of the anthropogenic inputs found is: mangrove of Itacorubi > south bay > lagoon of Conceição > mangrove of Tavares > mangrove of Ratonés > lagoon of Peri.

ÍNDICE

APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

1. Justificativa deste trabalho.	2
2. Disposição desta Tese.	3

PRIMEIRA PARTE: INTRODUÇÃO GERAL

<u>CAPITULO I:</u> Metais e outras espécies não metálicas no meio aquoso: Síntese bibliográfica.	7
I.1. Os metais nos meios aquáticos.	7
I.2. Espécies não metálicas nos meios aquáticos.	12
a) Substâncias Húmicas.	12
b) Selênio e seus compostos no meio ambiente.	14
<u>CAPITULO II :</u> Modelos para o reconhecimento de metais, espécies orgânicas e inorgânicas de importância para o meio ambiente: Síntese bibliográfica.	19
II.1. Modelos para o reconhecimento de íons metálicos.	23
II.2. Modelos para o reconhecimento de ânions inorgânicos e orgânicos.	28

SEGUNDA PARTE:

<u>Estudo dos equilíbrios termodinâmicos entre espécies orgânicas e inorgânicas de interesse para o meio ambiente.</u>	37
---	----

<u>CAPITULO III:</u> Estudo dos equilíbrios químicos dos complexos. Princípios de base, instrumentação e metodologia.	38
--	----

III.1. Constantes de estabilidade e constantes de protonação.	38
III.2. Determinações experimentais.	39
III.3. Tratamento dos dados experimentais.	41
Os programas BEST e SPECIES.	43
III.4. Fontes e análise dos erros na determinação das constantes de equilíbrio pela técnica da titulação potenciométrica.	43
<u>CAPITULO IV.</u> Estudo dos equilíbrios dos íons selenito e selenato com o complexo receptor formado pelo íon Cu^{2+} e o 1,4,7,13,16,19-hexaaza-10,22-dioxaciclotetracosano (OBISDIEN).	45
IV.1. Parte Experimental.	45
IV.1.1. Materiais.	45
IV.1.2. Medidas dos equilíbrios potenciométricos.	45
IV.1.3. Cálculos computacionais.	46
IV.2. Resultados e discussão.	47
IV.2.1. Espécies do OBISDIEN-Brometo.	47
IV.2.2. Espécies do OBISDIEN-Selenito.	51
IV.2.3. Espécies do OBISDIEN-Selenato.	53
IV.2.4. espécies do OBISDIEN-Cu(II)-Brometo.	55
IV.2.5. Espécies do OBISDIEN-Cu(II)-Selenito.	63
IV.2.6. Espécies do OBISDIEN-Cu(II)-Selenato.	65
Considerações gerais.	69
<u>CAPITULO V.</u> Estudo dos equilíbrios de complexos ternários formados pelos íons brometo, sulfato, selenito e selenato com Zn^{2+} , Mg^{2+} e 1,4,7,13,16,19-hexaaza-10,22-dioxaciclotetracosano (OBISDIEN).	70
V.1. Parte experimental.	70
V.1.1. Materiais.	70
V.1.2. Medidas dos equilíbrios potenciométricos.	70
V.1.3. Cálculos computacionais.	71
V.2. Resultados e discussão.	72

V.2.1. Cálculos de mecânica molecular.	72
V.2.2. Complexos de OBISDIEN: Metal: Ânions.	72
V.2.2.1. Complexos de OBISDIEN-Zinco (II)-Brometo.	76
V.2.2.2. Complexos de OBISDIEN-Zinco (II)-Sulfato.	79
V.2.2.3. Complexos de OBISDIEN-Zinco (II)-Selenito.	82
V.2.2.4. Complexos de OBISDIEN-Zinco (II)-Selenato.	85
V.2.2.5. Complexos de OBISDIEN-Magnésio(II)-Brometo.	89
V.2.2.6. Complexos de OBISDIEN-Magnésio(II)-Sulfato.	94
V.2.2.7. Complexos de OBISDIEN-Magnésio(II)-Selenito.	94
V.2.2.8. Complexos de OBISDIEN-Magnésio(II)-Selenato.	97
V.3. Considerações gerais.	101
<u>CAPITULO VI.</u> Determinação das constantes de protonação do selênio-DL-cistina e selênio-DL-metionina. Aplicação à sua separação por HPLC acoplado a um ICP/MS.	103
VI.1. Considerações iniciais.	103
VI.2. Parte experimental.	104
VI.2.1. Materiais.	104
VI.2.2. Medidas de equilíbrio potenciométrico.	105
VI.2.3. Cálculos computacionais.	105
VI.2.4. Medidas cromatográficas.	106
VI.3. Resultados e discussão.	106
VI.3.1. Constantes de protonação para a selênio-DL-cistina.	106
VI.3.2. Constantes de protonação da selênio-DL-metionina.	112
VI.3.3. Separação cromatográfica de selênio-DL-cistina e selênio-DL-metionina.	116
VI.3. Considerações finais.	120

TERCEIRA PARTE

A Espectroscopia de fluorescência aplicada ao estudo das substâncias húmicas.

<u>CAPITULO VII.</u> A Espectroscopia de fluorescência aplicada ao estudo das substâncias húmicas.	122
VII.1. Considerações iniciais.	122
VII.1.1. Generalidades.	122
VII.1.2. A extinção da fluorescência.	124
VII. 2. Fluorescência das substâncias húmicas.	125
VII.3. Aplicação da extinção da fluorescência a determinação das propriedades complexantes das substâncias húmicas.	127
VII.3.1. Modelo de Ryan e Weber.	127
VII.3.2. Expressão analítica.	128
VII.3.3. Dificuldades do método e objetivos deste trabalho.	131
VII.3.4. Análise das curvas de extinção.	134
VII.3.5. Aplicação ao ácido fúlvico Suwanne River e as amostras de águas naturais do Garonne.	136
VII.3.5.1. Amostras e reativos químicos.	136
VII.3.5.2. Procedimentos experimentais.	138
a) Medidas fluorimétricas.	138
b) Medida da extinção da fluorescência.	139
VII.3.5.3. Espectros de fluorescência do AFSR em presença de Cu^{2+}.	140
VII.3.5.4. Análise das curvas de extinção da fluorescência do AFSR.	144
a) Caso onde KC_L é próximo de 1.	144
b) Caso onde $KC_L \ll 1$.	146
VII.3.5.5. Aplicação as águas naturais.	150
a) Espectros de fluorescência das águas naturais estudadas.	150
b) Extinção da fluorescência em presença de Cu^{2+}.	154
VII.4. Efeito do pH sobre os espectros de emissão e de excitação da fluorescência do ácido fúlvico Suwanne River (AFSR).	157
VII.4.1. Objetivo deste trabalho.	157
VII.4.2. Dispositivo experimental.	158
VII.4.3. Resultados.	158

QUARTA PARTE

Contaminação por metais presentes em sedimentos de superfície de mangues, lagoas e Baía Sul na ilha de Santa Catarina.

<u>CAPITULO VIII.</u> Contaminação por metais presentes em sedimentos de superfície de mangues, lagoas e Baía Sul na ilha de Santa Catarina.	164
VIII.1. Considerações iniciais.	164
VIII.2. Localização geográfica.	165
VIII.3. Parte experimental.	166
VIII.3.1. Coleta de amostras de sedimentos de superfície.	166
VIII.3.2. Análise dos sedimentos.	169
VIII.3.3. Análise estatística.	170
VIII.4. Resultados e discussão.	170
VIII.4.1. Concentração dos metais nos sedimentos de superfície.	170
VIII.4.2. Análise estatística.	177
VIII.4.2.1. Coeficientes de correlação parcial e múltiplos.	177
VIII.4.2.2. Análise dos componentes principais.	179
VIII.5. Considerações finais.	183
<u>Conclusão geral.</u>	185
Referências.	190

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Transporte de metais nos ciclos hidrológicos (Salomons, *et al.*, 1984).
O anel externo, representa o transporte das partículas. O anel interno, representa os metais solúveis e as interações com as partículas e o anel central, representa a atmosfera. 8
- Figura 2. Os mais importantes elementos presentes em águas naturais com suas formas (espécies), suas concentrações e seus tempos de residência (log. anos), (Sigg *et al.*, 1992). 10
- Figura 3. Concentração dos elementos em água em oceano aberto. (Johnsson, *et al.*, 1992).
TCO₂ é o carbono inorgânico total. 11
- Figura 4. Estrutura parcial hipotética de um ácido fúlvico e de um ácido húmico de solo (Hiraide, 1992, Schulten, *et al.*, 1993). 13
- Figura. 5. O ciclo biogeoquímico do selênio nos ambientes aquáticos (Kolbl, 1995). 17
- Figura 6: Estrutura de raios-X da glicose ligada a várias moléculas de proteínas. a) estrutura cristalina, b) esquema dos sítios de ligação da glicose (Hamilton, 1990). 20
- Figura. 7. Estruturas da β -ciclodextrina (1), do ciclofane (2), do cátion guanidinium (3) e exemplos de ligantes nitrogenados (4) (Hosseine *et al.*, 1987, Diederich, 1990, et Diaz *et al.*, 1994). 22
- Figura. 8. Classificação dos metais e ligantes receptores e doadores (adaptado de Pearson, 1968)
*R = alquila ou arila (Förstner *et al.*, 1983).* 25

- Figura. 9. Algumas estruturas de ligantes apresentando uma grande afinidade para os íons Fe(III) (Motekaitis, 1992) 27
- Figura 10. Estrutura da molécula do OBISDIEN (1) e do OBISTREN (2) (Bencini *et al.*, 1992). 29
- Figura. 11. alguns ácidos carboxílicos formando complexos com o [21] aneN7 (8) (Bencini *et al.*, 1994). 33
1. Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico, 2. Ácido 1,3-Benzenodicarboxílico, 3. Ácido 1,2,3-Benzenotricarboxílico, 4. Ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico, 5. *cis,cis*-1,3,5-trimetil-1,3,5-ciclohexanotricarboxílico, 6. Ácido *cis,trans*-1,3,5-trimetil-1,3,5-ciclohexanotricarboxílico, 7. Ácido Cítrico, 8. 1,4,7,10,13,16,19-heptaazaciclohenicosano [21]aneN7.
- Figura 12. Estruturas do complexo do μ -Hidroxo- μ -peroxo dicobalto(II) OBISDIEN di-oxigênio e do μ -Hidroxo- μ -peroxo dicobalto(II) OBISTREN di-oxigênio (Martell *et al.*, 1994). 35
- Figura 13. Estrutura molecular do complexo μ - oxalato $[\text{Ni}_2(\text{ciclam})_2\text{ox}]^{2+}$ determinado por difração de raios - X (Battaglia *et al.*, 1988). 36
- Figura 14. Célula utilizada para as medidas de titulação potenciométrica. 42
- Figura 15. Perfis das curvas de titulação potenciométrica das soluções contendo $2,20 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN, $1,32 \times 10^{-2}$ M de Br^- na ausência e na presença de $2,5 \times 10^{-3}$ M de SeO_3^{-2} e SeO_4^{-2} (a = moles de base adicionada por moles de OBISDIEN; t = 25,0°C; $\mu = 0,100$ M (KCl)). 48
- Figura 16. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,20 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN e $1,32 \times 10^{-3}$ M do íon brometo. L é a espécie completamente desprotonada do OBISDIEN e HL^+ , H_2L^{2+} , H_3L^{3+} , H_4L^{4+} , H_5L^{5+} e H_6L^{6+} são as espécies mono-, di-, tri-, tetra-, penta- e hexaprotonada do

OBISDIEN. H_3LBr^{2+} , H_4LBr^{3+} , H_5LBr^{4+} e H_6LBr^{5+} são as espécies tri-, tetra-, penta- e hexaprotonada do OBISDIEN:Br⁻.

50

Figura 17. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,20 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN e $2,5 \times 10^{-3}$ M do íon selenito em presença de $1,32 \times 10^{-2}$ M de íons brometo. L é a espécie completamente desprotonada do OBISDIEN e HL^+ , H_2L^{2+} , H_3L^{3+} , H_4L^{4+} e H_6L^{6+} são as espécies mono-, di-, tri-, tetra- e hexaprotonada do OBISDIEN. SeO_3^{2-} , $HSeO_3^-$ e H_2SeO_3 são as espécies respectivamente desprotonada, mono- e diprotonada do íon selenito. H_4LBr^{3+} , H_5LBr^{4+} e H_6LBr^{5+} são as espécies tetra-, penta- e hexaprotonada do OBISDIEN:Br⁻. $LHSeO_3^-$, $HLHSeO_3$, $H_2LHSeO_3^+$, $H_3LHSeO_3^{2+}$, $H_4LHSeO_3^{3+}$ e $H_5LHSeO_3^{4+}$ são as espécies mono-, di-, tri-, tetra-, e hexaprotonada do OBISDIEN:selenito.

52

Figura 18. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,20 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN e $2,5 \times 10^{-3}$ M do íon selenato em presença de $1,32 \times 10^{-2}$ M de íons brometo. L é a espécie completamente desprotonada do OBISDIEN e HL^+ , H_2L^{2+} , H_3L^{3+} , H_4L^{4+} e H_6L^{6+} são as espécies mono-, di-, tri-, tetra- e hexaprotonada do OBISDIEN. SeO_4^{2-} é o íon selenato livre. H_4LBr^{3+} e H_6LBr^{5+} são as espécies tetra-, e hexaprotonada do OBISDIEN:Br⁻. $HLSeO_4^-$, H_2LSeO_4 , $H_3LSeO_4^+$, $H_4LSeO_4^{2+}$, $H_5LSeO_4^{3+}$ e $H_6LSeO_4^{4+}$ são as espécies mono-, di-, tri-, tetra-, penta- e hexaprotonada do OBISDIEN:selenato.

54

Figura 19. Perfis das curvas de titulação potenciométrica das soluções contendo a) $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr; b) $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr e $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu^{2+} ; c) $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu^{2+} e $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} ; d) $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu^{2+} , $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_4^{2-} (a = moles de base adicionada por moles de OBISDIEN; t = 25,0°C; $\mu = 0,100$ M (KCl)).

57

Figura 20. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN e $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu(II) em presença de $1,42 \times 10^{-2}$ M

de íons brometo. H_6L^{6+} é a forma hexaprotionada do OBISDIEN. H_6LBr^{5+} é a espécie hexaprotionada do OBISDIEN:Br⁻. Cu^{2+} é o íon Cu(II) livre (aquo), LCu^{2+} , $HLCu^{3+}$, H_2LCu^{4+} , $LCuOH^+$, LCu_2^{4+} , LCu_2OH^{3+} e $LCu_2(OH)_2^{2+}$ são as espécies do OBISDIEN:Cu²⁺. H_2LCuBr^{3+} , H_3LCuBr^{4+} e LCu_2Br^{3+} representam a di- e triprotionada, mononuclear e a binuclear desprotionada espécies de OBISDIEN:Cu²⁺:Br⁻. LCu_2OHBr^{2+} e $LCu_2(OH)_2Br^+$ são as espécies binucleares hidroxido do OBISDIEN:Cu²⁺:Br⁻.

62

Figura 21. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN, $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu(II) e $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} em presença de $1,42 \times 10^{-2}$ M de íons brometo. H_6L^{6+} é a forma hexaprotionada do OBISDIEN. H_6LBr^{5+} é a espécie hexaprotionada do OBISDIEN:Br⁻. Cu^{2+} é o íon Cu(II) livre (aquo), $LCuOH^+$, LCu_2OH^{3+} e $LCu_2(OH)_2^{2+}$ são as espécies hidroxido do OBISDIEN:Cu²⁺. LCu_2^{4+} é a espécie binuclear do OBISDIEN:Cu²⁺. H_2LCuBr^{3+} , H_3LCuBr^{4+} e LCu_2Br^{3+} representam as mononucleares di- e triprotionada, e a binuclear desprotionada espécies de OBISDIEN:Cu²⁺:Br⁻. LCu_2OHBr^{2+} e $LCu_2(OH)_2Br^+$ são as espécies binucleares hidroxido do OBISDIEN:Cu²⁺:Br⁻. SeO_3^{2-} , $HSeO_3^-$ e H_2SeO_3 são as espécies respectivamente desprotionada, mono- e diprotionada do íon selenito. $LCuHSeO_3^+$, $HLCuHSeO_3^{2+}$, $H_2LCuHSeO_3^{3+}$ e $H_3LCuHSeO_3^4$ são as espécies mono-, di-, tri-, e tetraprotionada do OBISDIEN:Cu²⁺:SeO₃²⁻. $LCu_2SeO_3^{2+}$, $LCu_2OHSeO_3^+$ e $LCu_2(OH)_2SeO_3$ são as binucleares e completamente desprotionadas e hidroxido espécies do OBISDIEN:Cu²⁺:SeO₃²⁻.

64

Figura 22. Curvas de distribuição das espécies para uma solução supersaturada contendo $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN, $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu(II) e $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e SeO_4^{2-} em presença de $1,42 \times 10^{-2}$ M de íons brometo. $LCu_2SeO_4^{2+}$ é a espécie binuclear completamente desprotionada do OBISDIEN:Cu²⁺:SeO₄²⁻ e, $LCu_2OHSeO_4^+$ e $LCu_2(OH)_2SeO_4$ são as espécies mono- e di-hidroxido. Cu^{2+} é o íon Cu(II) livre (aquo). $H_2LCuSeO_4^{2+}$, $H_3LCuSeO_4^{3+}$ são as espécies mononucleares di- e triprotionada do OBISDIEN:Cu²⁺:SeO₄²⁻. SeO_4^{2-} é o íon selenato e $H_5LSeO_4^{3+}$ e $H_6LSeO_4^{4+}$, são as espécies penta- e hexaprotionada do OBISDIEN:Cu²⁺:SeO₄²⁻. SeO_3^{2-} , $HSeO_3^-$ e H_2SeO_3 são as

espécies respectivamente desprotonada, mono- e diprotonada do íon selenito. LCuHSeO_3^+ , HLCuHSeO_3^{2+} são as espécies mono- e diprotonada do OBISDIEN: Cu^{2+} : SeO_3^{2-} .

67

Figura 23. (a) Conformação estendida do complexo dizinco (II)-OBISDIEN. A separação Zn-Zn é de $7,32^\circ$. (b) Na conformação fechada, a separação Zn-Zn é $4,85^\circ$.

73

Figura 24. (a) Conformação estendida para a separação Mg-Mg igual à $7,35^\circ$. (b) Conformação fechada para a separação Mg-Mg igual à $4,95^\circ$.

74

Figura 25. Perfis das curvas de titulação potenciométrica das soluções contendo a) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr; b) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr e $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Zn^{2+} ; c) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Zn^{2+} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} ; d) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Zn^{2+} , $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} , e) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Zn^{2+} , $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_4^{2-} (a = moles de base adicionada por moles de OBISDIEN; t = $25,0^\circ\text{C}$; $\mu = 0,100$ M (KCl)).

77

Figura 26. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Zn^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. $\text{H}_2\text{LZnBr}^{3+}$, $\text{H}_3\text{LZnBr}^{4+}$ e $\text{LZn}_2\text{Br}^{3+}$ representam as mononucleares di- e triproutonada e a binuclear desprotonada espécies do OBISDIEN: Zn^{2+} : Br^- respectivamente. $\text{LZn}_2\text{OHBr}^{2+}$ é a espécie binuclear hidróxido do OBISDIEN: Zn^{2+} : Br^- . HLZn^{3+} e LZn^{2+} são respectivamente a monoprotonada e completamente desprotonada espécies de OBISDIEN: Zn^{2+} e LZnOH^+ é a espécie hidróxido. LZn_2^{4+} é o binuclear complexo receptor. Todas as espécies não metálicas e o produto da hidrólise dos íons Zn(II) não foram representados. Zn^{2+} é o íon Zn(II) livre (aquo).

80

Figura 27. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Zn^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} ,

na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. HLZnSO_4^+ , $\text{H}_2\text{LZnSO}_4^{2+}$ e $\text{LZn}_2\text{SO}_4^{2+}$ são as mononucleares, mono- e diprotonadas e binuclear desprotonada espécies do $\text{OBISDIEN:Zn}^{2+}\text{SO}_4^{2-}$ respectivamente. $\text{LZn}_2\text{OHSO}_4^+$ e $\text{LZn}_2(\text{OH})_2\text{SO}_4$ são as espécies binucleares hidróxido do $\text{OBISDIEN:Zn}^{2+}\text{SO}_4^{2-}$. $\text{H}_2\text{LZnBr}^{3+}$, $\text{H}_3\text{LZnBr}^{4+}$ representam as mononucleares di- e triprotonada espécies do $\text{OBISDIEN:Zn}^{2+}:\text{Br}^-$ respectivamente. Zn^{2+} é o íon Zn(II) livre (aquo) e Zn(OH)_3^- é o produto da hidrólise do íon Zn(II) . As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.

83

Figura 28. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $\text{OBISDIEN } 1,00 \times 10^{-3}$ M e íons $\text{Zn}^{2+} 2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. $\text{LZn}_2\text{SeO}_3^{2+}$ e $\text{LZn}_2(\text{OH})_2\text{SeO}_3$ são as espécies binucleares completamente desprotonada e di-hidróxido do $\text{OBISDIEN:Zn}^{2+}\text{SeO}_3^{2-}$. LZnHSeO_3^+ , HLZnHSeO_3^{2+} e $\text{H}_2\text{LZnHSeO}_3^{3+}$ são as espécies mononucleares e $\text{H}_2\text{LZnBr}^{3+}$ e $\text{H}_3\text{LZnBr}^{4+}$, são as espécies di- e triprotonadas do $\text{OBISDIEN:Zn}^{2+}:\text{Br}^-$. LZn_2^{4+} é a espécie binuclear do OBISDIEN:Zn^{2+} . Zn^{2+} é o íon Zn(II) livre (aquo) e Zn(OH)_3^- é o produto da hidrólise do íon Zn(II) . As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.

86

Figura 29. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $\text{OBISDIEN } 1,00 \times 10^{-3}$ M e íons $\text{Zn}^{2+} 2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e SeO_4^{2-} na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. $\text{LZn}_2\text{SeO}_4^{2+}$ e $\text{LZn}_2(\text{OH})_2\text{SeO}_4$ são as espécies binucleares completamente desprotonada e di-hidróxido do $\text{OBISDIEN:Zn}^{2+}\text{SeO}_4^{2-}$. $\text{H}_2\text{LZnSeO}_4^{2+}$ e $\text{H}_3\text{LZnSeO}_4^{3+}$ são as espécies mononucleares. $\text{LZn}_2(\text{OH})_2\text{SeO}_3$ é a espécie binuclear di-hidróxido do $\text{OBISDIEN:Zn}^{2+}:\text{SeO}_3^{2-}$ e $\text{LZn}_2\text{SeO}_3^{2+}$ é a espécie binuclear completamente desprotonada. LZnHSeO_3^+ e HLZnHSeO_3^{2+} são as espécies mononucleares Zn^{2+} é o íon Zn(II) livre (aquo) As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.

88

Figura 30. Perfis das curvas de titulação potenciométrica das soluções contendo a) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr ; b) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr e $2,00$

$\times 10^{-3}$ M de íons Mg^{2+} ; c) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Mg^{2+} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} ; d) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Mg^{2+} , $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} , e) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Mg^{2+} , $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} ; $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_4^{2-} (a = moles de base adicionada por moles de OBISDIEN; $t = 25,0^\circ\text{C}$; $\mu = 0,100$ M (KCl)).

91

Figura 31. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Mg^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. $\text{H}_2\text{LMgBr}^{4+}$ e $\text{LMg}_2\text{Br}^{3+}$ representam as espécies mononuclear triprotonada e binuclear desprotonada do OBISDIEN: Mg^{2+} : Br^- respectivamente. $\text{LMg}_2\text{OHBr}^{2+}$ é a espécie binuclear hidróxido do OBISDIEN: Mg^{2+} : Br^- . LMg^{2+} HLMg^{3+} , $\text{H}_2\text{LMg}^{4+}$, $\text{H}_3\text{LMg}^{5+}$ e LMgOH^+ são as espécies mononucleares OBISDIEN: Mg^{2+} e LMg_2^{4+} e $\text{LMg}_2\text{OH}^{3+}$ são as espécies binucleares. Todas as espécies não metálicas, o produto da hidrólise dos íons $\text{Mg}(\text{II})$ e as espécies com formação menores que 2%, não foram representados. Mg^{2+} é o íon $\text{Mg}(\text{II})$ livre (aquo).

93

Figura 32. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Mg^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} , na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. HLMgSO_4^+ , $\text{H}_2\text{LMgSO}_4^{2+}$ e $\text{LMg}_2\text{SO}_4^{2+}$ são as mononucleares, mono- e diprotonadas e binuclear desprotonada espécies do OBISDIEN: Mg^{2+} : SO_4^{2-} respectivamente e $\text{LMg}_2\text{OHSO}_4^+$ é a espécie binuclear hidróxido do OBISDIEN: Mg^{2+} : SO_4^{2-} . Mg^{2+} é o íon $\text{Mg}(\text{II})$ livre (aquo) e MgOH^+ é o produto da hidrólise do íon $\text{Mg}(\text{II})$. As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.

95

Figura 33. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Mg^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e SO_4^{2-} na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. LMgHSeO_3^+ , HLMgHSeO_3^{2+} , $\text{H}_2\text{LMgHSeO}_3^{3+}$, $\text{H}_3\text{LMgHSeO}_3^{4+}$ são as espécies mononucleares mono-, di- tri- e tetraprotonada do OBISDIEN: Mg^{2+} : SeO_3^{2-} respectivamente. $\text{LMg}_2\text{SeO}_3^+$ e $\text{LMg}_2\text{OHSeO}_3$ são as espécies binucleares completamente

desprotonada e hidróxido do OBISDIEN: $\text{Mg}^{2+}\text{SeO}_3^{2-}$. Mg^{2+} é o íon $\text{Mg}(\text{II})$ livre (aquo) e MgOH^+ é o produto da hidrólise do íon $\text{Mg}(\text{II})$. As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação. 98

Figura 34. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Mg^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} , SO_4^{2-} e SeO_4^{2-} na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. HLMgSeO_4^+ , $\text{H}_2\text{LMgSeO}_4^{2+}$, $\text{H}_3\text{LMgSeO}_4^{3+}$ e $\text{LMg}_2\text{SeO}_4^{2+}$ são as espécies do sistema OBISDIEN: $\text{Mg}^{2+}\text{SeO}_4^{2-}$. $\text{LMg}_2\text{OHSeO}_4^+$ é a espécie binuclear hidróxido do sistema OBISDIEN: $\text{Mg}^{2+}\text{SeO}_4^{2-}$. MgSO_4 é o sal de magnésio (II). Mg^{2+} é o íon $\text{Mg}(\text{II})$ livre (aquo) MgOH^+ é o produto de hidrólise do $\text{Mg}(\text{II})$. As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação. 100

Figura 35. Perfis da curva de titulação potenciométrica para a solução contendo $9,40 \times 10^{-4}$ M de selênio-DL-cistina (a = moles de base adicionada por mol de selênio-DL-cistina; t = 25,0°C; $\mu = 0,100$ M KCl)). 108

Figura 36. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $9,40 \times 10^{-4}$ M de selênio-DL-cistina. SeCys^{2-} é a forma completamente desprotonada do ligante e HSeCys^- , H_2SeCys , H_3SeCys^+ e $\text{H}_4\text{SeCys}^{2+}$ são as formas mono-, di-, tri- e tetraprotonada do ligante. 110

Figura 37. Perspectivas da molécula de cistina, a partir de dados cristalográficos, sob duas diferentes conformações: a) forma totalmente protonada (derivado clorídrico) (Steinrauf, *et al.*, 1958); b) forma neutra (zwitteriônica) (Beryl, *et al.*, 1959). 113

Figura 38. Perfis da curva de titulação potenciométrica para a solução contendo $9,95 \times 10^{-3}$ M de selênio-DL-metionina (a = moles de base adicionada por mol de selênio-DL-metionina; t = 25,0°C; $\mu = 0,100$ M KCl)). 114

- Figura 39. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $9,95 \times 10^{-3}$ M de selênio-DL-metionina. SeMet^- é a forma completamente desprotonada do ligante e HSeMet e H_2SeMet são as formas mono- e diprotonada do ligante. 115
- Figura 40. Cromatograma da selênio-DL-cistina e selênio-DL-metionina obtido por HPLC sob condições experimentais otimizadas. Fase estacionária: fase reversa, Hamilton PRP1. Concentração dos eluentes: 100 $\mu\text{g/L}$. Fase móvel: $\text{H}_2\text{O}/\text{Metanol}$: 98/2. Ácido pentano sulfônico 10^{-5} M. $\text{PH}=3,5$. 117
- Figura 41. Influência do pH sobre a retenção de dois selênio aminoácidos (SeCys e SeMet) separados por HPLC/ICP-MS. Esta retenção é expressa como k' (fator capacitivo) = $T_R - T_0 / T_0$, onde T_R é o tempo de retenção de cada composto e T_0 é o volume morto da coluna. 119
- Figura. 42. Diagrama de energia dos estados eletrônicos de uma molécula poliatômica (Becker, 1969):
 S_0 é o estado fundamental, S_j e T_j são respectivamente os estados singlete e triplete. 123
- Figura 43. Espectro de emissão de uma água natural ($\lambda_{\text{exc.}} = 313$ nm). 126
- Figura 44. Representação esquemática da extinção da fluorescência de um ligante em presença de íons metálicos paramagnéticos com o qual seu complexo não fluorescente é formado. 129
- Figura 45. Simulação baseada na expressão de Ryan e Weber da variação do perfil das curvas de extinção da fluorescência do ácido fúlvico Suwannee River.
 $K = 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$; $I_{\text{ML}} = 20\%$
 $C_L = 1: 5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $2: 2 \times 10^{-5} \text{ M}$; $3: 10^{-5} \text{ M}$; $4: 5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $5: 10^{-6} \text{ M}$; $6: 10^{-7} \text{ M}$. 135
- Figura 46. Mapa com a localização das amostras de água coletadas. 137

Figura 47. Espectro de emissão do ácido fúlvico Suwanne River e a extinção de sua fluorescência em presença de íons cúpricos.

$\lambda_{Exc.} = 313 \text{ nm}$; pH = 6,2

$[Cu^{2+}] = 1: 0,0; 2: 6 \times 10^{-6} \text{ M}; 3: 30 \times 10^{-6} \text{ M}; 4: 80 \times 10^{-6} \text{ M}.$ 141

Figura 48. Espectro de emissão do ácido fúlvico Suwanne River e a extinção de sua fluorescência em presença de íons cúpricos.

$\lambda_{Exc.} = 370 \text{ nm}$; pH = 6,2

$[Cu^{2+}] = 1: 0,0; 2: 6 \times 10^{-6} \text{ M}; 3: 30 \times 10^{-6} \text{ M}; 4: 80 \times 10^{-6} \text{ M}.$ 142

Figura 49. Espectro de excitação do ácido fúlvico Suwanne River e a extinção de sua fluorescência em presença de íons cúpricos.

$\lambda_{Obs.} = 445 \text{ nm}$; pH = 6,2

$[Cu^{2+}] = 1: 0,0; 2: 6 \times 10^{-6} \text{ M}; 3: 30 \times 10^{-6} \text{ M}; 4: 80 \times 10^{-6} \text{ M}.$ 143

Figura 50. Parâmetros obtidos por regressão não linear de duas series de pontos experimentais obtidas a partir de duas experiências independentes de extinção da fluorescência do AFSR (10 mg/L) em presença de íons cúpricos (pH = 6,2). 145

Figura 51. Efeito da diluição sobre o perfil das curvas de extinção da fluorescência do ácido fúlvico Suwannee River. 147

Figura 52. Curvas de extinção da fluorescência do ácido fúlvico Suwannee River e tangente à origem em função da concentração de íons cúpricos para diferentes concentrações de ácido fúlvico. 149

Figura 53. Efeito da diluição sobre os valores de C_L determinados pela tangente à origem das curvas de extinção obtidas para diferentes concentrações de ácido fúlvico. 151

Figura 54. Espectro de emissão de fluorescência de água da garonne coletada próximo de La Réole e a extinção de sua fluorescência em presença de íons cúpricos.

$\lambda_{Exc.} = 313 \text{ nm}$; pH = 8,1

[Cu²⁺] = 1: 0,0; 2: $12 \times 10^{-6} \text{ M}$; 3: $40 \times 10^{-6} \text{ M}$; 4: $60 \times 10^{-6} \text{ M}$.

152

Figura 55. Comparação entre as curvas experimentais de extinção da fluorescência de três águas do Garonne coletadas (A) Pauillac, (B) Langoiran e (C) La Réole e suas respectivas curvas de extinção simuladas baseadas no modelo de Ryan e Weber.

— : Curvas experimentais

- - - - : Curvas teóricas calculadas com a ajuda dos parâmetros reproduzindo de forma satisfatória o perfil inicial das curvas experimentais.

(A): $K = 1,48 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$; $C_L = 10^{-6} \text{ M}$; $I_{ML} = 47,9$. (B): $K = 0,49 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$; $C_L = 10^{-6} \text{ M}$; $I_{ML} = 67,5$. (C): $K = 2,09 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$; $C_L = 10^{-6} \text{ M}$; $I_{ML} = 52,5$.

155

Figura 56. Espectros de fluorescência do AFSR (10 mg/L) à diferentes pH: a) $\lambda_{Exc.} = 313 \text{ nm}$, b) $\lambda_{Exc.} = 370 \text{ nm}$.

160

Figura 57. Espectros de excitação da fluorescência do AFSR (10 mg/L) à diferentes pH: $\lambda_{Obs.} = 445 \text{ nm}$.

161

Figura 58. Mapa da ilha de Santa Catarina com as suas características geográficas.

167

Figura 59. Localização e coordenadas geográficas das amostras de sedimento de superfície coletadas na ilha de Santa Catarina.

168

Figura 60. Histogramas para as concentrações de Hg, Pb, As e Sn contra os sítios de coleta dos sedimentos de superfície. As concentrações são expressas em $\mu\text{g/g}$. A linha reta representa a composição média elementar determinada para os sedimentos (Salomons *et al.*, 1983).

173

Figura 61. Histogramas para as concentrações de Cd, U, Se e Ag contra os sítios de coleta dos sedimentos de superfície. As concentrações são expressas em $\mu\text{g/g}$. A linha reta representa a composição média elementar determinada para os sedimentos (Salomons *et al.*, 1983).

174

Figura 62. Escore plot dos componentes principais das amostras de sedimento de superfície da ilha de Santa Catarina nas novas coordenadas de espaço definidas pelos dois primeiros componentes. A variância retida para cada eixo do componente principal é mostrada em parêntesis. Os clusters delimitados por linhas idênticas correspondem as regiões geográficas similares.

181

Figura 63. Loadings plot dos dois componentes principais mostrando as interrelações entre metais nas amostras da ilha de Santa Catarina.

182

ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1. Log. Das constantes de equilíbrio dos complexos do OBISDIEN-brometo, OBISDIEN-selenito e OBISDIEN-selenato ($t = 25,00^{\circ}\text{C}$; $\mu = 0,100 \text{ M}$ (KCl)). 49
- Tabela 2. Log. das constantes de equilíbrio dos complexos do OBISDIEN- Cu^{2+} -brometo, OBISDIEN- Cu^{2+} -selenito e OBISDIEN- Cu^{2+} -selenato ($t = 25,00^{\circ}\text{C}$; $\mu = 0,100 \text{ M}$ (KCl)). 58
- Tabela 3. Log. das constantes de equilíbrio dos complexos do OBISDIEN- Zn^{2+} -brometo, OBISDIEN- Zn^{2+} -sulfato OBISDIEN- Zn^{2+} -selenito e OBISDIEN- Zn^{2+} -selenato ($t = 25,00^{\circ}\text{C}$; $\mu = 0,100 \text{ M}$ (KCl)). 78
- Tabela 4. Log. das constantes de equilíbrio dos complexos do OBISDIEN- Mg^{2+} -brometo, OBISDIEN- Mg^{2+} -sulfato OBISDIEN- Mg^{2+} -selenito e OBISDIEN- Mg^{2+} -selenato ($t = 25,00^{\circ}\text{C}$; $\mu = 0,100 \text{ M}$ (KCl)). 92
- Tabela 5. Log. Das constantes de equilíbrio da selênio-DL-cistina, DL-cistina, selênio-DL-metionina e DL-metionina ($t = 25,0^{\circ}\text{C}$; $\mu = 0,100 \text{ M}$ KCl)). 109
- Tabela 6. Valores de K , I_{ML} e C_L determinados por parametrização total das curvas de complexação por Cu^{2+} para diferentes concentrações de AFSR. Comparação dos valores de C_L (param.) com aqueles calculados a partir das tangentes à origem (C_L tangente). Para os cálculos de C_L tangente, os valores de K e I_{ML} utilizados são aqueles obtidos por parametrização da curva para $C_{AFSR} = 5,0 \text{ mg/L}$, mantendo C_L fixo em 10^{-7} M . $K = 2,21 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ e $I_{ML} = 27,2\%$ 148
- Tabela 7. Valores de K , IML e CL (param.) determinados por parametrização total das curvas de complexação por Cu^{2+} de diferentes amostras de águas naturais e valores dos limites inferiores de K (K tangente) estimados após as tangentes à origem. Comparação com os resultados obtidos com o AFSR à 10 mg/L . 153

Tabela 8. Sumario dos dados para metais, granulometria (< 0,062 mm) e matéria orgânica em sedimentos de superfície de mangues, lagoas e baía sul na ilha de Santa Catarina. Todos os valores foram expressos em $\mu\text{g/g}$ sobre o sedimento seco e pesado para os metais e em porcentagem para a granulometria (< 0,062 mm) (G0062) e matéria orgânica (ORG.MAT).

172

Tabela 9. Coeficientes de múltipla correlação (R^2) para as concentrações de metais contra ambos e isolados; granulometria (< 0,062 mm) e matéria orgânica e os coeficientes de correlação parcial (r_x) contra granulometria (< 0,062 mm) e matéria orgânica. G0062 é a granulometria (< 0,062 mm) e ORG.MAT é a matéria orgânica. ns é não significativa.

178

ÍNDICE DE ESTRUTURAS

Estrutura 1. $H_4LSeO_4^{2+}$.	56
Estrutura 2. Complexo binuclear do (μ -Brometo) Cu(II)-OBISDIEN.	60
Estrutura 3. Complexo binuclear do (μ -Brometo) (μ -Hidroxo) Cu(II)-OBISDIEN.	61
Estrutura 4. Complexo binuclear do (μ -Brometo) (di-hidroxo) di-Cu(II)-OBISDIEN.	61
Estrutura 5. (μ -Hidroxo)(μ -Selenato) di-cobre(II)-OBISDIEN.	68
Estrutura 6. Complexo binuclear do (μ -Brometo) (μ -Hidroxo) Zinco(II)-OBISDIEN.	81
Estrutura 7. Sulfato aduto do binuclear di-hidroxo Zn(II)-OBISDIEN.	84
Estrutura 8. Selenito aduto do binuclear di-hidroxo Zn(II)-OBISDIEN.	87
Estrutura 9. Selenato aduto do binuclear di-hidroxo Zn(II)-OBISDIEN.	90
Estrutura 10. Sulfato aduto do binuclear hidroxo Mg(II)-OBISDIEN.	96
Estrutura 11. Selenito aduto do binuclear hidroxo Mg(II)-OBISDIEN.	99
Estrutura 12. Selenato aduto do complexo mononuclear triprotonado Mg(II)-OBISDIEN. $H_3LMgSeO_4^{3+}$.	102
Estrutura 13. Selenato aduto do complexo binuclear hidroxo Mg(II)-OBISDIEN.	102

APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

1. JUSTIFICATIVA DESTE TRABALHO.

O aumento crescente de metais pesados de origem essencialmente antropogênica, necessita de mais e mais do conhecimento de dados analíticos. Para responder a esta demanda, métodos de análise (Espectroscopia Atômica, ICP-MS acoplado a métodos Cromatográficos ...) cada vez mais eficientes e sensíveis estão em contínuo desenvolvimento. Entretanto, se os teores globais em metais são dados quantitativos importantes, o conhecimento das formas químicas sobre as quais encontram-se associados ou complexados esses metais são também de grande importância. Junto com os mecanismos de formação e seu transporte, estes elementos são igualmente de interesse fundamental para a avaliação do impacto, da toxicidade e do futuro destes metais nos meios naturais.

Estes fenômenos são regidos em grande parte pelas interações entre os íons metálicos e as espécies orgânicas e/ou inorgânicas presentes naturalmente ou que são introduzidas artificialmente no meio ambiente. Os mecanismos de formação dos complexos constituem uma parte importante destes fenômenos. Eles constituem em particular, uma função importante para a bio-disponibilidade e para o transporte de metais nos ecossistemas. Esta é a razão pela qual a complexação de metais com espécies orgânicas e/ou inorgânicas de importância ambiental, tem sido muito estudada. Este estudo foi um dos objetos principais deste trabalho o qual desenvolvemos e no qual, nós procuramos aportar uma contribuição para o conhecimento de algumas reações de complexação entre alguns metais e ligantes naturais e/ou artificiais com o emprego de várias técnicas.

Dois tipos de ligantes foram utilizados neste trabalho para estudar os processos de complexação entre íons metálicos e os ânions orgânicos e/ou inorgânicos: o ligante natural, o ácido fúlvico Suwannee River comercializado pela Internacional Humique Substance Society e o 1,4,7,13,16,19-Hexaaza-10,22-Dioxacicotetracosano (OBISDIEN) que é um ligante artificial, sintetizado por Lehn e outros (Lehn *et al.*, 1977). Trata-se de uma molécula macrocíclica do tipo poliazamina que revelou-se como sendo um ligante excelente para a complexação de íons metálicos e também para o reconhecimento de ânions orgânicos e inorgânicos. A complexação deste ligante com os ânions pode ser feita de duas maneiras: seja pela ligação com os nitrogênios protonados do ligante macrocíclico, seja pela ligação com um ou dois átomos metálicos já complexados na

cavidade do ligante. Esta característica pode revelar-se interessante para o reconhecimento de espécies inorgânicas tóxicas, presentes em águas naturais como os ânions selenito, selenato e outros.

2. DISPOSIÇÃO DESTA TESE.

O trabalho apresentado aqui é concernente à determinação de alguns parâmetros (constantes de equilíbrio, capacidades complexantes) caracterizando os complexos formados entre os cátions metálicos e os ligantes orgânicos ou inorgânicos. Uma grande parte do nosso estudo, foi realizada sobre o ligante sintético OBISDIEN e sobre o ligante natural, o ácido fúlvico Suwannee River. Segundo os casos tratados, os estudos foram realizados ou por titulação potenciométrica ou por titulação fluorimétrica, duas técnicas que podem em alguns casos serem acopladas.

O conhecimento dos equilíbrio ácido-base de espécies naturais como por exemplo, os selênio aminoácidos pode tornar-se importante para o desenvolvimento de técnicas que possam facilitar sua especificação no meio ambiente. Um dos objetivos em nosso trabalho foi o de determinar os pKas dos selênio aminoácidos selênio cistina e selênio metionina por titulação potenciométrica, para melhor compreender o protocolo de análise desenvolvido para a sua especificação por HPLC acoplado a um ICP-MS.

Na ultima parte deste trabalho, nós efetuamos a análise por ICP-MS dos metais presentes nos sedimentos de superfície coletados em diversos sítios (mangues, lagoas, baías) da ilha de Florianópolis. Este estudo foi completado por uma análise estatística dos resultados afim de verificar o atual estado de poluição destes sítios.

Na primeira parte desta tese, consagramos dois capítulos à uma revisão geral sobre as espécies que foram estudadas neste trabalho. No primeiro destes capítulos, fizemos uma revisão sobre a presença de metais e espécies não metálicas em meio aquoso (substâncias húmicas, selênio). No outro capítulo, apresentamos os principais tipos de ligantes, espécies moleculares e supramoleculares conhecidas e que foram sintetizadas até o presente, em via de

serem utilizadas para o reconhecimento molecular de diversos cations e ânions inorgânicos ou orgânicos específicos.

A segunda parte desta tese, foi consagrada à determinação das constantes de associação, de protonação e de formação de alguns complexos organometálicos. No capítulo III apresentamos a técnica de titulação potenciométrica que utilizamos. Nos capítulos IV e V, apresentamos os resultados concernentes à determinação das constantes de associação e as constantes de estabilidade das espécies selenito, selenato, brometo e sulfato com o complexo receptor formado pelo macrocíclico OBISDIEN e os íons metálicos Cu^{2+} , Zn^{2+} e Mg^{2+} . Os resultados concernentes ao íon Cu^{2+} são apresentados e discutidos no cap.IV enquanto os dois outros metais são apresentados e discutidos no cap. V. O capítulo VI é relativo à determinação das constantes de protonação dos selênio aminoácidos selênio cistina e selênio metionina e a aplicação destes resultados para ajustar um protocolo experimental para a análise destes compostos por cromatografia líquida acoplada a um ICP-MS.

A terceira parte desta tese, foi consagrada ao estudo fluorimétrico do ácido fúlvico Suwannee River (AFSR). No capítulo VII, realizamos um estudo crítico da aplicabilidade do método proposto por Ryan e Weber para a determinação das constantes de complexação e das capacidades complexantes das substâncias húmicas por fluorimetria. Dois aspectos do método foram estudados. A influência da concentração no caso do AFSR e a aplicação as águas naturais. Este estudo foi completado por um estudo dos espectros de fluorescência do AFSR em função do pH.

Enfim, na ultima parte desta tese, efetuamos à análise por ICP-MS dos metais presentes em sedimentos de superfície coletados em vários sítios da Ilha de Santa Catarina no Brasil. Este estudo foi completado por uma análise estatística dos resultados afim de obter-se um relatório do estado de poluição destes sítios. Este trabalho é apresentado no capítulo VIII desta tese.

Este ultimo capítulo, constitui a primeira fase de um programa franco-brasileiro que consiste em seguir a evolução por um longo período de tempo dos metais em ecossistemas aquáticos modelos (mangues, lagoas e baías) submetidos à influências antropogênicas diferentes. Este trabalho deverá ser completado no futuro por dados sobre os processos de troca água-sedimento interpretados através das propriedades complexantes de substâncias orgânicas específicas a cada um dos sítios. Os dados poderão ser determinados com a ajuda das técnicas citadas

acima. O objetivo é não somente uma melhor compreensão dos ciclos biogeoquímicos dos metais, mais igualmente de aplicar as propriedades complexantes dos ligantes naturais e/ou artificiais para desenvolver ou melhorar as técnicas de análise de metais ou as técnicas susceptíveis de serem aproveitadas para o tratamento ou a despoluição dos solos ou das águas.

PRIMEIRA PARTE
INTRODUÇÃO GERAL

CAPITULO I

METAIS E OUTRAS ESPÉCIES NÃO METÁLICAS NO MEIO AQUOSO: SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA.

Os ciclos biogeoquímicos dos elementos metálicos e das espécies orgânicas e inorgânicas no meio ambiente são influenciados pelas atividades humanas e pelos fenômenos naturais. A maior parte das espécies químicas de origem natural, mesmo tendo comportamentos geoquímicos (interação, reatividade, solubilidade em meio aquoso) e propriedades biológicas (biodisponibilidade, acumulação, toxicidade) muito variadas, possuem uma função muito particular nos grandes ciclos biogeoquímicos. Os metais e os materiais orgânicos provenientes dos produtos, manufaturados pelo homem, encontram-se igualmente engajados nestes ciclos. A consequência, é uma modificação dos equilíbrios geoquímicos e biológicos com uma alteração sensível na qualidade de nosso meio ambiente. Os meios aquáticos são particularmente sensíveis a estas perturbações.

I.1 OS METAIS NOS MEIOS AQUÁTICOS.

A presença de metais nas águas naturais é estreitamente tributária dos ciclos hidrológicos. No meio ambiente a água contribui não somente para a liberação dos metais pela degradação dos solos e rochas mas também ao seu transporte. A figura abaixo (Figura 1), representa esquematicamente o transporte dos metais entre os diferentes compartimentos hidrológicos.

Nas águas naturais os metais apresentam uma grande variedade de formas químicas, tanto na fase solúvel (íons hidratados, complexos minerais e/ou orgânicos associados ou não a colóides, etc.) quanto na fase de partículas (Fischer, *et al.*, 1992). Durante o transporte os metais sofrem interações diversas, principalmente com as espécies orgânicas ou minerais em suspensão ou dissolvidas podendo formar complexos. Seu comportamento e sua evolução dependem profundamente de suas interações (Honeyman, *et al.*, 1988) e também dos ciclos biológicos (Johnston, 1964) onde os metais podem estar implicados.

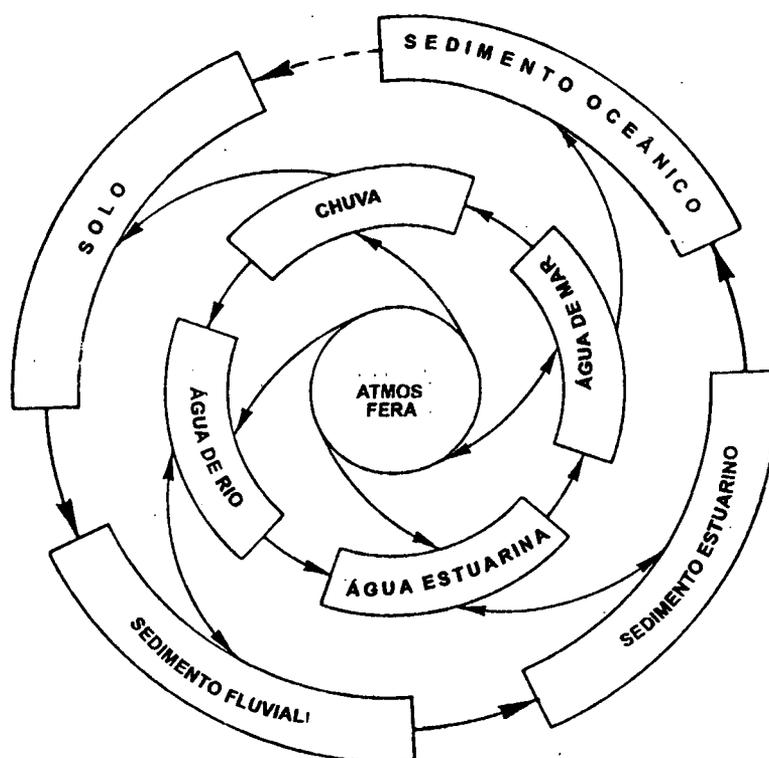


Figura 1. Transporte de metais nos ciclos hidrológicos (Salomons, et al., 1984).
 O anel externo, representa o transporte das partículas. O anel interno, representa os metais solúveis e as interações com as partículas e o anel central, representa a atmosfera.

Os metais assim como outros elementos presentes em quantidades apreciáveis com suas respectivas concentrações médias em águas naturais são indicadas na Figura 2.

Em água do mar, praticamente todos os elementos da tabela periódica encontram-se em solução ou presentes sob a forma de partículas em suspensão em concentrações muito variáveis (Fischer, *et al.*, 1992). Na fase solúvel, somente sete íons estão presentes em concentrações superiores a 1.0 mM. Eles constituem mais de 99.5% dos elementos químicos solúveis e exercem uma influência determinante sobre a velocidade e os equilíbrios dos processos químicos neste meio (Ahrlund, 1985, Johnsson, *et al.*, 1992), (Figura 3). Somente quatro destes íons são metálicos (Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+). A maior parte dos outros íons metálicos estão presentes na forma de traços (concentração $\leq 1,0 \mu\text{M}$), a exceção do Si^{4+} , Sr^{2+} e do Li^+ que possuem concentrações intermediárias

A distribuição vertical e horizontal dos metais nas águas marinhas tem sido objeto de numerosos estudos (Bruland, 1978, 1980, Goldberg, 1981, Hester, *et al.*, 1982). A composição química das águas de lagos e rios, resulta da influência de numerosos fatores porem de importância variável (Gorham, 1961). A composição dos solos e das rochas, as condições climáticas, a morfologia, a fauna e a flora, o fator de tempo e as influências antropogênicas são alguns exemplos. A influência antropogênica é marcada por um aumento ao longo dos 100 últimos anos na concentração de metais nos sedimentos dos lagos e dos rios (Nriagu, *et al.*, 1980, Rippey, *et al.*, 1982).

A acumulação de metais nos sedimentos pode ser um indicativo da presença destes metais na coluna de água a concentrações que dependem das interações água-sedimento. A determinação de metais nos sedimentos pode constituir um bom indicador de poluição e é igualmente um meio de identificação de fontes de poluição por metais nos sistemas aquáticos. Embora sua análise não conduza exatamente a uma avaliação precisa da toxicidade dos meios aquosos, ela pode permitir efetuar estudos comparativos das fontes de poluição (Förstner, *et al.*, 1983).

A mobilização, o transporte e a biotoxicidade dos metais tóxicos dependem diretamente das formas químicas sob as quais eles se acham. Eles são fortemente influenciados pelos fatores físico-químicos (pH, potenciais redox, salinidade, temperatura) assim como pela presença de agentes complexantes e biológicos

H 4.5 H ₂ O -1.74 -1.74							He 8.8
Li 6.3 Li ⁺ 4.6	Be BeOH ⁺ (?) 9.2	B 7.0 H ₃ BO ₃ , B(OH) ₄ ⁻ 3.39	C 4.9 HCO ₃ ⁻ 2.64 3.0	N 6.3 N ₂ , NO ₃ ⁻ 1.97	O 4.5 H ₂ O, O ₂ -1.74 -1.74	F 5.7 F ⁻ , Mg F ⁺ 4.17 5.3	Ne 8.15
Na 7.7 Na ⁺ 0.33 3.57	Mg 7 Mg ²⁺ , (MgSO ₄) 1.27 3.77	Al 2 Al (OH) ₄ ⁻ 7.1	Si 3.8 H ₄ SiO ₄ 4.15 3.8	P 4 HPO ₄ ²⁻ , (MgPO ₄) 5.3	S 6.9 SO ₄ ²⁻ (NaSO ₄) 1.55 3.92	Cl 7.9 Cl ⁻ 0.26 3.66	Ar 6.96
K 6.7 K ⁺ 7.99 4.23	Ca 5.9 Ca ²⁺ , (CaSO ₄) 1.99 3.42	As HAsO ₄ ²⁻ 7.3		Se 4 Se O ₃ ²⁻ 8.6	Br 8 Br ⁻ 3.08	Kr 8.6	
Sr 6.6 Sr ²⁺ 4.05		I 6 I ⁻ , IO ₃ ⁻ 6.3					
Ba 4.5 Ba ²⁺ 6.8		<p>Tempo de residência no oceano log(a)</p> <p>Espécies predominantes</p> <p>Concentr. Em água do mar -logM</p> <p>Concentr. Em água de rios -logM</p>					

Figura 2. Os mais importantes elementos presentes em águas naturais com suas formas (espécies), suas concentrações e seus tempos de residência (log. anos), (Sigg et al, 1992).

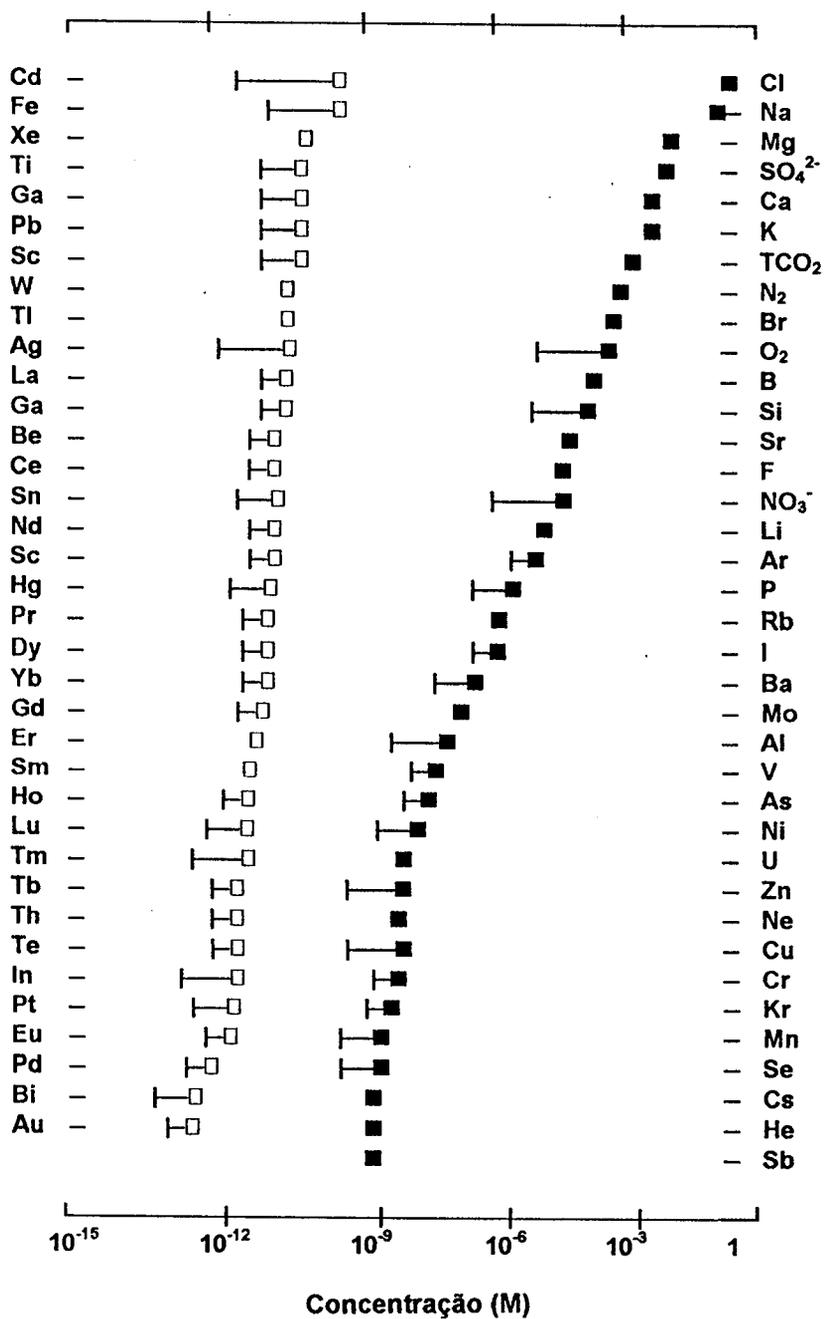


Figura 3. Concentração dos elementos em água em oceano aberto. (Adaptação de Johnsson *et al.*, 1992).

TCO₂ é o carbono inorgânico total.

(Förstner, 1983). A acidificação das águas naturais pode provocar modificações importantes nos teores em metais pelo aumento da solubilidade dos íons metálicos. Assim, por exemplo, o íon Al (III) que a pH 6,0 se acha essencialmente sob a forma não tóxica $\text{Al}(\text{OH})_3$, a pH mais baixo (4-5), se acha sob a forma do cátion $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, que é tóxica.

A introdução de metais nos ambientes aquáticos é produzida em grande parte pela lixiviação dos solos produzida pelas águas da chuva. Este processo é particularmente eficaz em certas zonas como as zonas mineiras e os sítios industriais.

I.2. ESPÉCIES NÃO METÁLICAS NOS MEIOS AQUÁTICOS.

A) SUBSTÂNCIAS HÚMICAS.

De uma maneira geral, a matéria orgânica presente no meio ambiente (solo e águas naturais) é composta de uma grande variedade de moléculas como: carboidratos, aminoácidos livres e ligados, lipídios, compostos aromáticos, ácidos carboxílicos e outros (Degens, 1970, Riley, 1970, Skopintsev, 1971, Williams, 1975). Entretanto, estas moléculas representam somente 10 à 20% da matéria orgânica total. Os 80 à 90% restantes são constituídos pelas substâncias húmicas (Duursma, 1961, Allard, *et al.*, 1991). Estas substâncias são formadas pelas reações de degradação da matéria viva e por reações complexas de rearranjos (Frimmel, *et al.*, 1988). Elas constituem uma classe geral de macromoléculas orgânicas, mais ou menos refratárias, de cor amarelo forte (Gelbstoff), de massa molecular compreendida entre aproximadamente 500 a 10000 daltons. Elas podem ser descritas como macromoléculas hidrofóbicas contendo principalmente grupos carboxílicos, fenólicos (Hiraide, 1992), e alguns anéis aromáticos (Aiken *et al.*, 1985, Frimmel, *et al.*, 1988), (Figura 4).

Sua estrutura molecular não é ainda bem definida. Eles são normalmente subdivididos em três categorias em função da sua solubilidade em meio ácido e básico. Os ácidos húmicos de massa molecular mais elevada são solúveis em soluções alcalinas e precipitam em soluções ácidas. Os ácidos fúlvicos de massa molecular mais baixa, são solúveis tanto em soluções ácidas como em soluções

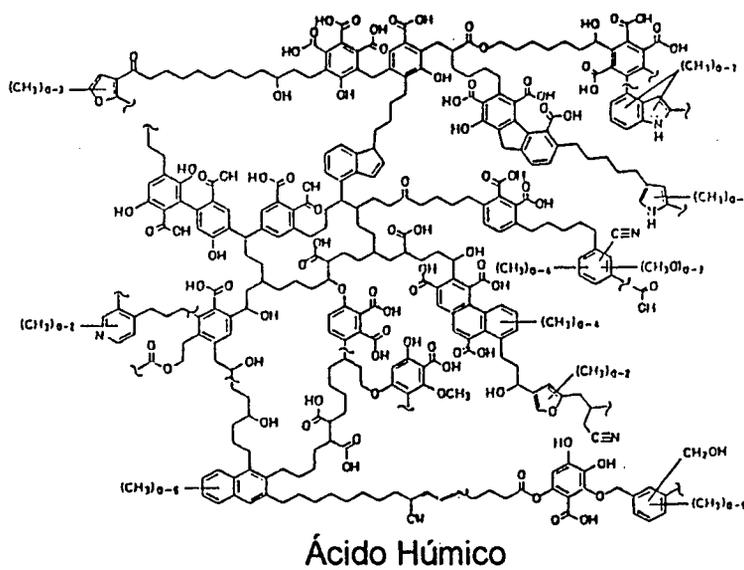
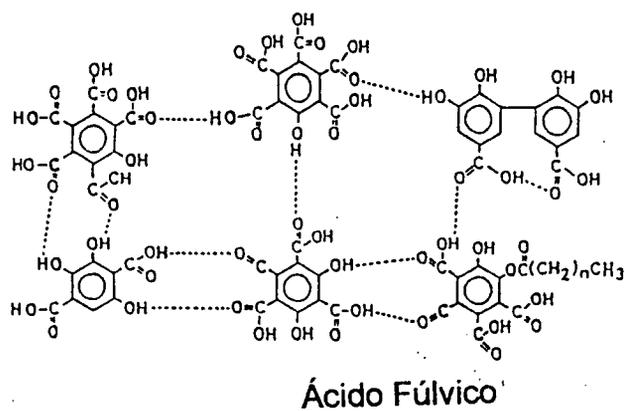


Figura 4. Estrutura parcial hipotética de um ácido fúlvico e de um ácido húmico de solo (Hiraide, 1992, Schulten, *et al.*, 1993).

Básicas. Enfim a humina que é insolúvel nos dois meios.

Numerosas técnicas têm sido utilizadas para extrair e isolar substâncias húmicas a partir de solos ou de águas naturais. As mais comumente empregadas são baseadas em sua absorção sobre resinas não iônicas que utilizam seu caráter hidrofóbico e sua acidez (Aiken, *et al.*, 1985). As resinas mais comuns são constituídas pelos polímeros não iônicos XAD-8 (poliestireno) ou XAD-2 (ésteres acrílicos) (Mantoura, *et al.*, 1975, Thurman, *et al.*, 1981), ou derivados celulósicos como o dietilaminoetil-celulose (DEAE-cellulose) (Miles, *et al.*, 1983, Paxeus, 1985).

As substâncias húmicas possuem uma grande importância para a mobilização e a acumulação de íons metálicos (Schnitzer, *et al.*, 1978) assim como, nos ciclos de certos elementos essenciais a vida como o N e o P (Gjessing, 1976). Em função da existência de sítios de ligação, as substâncias húmicas podem formar complexos mais ou menos estáveis com numerosos íons metálicos (Buffle, 1988). A determinação da capacidade complexante das substâncias húmicas, as reações de formação e de dissociação dos complexos assim como as constantes de estabilidade correspondentes, são elementos indispensáveis à avaliação de sua importância no meio ambiente. A determinação destes parâmetros assim como, a caracterização dos complexos formados têm sido feitos através de inúmeros métodos. Os mais utilizados são a Potenciometria com Eletrodos Seletivos (ESI: Eletrodo Seletivo de Íons) (Buffle, *et al.*, 1984), a Voltametria (Fish, *et al.*, 1985), a Fluorescência (Cabaniss, *et al.*, 1990), a REP (Senesi, 1990), a Diálise (Berggren, 1990), a Ultrafiltração (Norden, *et al.*, 1993) e as reações de troca de íons (Finger *et al.*, 1992, Burba, *et al.*, 1994). Numerosos trabalhos mostram que as substâncias húmicas podem interagir com certos compostos orgânicos hidrofóbicos, com argilas minerais, com óxidos hidratados ou com os pesticidas (Schnitzer, *et al.*, 1978, Boggs, *et al.*, 1985, Kerndorff, *et al.*, 1980, Buffle, 1988, Carter, *et al.*, 1982). As interações das substâncias húmicas com os íons fosfatos (PO_4^{3-}) e os íons selenito (SeO_3^{2-}) em presença ou em ausência de íons metálicos, tem sido objeto de trabalhos importantes (Franck, *et al.*, 1979, Stevens, *et al.*, 1982, De Haan, *et al.*, 1986, Steinberg, *et al.*, 1984, Turner, *et al.*, 1983, Tanzer, *et al.*, 1991, Gustafsson, *et al.*, 1994).

b) SELÊNIO E SEUS COMPOSTOS NO MEIO AMBIENTE.

O selênio é um elemento não metálico presente normalmente sob a forma de traços no meio ambiente. Ele possui uma importância muito grande para o mundo dos seres vivos (Patty, 1962), seja como um elemento tóxico, seja como um elemento essencial (Rotruck, *et al.*, 1973, Measures, *et al.*, 1978). Ele intervém no desenvolvimento das plantas (Lévesque, 1974, Carlson, *et al.*, 1991), no crescimento dos animais (Edmonson, *et al.*, 1993) e se torna indispensável a saúde dos seres humanos (Nève, *et al.*, 1991). Sua toxicidade depende principalmente de suas formas químicas orgânicas ou inorgânicas (Cooper, 1967). O limite de tolerância máximo para os seres humanos é fixado em 0,1 µg/L no ar e 0,4 µg/L na água (Shapira, 1971). O selênio está presente nas enzimas e proteínas onde ele forma ligações do tipo C-Se-C ou do tipo C-Se-Se-C (selênio cistina, selênio cisteína, a selênio metionina, etc.) (Stadtman, 1990, Wendel, 1992, Frausto da Silva, *et al.*, 1993). Tem sido mostrado que as interações do selênio com o mercúrio, o arsênio, o cádmio, o cobalto e a prata nos seres vivos, podem reduzir os efeitos tóxicos destes elementos (Lavander, 1982, Pelletier, 1985).

No estado natural, o selênio encontra-se presente na crosta terrestre normalmente associado com o enxofre em minerais como a galena, a calcopirita, a pirita, a marcassita, etc. (Wilber, 1980, Raptis, *et al.*, 1983). Nestes minerais, o selênio está normalmente combinado com os elementos de massa atômica maior como por exemplo, Pb, Hg, Bi, Ag, Cu, Co, Fe, Tl, Ni, Zn, e Cd (Nazarenko, *et al.*, 1972). Encontra-se também na atmosfera, onde é introduzido pelos processos vulcânicos, pela combustão de matérias fósseis, pelas atividades industriais (Reamer, *et al.*, 1980, Ornemark, 1994) e também por certas atividades biológicas. Os animais e mesmo o homem, contaminados pelo selênio, podem também contribuir, via respiração, para a introdução deste elemento na atmosfera. Entretanto, uma parte importante do selênio atmosférico provem da biometilação natural de espécies inorgânicas deste elemento que conduz a compostos voláteis como por exemplo, o dimetil seleneto, o dimetil disseleneto e o trimetil selenonium. Esta conversão do selênio inorgânico em espécies metiladas voláteis se produz principalmente sob a ação de microrganismos em águas ou nos solos (Reamer, *et al.*, 1980).

No solo, a presença do selênio está estreitamente ligada aos ciclos geoquímicos e a química em solução dos elementos, seu teor é o resultado de

diversos fatores tais como: composição das rochas, potenciais de oxi-redução, pH, natureza das águas de drenagem, etc. (Maier, *et al.*, 1987, McNeal, *et al.*, 1989).

No ambiente aquático, o selênio está principalmente associado aos sedimentos seja sob a forma de selênio orgânico, seja sob a forma de selênio inorgânico. As concentrações variam dentro de uma gama de 4×10^{-5} a 2.0 mg/Kg (Johnsson, 1989).

Como para a maior parte dos elementos presentes no meio ambiente, a reatividade do selênio nos sistemas biológicos e geoquímicos depende das diferentes formas químicas sobre as quais este elemento existe. No meio aquoso, a química do selênio é considerada complexa pela existência de vários estados de oxidação. Ele é encontrado no estado de oxidação (-II), nos selenetos (Se^{-2}); (0), no selênio elementar (Se); (+IV), nos selenitos (SeO_3^{2-}); e (+VI) nos selenatos (SeO_4^{2-}). Os selenetos orgânicos e inorgânicos (Raptis, *et al.*, 1983, Chau, *et al.*, 1976, 1986, Cutter, 1989) constituem um fator particularmente importante no ciclo global do selênio. A especificação de suas formas orgânicas é extremamente importante para o meio ambiente. As espécies mais estudadas são as metiladas, os selênio aminoácidos (Sugimura, *et al.*, 1976, Tanzer, *et al.*, 1991, Haygarth, *et al.*, 1993, Kolbl, 1995,), os carboidratos (Bottino, *et al.*, 1984, Bertelsen, *et al.*, 1988) e os selênio nucleotídeos (Stadtman, 1991).

Os selenitos e selenatos, são as formas inorgânicas as mais comumente presentes em águas. Em função do pH, estas espécies podem ser encontradas, sob a forma livre e protonada SeO_3^{2-} e HSeO_3^- , SeO_4^{2-} , e HSeO_4^- . A forma considerada a mais tóxica é o ion selenito (SeO_3^{2-}) (Sarkis, *et al.*, 1980). A distribuição dos selenitos e dos selenatos no meio aquoso, depende não somente dos parâmetros termodinâmicos, mas também da atividade biológica e das interações na interface água-ar. Em geral estas duas formas coexistem nos ambientes aquáticos aeróbicos (Robberecht, *et al.*, 1982). A presença de compostos selênio orgânicos nos ambientes aquáticos tem sido colocado em evidência graças aos trabalhos de Cutter (Cutter, 1982), Cooke (Cooke, *et al.*, 1987) e Aono (Aono, *et al.*, 1990). Aproximadamente 91% do selênio nos meios aquosos está presente sob uma forma orgânica (Maier, *et al.*, 1987). Estas formas orgânicas são de grande importância pois podem interagir com o selênio inorgânico no ciclo natural do selênio (Figura 5).

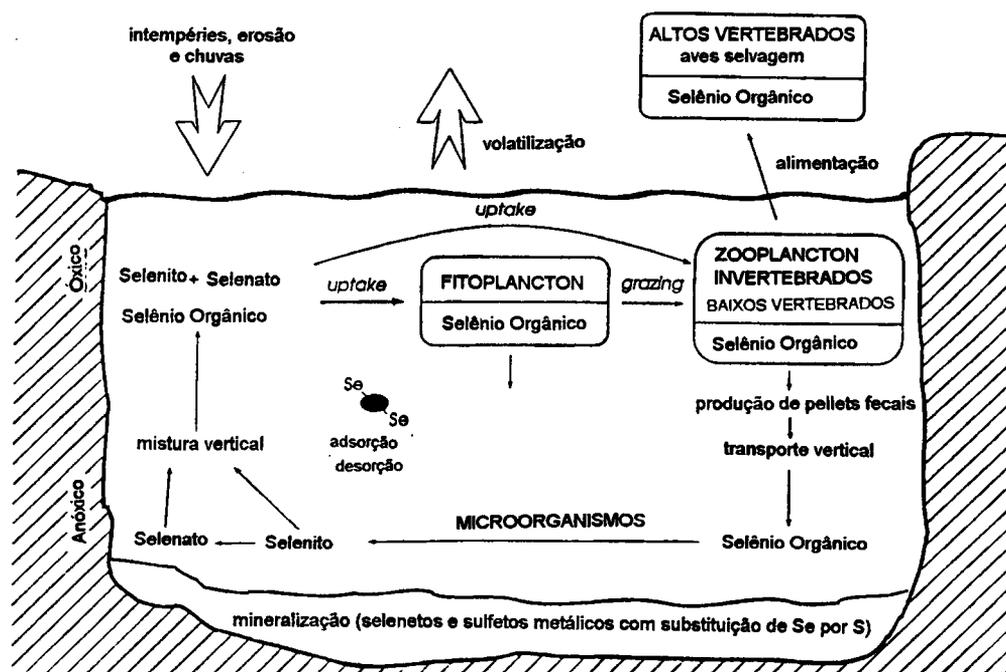


Figura. 5. O ciclo biogeoquímico do selênio nos ambientes aquáticos (Kolbl, 1995).

A determinação do selênio encontrado principalmente sob a forma de traços no meio ambiente, pode ser realizada pela sua quantificação total ou pela sua especificação. Entre numerosos métodos propostos, figuram, a análise por Ativação de Neutrons (Blotcky, *et al.*, 1987), os métodos Fluorimétricos (Nakaguchi, *et al.*, 1985), os métodos Eletroquímicos (Lichiang, *et al.*, 1992, Potin-Gautier, *et al.*, 1994), a Ionização por Plasma acoplado a Espectrometria de Massa (ICP-MS) (McCurdy, *et al.*, 1993), a Espectrometria de Massa com diluição isotópica (Tanzer, *et al.*, 1991), etc.. Estes métodos têm sido compilados e discutidos por MacPherson, *et al.*, 1988, Haygarth, *et al.*, 1993, Muños Olivas, *et al.*, 1994.

CAPITULO II

MODELOS PARA O RECONHECIMENTO DE METAIS, ESPÉCIES ORGÂNICAS E INORGÂNICAS DE IMPORTÂNCIA PARA O MEIO AMBIENTE: SÍNTESE BIBLIOGRÁFICA.

A natureza nos fornece exemplos espetaculares de reconhecimento molecular. O estudo por raios X da glicose ligada a várias moléculas de proteínas, como esquematizado na estrutura abaixo (Figura 6), revela a existência de trinta ligações de hidrogênio entre os resíduos peptídeos e os grupos hidroxilas ou os oxigênios piranose da glicose. Este edifício molecular contém igualmente dois resíduos aromáticos de fenilalanina e de triptofano que se posicionam abaixo e acima do plano do ciclo piranose. Eles formam duas coroas hidrofóbicas que permitem a proteção das ligações fortemente hidrófilas do substrato (Vyas *et al.*, 1988). Este sistema complexo é um bom exemplo da complementaridade entre os grupos ligados da proteína e do substrato.

Algumas macromoléculas como as ciclodextrinas que são oligo-sacarídeos cíclicos, formam-se sob a ação de bacilos macerantes no amido. Eles podem formar compostos complexos com pequenos ânions pela inclusão destes em sua cavidade hidrofóbica via formação de ligações de hidrogênio, via interações exclusivamente hidrofóbicas ou ainda via interações eletrostáticas (Matsui *et al.*, 1985, Hag Park *et al.*, 1994). No estado natural, as porfirinas constituem um outro importante grupo de biomacromoléculas que se acham raramente sob a forma livre. Nós as encontramos normalmente ligadas a proteínas como as proteínas de ferro (hemoglobina). As porfirinas complexam com numerosos íons metálicos como Mg(II), Fe(II) ou Co(II) para formar respectivamente a clorofila, ou a vitamina B₁₂ que desempenham um papel importante para os processos nos seres vivos (Laurie, 1986).

Outras macromoléculas como as substâncias húmicas, são igualmente agentes complexantes muito ativos nos meios naturais. Tem sido admitido atualmente que estas substâncias são as principais responsáveis pelo transporte de metais no meio ambiente (Shuman *et al.*, 1983, Laurie, 1986, Dzombak *et al.*, 1986; Fish *et al.*, 1986).

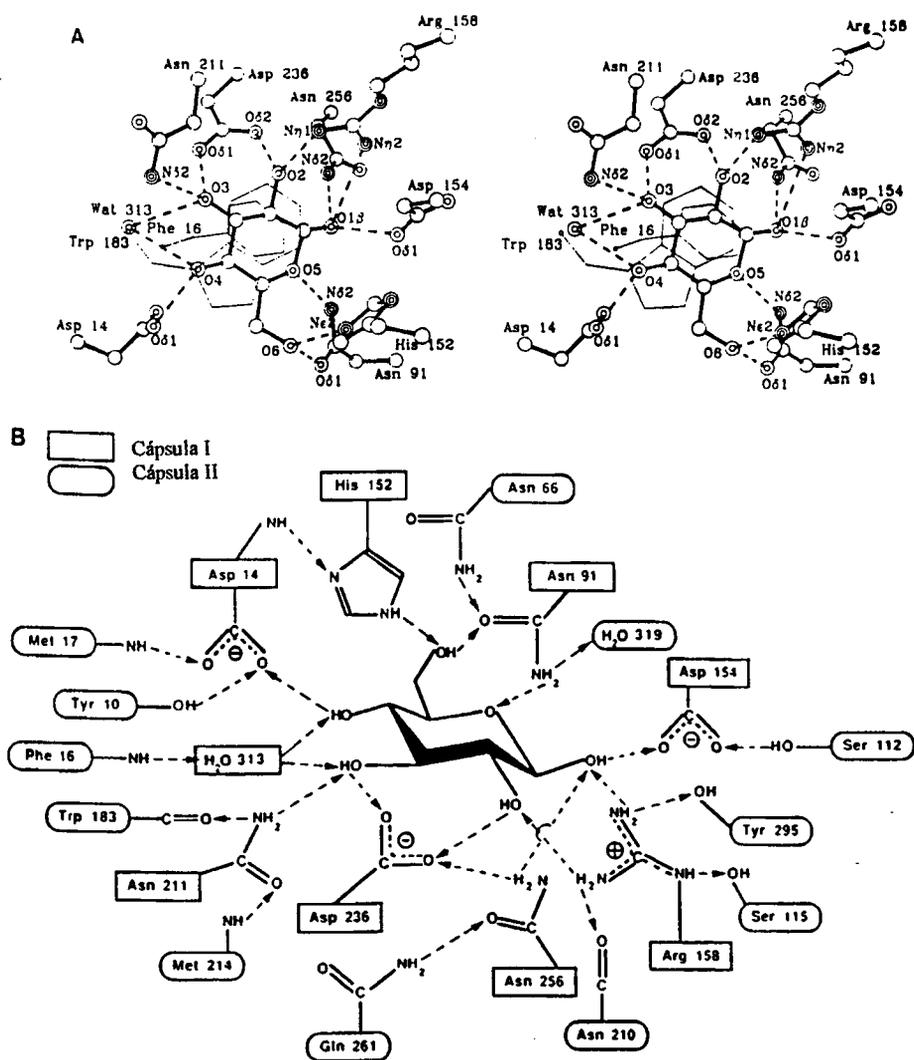


Figura 6: Estrutura de raios-X da glicose ligada a várias moléculas de proteínas. a) estrutura cristalina, b) esquema dos sítios de ligação da glicose (Hamilton, 1990).

Moléculas menores tais como os ácidos policarboxílicos e os aminoácidos, são susceptíveis igualmente de complexar certos íons metálicos. Eles tem sido muito estudados nestes últimos anos (Laurie, 1986, Kimura, 1985, Seel *et al.*, 1995). O problema principal do estudo da complexação de ligantes naturais com os íons metálicos e com os ânions inorgânicos e orgânicos nos sistemas biológicos e no meio ambiente, reside no acesso a um conhecimento preciso dos diversos mecanismos físico-químicos que intervêm nestas reações. Entretanto, mesmo que numerosos trabalhos tenham sido realizados "in situ" conduzindo à determinação de vários parâmetros (constantes de equilíbrio, seletividade dos ligantes, etc.) a interpretação e a utilização destes últimos é cada vez mais difícil em função da complexidade dos sistemas estudados.

A utilização de ligantes sintéticos como modelos para uma aproximação mais sistemática das características dos meios estudados é um método corrente. Moléculas como o EDTA, o NTA (Figura 9), certos ácidos carboxílicos e outros, tem sido largamente utilizados como moléculas modelo para o estudo da complexação dos íons metálicos (Motekaitis *et al.*, 1987, Hirose, 1994, Jackson *et al.*, 1995, 1995). Dentro do campo do reconhecimento molecular artificial, os trabalhos concentram-se majoritariamente sobre três tipos de moléculas. As ciclodextrinas modificadas, os ciclofanos (que são os equivalentes sintéticos das ciclodextrinas) e alguns éteres cíclicos como as poliaminas, as politiaminas, as polioxazaminas e as poliazaminas (Figura 7). Estas moléculas têm sido objeto de numerosos artigos de revisão (Bender *et al.*, 1978, Gokel *et al.*, 1982, Diederich, 1988, Lehn, 1988).

A complexação seletiva destas macromoléculas com certos íons metálicos tem sido largamente estudadas (Andrés *et al.*, 1994, Warzeska *et al.*, 1995). As constantes de associação destas macromoléculas com ânions como brometo, cloreto, ácido oxálico, fosfato, ácido malônico, glicina e outros, mostram que estas macromoléculas oferecem igualmente a possibilidade de um reconhecimento seletivo de ânions (Kimura, 1985, Motekaitis *et al.*, 1988, 1992).

Estas moléculas prestam-se a múltiplas transformações, fixação de grupos funcionais, ligação sobre um suporte ou formação de macrocíclicos. Estas transformações podem conduzir a um melhoramento na seletividade visando certos íons metálicos e oferecendo a possibilidade de utilizá-los para pré-concentrar ou extrair íons metálicos presentes no meio ambiente (Blain, 1992).

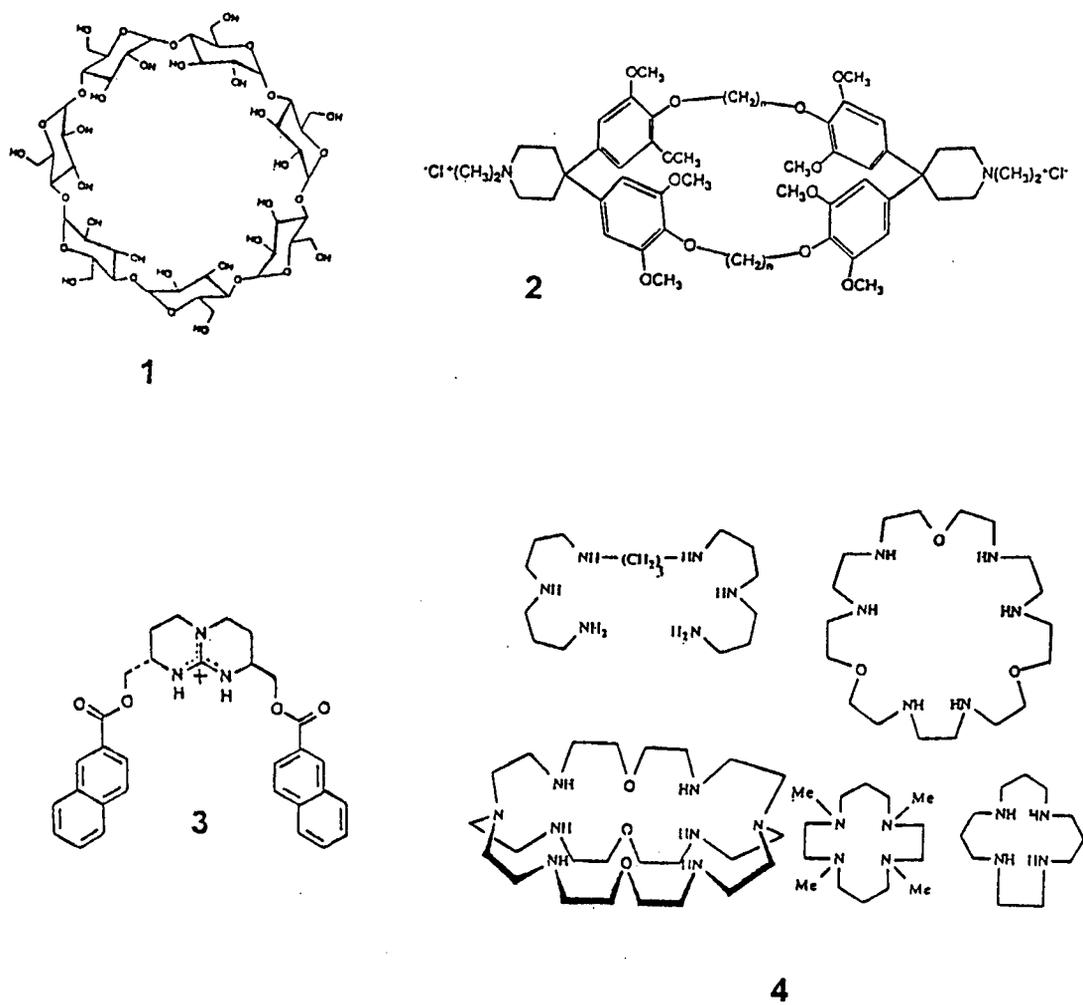


Figura. 7. Estruturas da β -ciclodextrina (1), do ciclofane (2), do cátion guanidinium (3) e exemplos de ligantes nitrogenados (4) (Hosseine *et al.*, 1987, Diederich, 1990, et Diaz *et al.*, 1994).

O desenvolvimento de agentes quelatantes sintéticos possuindo uma alta afinidade para íons metálicos como por exemplo, o íon Fe(III), é um objetivo maior na química de coordenação (Monzyk *et al.*, 1979, Motekaitis *et al.*, 1992).

A determinação de parâmetros termodinâmicos, como por exemplo, as constantes de estabilidade, a capacidade complexante, a entalpia e a entropia nos complexos formados por estes ligantes sintéticos e os íons metálicos ou os ânions orgânicos ou inorgânicos, representam uma fonte de conhecimento primordial para a compreensão dos processos naturais no meio ambiente.

II.1: MODELOS PARA O RECONHECIMENTO DE ÍONS METÁLICOS.

A formação de complexos entre ligantes e íons metálicos coloca sempre em jogo as ligações covalentes de coordenação. O entendimento deste tipo de ligação pode ser feito com a ajuda da teoria dos orbitais moleculares e a teoria do campo cristalino. Para formar uma ligação de coordenação, o ligante deve doar um ou mais pares de elétrons ao íon metálico. Se somente um par de elétrons está em jogo para a formação do complexo, o ligante é chamado monodentado, se vários pares de elétrons estão envolvidos, o ligante pode ser chamado de di-, tri- ou, de uma maneira geral, polidentado. Os ligantes polidentados podem também ser chamados de quelatos (Kotz *et al.*, 1991).

Os ligantes susceptíveis de formar complexos com os íons metálicos podem ser orgânicos ou inorgânicos. Alguns exemplos de ligantes importantes para o meio ambiente e que podem formar complexos com os íons metálicos são o EDTA, o NTA, o ácido cítrico, os macrocíclicos, as substâncias húmicas, os aminoácidos e as porfirinas. Alguns exemplos de ligantes inorgânicos igualmente importantes para o meio ambiente e que podem formar complexos com os íons metálicos são, F^- , Cl^- , SO_4^{2-} , OH^- , CO_3^{2-} , NH_3 , HS^- et S^{2-} .

Como dito acima, os parâmetros mais importantes a determinar para caracterizar estes complexos são as constantes de estabilidade, a entalpia e a entropia de formação. O conhecimento destes parâmetros permite apreciar a importância relativa da complexação assim como a seletividade do ligante frente aos diferentes íons metálicos. Uma outra maneira de prever a estabilidade de um complexo, é a de considerar as características ácidas e básicas dos metais e

ligantes. De uma forma empírica, eles são classificados como ácidos ou bases duros, moles ou intermediários (ou como "a" ou "b" ou também como doador e receptor) (Figura 8).

Assim, os ligantes duros formam complexos mais estáveis com os íons metálicos duros, os ligantes moles formam complexos mais facilmente com os metais moles. (Förstner *et al.*, 1983). Uma outra maneira cômoda de classificar por ordem de estabilidade crescente os complexos com os metais mais comuns, é utilizar a série de Irving-Williams ($Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+} < Zn^{2+}$)(Newman *et al.*, 1994).

No caso de ligantes polidentados, os estudos mostram que a estabilidade dos complexos formados com os íons metálicos é maior do que para os ligantes monodentados correspondentes. Uma estabilidade ainda maior é observada se o ligante polidentado é cíclico. Neste caso, a complexação é favorecida pelo efeito quelato do ligante cíclico. Este efeito, seja de origem entálpica ou entrópica, ainda é debatido mas tem sido largamente confirmado pelas medidas das constantes de complexação de numerosos ligantes lineares e cíclicos. (Hancock, 1992, Martell *et al.*, 1994).

A determinação dos parâmetros termodinâmicos, a síntese e também as características físico-químicas dos complexos metal-ligante, tem sido objeto de numerosos trabalhos. A título de exemplo, temos o estudo via titulação potenciométrica da complexação dos ácidos hidroxicarboxílicos como o ácido glicólico, o ácido láctico, o ácido 2-hidroxiisobutírico, o ácido tartárico e o ácido cítrico com os íons metálicos Cu(II), Ca(II) et Mg(II) (Piispanen *et al.*, 1995, 1995). Os ácidos hidroxicarboxílicos de cadeia aberta ou aromáticos são compostos encontrados nos meios naturais. Eles são muito utilizados como moléculas modelo para o estudo das interações entre as substâncias húmicas e os íons metálicos

Os ácidos hidroxâmicos são ácidos orgânicos fracos que possuem uma grande variedade de aplicações sendo igualmente encontrados no meio ambiente. Eles possuem uma grande afinidade pelos íons metálicos trivalentes como o Fe(III), o Al(III) e o Ga(III) (Monzyk *et al.*, 1979, Sun *et al.*, 1985, Motekaitis *et al.*, 1991). Vários estudos estruturais feitos por espectrometria de raios X de complexos de Fe (III) com ácidos hidroxâmicos tem sido publicados. Ligantes sintéticos como por exemplo, os ligantes hexadentados etileno-bis-hidroxifenilglicina(EHPG) (Figura 9)

Receptor duro H^+ , Na^+ , K^+ , Be^{2+} , Mg^{2+} Ca^{2+} , Mn^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} Co^{3+} , Fe^{3+} , As^{3+}	Intermediário Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+}	Receptor mole Cu^+ , Ag^+ , Au^+ , Tl^+ Hg_2^{2+} , Pd^{2+} , Cd^{2+} , Pt^{2+} Hg^{2+} , CH_3Hg^+
Doador duro H_2O , OH^- , F^- , Cl^- PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , O^{2-}	Intermediário Br^- , NO_2^- , SO_3^{2-}	Doador mole SH^- , S^{2-} , RS^- CN^- , SCN^- , CO , R_2S , RSH , RS^-

Figura. 8. Classificação dos metais e ligantes receptores e doadores (adaptado de Pearson, 1968)

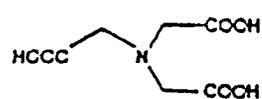
R = alquila ou arila (Förstner et al., 1983).

e o ácido bis-hidroxibenziletlenodiaminodi-acético (HBED), possuem dois grupos fenólicos que se comportam como os grupos carboxílicos do EDTA. Estes compostos possuem uma grande afinidade pelo íon Fe(III). Vários outros ligantes deste tipo podem formar complexos com o Fe(III). Alguns exemplos destes ligantes seletivos são o NTA, o EDTA, o DPTA, o PLED, o MECANS, o TRENAM, o ENTEROBACTIN e o DFB (desferriferrioxamina B) (Figura 9) (Yuen Ng *et al.*, 1989, Motekaitis *et al.*, 1992, Shanzer *et al.*, 1992, Santos *et al.*, 1993).

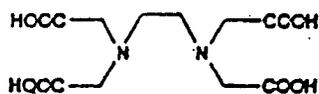
A complexação do íon Cu (II) com as substâncias húmicas estuarinas tem sido estudada. Em competição com o forte ligante PAR ([4-(2-piridilazo) resorcinol]), tem sido verificado que a formação do complexo PAR-M (onde, M = metal), obedece a uma constante de primeira ordem com o valor muito próximo à aquela medida para a dissociação do complexo cobre-substância húmica. A complexação do íon Ni(II) foi igualmente estudada nas mesmas condições e os resultados encontrados foram semelhantes ao do sistema com o íon Cu(II) (Lavigne *et al.*, 1987, Nederlof *et al.*, 1994).

Os complexos metálicos macrocíclicos mono-, ou polinucleares e principalmente aqueles formados com os metais de transição, são particularmente importantes. Sua importância é devido ao fato de eles serem objeto das interações metal-metal que podem dar lugar aos processos de ativação de substratos pelos centros metálicos (Martell *et al.*, 1994). Os mais estudados são principalmente os ligantes macrocíclicos e os ligantes macrobicíclicos, em particular aqueles do tipo aza-macrocíclicos e oxaaza-macrocíclicos. (Bencini *et al.*, 1992).

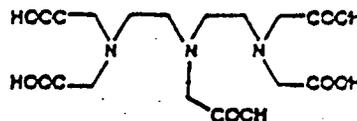
Os ligantes do tipo poliazacicloalcanos como por exemplo, o [18]aneN₆, o [21]aneN₇, o [24]aneN₈, e aqueles da série [3k]aneN_k, tem sido utilizados para estudar os equilíbrio de formação de complexos com os metais de transição. Uma característica destas moléculas é a de permitir a inclusão de mais de um íon metálico em suas cavidades (Bencini *et al.*, 1992). A principal característica deste tipo de ligante é que cada cavidade pode ser seletiva para alguns tipos de íons metálicos. Assim, o [21]aneN₇, é seletivo para o íon Cu(II) (Bencini *et al.*, 1991), o [24]aneN₈, é seletivo para o íon Zn(II), o íon Cd(II) e, o íon Ni(II) (Bencini *et al.*, 1989), o [27]aneN₉, é seletivo para o íon Co(II), etc. (Bencini *et al.*, 1989).



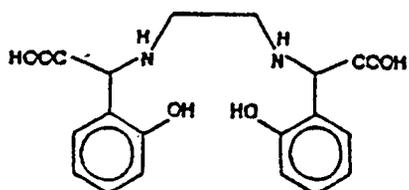
1. Acido Nitriilotriacético (NTA)



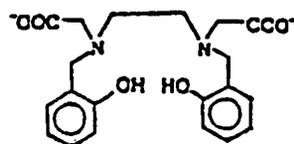
2. Acido Etilenodiaminotetraacético (EDTA)



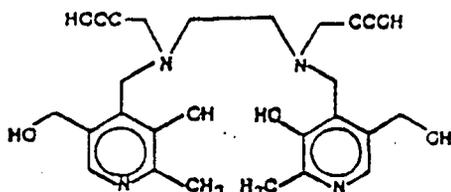
3. Acido Dielienotriaminopentaacético (DTPA)



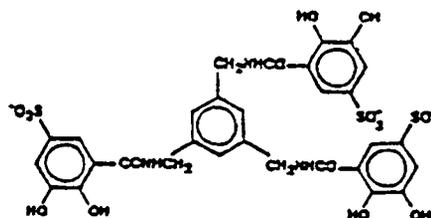
4. Etilenobis-Hidroxilfenilglicina (EHPG)



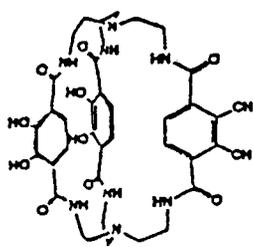
5. Acido bis-Hidroxilbenzilietilenodiaminadiacético (HBED)



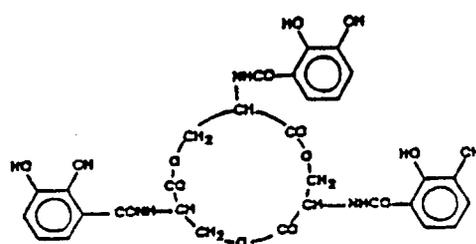
6. Acido bis-Piridoxiletilenodiaminadiacético (PLED)



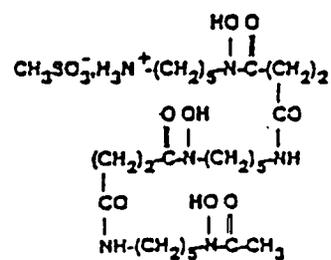
7. MECANS



8. Bicapped TRENCAM



9. Enterobactina



10. Desferrioxamina-B (DFB)

Figura. 9. Algumas estruturas de ligantes apresentando uma grande afinidade para os íons Fe(III) (Motekaitis, 1992).

Os macrobíclicos podem formar complexos do tipo criptatos mononucleares ou binucleares.

O tamanho da cavidade deste tipo de ligante condiciona sua seletividade frente aos diferentes íons metálicos. O macrobíclico mais conhecido é o OBISTREN (ver estrutura na Figura 10), (Lehn *et al.*, 1977). Os complexos mononucleares e binucleares com os íons Co(II), Ni(II), Cu(II) e, Zn(II) deste ligante são muito estáveis e tem sido muito estudados (Motekaitis *et al.*, 1982). Graças a presença no OBISDIEN (Figura 10) de grupos amins protonados, a técnica mais utilizada para estudar os equilíbrios deste ligante com os íons metálicos é a titulação potenciométrica. Um outro ligante semelhante ao OBISTREN, foi sintetizado sem os oxigênios do éter. Trata-se do C-BISTREN. Ele permite verificar a importância dos átomos de oxigênio no OBISTREN para a estabilização do complexo formado com o hidróxido de di-cobre(II) (Motekaitis *et al.*, 1988).

No caso dos ligantes macrocíclicos onde existem diferentes sítios doadores localizados em lados opostos da molécula, tem sido mostrado que os dois sítios de ligação possuem características distintas e que apresentam igualmente diferenças em seu caráter mole-duro. Este tipo de ligante revela-se interessante para a complexação simultânea de diferentes íons metálicos em sua cavidade. É o caso do macrocíclico [21]aneN₅O₂ que pode formar complexos mistos incluindo os íons Cu(II) e Zn(II) em sua cavidade (Andrés *et al.*, 1994). A partir deste tipo de ligante, tem sido desenvolvido um modelo para a química da dismutase superóxida do Cu-Zn que é constituída de um ligante macrobíclico complexado aos íons metálicos Cu(II) e Zn(II) e de uma ponte imidozalato ligando os dois metais (Pierre *et al.*, 1995).

II.2: MODELOS PARA O RECONHECIMENTO DE ÂNIONS INORGÂNICOS E ORGÂNICOS.

A síntese dos primeiros éteres cíclicos e a descoberta de suas propriedades complexantes frente aos íons metálicos alcalinos, datam dos anos 67-68 (Pedersen, 1967). Com o estudo das propriedades químicas do tipo hóspede-hospedeiro, o campo de aplicação destas moléculas tem se estendido a áreas diversas como, a

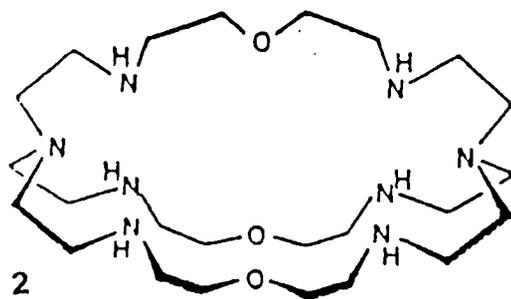
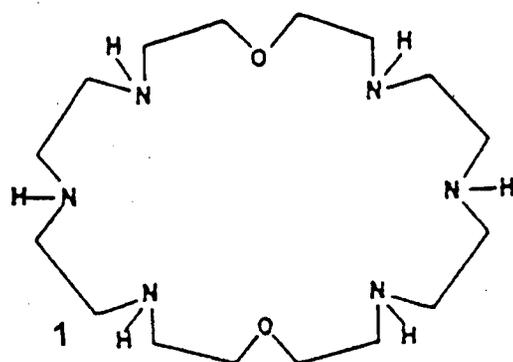


Figura 10. Estrutura da molécula do OBISDIEN (1) e do OBISTREN (2), (Bencini *et al.*, 1992).

química supramolecular, a química biomimética e a ciência dos materiais (Lehn, 1990, Stupp *et al.*, 1993).

Mais recentemente, tem sido mostrado que este tipo de ligante pode formar complexos com ânions orgânicos ou inorgânicos. Tem sido constatado que as moléculas capazes de formar complexos com os ânions são aquelas que possuem uma cavidade onde o tamanho é compatível com o do ânion. A molécula assim formada pela associação de duas ou mais espécies ligadas pelas ligações não covalentes é conhecida como uma supra molécula (Sell *et al.*, 1992).

Neste tipo de complexo, as ligações entre os ligantes e os ânions tem um caráter não covalente. Eles são formados por interações de origem eletrostática ou por ligações de hidrogênio. A seletividade de um ligante e a estabilidade de um complexo formado depende da geometria, do número e da localização dos sítios de coordenação livres ou carregados e também da natureza nucleófila e eletrófila dos grupos funcionais (Schmidtchen *et al.*, 1989).

Embora muitos estudos tenham sido consagrados a formação de complexos com os cátions metálicos, os estudos relativos a formação destes complexos não são ainda numerosos. Os cátions metálicos apresentam uma forma esférica, os óxi-ânions metálicos ou os ânions orgânicos apresentam geometria variada. Os ânions são geralmente mais fortemente solvatados que os cations de tamanho comparável (Seel *et al.*, 1995).

Em moléculas macropolicíclicas como as poliaminas cíclicas, a estrutura molecular é rígida em função das ligações de hidrogênio intramolecular do tipo $N-H^+ \dots X^-$. Nestes casos os hidrogênios intramoleculares formam as ligações com os ânions (Kimura, 1985).

A concepção de um receptor sintético eficaz é guiado por dois princípios (Diederich, 1990): i: uma pré-organização dos sítios receptores da molécula hóspede antes da complexação, ii: uma complementaridade estéreo eletrônica entre a molécula hóspede e a entidade complexada.

Ao curso destes últimos anos, as constantes de associação assim como as entalpias e as entropias de formação de numerosos complexos ligantes-ânions orgânicos tem sido determinados. Este é o caso em particular do hexaciclono L onde a complexação com ânions como nitrato, perclorato, cloreto e brometo foram estudados por pH - metria e condutimetria (Cullinane *et al.*, 1982).

As ciclodextrinas são ligantes capazes de formar complexos de inclusão com numerosos ânions (Wojcik *et al.*, 1975). Nestes complexos, a natureza das ligações envolvidas não é ainda claramente estabelecida. A maior parte das interpretações invocam a intervenção seja por interações do tipo hidrofóbica seja por ligações de hidrogênio (Matsui *et al.*, 1985). A β -ciclodextrina funcionalizada com um receptor constituído por uma triamina coordenada a um íon Zn(II) é capaz de acolher em sua cavidade, ânions como por exemplo o 1-adamantilcarboxila via interações eletrostáticas e hidrofóbicas combinadas (Tabushi *et al.*, 1977). De maneira análoga, a capacidade das ciclodextrinas funcionalizadas com sideróforos para a complexação do íon Fe(III) tem sido testada (Coleman *et al.*, 1992). A funcionalização de ciclodextrinas com grupos orgânicos para realizar a complexação de ânions inorgânicos tem sido igualmente estudada (Matsui *et al.*, 1993). Os complexos de α -ciclodextrinas e β -ciclodextrinas com os íons ClO_4^- , SCN^- , I^- , Br^- , e NO_3^- tem sido estudados e as constantes de associação tem sido determinadas por condutimetria (Wojcik *et al.*, 1975, Diaz *et al.*, 1994).

Os ligantes do tipo ciclofanos (Figura 7) que possuem uma cavidade apoiar constituem igualmente uma classe de ligantes sintéticos particularmente versáteis para a complexação de ânions. Os macrocíclicos sintéticos tem sido utilizados com sucesso como receptor modelo de grupos carboxílicos. O receptor protonado [21]aneN7 (8 na Figura 11) possui um tamanho e características estruturais adequadas para um reconhecimento eficaz de vários grupos carboxílicos. A capacidade destes ligantes para formar complexos de inclusão estáveis e específicos com substratos orgânicos neutros em solução aquosa e em solução não aquosa tem suscitado numerosos trabalhos (Bencini *et al.* 1994). Tem sido mostrado por exemplo, que eles formam complexos 1:1 extremamente estáveis com certos hidrocarbonetos aromáticos em meio aquoso (Diederich, 1990).

Os cations guanidinium (Figura 7) tem sido igualmente testados como ligante receptor de ânions carboxílicos aromáticos. Este ligante possui um pKa muito elevado ($\text{pKa} = 13.5$) restando protonado em praticamente toda a faixa de pH. Neste ligante, os prótons do grupo amônio conduzem a formação de pontes de hidrogênio ($\text{N} - \text{H}^+ \dots \text{O}^-$) com os ânions carboxílicos assim como com os ânions fosfato (Echavarren *et al.*, 1989, Schmidtchen *et al.*, 1989).

Os macrocíclicos do tipo poliazaaminas como o OBISDIEN, revelaram-se ligantes receptores remarcáveis para o reconhecimento de ânions orgânicos como os ânions biológicos ATP ou ADP. Foi mostrado que eles podem igualmente formar complexos com a glicina, o ácido acetohidroxâmico, os fosfonatos de potássio ou o ácido malônico (Hosseini *et al.*, 1987, Martell *et al.*, 1988, Szpoganicz *et al.*, 1990, Motekaitis *et al.*, 1992). O reconhecimento e a complexação de ânions inorgânicos como os íons selenito, selenato, sulfato, e brometo pelo ligante OBISDIEN, foi um dos objetos deste trabalho.

Os ligantes macrotríclicos revelam-se muito seletivos frente a certos ânions formando os ânions criptatos. Os complexos mais estáveis são aqueles formados com os ânions esféricos como os halogênios ou com os ânions lineares como os íons azida. Entre os ligantes deste tipo, os mais estudados são os octaaza-macrobicíclicos (Lehn *et al.*, 1978, Dietrich *et al.*, 1989).

Compostos orgânicos funcionalizados com grupamentos organometálicos neutros contendo pares de elétrons (bases de lewis) tendo por exemplo, o mercúrio, o estanho, o silício ou o boro tem sido propostos como ligantes para a complexação de ânions. Este tipo de ligante revela-se particularmente interessante para os ânions ricos em elétrons como os halogênios (Katz, 1986, Beauchamp *et al.*, 1986, Newcomb *et al.*, 1989, Tamao *et al.*, 1990, Hawthorne *et al.*, 1994).

Um caso igualmente interessante de ligante para os ânions são os complexos constituídos por um edifício orgânico e um ou mais cations metálicos. Neste caso os complexos formados são chamados de complexos ternários. Um exemplo deste tipo de ligante é o complexo OBISDIEN-Cobre(II), que forma complexos ternários com os ânions ClO_4^- , etilenodiamina, acetato, imidazole e azida (Comarmond *et al.*, 1982, Motekaitis *et al.*, 1983, Coughlin *et al.*, 1984). Outros casos de complexos ternários formados entre o OBISDIEN-cobalto(III) e os ânions hidroxilas, os ácidos malônico e fosfônicos, a glicina, o catecol, o TIRON (ácido 3,4,5-dihidroxi-1,3-benzenodissulfônico) ou os íons oxalatos (Martell *et al.*, 1988, Szpoganicz *et al.*, 1990, Motekaitis *et al.*, 1992) tem sido igualmente estudados. Os complexos binucleares do OBISDIEN e do OBISTREN (Figura 12) com o íon cobalto(III), são excelentes transportadores de oxigênio graças a formação de ligações peroxo com os íons Co(III) em suas cavidades (Martell *et al.*, 1994).

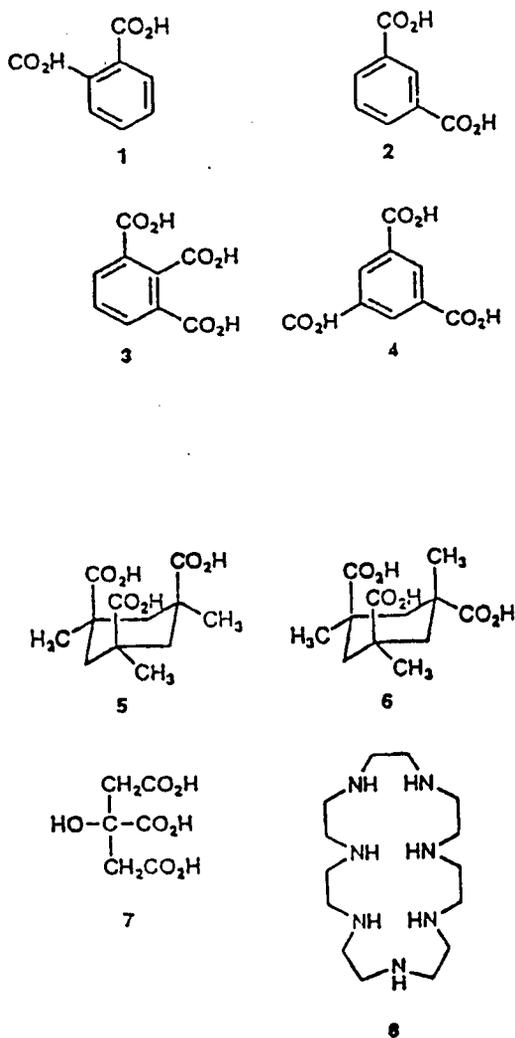


Figura. 11. alguns ácidos carboxílicos formando complexos com o [21] aneN7 (8) (Bencini *et al.*, 1994).

1. Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico, 2. Ácido 1,3-Benzenodicarboxílico, 3. Ácido 1,2,3-Benzenotricarboxílico, 4. Ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico, 5. *cis,cis*-1,3,5-trimetil-1,3,5-ciclohexanotricarboxílico, 6. Ácido *cis,trans*-1,3,5-trimetil-1,3,5-ciclohexanotricarboxílico, 7. Ácido Cítrico, 8. 1,4,7,10,13,16,19-heptaazaciclohenicosano [21]aneN7.

Edifícios moleculares mais complexos constituídos por dois macrocíclicos ligados por seus cations metálicos a um mesmo ânion tem sido sintetizado (Renfrew *et al.*, 1979, Studer *et al.*, 1989). A Figura 13 mostra um tipo de complexo no qual o íon oxalato é ligado aos íons níquel e cada íon ligado ao receptor ciclam (1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano)-Ni(II) (Battaglia *et al.*, 1988). Complexos similares com o íon Co(II) e os ânions piridina, imidazole, amônio ou cianeto tem sido igualmente sintetizados (Cabani *et al.*, 1991).

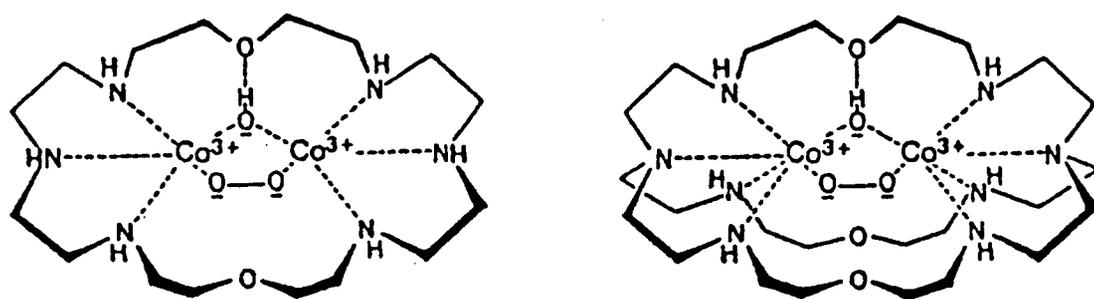


Figura 12. Estruturas do complexo do μ -Hidroxo- μ -peroxo dicobalto(II) OBISDIEN di-oxigênio e do μ -Hidroxo- μ -peroxo dicobalto(II) OBISTREN dioxigênio (Martell *et al.*, 1994).

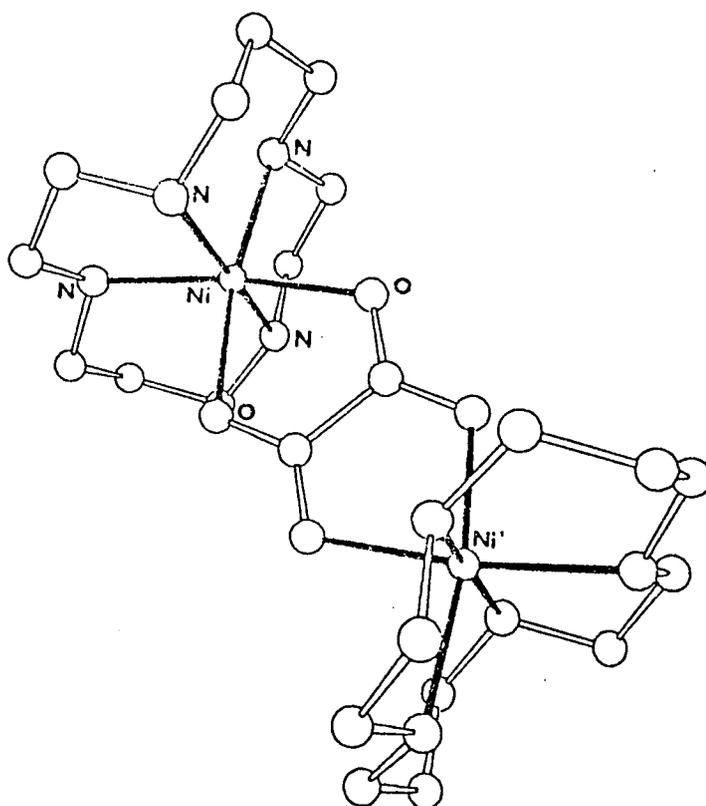


Figura 13. Estrutura molecular do complexo μ - oxalato $[\text{Ni}_2(\text{cyclam})_2\text{ox}]^{2+}$ determinado por difração de raios - X (Battaglia *et al.*, 1988).

SEGUNDA PARTE

ESTUDO DOS EQUILÍBRIOS TERMODINÂMICOS ENTRE ESPÉCIES
ORGÂNICAS E INORGÂNICAS DE INTERESSE PARA O MEIO
AMBIENTE.

CAPITULO III

ESTUDO DOS EQUILÍBRIOS QUÍMICOS DOS COMPLEXOS. PRINCÍPIOS DE BASE, INSTRUMENTAÇÃO E METODOLOGIA.

III.1. CONSTANTES DE ESTABILIDADE E CONSTANTES DE PROTONAÇÃO.

Em uma solução contendo íons metálicos, ânions, ligantes, prótons e/ou hidroxilas, estas espécies estão em equilíbrio. O conjunto destes equilíbrios pode ser representado pela reação global como esquematizado abaixo. A constante de estabilidade termodinâmica (β) caracterizando o equilíbrio total é definida a partir da atividade de cada espécie em equilíbrio aplicando a lei de ação das massas.



Onde b, c, d, são os coeficientes estequiométricos e a o coeficiente de atividade de cada espécie. X, L e Y designam, respectivamente, o íon metálico (ou o ânion), o ligante e o próton (ou hidroxila). Nos casos de equilíbrios químicos em soluções contendo uma grande concentração de um sal inerte (força iônica elevada), os coeficientes de atividade das espécies reativas são insignificantes. Para estes casos β' pode exprimir-se assim:

$$\beta' = \frac{[X_bL_cY_d]}{[X]^b [L]^c [Y]^d} \quad (2)$$

onde os colchetes representam as concentrações (molaridade ou molalidade) de cada espécie em solução.

Quando há mais de um equilíbrio em solução, cada equilíbrio químico é caracterizado por uma constante particular, que é normalmente chamada constante

de estabilidade ou constante de formação. O produto de várias constantes de equilíbrio é chamada de constante de estabilidade total.



Com

$$\beta_1 = K_1 = \frac{[XL]}{[X][L]}; \quad (6) \quad \beta_2 = K_1 K_2 = \frac{[XL_2]}{[X][L]^2}; \quad (7) \quad \beta_n = K_1 K_2 \dots K_n = \frac{[XL_n]}{[X][L]^n} \quad (8)$$

de uma maneira geral
$$\beta_n = \prod_{i=1}^n K_i. \quad (9)$$

Nos casos de equilíbrio ácido-base os mesmos princípios são aplicados. Nós definimos a constante de protonação (K_H) a partir de uma reação do tipo.



A constante de protonação exprime a constante de equilíbrio correspondente a adição de uma certa quantidade de prótons ao ligante.

Nós definimos igualmente a constante acídica (K_a) como a reação inversa (deprotonação).

$$K_a = \frac{[L^n][H^+]^n}{[LH_n]^n} = \frac{1}{K_H} \quad (11)$$

III.2. DETERMINAÇÕES EXPERIMENTAIS.

A determinação das constantes de equilíbrio dos complexos permite estimar a afinidade de um ligante por um íon metálico ou por um ânion particular. As

constantes de estabilidade que figuram nas tabelas atualmente disponíveis foram essencialmente determinadas (Perrin, 1979, Smith *et al.*, 1995) por potenciometria ou por espectrometria UV-VIS. Outros métodos tem sido igualmente utilizados para a determinação destas constantes como por exemplo: A Ressonância Magnética Nuclear, a Polarografia, a troca de íons, a Diálise, os métodos de competição ligante-ligante. Nesta tese, as constantes de equilíbrio para os complexos do OBISDIEN e as constantes de protonação dos selênio aminoácidos que nós estudamos foram determinadas por titulação potenciométrica. Nós adotamos este método porque os equilíbrios estudados colocam em jogo espécies sensíveis ao pH. Este método, baseado na medida do pH (Beck, *et al.*, 1990), apresenta numerosas vantagens como: custo dos instrumentos utilizados, rapidez e reprodutibilidade das medidas que não interferem com os equilíbrio em solução. Além disso, a possibilidade de utilização de eletrodos específicos, oferece uma outra possibilidade de determinação direta da concentração de íons metálicos ou de ânions.

A técnica da titulação potenciométrica pode utilizar um eletrodo de referência e um eletrodo de vidro, um eletrodo seletivo ou então um eletrodo combinado. Estes eletrodos acoplados ao pH-metro e com uma força iônica conhecida permitem a determinação direta da concentração dos íons hidrogênios dentro de praticamente toda a faixa de pH conhecida com uma reprodutibilidade de até 0.001 unidade de pH. A titulação consiste na medida da variação do pH pela adição em doses de uma base padrão a uma solução ácida de um ligante ou vice-versa, em presença ou em ausência de íons metálicos e/ou ânions. Aproximadamente 50 à 100 leituras de pH são em geral necessárias para obter-se uma curva de equilíbrio potenciométrico em condições de ser explorada (Martell *et al.*, 1992).

A determinação das constantes de equilíbrio por esta técnica é delicada. Ela requer uma calibração rigorosa dos eletrodos e do pH-metro assim como um controle preciso das condições experimentais como a temperatura, a concentração, a força iônica (Anderegg *et al.*, 1994, Jackson *et al.*, 1995), a pureza dos reativos utilizados assim como a ausência de carbonatos. A calibração dos eletrodos e do pH-metro é uma das etapas essenciais para a aplicação desta técnica. Ela pode ser realizada de três maneiras diferentes. O método baseado na utilização de soluções tampões calibradas para vários valores de pH é o mais clássico, mais sua precisão

normalmente é limitada a 0,01-0,02 unidades de pH. Um segundo método consiste em titular um ácido e uma base forte dentro de uma faixa de pH bem definida, geralmente de 2 à 12. Ela conduz a uma grande precisão a cada ponto de pH determinado. Um outro método repousa na utilização da equação de Nernst que consiste em obter o pH real estimado a partir da medida da tensão elétrica (mV) nos eletrodos em função do pH medido.

As células melhor adaptadas a estas medidas são normalmente as células em vidro com paredes duplas (figura 14) que permitem tanto uma termostatização precisa quanto um controle da atmosfera dentro da célula afim de evitar a presença de carbonatos.

III.3. TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS.

Os dados experimentais consistem essencialmente nos valores medidos da concentração de uma espécie em particular (pH por exemplo) em função das quantidades crescentes de soluções titulantes (ácidos ou bases). A resolução matemática das equações que exprimem os equilíbrios entre as diversas espécies iônicas formadas conduz por sua vez às constantes de equilíbrio presentes e às concentrações em função do pH destas espécies. A partir dos anos 60, numerosos programas de cálculos baseados na utilização de microcomputadores foram desenvolvidos. Programas como por exemplo, o LETAGROP-SPEFO (Sillen *et al.*, 1969), adaptado aos dados espectrofotométricos e o SCOGS (Sayce, 1968), adaptado aos dados potenciométricos, tem sido muito utilizados. Após, outros programas têm sido propostos, o MINQUAD (Sabatini *et al.*, 1974), o TIFIT (Zuberbeuhler *et al.*, 1982), e o PROTAF (Fournaise *et al.*, 1987), escritos para o tratamento de dados potenciométricos e o SQUAD (Leggett *et al.*, 1975), para o tratamento de dados espectrofotométricos. Programas mais recentes são por exemplo, o programa BEST (Martell *et al.*, 1992), o SIRKO (Vetrogon *et al.*, 1994) que pode ser utilizado para o cálculo das constantes de equilíbrio a partir de dados provenientes de técnicas variadas e o MAXIPOT-F (Gaizer *et al.*, 1994) adaptado às medidas potenciométricas.

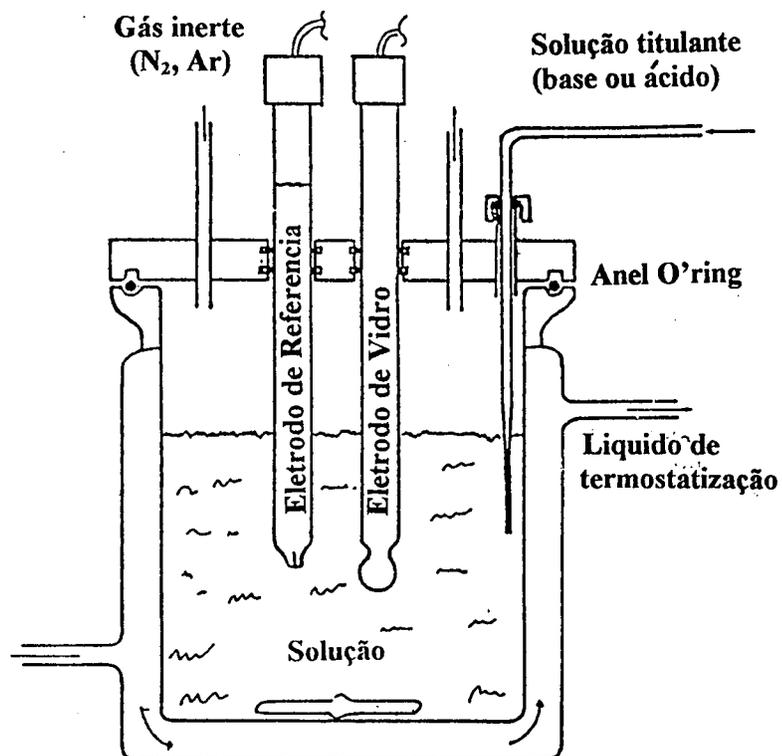


Figura 14. Célula utilizada para as medidas de titulação potenciométrica.

OS PROGRAMAS "BEST" E "SPECIES".

Neste trabalho, nós utilizamos o programa BEST e o programa SPECIES (Martell *et al.*, 1992). O arquivo de entrada do BEST contém os seguintes dados experimentais seguintes: os dados da variação do pH em função do volume de base ou de ácido, as concentrações dos diversos reativos (ligante, metal, ácido ou base), o volume inicial da solução e o conjunto de constantes de todos os equilíbrios susceptíveis de estarem presentes no sistema estudado. Este conjunto compreende as constantes de equilíbrio conhecidas e que podem ser encontradas na literatura e, as constantes de equilíbrio a serem determinadas, onde os valores podem ser estimados arbitrariamente, normalmente com valores próximos das constantes determinadas para sistemas semelhantes. O programa estabelece o balanço de massas para cada espécie e resolve as equações para as concentrações em íons hidrogênios que em seguida são comparados aos valores medidos. A otimização das constantes de equilíbrio procuradas é realizada mantendo-se fixas as constantes de equilíbrio conhecidas e minimizando as diferenças entre os valores de pH calculados e os pH medidos pelo método dos mínimos quadrados.

O programa SPECIES permite determinar a distribuição das espécies maiores em função do pH. O arquivo de entrada deste programa é constituído pelo arquivo de saída do programa BEST que contém todas as constantes de equilíbrio conhecidas e aquelas que foram determinadas pelo cálculo.

III.4. FONTES E ANÁLISE DOS ERROS NA DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE EQUILÍBRIO PELA TÉCNICA DA TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA.

As fontes de erros são numerosas e estão contidas normalmente nos dados puramente químicos (volume inicial, concentrações dos reativos, presença de carbonatos ou outras impurezas, valor do pK_w , constantes de equilíbrio conhecidas) ou relativos as medidas (calibração dos eletrodos, desvio de força iônica, não idealidade da solução, mau controle da temperatura) (Potvin, 1994).

Os erros sobre o pK_w podem ser evitados, determinando seu valor em função do solvente utilizado e, de preferência, nas condições de temperatura e força iônica utilizadas. Os erros devido às impurezas podem ser minimizados utilizando reativos de qualidade certificada para análise. Erros importantes podem ser ocasionados igualmente pela presença de carbonatos absorvidos nos reativos alcalinos. A utilização de reativos sem carbonatos e uma ebulição da água utilizada permite resolver este problema. Podemos estimar a quantidade de carbonatos utilizando o método de Gran (Gran, 1953).

A escolha do modelo químico para representar o conjunto de equilíbrios postos em jogo, pode influenciar enormemente a exatidão dos resultados, particularmente se o modelo compreende as espécies onde a formação é negligenciada. Nestes casos, é preferível recorrer a métodos que permitam verificar a presença eficaz ou não destas espécies como por exemplo, o RMN, o IR ou a espectroscopia eletrônica. Uma outra escolha crítica é aquela referente às constantes de equilíbrio encontradas na literatura e introduzidas no modelo. Nos casos de sistemas ternários, que colocam em jogo um ligante, um ou mais metais e um ânion, é preferível determinar cada sistema em particular e por fim determinar o sistema com todos os valores. Foi desta maneira que nós procedemos para os sistemas constituídos pelo OBISDIEN, cobre, zinco ou magnésio e diversos ânions.

CAPITULO IV

ESTUDO DOS EQUILÍBRIOS DOS ÍONS SELENITO E SELENATO COM O COMPLEXO RECEPTOR FORMADO PELO ÍON Cu^{2+} E O 1.4.7.13.16.19-HEXAAZA-10.22-DIOXACICLOTETRACOSANO (OBISDIEN)

IV.1. PARTE EXPERIMENTAL:

IV.1.1. MATERIAIS.

O OBISDIEN.6HBr empregado foi sintetizado pela modificação de um método previamente descrito (Lehn *et al.*, 1977, Cormamond *et al.*, 1982). Selenito de sódio, selenato de sódio, cloreto de potássio (suporte eletrolítico) e nitrato de cobre tri-hidratado ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) são reagentes PA sendo usados sem previa purificação. A solução estoque dos íons Cu(II) foi padronizada por titulação com EDTA usando murexida como indicador (Schwarzenbach *et al.*, 1969). Soluções de KOH 0,100 M livres de carbonatos foram preparadas a partir de ampolas Dilut-it (J.T. BAKER) e foram padronizadas pela titulação com biftalato ácido de potássio.

IV.1.2. MEDIDAS DOS EQUILÍBRIOS POTENCIOMÉTRICOS.

Estudos potenciométricos do OBISDIEN.6HBr na ausência e na presença de íons cobre (II), selenito e selenato foram realizados com um pH-metro de pesquisa Digimed modelo DMPH3. Foram acoplados ao pH-metro, um eletrodo de vidro e um eletrodo de referência Ag/AgCl Ingold. O conjunto foi calibrado com soluções previamente padronizadas de HCl 10^{-2} M ($\mu = 0,100$ M (KCl)) e KOH 10^{-1} M livres de CO_2 . Esta calibração permite obter valores precisos para o conjunto à cada ponto de p[H] medido. A reprodutibilidade do p[H] foi $< 0,002$ unidades de p[H] em regiões de tampão e a precisão absoluta de p[H] foram $< 0,002$ unidades de p[H] em região ácida e $< 0,015$ unidades de p[H] em região básica. Os colchetes em p[H] são

usados para enfatizar a determinação de $-\text{Log}_{10}[\text{H}^+]$. A temperatura foi mantida a $25,00 \pm 0,03^\circ\text{C}$ e a força iônica (μ) foi ajustada para 0,100 M pela adição de KCl.

Amostras de aproximadamente 0,10 mmol de OBISDIEN, selenito e selenato cuidadosamente pesadas e aproximadamente 0.20 mmol de Cu(II), foram diluídos com 50 mL de água duas vezes destilada (KMnO_4) em uma célula hermeticamente selada e termostaticada nas condições descritas acima. Todas as soluções foram tituladas com KOH 0,100M padrão e livre de CO_2 . A faixa de $\text{p}[\text{H}]$ estudada foi entre 2 e 11. O íon brometo estava presente em aproximadamente 0,60 mmol na solução com o OBISDIEN.

IV.1.3. CÁLCULOS COMPUTACIONAIS.

As constantes de associação dos prótons do OBISDIEN e as constantes de equilíbrio do OBISDIEN: Cu^{2+} foram reportadas de trabalhos anteriores (Motekaitis *et al.*, 1983). As constantes de associação dos prótons dos íons selenito e selenato foram reportadas da literatura (Smith *et al.*, 1989). As constantes de hidrólise do íon Cu^{2+} que nós utilizamos foram também reportadas da literatura (Baes *et al.*, 1976). A constante de dissociação da água (pK_w) usada foi 13.78. Todas estas constantes foram mantidas fixas durante o refinamento com o programa BEST. Várias constantes obtidas a partir da literatura foram determinadas com diferentes tipos de sais como suporte eletrolítico (KNO_3 , KClO_4) e em princípio, todas as constantes discutidas neste trabalho, são dependentes do tipo de eletrólito. Entretanto, tem sido mostrado na literatura (Motekaitis *et al.*, 1992) que as variações são fracas e que as constantes de equilíbrio obtidas a partir de diferentes eletrólitos com o OBISDIEN como ligante não diferem grandemente umas das outras. As espécies a serem consideradas são aquelas as quais são formadas de acordo com os conhecimentos em química de coordenação em soluções e cuidados foram tomados para evitar a escolha de espécies improváveis.

As constantes de equilíbrio nos sistemas OBISDIEN-brometo, OBISDIEN-brometo-selenito, OBISDIEN-brometo-selenato, OBISDIEN-Cu(II)-brometo, OBISDIEN-Cu(II)-brometo-selenito, OBISDIEN-Cu(II)-brometo-selenato foram calculados com a ajuda do programa interativo BEST (Motekaitis *et al.*, 1982) já mostrado no capítulo III.

IV.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

IV.2.1. ESPÉCIES DO OBISDIEN-BROMETO.

A presença de espécies de brometo em solução, é devido ao fato de o OBISDIEN utilizado ser cristalizado com seis moléculas de HBr. Brometo é importante neste estudo porque ele está presente no meio ambiente em grande quantidade (Ahrland, 1985). Torna-se necessário verificar se ele pode competir com os íons selenito e selenato para a formação de complexos com o OBISDIEN na presença ou na ausência de íons metálicos. As curvas de equilíbrio potenciométrico são ilustradas na Figura 15. Enquanto uma discussão detalhada de tais curvas pode ser encontrada em trabalhos especializados (Martell et al., 1992), uma interpretação generalizada dos dados plotados na Figura 15 pode ser dada como segue. Cada curva plotada representa um experimento em separado. Um exame direto de uma dada curva pode providenciar informações qualitativas sobre a estequiometria em solução e sugestões para possíveis espécies presentes.

O OBISDIEN.6HBr torna-se dissociado em duas regiões de buffer, uma próxima a $p[H]$ 3.5 e a outra próxima a $p[H]$ 9.0. A curva possui uma grande inflexão em $a = 2$ (onde a = moles de base adicionada por mole de ligante). Os pontos de inflexão correspondem a finalização da neutralização dos dois íons amônio substituídos mais acídicos, o mais ácido dos quais está extensivamente dissociado em solução aquosa no ponto de partida ($a = 0$). As regiões de buffer que ocorrem a altos valores de $p[H]$ correspondem a dissociação dos quatro grupos amônio substituídos do ligante remanescentes os quais ocorrem em etapas seqüenciais.

As constantes de equilíbrio determinadas estão listadas na Tabela 1, onde algumas delas são comparadas com valores determinados preliminarmente (Rosso et al., 1995). As curvas de distribuição das espécies do sistema OBISDIEN:Br⁻ são mostradas na Figura 16.

As curvas mostram que espécies tri-, tetra-, penta- e hexaprotionadas são formadas. A análise dos dados de equilíbrio potenciométrico não dá evidências para a formação das espécies mono-, di- e não-protonada no sistema OBISDIEN:Br⁻. A espécie hexaprotionada é a mais estável e predomina a baixos valores de $p[H]$,

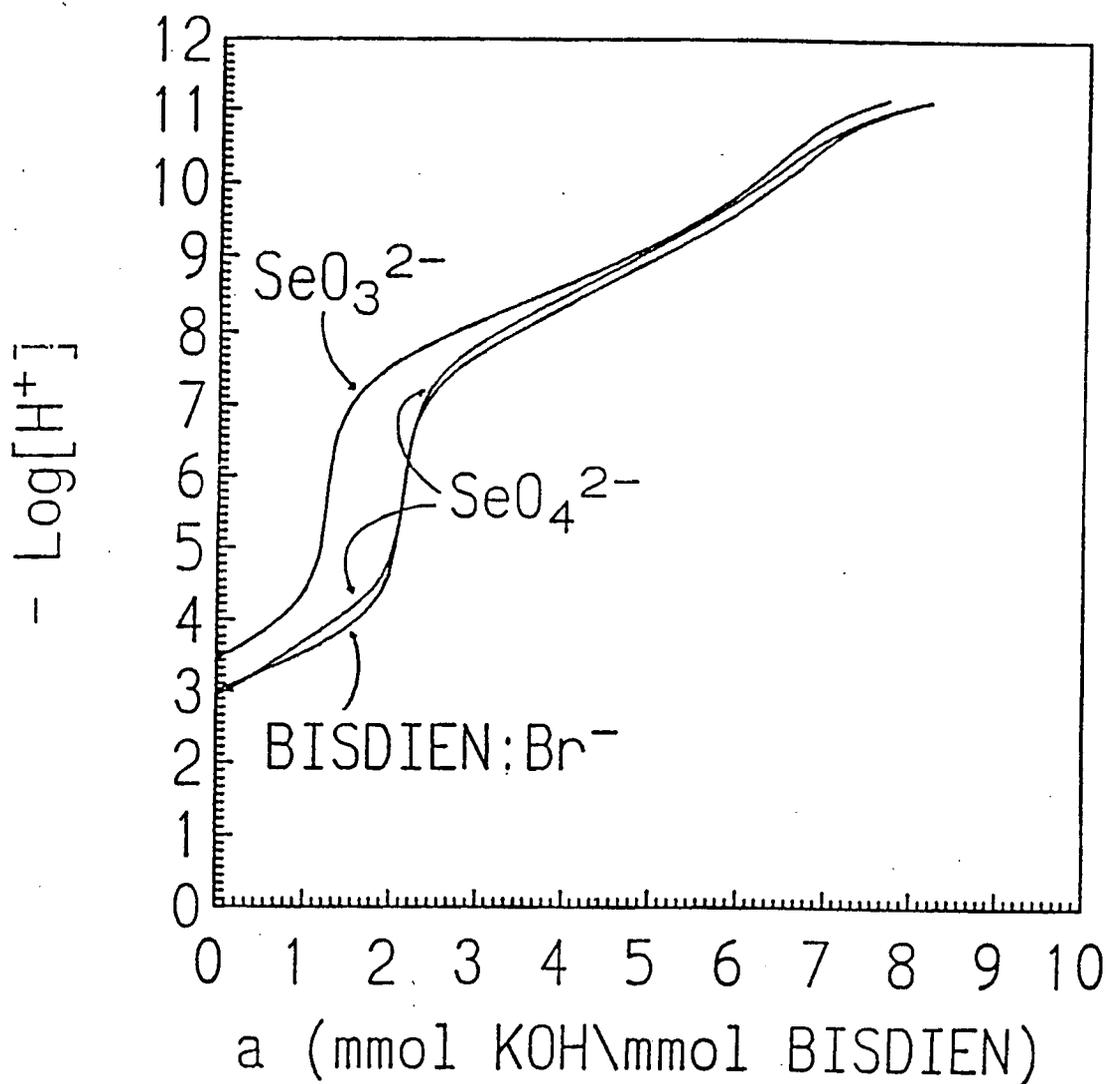


Figura 15. Perfis das curvas de titulação potenciométrica das soluções contendo $2,20 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN, $1,32 \times 10^{-2}$ M de Br^- na ausência e na presença de $2,5 \times 10^{-3}$ M de SeO_3^{2-} e SeO_4^{2-} (a = moles de base adicionada por moles de OBISDIEN; $t = 25,0^\circ\text{C}$; $\mu = 0,100$ M (KCl)).

Tabela 1. Log. Das constantes de equilíbrio dos complexos do OBISDIEN-brometo, OBISDIEN-selenito e OBISDIEN-selenato ($t = 25,00^{\circ}\text{C}$; $\mu = 0,100 \text{ M (KCl)}$).

	$\frac{[\text{LX}]}{[\text{L}][\text{X}]}$	$\frac{[\text{HLX}]}{[\text{HL}][\text{X}]}$	$\frac{[\text{H}_2\text{LX}]}{[\text{H}_2\text{L}][\text{X}]}$	$\frac{[\text{H}_3\text{LX}]}{[\text{H}_3\text{L}][\text{X}]}$	$\frac{[\text{H}_4\text{LX}]}{[\text{H}_4\text{L}][\text{X}]}$	$\frac{[\text{H}_5\text{LX}]}{[\text{H}_5\text{L}][\text{X}]}$	$\frac{[\text{H}_6\text{LX}]}{[\text{H}_6\text{L}][\text{X}]}$
Br ⁻ (b)				1.42 1.40(9) ^a	1.64 1.67(7) ^a	1.89 1.80(8) ^a	1.92 1.97(8) ^a
HSeO ₃ ⁻ (c)	4.44	3.93	3.61	3.66	3.43	3.08	
SeO ₄ ²⁻ (d)		3.17	3.60	3.98	4.52	5.36	5.59

^(a) Rosso *et al.*, 'submetido'. Os números em parênteses são a variação na última unidade.

^(b) $\sigma\text{-fit} = 0,0066$; ^(c) $\sigma\text{-fit} = 0,0097$; ^(d) $\sigma\text{-fit} = 0,0120$

$\sigma\text{-fit}$ é o desvio padrão computado a partir dos $p[\text{H}]$ calculados relativos à aqueles observados experimentalmente (Martell *et al.*, 1992).

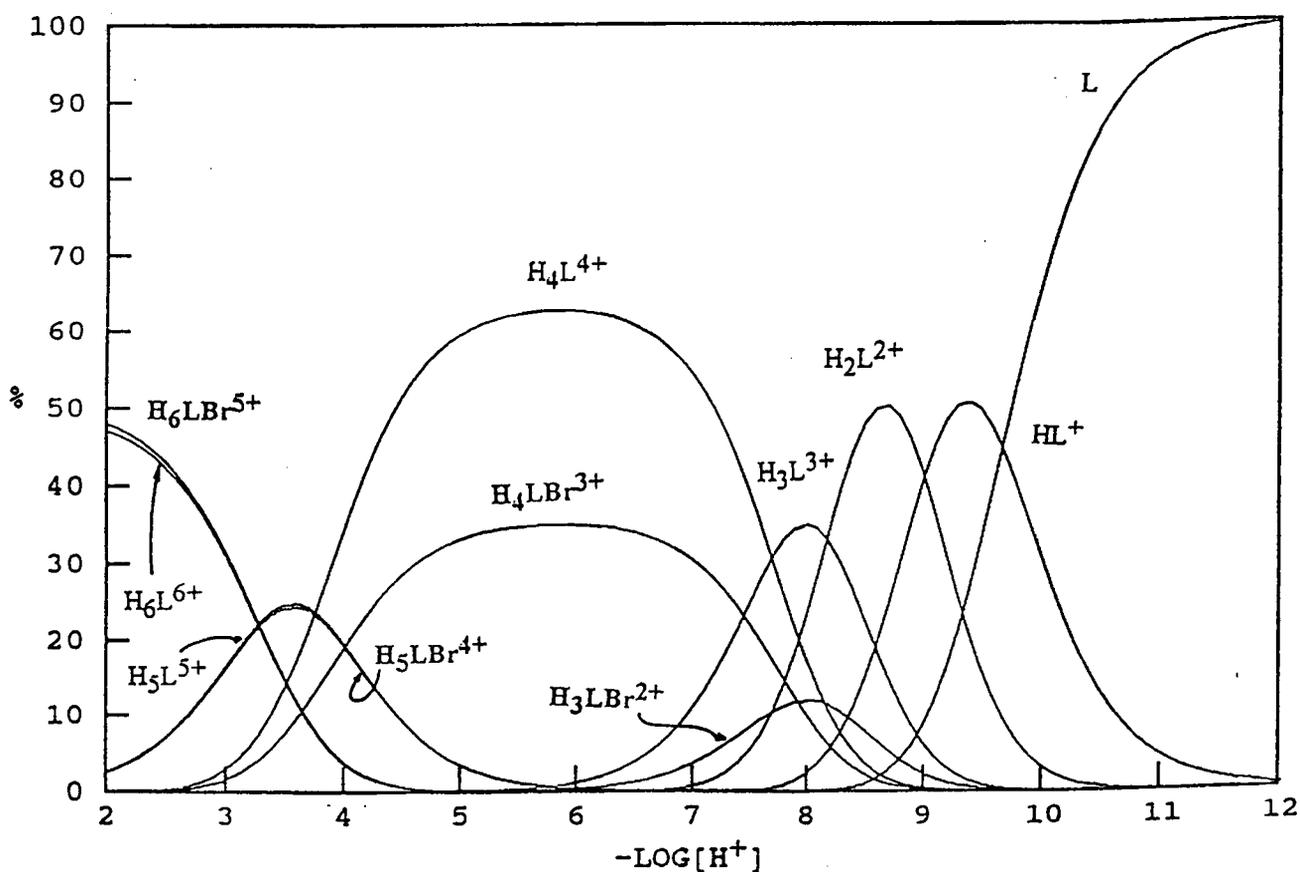


Figura 16. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,20 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN e $1,32 \times 10^{-3}$ M do íon brometo. L é a espécie completamente desprotonada do OBISDIEN e HL^+ , H_2L^{2+} , H_3L^{3+} , H_4L^{4+} , H_5L^{5+} e H_6L^{6+} são as espécies mono-, di-, tri-, tetra-, penta- e hexaprotônica do OBISDIEN. H_3LBr^{2+} , H_4LBr^{3+} , H_5LBr^{4+} e H_6LBr^{5+} são as espécies tri-, tetra-, penta- e hexaprotônica do OBISDIEN:Br⁻.

apresentando um máximo a p[H] 2,0 onde ela é 47,9% formada. A espécie pentaprotionada apresenta um máximo a p[H] 3,6 sendo 24,4% formada. A espécie tetraprotionada é 35% formada a p[H] 5,7, enquanto a espécie triprotionada somente forma-se à valores de p[H] mais elevados, sendo 11,8% formada a p[H] 8,0.

Os íons cloreto são igualmente importantes uma vez que eles estão presentes no meio ambiente (Ahrlund, 1985) e nesta solução, eles estão presentes em grande quantidade (suporte eletrolítico) podendo competir com os íons brometo para a formação de complexos com o OBISDIEN na presença e na ausência de íons metálicos. A evidência da formação de complexos de íons cloreto na cavidade do OBISDIEN é mostrado pela estrutura cristalina de raios-X (Mertes *et al.*, 1990, Bourdon *et al.*, 1991) onde no estado sólido, um cloreto está ligado ao grupo N-H⁺. No presente trabalho nós levamos em conta a eventual formação da espécie OBISDIEN:Cl⁻. Nossos resultados mostram que comparada a espécie OBISDIEN:Br⁻ elas são marginalmente formadas. Outras espécies menores como os complexos bromo e cloro selenitos e selenato não foram considerados neste trabalho.

IV.2.2. ESPÉCIES DO OBISDIEN-SELENITO.

As curvas de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença e na ausência de íons SeO₃²⁻ sob uma atmosfera de nitrogênio foram determinadas pelo método descrito na parte experimental. Elas são mostradas na Figura 15. A curva para o sistema OBISDIEN:Br⁻:SeO₃²⁻ apresenta uma longa região de buffer a partir de a = 1 à a = 6 indicando varias etapas de protonação. A curva mostra uma inflexão em a = 1, indicando que as mudanças de equilíbrio ocorrem numa faixa de p[H] (4,5 - 7,0) sem deslocamento de prótons. Enquanto 2 mmol de KOH são necessários para obter uma grande inflexão na curva do OBISDIEN:Br⁻ para a curva do OBISDIEN:Br⁻:SeO₃²⁻ aproximadamente 1 mmol de base é suficiente. Este resultado é esperado pelo fato de o íon SeO₃²⁻ reter um próton para a sua protonação, formando o íon HSeO₃⁻.

As constantes de equilíbrio do sistema OBISDIEN:SeO₃²⁻ definida pela Equação 12 são listadas na Tabela 1. As curvas de distribuição das espécies para o sistema OBISDIEN:Br⁻:SeO₃²⁻ são mostradas na Figura 17.

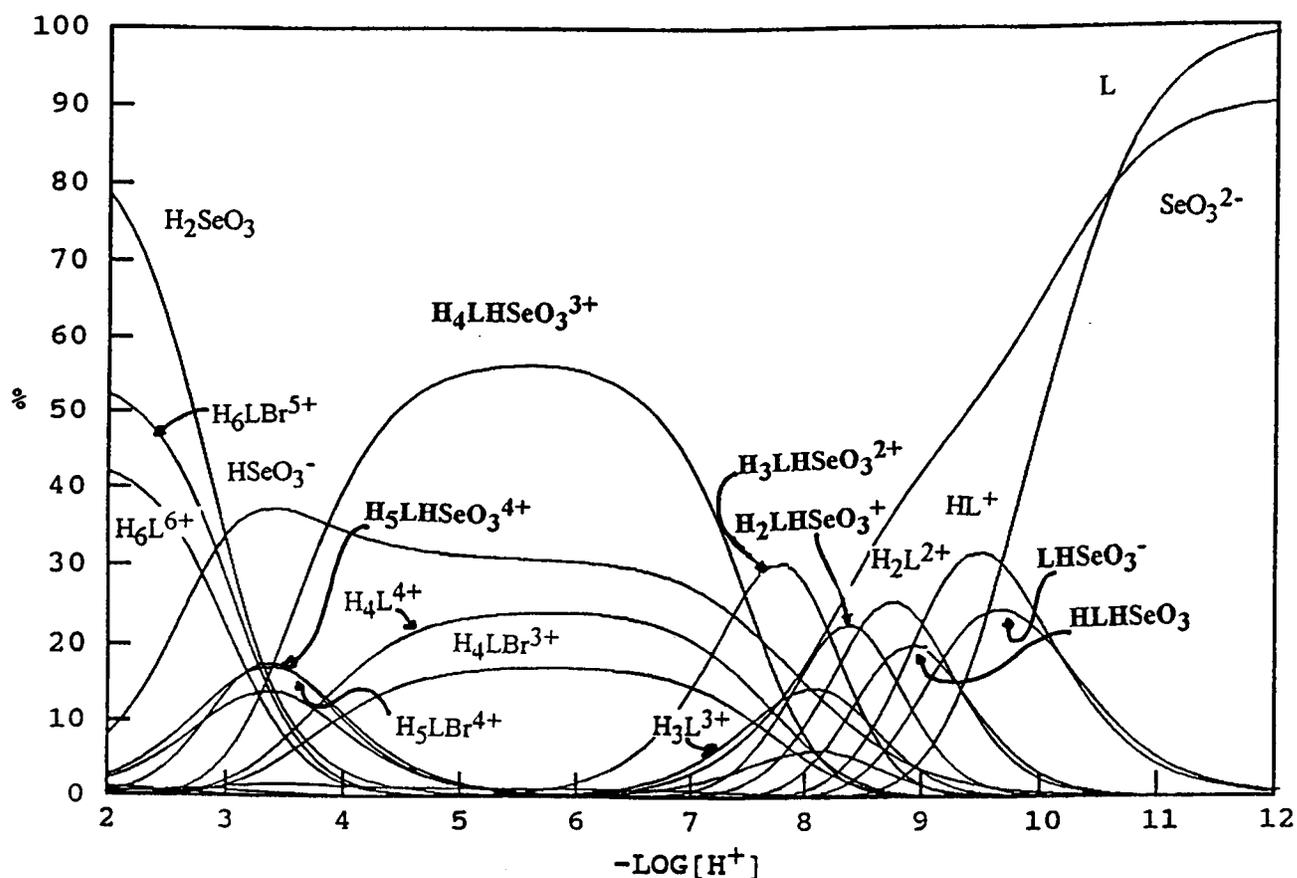
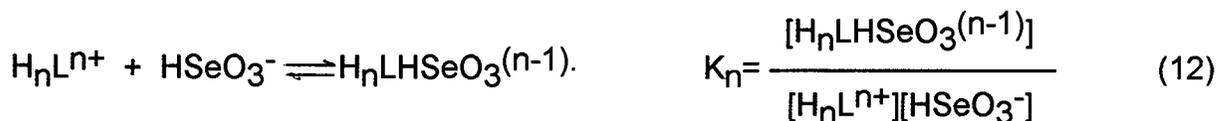


Figura 17. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,20 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN e $2,5 \times 10^{-3}$ M do íon selenito em presença de $1,32 \times 10^{-2}$ M de íons brometo. L é a espécie completamente desprotonada do OBISDIEN e HL^+ , H_2L^{2+} , H_3L^{3+} , H_4L^{4+} e H_6L^{6+} são as espécies mono-, di-, tri-, tetra- e hexaprotonada do OBISDIEN. SeO_3^{2-} , HSeO_3^- e H_2SeO_3 são as espécies respectivamente desprotonada, mono- e diprotonada do íon selenito. $\text{H}_4\text{LBr}^{3+}$, $\text{H}_5\text{LBr}^{4+}$ e $\text{H}_6\text{LBr}^{5+}$ são as espécies tetra-, penta- e hexaprotonada do OBISDIEN:Br $^-$. LHSeO_3^- , HLHSeO_3 , $\text{H}_2\text{LHSeO}_3^+$, $\text{H}_3\text{LHSeO}_3^{2+}$, $\text{H}_4\text{LHSeO}_3^{3+}$ e $\text{H}_5\text{LHSeO}_3^{4+}$ são as espécies mono-, di-, tri-, tetra-, e hexaprotonada do OBISDIEN:selenito.



A espécie hexaprotonada ($H_5LHSeO_3^{4+}$) forma-se abaixo de $p[H]$ 5,0 apresentando um máximo a $p[H]$ 3,4 onde ela é 17,4% formada. A espécie pentaprotonada ($H_4LHSeO_3^{3+}$) é formada acima de $p[H]$ 2,5, apresentando um máximo a $p[H]$ 5,5 onde ela é 56,3% formada. A espécie tetraprotonada ($H_3LHSeO_3^{2+}$) possui um máximo de 30,3% a $p[H]$ 7,8; a espécie triproutonada ($H_2LHSeO_3^+$) é 22,4% formada a $p[H]$ 8,4 e a espécie diproutonada ($HLHSeO_3$) é 19,9% formada a $p[H]$ 8,9. A forma monoproutonada ($LHSeO_3^-$) do complexo é 24% formada a $p[H]$ 9,6. A força de ligação diminui a partir das espécies OBISDIEN:SeO₃²⁻ monoproutonada para a hexaprotonada. Como citado acima, um próton destas espécies é considerado ligado ao íon selenito e não ao ligante macrocíclico.

IV.2.3. ESPÉCIES DO OBISDIEN-SELENATO.

A curva do OBISDIEN:Br⁻:SeO₄²⁻ (Figura 15) mostra dois pontos de inflexão, um em $a = 2$, e o outro em $a = 6$ (onde a = moles de base adicionada por mole de ligante), como foi observado para o OBISDIEN na presença de íons Br⁻ somente. Entretanto a curva de titulação do OBISDIEN na presença de íons SeO₄²⁻ apresenta um perfil com valores de pH mais elevados tanto na região ácida quanto na região básica. Isto é uma forte indicação de que os íons SeO₄²⁻ estabilizam os prótons ligados aos nitrogênios do OBISDIEN nas espécies do OBISDIEN:SeO₄²⁻ mais fortemente que com os brometos.

As constantes de equilíbrio das espécies formadas pela associação do SeO₄²⁻ com as formas protonadas do OBISDIEN definidas pela Equação (13) são reportadas na Tabela 1. A espécie monoproutonada é máxima a $p[H]$ 9,9 onde ela é 31,2% formada e decresce a baixos valores de $p[H]$ (Figura 18). A espécie diproutonada é 36,6% formada a $p[H]$ 9,0 e a triproutonada é 29,2 % formada a $p[H]$ 8,3. A espécie tetraproutonada predomina à valores de $p[H]$ 4,7-8,2 possuindo um

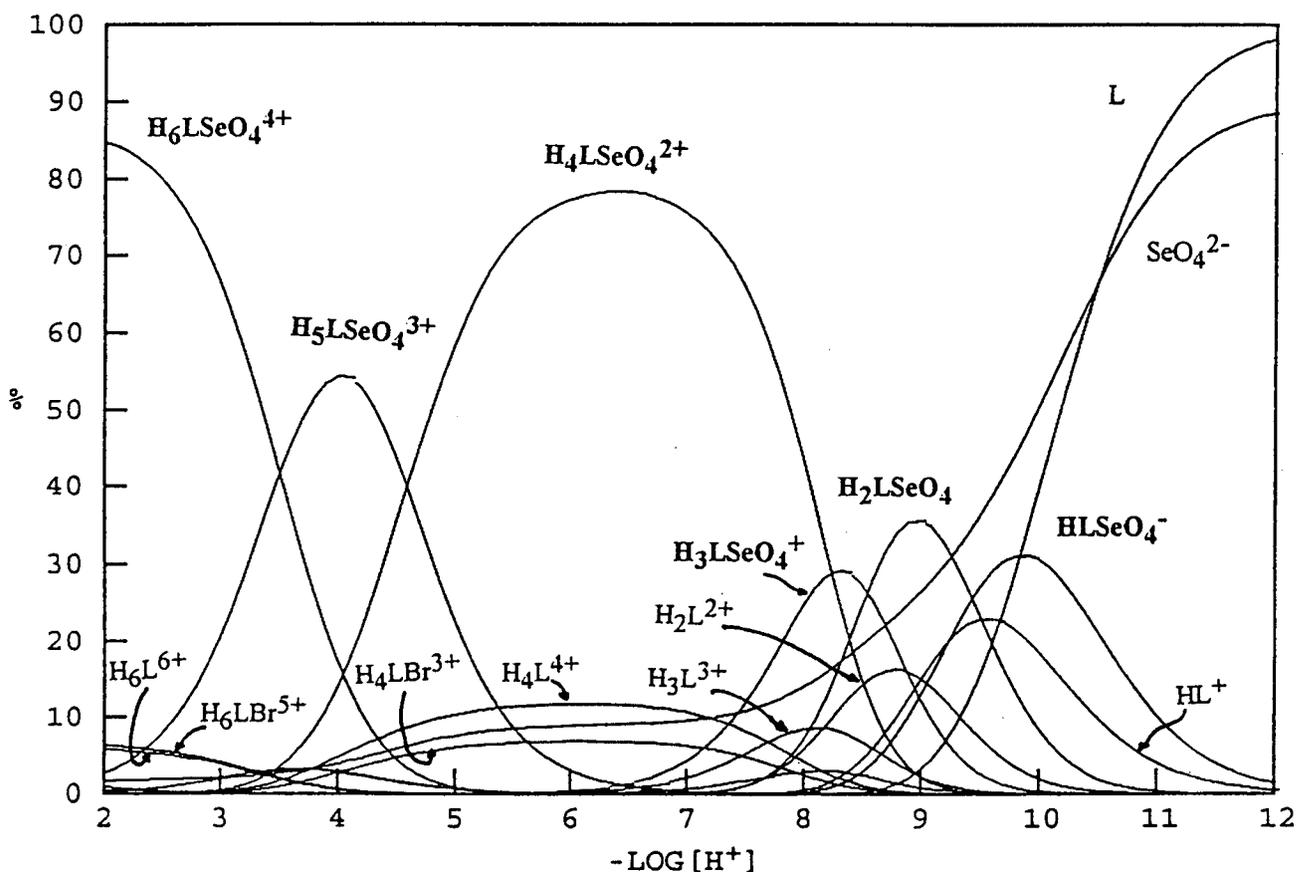


Figura 18. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,20 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN e $2,5 \times 10^{-3}$ M do íon selenato em presença de $1,32 \times 10^{-2}$ M de íons brometo. L é a espécie completamente desprotonada do OBISDIEN e HL^+ , H_2L^{2+} , H_3L^{3+} , H_4L^{4+} e H_6L^{6+} são as espécies mono-, di-, tri-, tetra- e hexaprotonada do OBISDIEN. SeO_4^{2-} é o íon selenato livre. $\text{H}_4\text{LBr}^{3+}$ e $\text{H}_6\text{LBr}^{5+}$ são as espécies tetra- e hexaprotonada do OBISDIEN:Br⁻. HLSeO_4^- , H_2LSeO_4 , $\text{H}_3\text{LSeO}_4^+$, $\text{H}_4\text{LSeO}_4^{2+}$, $\text{H}_5\text{LSeO}_4^{3+}$ e $\text{H}_6\text{LSeO}_4^{4+}$ são as espécies mono-, di-, tri-, tetra-, penta- e hexaprotonada do OBISDIEN:selenato.

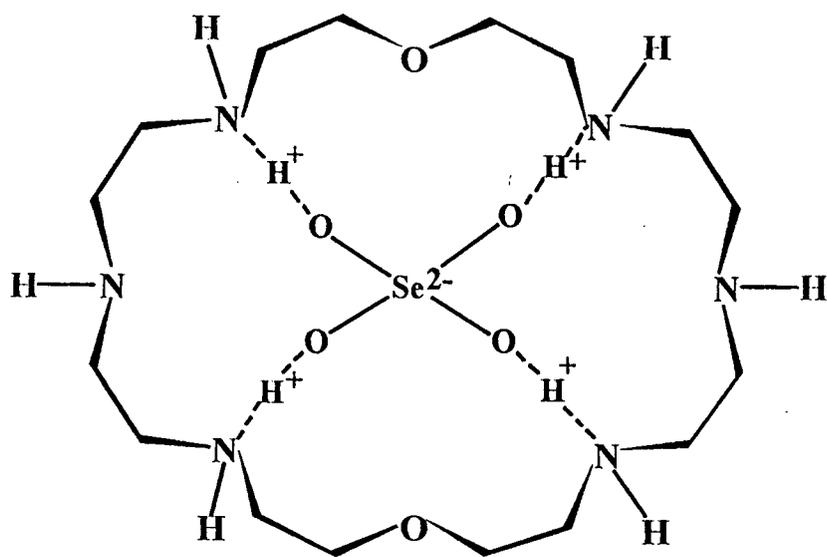


máximo a p[H] 6,3 onde ela é 78,4 % formada. As espécies penta- e hexaprotonada são predominantemente formadas a p[H] 4,0 e 2,0 respectivamente sendo 54,3 % e 84,7 % formadas nestes valores de p[H]. A Estrutura 1 mostra a formula sugerida para a espécie tetraprotonada, $H_4LSeO_4^{2+}$. Nesta estrutura, o íon selenato está ligado aos quatro hidrogênios do nitrogênio protonado na cavidade do ligante macrocíclico. Contribuições a partir de interações eletrostáticas são também esperadas.

As constantes de estabilidade das espécies do OBISDIEN:SeO₄²⁻ aumentam com o grau de protonação do ligante macrocíclico, sendo maior para a forma hexaprotonada do OBISDIEN. Um resultado similar foi observado para a associação do OBISDIEN com o íon Br⁻. Um diferente resultado foi observado no caso do íon selenito no qual as constantes de associação diminuem com o aumento da protonação do ligante. Este comportamento pode resultar do fato de que o íon selenito é protonado praticamente em toda a faixa de p[H] deste estudo, diminuindo a carga negativa e deixando um próton do ânion livre para interações com o não protonado nitrogênio do OBISDIEN.

IV.2.4. ESPÉCIES DO OBISDIEN-Cu(II)-BROMETO.

A curva de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença de íons Cu²⁺ sob uma atmosfera de nitrogênio e em uma razão molar de 1:2:6 para o sistema OBISDIEN:Cu²⁺:Br⁻ é ilustrada na Figura 19. Esta curva apresenta uma inflexão em a = 6 indicando que os seis prótons do OBISDIEN foram neutralizados à valores de p[H] abaixo de 4.5. Uma segunda inflexão ocorre em a = 7 indicando a neutralização de um próton adicional devido a formação de espécies hidroxó. As constantes de equilíbrio dos complexos de OBISDIEN:Cu²⁺:Br⁻ detectados são definidos pelas Equações (14) - (16), com os seus valores sendo reportados na Tabela 2.

 $\text{H}_4\text{LSeO}_4^{2+}$ (1)

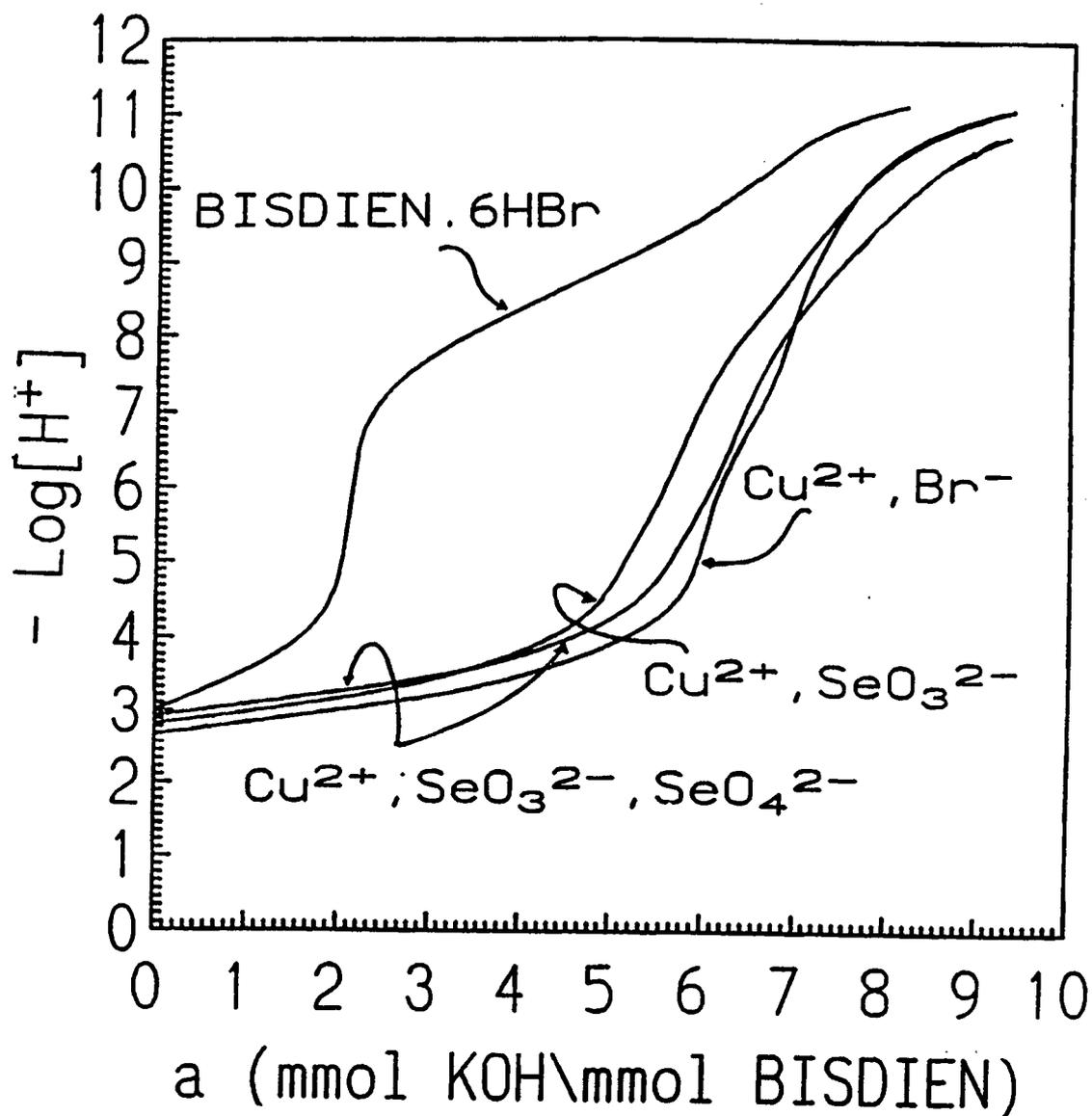


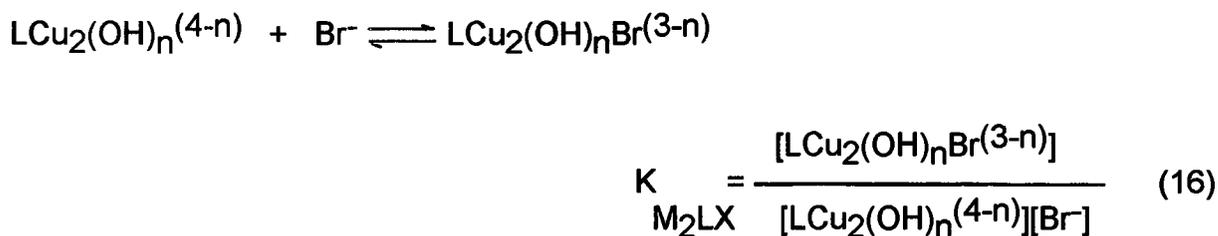
Figura 19. Perfis das curvas de titulação potenciométrica das soluções contendo a) $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr; b) $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr e $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu^{2+} ; c) $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu^{2+} e $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} ; d) $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu^{2+} , $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_4^{2-} (a = moles de base adicionada por moles de OBISDIEN; $t = 25,0^\circ\text{C}$; $\mu = 0,100$ M (KCl)).

Tabela 2. Log. das constantes de equilíbrio dos complexos do OBISDIEN-Cu²⁺-brometo, OBISDIEN-Cu²⁺-selenito e OBISDIEN-Cu²⁺-selenato (t = 25,00°C; μ = 0,100 M (KCl)).

	$\frac{[LCuX]}{[LCu][X]}$	$\frac{[HLCuX]}{[HLCu][X]}$	$\frac{[H_2LCuX]}{[H_2LCu][X]}$	$\frac{[H_3LCuX]}{[H_3LCu][X]}$	$\frac{[LCu_2X]}{[LCu_2][X]}$	$\frac{[LCu_2(OH)X]}{[LCu_2(OH)][X]}$	$\frac{[LCu_2(OH)_2X]}{[LCu_2(OH)_2][X]}$
Br ⁻ (a)		1.18	2.25	2.62	2.47	2.19	1.97
SeO ₃ ²⁻ (b)					5.08	3.08	4.06
HSeO ₃ ⁻ (b)	6.91	7.31	3.53	4.15			
SeO ₄ ²⁻ (c)			5.48	6.05	6.16	7.26	8.34

(a) σ-fit = 0,0119; (b) σ-fit = 0,0100; (c) σ-fit = 0,0118

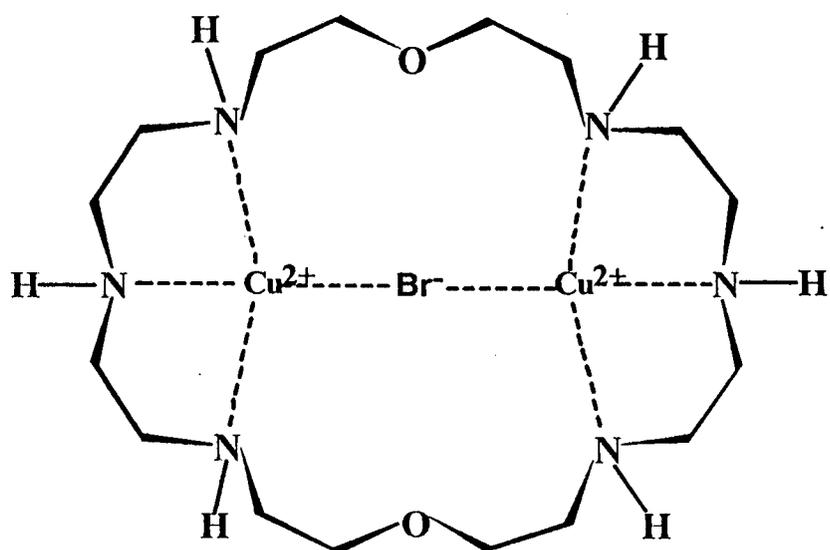
σ-fit é o desvio padrão computado a partir dos p[H] calculados relativos à aqueles observados experimentalmente (Martell et al., 1992).



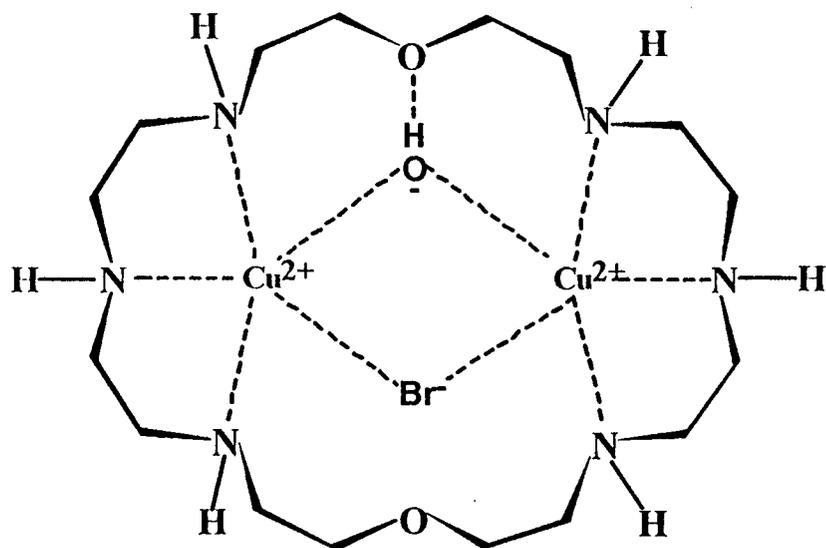
LCu^{2+} and $H_nLCu(2+n)$ são as formas mononuclear não-protonada e protonada do complexo Cu(II)-OBISDIEN. LCu_2^{4+} é o complexo binuclear Cu(II)-OBISDIEN e $LCu_2(OH)_n(4-n)$ são as espécies μ -hidroxo. As constantes de formação destas espécies e também da espécie mononuclear hidroxido $LCuOH^+$ foram reportadas da literatura (Motekaitis et al., 1983) e, foram consideradas na determinação das constantes de equilíbrio para a formação das espécies do OBISDIEN:Cu(II):Br⁻.

As espécies binucleares μ -brometo são as espécies majoritárias a p[H] acima de quatro, enquanto as espécies mononucleares são importantes somente a valores de p[H] abaixo de 4,0 (Figura 20). A fórmula sugerida para a espécie binuclear (μ -bromo) Cu(II)-OBISDIEN (LCu_2Br^{3+}) é representada em 2. O íon brometo está na cavidade do complexo receptor binuclear Cu(II)-OBISDIEN e está coordenado aos dois centros metálicos. Esta espécie possui um máximo a p[H] 5,0 onde ela é 61,0% formada.

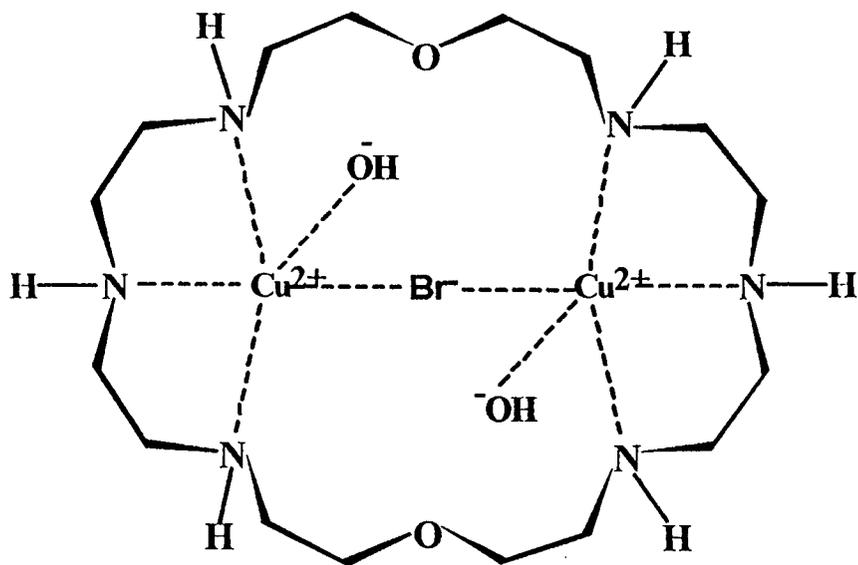
A espécie binuclear monohidroxido $LCu_2(OH)Br^{2+}$, 3, forma-se acima de p[H] 5,0 possuindo um máximo a p[H] 8,4. Neste valor de p[H] ela é 51,3% formada. Nesta espécie, o grupo hidroxido é esperado ser coordenado aos dois centros metálicos na cavidade do OBISDIEN. A formação da espécie di-hidroxido ($LCu_2(OH)_2^{2+}$, 4), ocorre a valores de p[H] altos e é a espécie maior acima de p[H] 10 (Figura 20).



Complexo binuclear do (μ -Brometo) $\text{Cu}(\text{II})$ -OBISDIEN (2)



Complexo binuclear do (μ -Brometo)(μ -Hidroxo)
Cu(II)- OBISDIEN (3)



Complexo binuclear do (μ -Brometo)(di-hidroxo)
di-cobre (II) OBISDIEN (4)

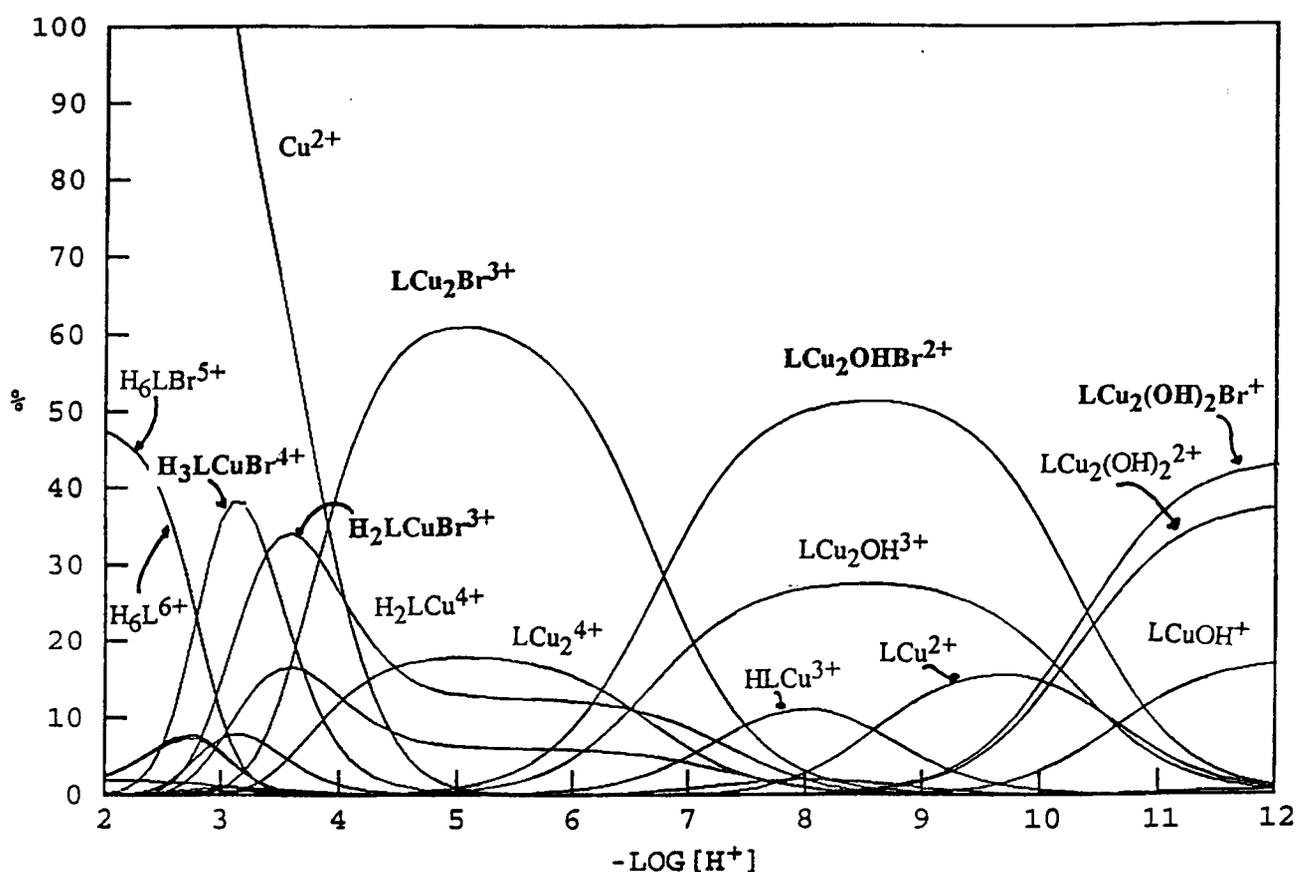
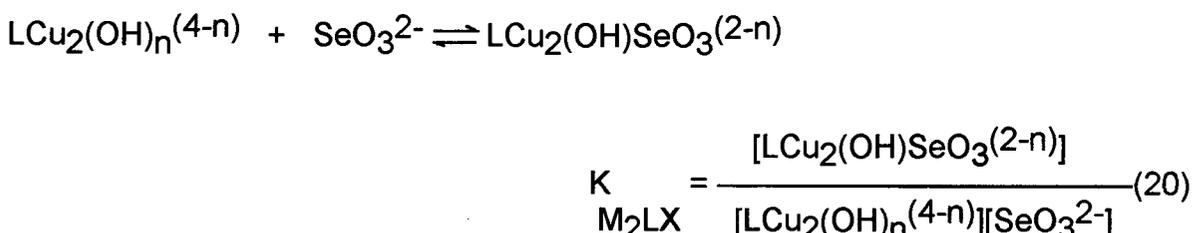
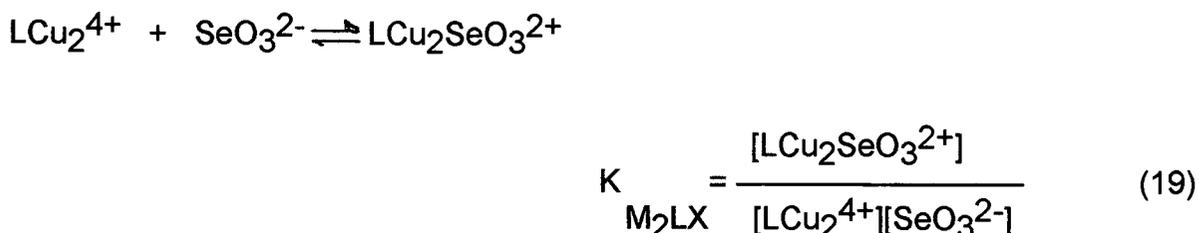
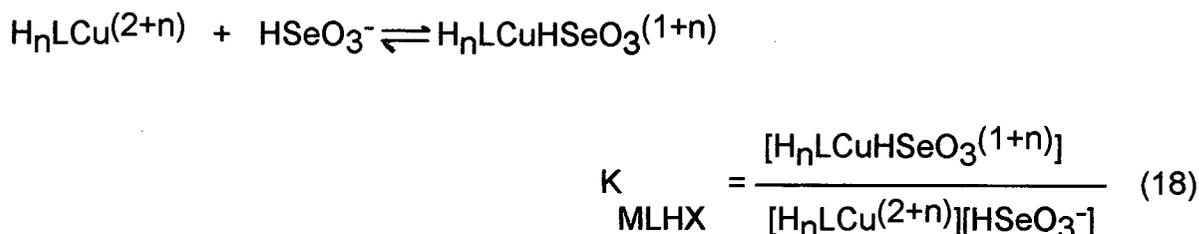


Figura 20. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN e $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu(II) em presença de $1,42 \times 10^{-2}$ M de íons brometo. H_6L^{6+} é a forma hexaprotonada do OBISDIEN. $\text{H}_6\text{LBr}^{5+}$ é a espécie hexaprotonada do OBISDIEN:Br $^-$. Cu^{2+} é o íon Cu(II) livre (aquo), LCu^{2+} , HLCu^{3+} , $\text{H}_2\text{LCu}^{4+}$, LCuOH^+ , LCu_2^{4+} , $\text{LCu}_2\text{OH}^{3+}$ e $\text{LCu}_2(\text{OH})_2^{2+}$ são as espécies do OBISDIEN:Cu $^{2+}$. $\text{H}_2\text{LCuBr}^{3+}$, $\text{H}_3\text{LCuBr}^{4+}$ e $\text{LCu}_2\text{Br}^{3+}$ representam a di- e triprotonada, mononuclear e a binuclear desprotonada espécies de OBISDIEN:Cu $^{2+}$:Br $^-$. $\text{LCu}_2\text{OHBr}^{2+}$ e $\text{LCu}_2(\text{OH})_2\text{Br}^+$ são as espécies binucleares hidróxido do OBISDIEN:Cu $^{2+}$:Br $^-$.

IV.2.5. ESPÉCIES DO OBISDIEN-Cu(II)-SELENITO.

As curvas de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença e na ausência dos íons Cu^{2+} e selenito, sob uma atmosfera de nitrogênio é ilustrada na Figura 19. A curva para o sistema OBISDIEN: Cu^{2+} : SeO_3^{2-} na razão molar 1:2:,1 mostra duas inflexões, uma ao redor de $a = 5$ e a outra em $a = 6$. As duas inflexões ocorrem a uma unidade de a menor do que aquela encontrada para o sistema sem SeO_3^{2-} . Acima de $p[\text{H}]$ 9.5, as curvas para o OBISDIEN: Cu^{2+} : SeO_3^{2-} e o OBISDIEN: Cu^{2+} coincidem indicando que acima deste $p[\text{H}]$, espécies hidroxó podem também predominar neste sistema.

As constantes de equilíbrio dos complexos de OBISDIEN com os íons Cu^{2+} e SeO_3^{2-} estão incluídos na Tabela 2, sendo definidos pelas Equações (17) - (20). As curvas de distribuição das espécies são mostradas na Figura 21.



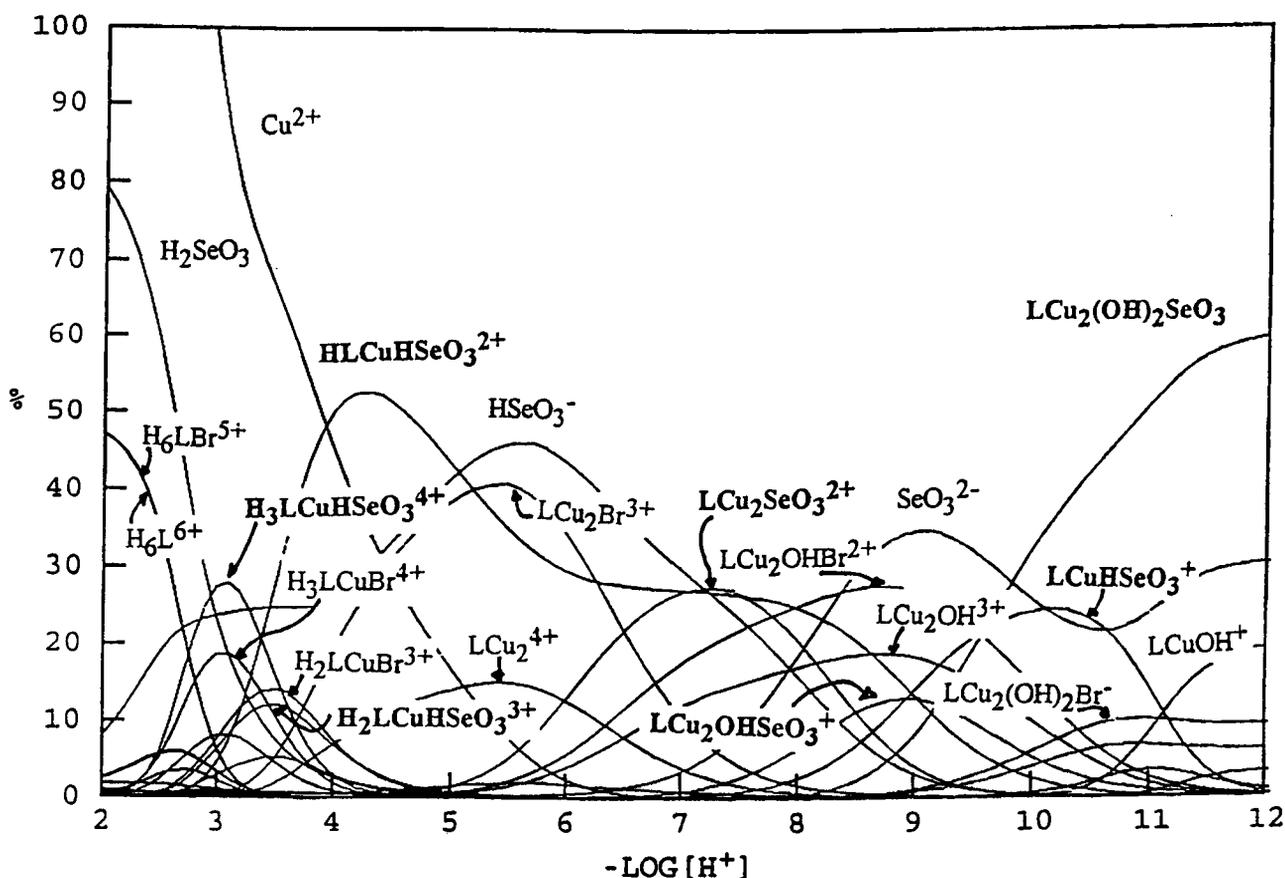


Figura 21. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN, $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu(II) e $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} em presença de $1,42 \times 10^{-2}$ M de íons brometo. H_6L^{6+} é a forma hexaprotionada do OBISDIEN. $\text{H}_6\text{LBr}^{5+}$ é a espécie hexaprotionada do OBISDIEN: Br^- . Cu^{2+} é o íon Cu(II) livre (aquo), LCuOH^+ , $\text{LCu}_2\text{OH}^{3+}$ e $\text{LCu}_2(\text{OH})_2^{2+}$ são as espécies hidróxido do OBISDIEN: Cu^{2+} . LCu_2^{4+} é a espécie binuclear do OBISDIEN: Cu^{2+} . $\text{H}_2\text{LCuBr}^{3+}$, $\text{H}_3\text{LCuBr}^{4+}$ e $\text{LCu}_2\text{Br}^{3+}$ representam as mononucleares di- e triprotionada, e a binuclear desprotionada espécies de OBISDIEN: Cu^{2+} : Br^- . $\text{LCu}_2\text{OHBr}^{2+}$ e $\text{LCu}_2(\text{OH})_2\text{Br}^+$ são as espécies binucleares hidróxido do OBISDIEN: Cu^{2+} : Br^- . SeO_3^{2-} , HSeO_3^- e H_2SeO_3 são as espécies respectivamente desprotionada, mono- e diprotionada do íon selenito. LCuHSeO_3^+ , HLCuHSeO_3^{2+} , $\text{H}_2\text{LCuHSeO}_3^{3+}$ e $\text{H}_3\text{LCuHSeO}_3^{4+}$ são as espécies mono-, di-, tri-, e tetraprotionada do OBISDIEN: Cu^{2+} : SeO_3^{2-} . $\text{LCu}_2\text{SeO}_3^{2+}$, $\text{LCu}_2\text{OHSeO}_3^+$ e $\text{LCu}_2(\text{OH})_2\text{SeO}_3$ são as binucleares e completamente desprotionadas e hidróxido espécies do OBISDIEN: Cu^{2+} : SeO_3^{2-} .

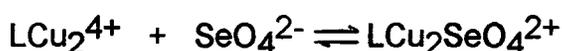
No sistema OBISDIEN.6HBr:Cu²⁺:SeO₃²⁻ as espécies mononucleares são formadas na maior parte da faixa de p[H] estudada. Entretanto íons brometo competem com o íon SeO₃²⁻ para a formação de espécies complexadas. A única espécie binuclear significativa envolvendo os íons selenito é o LCu₂SeO₃²⁺ a qual possui um máximo de formação a p[H] 7,2 sendo 27,6% formada.

IV.2.6. ESPÉCIES DE OBISDIEN-Cu(II)-SELENITO-SELENATO.

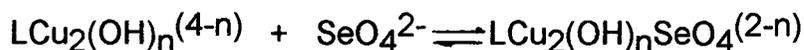
As curvas de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença dos íons Cu²⁺, selenito e selenato sob atmosfera de nitrogênio foram determinadas pelo método descrito na parte experimental. É muito importante saber como os íons selenatos complexam com os íons Cu²⁺ na presença de íons selenito. A curva para o sistema OBISDIEN:Cu²⁺:Br⁻:SeO₃²⁻:SeO₄²⁻ na razão molar 1:2:6:1:1 está ilustrada na Figura 19. A curva mostra que na presença de íons SeO₄²⁻ a região do buffer estende-se para após a = 6. O consumo de KOH após a = 6 indica a possível formação de espécies hidroxó como no prévio sistema. As curvas de distribuição das espécies do sistema OBISDIEN:Cu²⁺:SeO₃²⁻:SeO₄²⁻ são mostrados na Figura 22 e o Log. das constantes de equilíbrio determinadas para o sistema OBISDIEN:SeO₄²⁻ definidos pelas Equações (21) - (23) estão listadas na Tabela 2.



$$K_{MLX} = \frac{[H_nLCuSeO_4^n]}{[H_nLCu(2+n)][SeO_4^{2-}]} \quad (21)$$



$$K_{M_2LX} = \frac{[LCu_2SeO_4^{2+}]}{[LCu_2^{4+}][SeO_4^{2-}]} \quad (22)$$



$$K_{M_2LX} = \frac{[\text{LCu}_2(\text{OH})_n\text{SeO}_4^{(2-n)}]}{[\text{LCu}_2(\text{OH})_n^{(4-n)}][\text{SeO}_4^{2-}]} \quad (23)$$

A espécie completamente desprotonada $\text{LCu}_2\text{SeO}_4^{2+}$ é formada acima de $p[\text{H}]$ 3,0 com um máximo a $p[\text{H}]$ 4,5 onde ela é 65,4% formada. Ela não existe acima de $p[\text{H}]$ 7,0. O complexo (μ -hidroxo)(μ -selenato) di-cobre (II)-OBISDIEN ($\text{LCu}_2(\text{OH})\text{SeO}_4^+$), é a maior espécie a valores de $p[\text{H}]$ acima de 5,5 e abaixo de 9,0, possuindo um máximo a $p[\text{H}]$ 7,2 onde ela é 78,8% formada. A estrutura sugerida para esta espécie é representada em **5**, com uma hidroxila e um ânion selenato ligando aos dois centros metálicos.

Acima de $p[\text{H}]$ 9,0 as espécies di-hidroxo tornam-se mais importantes possuindo um máximo a $p[\text{H}]$ 12,0 onde ela é 89,9% formada. As espécies mononucleares $\text{H}_2\text{LCuSeO}_4^{2+}$ e $\text{H}_3\text{LCuSeO}_4^{3+}$ são formadas a baixos valores de $p[\text{H}]$. A espécie diprotonada é 28,5% formada a $p[\text{H}]$ 3,6 e a espécie triprotonada possui seu máximo a $p[\text{H}]$ 3,2 onde ela é 47,4% formada. As curvas de distribuição mostram resultados interessantes. A maior parte do selenato está complexado na faixa de $p[\text{H}]$ deste estudo enquanto o selenito está principalmente livre. A $p[\text{H}]$ 8,1 o qual é o $p[\text{H}]$ de água de mar (Ahrlund, 1985), na ausência de outros agentes complexantes, muito dos íons selenito e brometo estão livres enquanto 80% do selenato está complexado como (μ -hidroxo)(μ -selenato) di-cobre (II)-OBISDIEN.

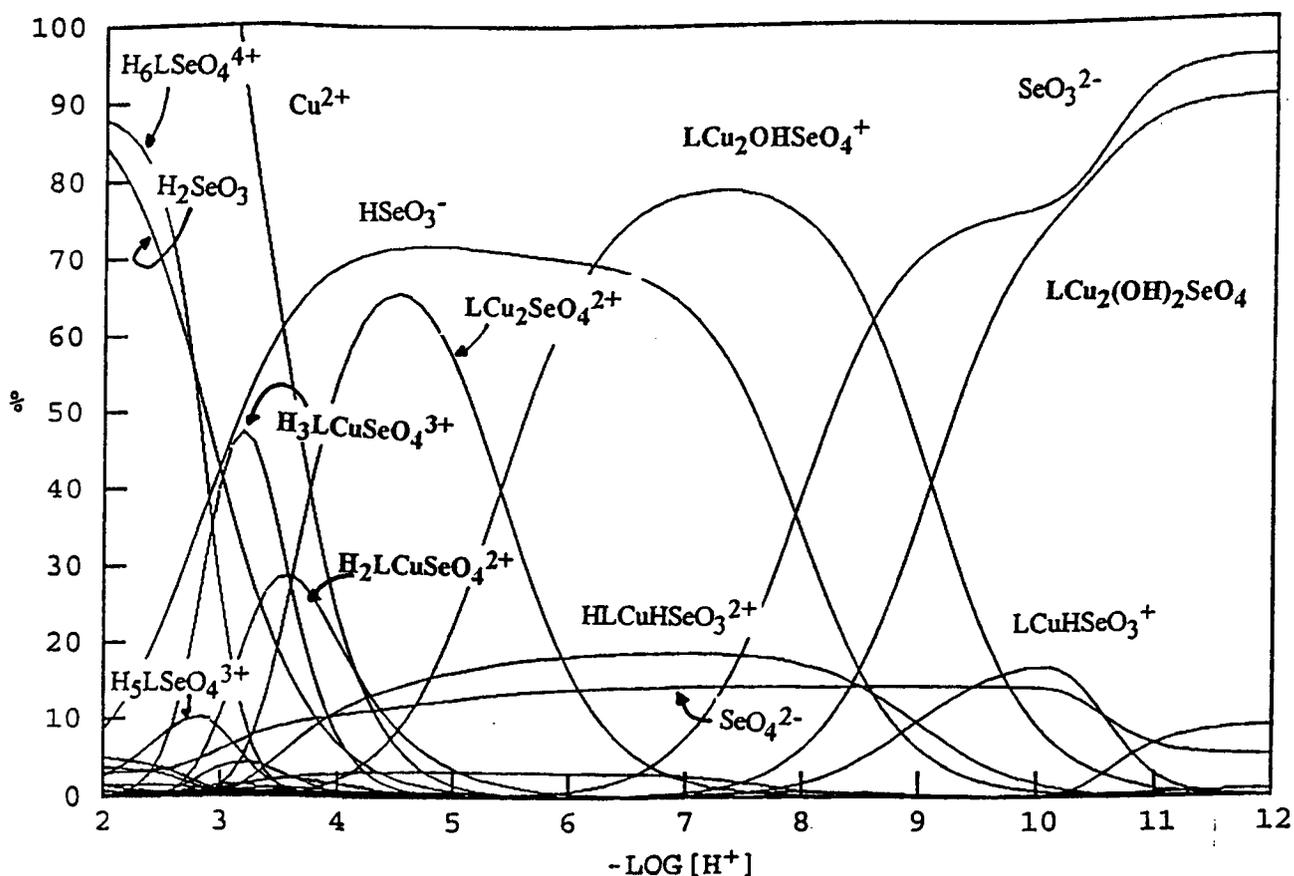
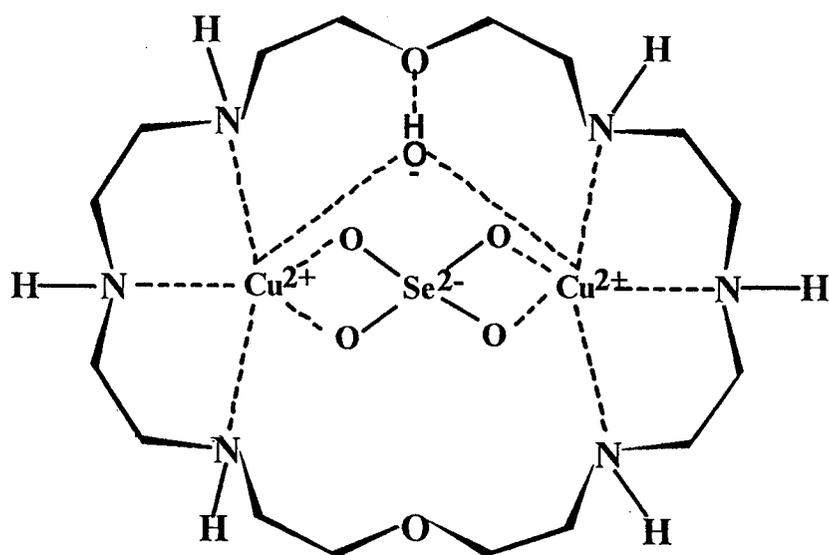


Figura 22. Curvas de distribuição das espécies para uma solução supersaturada contendo $2,36 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN, $4,76 \times 10^{-3}$ M de íons Cu(II) e $2,36 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e SeO_4^{2-} em presença de $1,42 \times 10^{-2}$ M de íons brometo. $\text{LCu}_2\text{SeO}_4^{2+}$ é a espécie binuclear completamente desprotonada do OBISDIEN: Cu^{2+} : SeO_4^{2-} e, $\text{LCu}_2\text{OHSeO}_4^+$ e $\text{LCu}_2(\text{OH})_2\text{SeO}_4$ são as espécies mono- e di-hidroxo. Cu^{2+} é o íon Cu(II) livre (aquo). $\text{H}_2\text{LCuSeO}_4^{2+}$, $\text{H}_3\text{LCuSeO}_4^{3+}$ são as espécies mononucleares di- e triprotonada do OBISDIEN: Cu^{2+} : SeO_4^{2-} . SeO_4^{2-} é o íon selenato e $\text{H}_5\text{LSeO}_4^{3+}$ e $\text{H}_6\text{LSeO}_4^{4+}$, são as espécies penta- e hexaprotonada do OBISDIEN: Cu^{2+} : SeO_4^{2-} . SeO_3^{2-} , HSeO_3^- e H_2SeO_3 são as espécies respectivamente desprotonada, mono- e diprotonada do íon selenito. LCuHSeO_3^+ , HLCuHSeO_3^{2+} são as espécies mono- e diprotonada do OBISDIEN: Cu^{2+} : SeO_3^{2-} .



(μ-Hidroxo)(μ-Selenato) di-cobre (II)-OBISDIEN (5)

IV.3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

As espécies formadas em solução aquosa na complexação dos íons SeO_3^{2-} , SeO_4^{2-} e Br^- com o macrocíclico OBISDIEN e pelo complexo receptor Cu(II)-OBISDIEN foram caracterizados e avaliados por métodos potenciométricos como uma função do p[H]. Os íons SeO_3^{2-} , SeO_4^{2-} e Br^- ligam na cavidade do OBISDIEN na ausência e na presença do íon Cu(II) formando complexos mono- e binucleares. O equilíbrio competitivo do íon Br^- e as espécies de selênio mostram que os íons SeO_4^{2-} estão complexados na faixa de p[H] de 2 a 12 enquanto os íons SeO_3^{2-} e Br^- restam mais livres em solução.

No sistema sem o metal, o aumento das constantes de associação do selenato relacionado com o aumento da protonação do OBISDIEN pode ser entendido com base na formação de ligações de hidrogênio envolvendo o nitrogênio protonado do ligante macrocíclico e os oxigênios do íon selenato. Também as interações eletrostáticas entre o oxigênio negativo do íon selenato e o nitrogênio positivo do OBISDIEN devem ser consideradas. O comportamento oposto que nós observamos para as constantes de ligação do íon selenito entretanto, podem resultar do fato que o íon selenito existe principalmente como forma protonada e portanto é menos negativo que o íon selenato. O próton do íon selenito é avaliado para interações com o nitrogênio não protonado do OBISDIEN.

Ao contrário dos íons selenatos, os íons selenito apresentam uma forte interação com o OBISDIEN, quando este ligante apresenta-se pouco protonado. Isto ocorre devido à possível formação de ligações de hidrogênio, envolvendo o nitrogênio protonado do OBISDIEN com a forma protonada da espécie HSeO_3^- . Quando o OBISDIEN está na presença de ambos íons selenito e selenato, um interessante resultado pode ser observado, em uma grande faixa de p[H] e particularmente no p[H] médio da água do mar, enquanto a maior parte do selenito está livre, o selenato está 80% complexado. Este resultado é importante como uma interessante perspectiva para aplicação do ligante OBISDIEN para a seletiva extração e análise de selenatos tóxicos nas águas naturais.

CAPITULO V

ESTUDO DOS EQUILÍBRIOS DE COMPLEXOS TERNÁRIOS FORMADOS PELOS ÍONS BROMETO, SULFATO, SELENITO E SELENATO COM Zn^{2+} , Mg^{2+} E 1, 4, 7, 13, 16, 19 - HEXAAZA- 10, 22 - DIOXACICLOTETRACOSANO (OBISDIEN)

V.1. PARTE EXPERIMENTAL

V.1.1. MATERIAIS.

O KCl (MERCK) utilizado como suporte eletrolítico foi usado em todas as medidas potenciométricas sem prévia purificação. O macrocíclico OBISDIEN foi sintetizado por uma modificação do método previamente descrito (Lehn *et al.*, 1977, Comarmond *et al.*, 1982). Nitrato de zinco (II) hexahidratado ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$), nitrato de magnésio (II) hexahidratado ($Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$), HCl, sulfato de sódio, selenito de sódio e selenato de sódio, são reagentes puros. Soluções de KOH livre de carbonatos com concentração aproximada de 0,100 M foram preparadas a partir de ampolas Dilut-it (J.T. BAKER) e foram padronizadas por titulação com biftalato ácido de potássio. As soluções estoques de zinco(II) e magnésio(II) foram padronizadas por titulação com EDTA usando murexida como indicador (Schwarzenbach *et al.*, 1969).

V.1.2. MEDIDAS DOS EQUILÍBRIOS POTENCIOMÉTRICOS.

Todas as determinações das constantes de equilíbrio envolvendo o OBISDIEN.6HBr na presença dos íons metálicos zinco(II) e magnésio(II) com os íons brometo, sulfato, selenito, e selenato por titulação potenciométrica, foram realizadas com o mesmo equipamento e condições descritas no capítulo quatro, em "Medidas dos Equilíbrios Potenciométricos". A razão molar de OBISDIEN: Zn^{2+} (Mg^{2+}): Br^- foi de 1:2:6. Para os sistemas OBISDIEN: Zn^{2+} (Mg^{2+}): SO_4^{2-} ,

OBISDIEN:Zn²⁺ (Mg²⁺):SeO₃²⁻, OBISDIEN:Zn²⁺ (Mg²⁺):SeO₄²⁻, a razão molar foi de 1:2:1.

V.1.3. CÁLCULOS COMPUTACIONAIS.

As constantes de equilíbrio para o sistema OBISDIEN:Zn(II), foram reportados da literatura (Motekaitis *et al.*, 1983). Para os sistemas OBISDIEN:Br⁻, OBISDIEN: SeO₃²⁻ e OBISDIEN:SeO₄²⁻ os valores das constantes utilizados foram reportados da Tabela 1 desta tese. As constantes de protonação para o sistema OBISDIEN:SO₄²⁻, foram previamente determinadas em nossos laboratórios. As constantes de associação protônica dos íons sulfato, selenito e selenato foram reportadas da literatura (Smith *et al.*, 1995) e as constantes de hidrólise dos íons Zn²⁺ e Mg²⁺ foram reportadas do livro de Baes e Mesmer (Baes *et al.*, 1976). A constante de dissociação da água (pK_w) a 25,00°C e μ = 0,100 M usada foi 13,78. Todas estas constantes foram fixadas durante o refinamento com o programa BEST.

A literatura mostra que constantes de equilíbrio obtidas em diferentes suportes eletrolíticos com o OBISDIEN como ligante possuem uma boa aproximação (Motekaitis *et al.*, 1992) e, no presente trabalho, algumas constantes encontradas na literatura foram determinadas com diferentes suportes eletrolíticos. As espécies a serem consideradas são aquelas as quais estão de acordo com os conhecimentos em química de coordenação em solução e foram cuidadosamente escolhidas para evitar espécies improváveis.

Todas as constantes de equilíbrio determinadas neste trabalho foram calculadas com a ajuda do programa interativo de computador BEST (Martel *et al.*, 1992) e a distribuição das espécies foram calculadas com a ajuda do SPECIES programa de computador que usa como arquivo de entrada, o arquivo de saída do programa BEST. Detalhes a respeito destas técnicas computacionais podem ser encontradas no capítulo três desta tese, incluso a bibliografia.

Foram realizados cálculos de Mecânica Molecular com o auxílio de um programa PC Model, em um microcomputador compatível com IBM. O campo de força mecânico molecular presente no programa foi usado para realizar todos os cálculos.

V.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

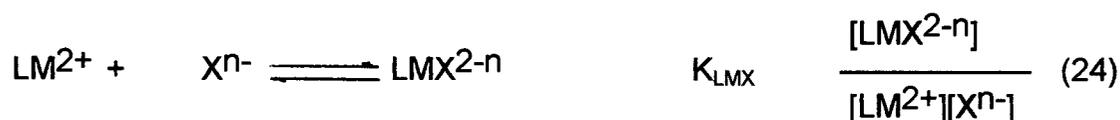
V.2.1. CÁLCULOS DE MECÂNICA MOLECULAR.

Os cálculos de Mecânica Molecular mostram que os complexos de di-zinco(II) - e di-magnésio (II) - OBISDIEN são aptos a adotar varias conformações de baixa energia. Duas conformações são levadas em conta neste trabalho como sendo importantes. As conformações estendida e fechada (Figuras 23 e 24). A distância entre os átomos de Zn na forma estendida do complexo com o OBISDIEN é de 7,32 Å e no caso do complexo de magnésio (II) - OBISDIEN a distância Mg à Mg é 7,35 Å. A separação Zn à Zn na forma fechada é de 4,85 Å, e para a forma fechada do magnésio (II) é mostrado que a distância entre os íons magnésio (II) é de 4,95 Å. Prévios cálculos de Mecânica Molecular para o complexo di-cobre (II)-OBISDIEN revelou conformações similares que o habilitam para a coordenação de ligantes de diferentes tamanhos (Jurek *et al.*, 1995).

Simulações e cálculos sobre os complexos de di-zinco (II) e di-magnésio (II)-OBISDIEN mostram a existência de várias conformações de baixa energia com diferentes separações para Zn à Zn (Figura 23) e Mg à Mg (Figura 24) que podem permitir a coordenação de íons selenato, selenito, sulfato, brometo e hidróxido em sua cavidade.

V.2.2. COMPLEXOS DE OBISDIEN:METAL:ÂNIONS

As constantes de estabilidade dos complexos normais (deprotonados) tendo uma razão molar 1:2 de complexos do OBISDIEN:Zn²⁺ e OBISDIEN:Mg²⁺ e com os ânions sendo 1:2:6 para íons Br⁻ e 1:2:1 para os íons SO₄²⁻, SeO₃²⁻ e SeO₄²⁻, são definidas pelas Equações 24 e 25 respectivamente.



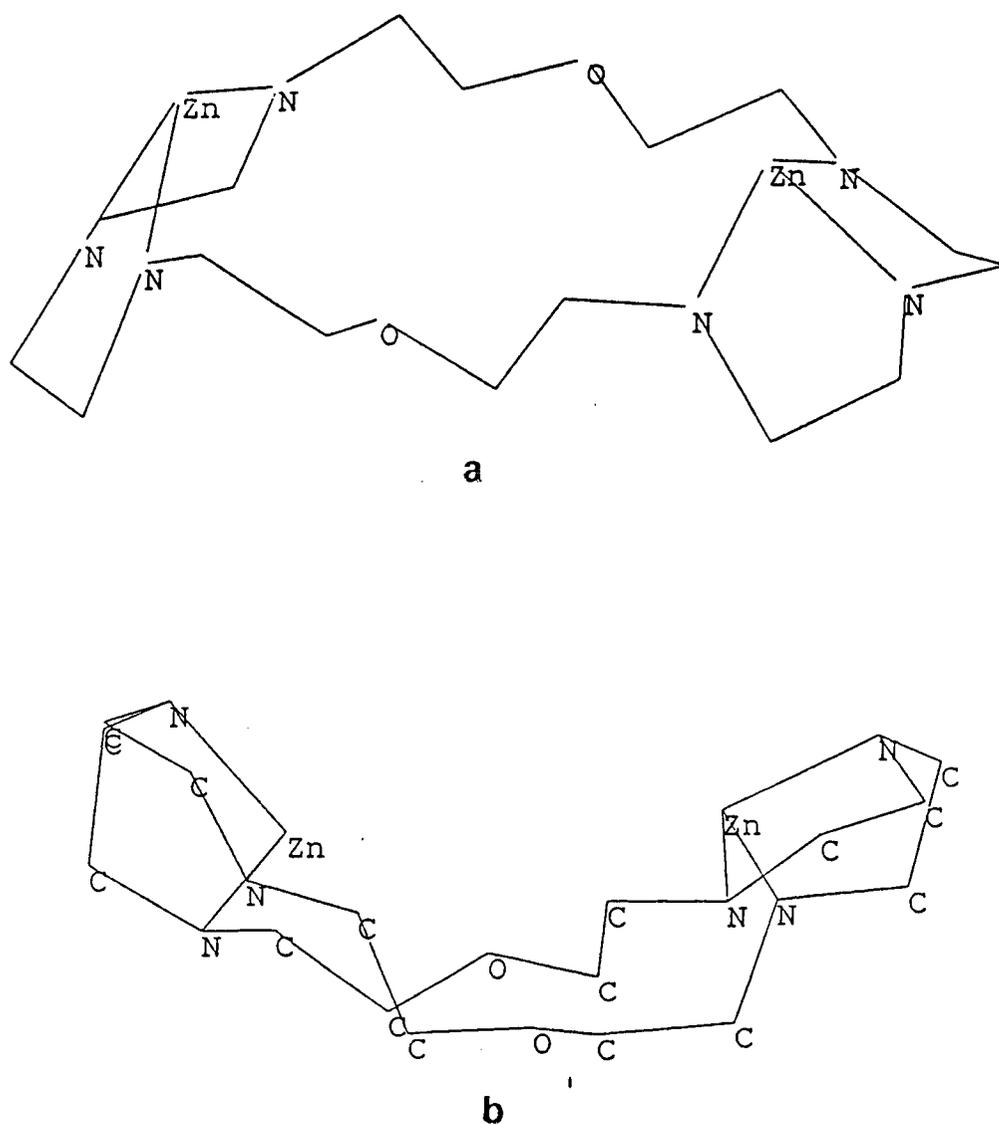


Figura 23. (a) Conformação estendida do complexo dizinco (II)-OBISDIEN. A separação Zn-Zn é de 7,32 Å. (b) Na conformação fechada, a separação Zn-Zn é 4,85 Å.

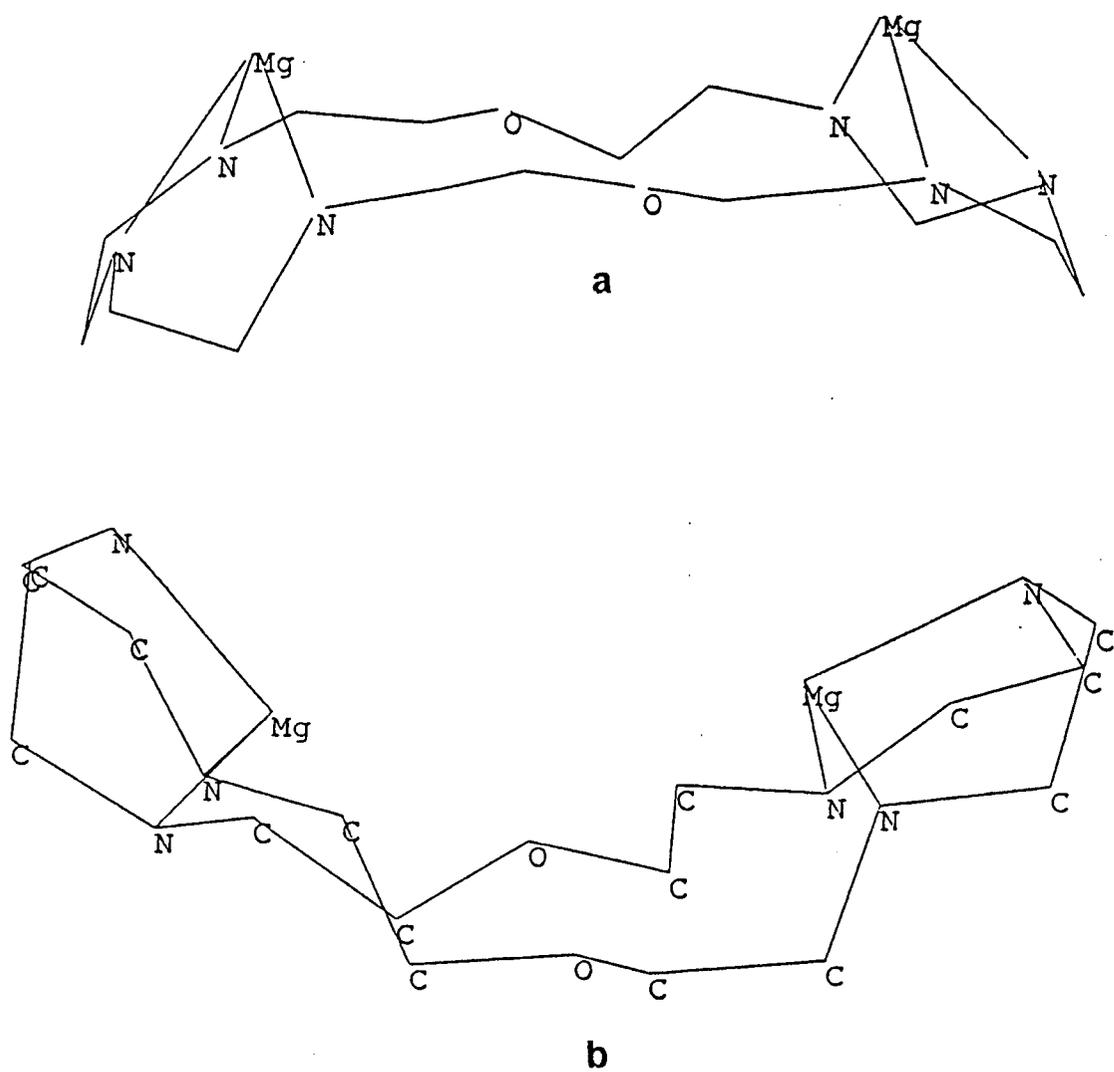
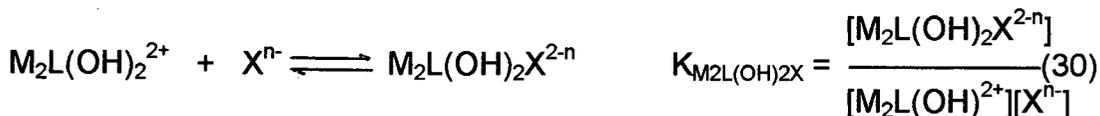
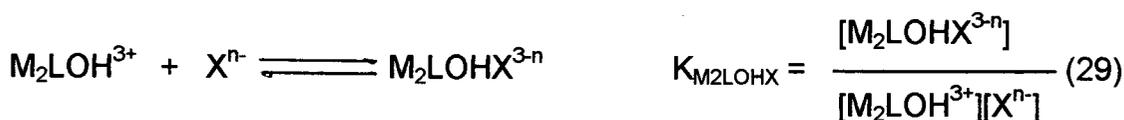
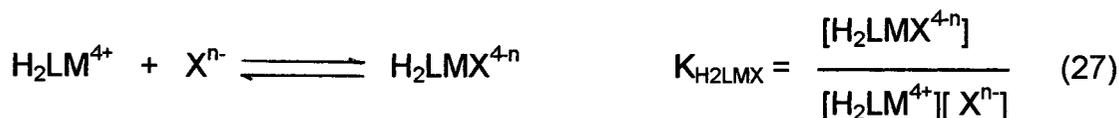
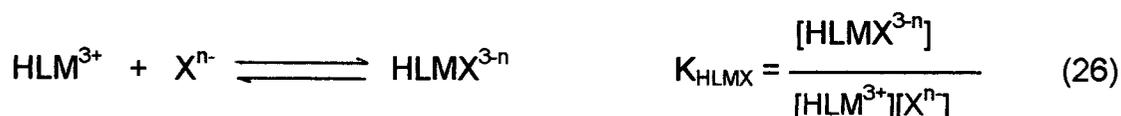


Figura 24. (a) Conformação estendida para a separação Mg-Mg igual à 7,35 Å. (b) Conformação fechada para a separação Mg-Mg igual à 4,95 Å.



Onde X^{n-} é o ânion com a sua carga, LMX^{2-n} representa o quelato mononuclear 1:1:X ($X = 1$ ou 6), não protonado e não hidrolisado e $\text{LM}_2\text{X}^{4-n}$ representa o quelato binuclear 1:2:X ($X = 1$ ou 6) não protonado e não hidrolisado.

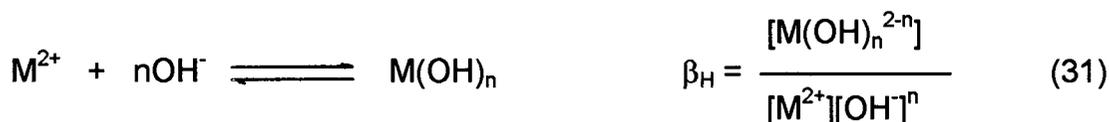
As constantes de protonação dos sistemas OBISDIEN: Metal: Ânions são expressas pelas Equações 26, 27, 28, 29 e 30, respectivamente.



Onde HLMX^{3-n} , $\text{H}_2\text{LMX}^{4-n}$ e $\text{H}_3\text{LMX}^{5-n}$, representam as espécies 1:1:X ($X = 1$ ou 6) mono-, di- e triprotonada dos complexos mononucleares. M_2LOHX e $\text{M}_2\text{L}(\text{OH})_2\text{X}$ representam as formas hidroxido dos complexos 1:1:X ($X = 1$ ou 6) e 1:2:X ($X = 1$ ou 6) OBISDIEN:ânion:metal.

A hidrólise dos íons metálicos foi considerada nos cálculos e foram expressas pela Equação 31. As constantes de hidrólise apropriadas foram obtidas a partir da

literatura (Baes *et al.*, 1976) e neste trabalho nós consideramos as seguintes espécies hidrolíticas: $Zn(OH)^+$, $Zn(OH)_2$, $Zn(OH)_3^+$, e $Zn(OH)_4^{2+}$ para o sistema OBISDIEN:Zn(II):X e $MgOH^+$, e $Mg_4(OH)_4^{4+}$ para o sistema OBISDIEN:Mg(II):X.



V.2.2.1. COMPLEXOS DE OBISDIEN-ZINCO(II)-BROMETO

As curvas de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença e na ausência de íons Zn^{2+} sob uma atmosfera de nitrogênio, em uma razão molar 1:2:6 para o sistema OBISDIEN:Zn(II):Br⁻, foram realizadas e estão ilustradas na Figura 25. A espécie brometo está presente porque o ligante OBISDIEN foi cristalizado com seis moléculas de HBr. Devido a grande quantidade de íons cloreto em solução (suporte eletrolítico), a possível competição deste íon com o íon brometo foi verificada, porém não foi detectado a formação de complexos. Similarmente, espécies menores envolvendo complexos de bromo ou cloro selenitos ou selenatos não foram considerados neste trabalho (Bourdon *et al.*, 1991). Neste sistema nós observamos a formação de um precipitado à aproximadamente p[H] 8,0. Este precipitado é provavelmente as espécies di-hidroxo do zinco(II), $Zn(OH)_2$ que inicia a sua formação neste valor de p[H]. O precipitado permanece até p[H] 11,5 e os valores de p[H] nesta faixa não foram considerados para efeito de cálculo.

O equilíbrio para a formação dos complexos normais e protonados são indicados pelas Equações 25, 27-29. As constantes de estabilidade determinadas são apresentadas na Tabela 3. A curva inicia à aproximadamente p[H] 3,0 e até p[H] 4,0 onde $a = 2$ ela é semelhante à aquela do OBISDIEN.6HBr sem íons Zn(II). Isto indica que não há formação de complexos nesta faixa de p[H] até os dois primeiros prótons do ligante terem sido neutralizados. Acima de p[H] 4,0 a curva do OBISDIEN:Zn(II):Br⁻ é mais baixa que a curva do OBISDIEN:Br⁻ indicando o deslocamento de prótons. Os dados obtidos foram analisados sobre possíveis espécies mono- e binucleares. As constantes de formação para as espécies OBISDIEN:Zn(II):Br⁻ estimadas foram refinadas pelo programa BEST enquanto as demais constantes de formação foram fixadas (Martell *et al.*, 1992).

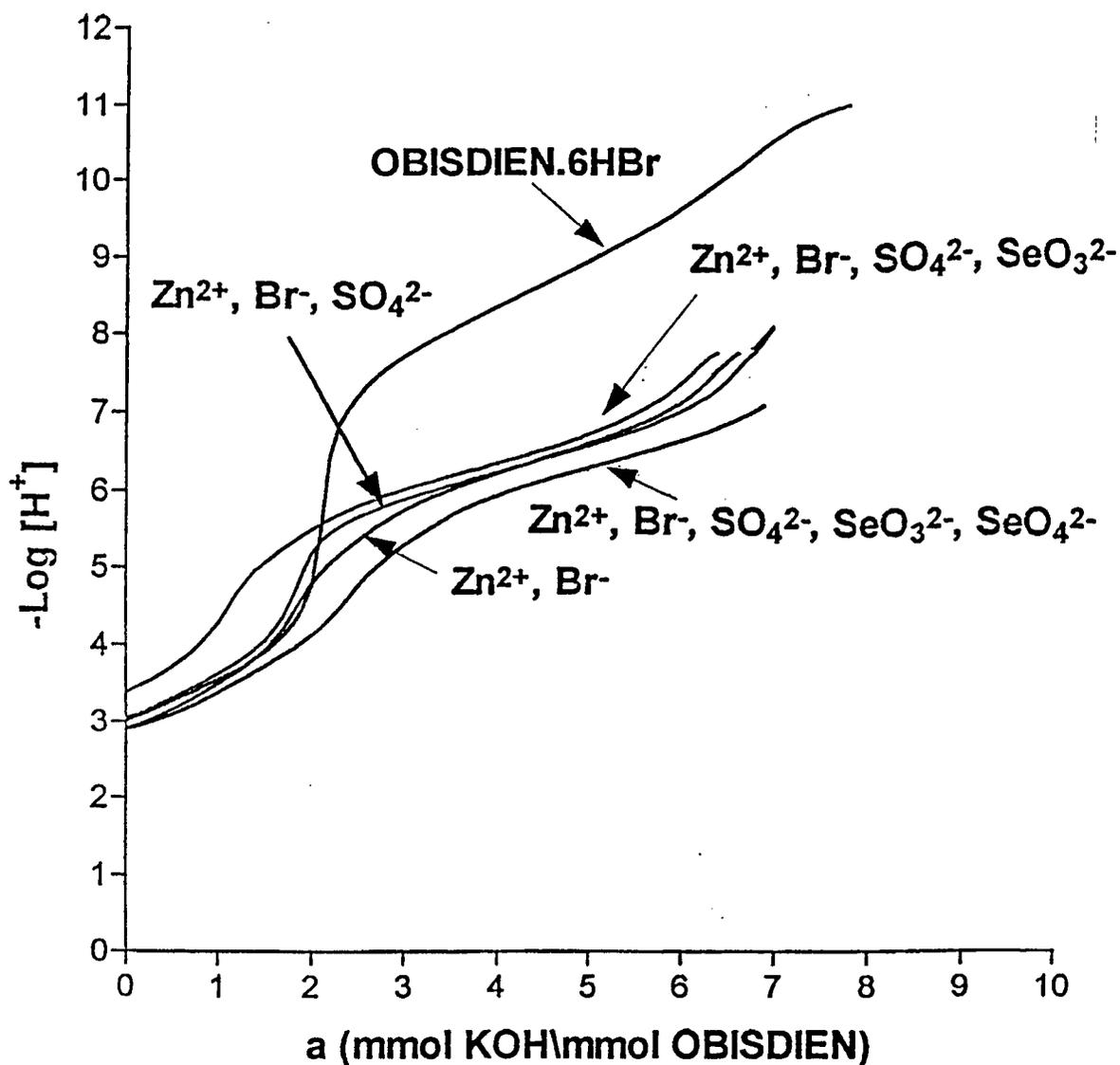


Figura 25. Perfis das curvas de titulação potenciométrica das soluções contendo a) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr; b) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr e $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Zn^{2+} ; c) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Zn^{2+} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} ; d) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Zn^{2+} , $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} ; e) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Zn^{2+} , $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_4^{2-} (a = moles de base adicionada por moles de OBISDIEN; $t = 25,0^\circ C$; $\mu = 0,100$ M (KCl)).

Tabela 3. Log. das constantes de equilíbrio dos complexos do OBISDIEN-Zn²⁺-brometo, OBISDIEN-Zn²⁺-sulfato OBISDIEN-Zn²⁺-selenito e OBISDIEN-Zn²⁺-selenato (t = 25,00°C; μ = 0,100 M (KCl)).

	$\frac{[LZnX]}{[LZn][X]}$	$\frac{[HLZnX]}{[HLZn][X]}$	$\frac{[H_2LZnX]}{[H_2LZn][X]}$	$\frac{[LZn_2X]}{[LZn_2][X]}$
Br ⁻			3.57	1.91
SO ₄ ²⁻		4.40	5.03	4.12
SeO ₃ ²⁻				5.37
HSeO ₃ ⁻	5.40	4.82	4.69	
SeO ₄ ²⁻			6.67	5.58

Br⁻ σ-fit = 0,010304; SO₄²⁻ σ-fit = 0,013551; SeO₃²⁻ σ-fit = 0,009018; SeO₄²⁻ σ-fit = 0,013718.

σ-fit é o desvio padrão computado a partir dos p[H] calculados relativos à aqueles observados experimentalmente (Martell *et al.*, 1992).

Constantes de estabilidade total: H₃LZnBr⁴⁺ = 33.36; LZn₂OHBr²⁺ = 9.29; LZn₂OHSO₄⁺ = 11.20; LZn₂(OH)₂SO₄ = 4.29; H₃LZnHSeO₃⁴⁺ = 42.96; LZn₂(OH)₂SeO₃ = 4.66; H₃LZnSeO₄³⁺ = 36.42; LZn₂(OH)₂SeO₄ = 5.92.

As curvas de distribuição das espécies como mostrado na Figura 26, foram calculadas com a ajuda do programa de computador SPECIES e plotadas com a ajuda do programa de computador SPEPLOT (Martell *et al.*, 1992). A espécie mononuclear diprotonada, H_2LZnBr^{3+} possui um máximo a $p[H]$ 6,4 onde ela é 38,6% formada e a espécie mononuclear triprotonada H_3LZnBr^{4+} possui um máximo a $p[H]$ 6,0 onde ela é 20,0% formada. A espécie binuclear, LZn_2Br^{3+} possui um máximo a $p[H]$ 7,3 onde ela é 18,0% formada. LZn_2^{4+} compete com esta espécie. A espécie melhor formada é o complexo binuclear monohidroxo, LZn_2OHBr^{2+} que possui um máximo a $p[H]$ 9,0 onde ela é 74,3% formada. Esta é a maior espécie para o sistema OBISDIEN:Zn(II):Br⁻. Ela predomina em valores de $p[H]$ de 7,8 a 10,0. Acima de $p[H]$ 10,0 a espécie mononuclear monohidroxo $LZnOH^+$ e produtos hidrolisados tomam lugar (não mostrado na Figura 26).

A estrutura sugerida para LZn_2OHBr^{2+} , **6**, mostra dois íons Zn(II) coordenados na cavidade do OBISDIEN enquanto os íons brometo e hidróxidos formam uma ponte entre os dois centros metálicos. A estrutura cristalina de complexos macrocíclicos e macrobíclicos com uma hidroxila formando uma ponte, tem sido estudado e caracterizado (Motekaitis *et al.*, 1989, Martell, 1993).

V.2.2.2. COMPLEXOS DE OBISDIEN-ZINCO(II)-SULFATO

As curvas de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença e na ausência de Zn^{2+} e SO_4^{2-} sob uma atmosfera de nitrogênio, em uma razão molar 1:2:1 de OBISDIEN.6HBr:Zn(II): SO_4^{2-} foram feitas e estão ilustradas na Figura 25. Da mesma maneira que no sistema acima, nós observamos um precipitado a aproximadamente $p[H]$ 8,0. A curva mostra que até aproximadamente $p[H]$ 5,0 sua forma é semelhante a curva do OBISDIEN.6HBr. Isto é uma indicação que não há formação de complexos de Zn(II) nesta faixa de $p[H]$, mas acima de $p[H]$ 6,0, a curva tem uma forma também semelhante à do sistema OBISDIEN.6HBr.

As constantes de equilíbrio para todos os prováveis complexos de OBISDIEN:Zn(II): SO_4^{2-} são definidos pelas Equações 25, 26, 27, 29 e 30 acima e as constantes de estabilidade são apresentadas na Tabela 3. A diferença na forma das curvas para os sistemas OBISDIEN:Zn(II): SO_4^{2-} e OBISDIEN.6HBr:Zn(II) na faixa de $p[H]$ 5.0 a 6.0 (a igual a 2 até 4) é devido ao fato que a espécie

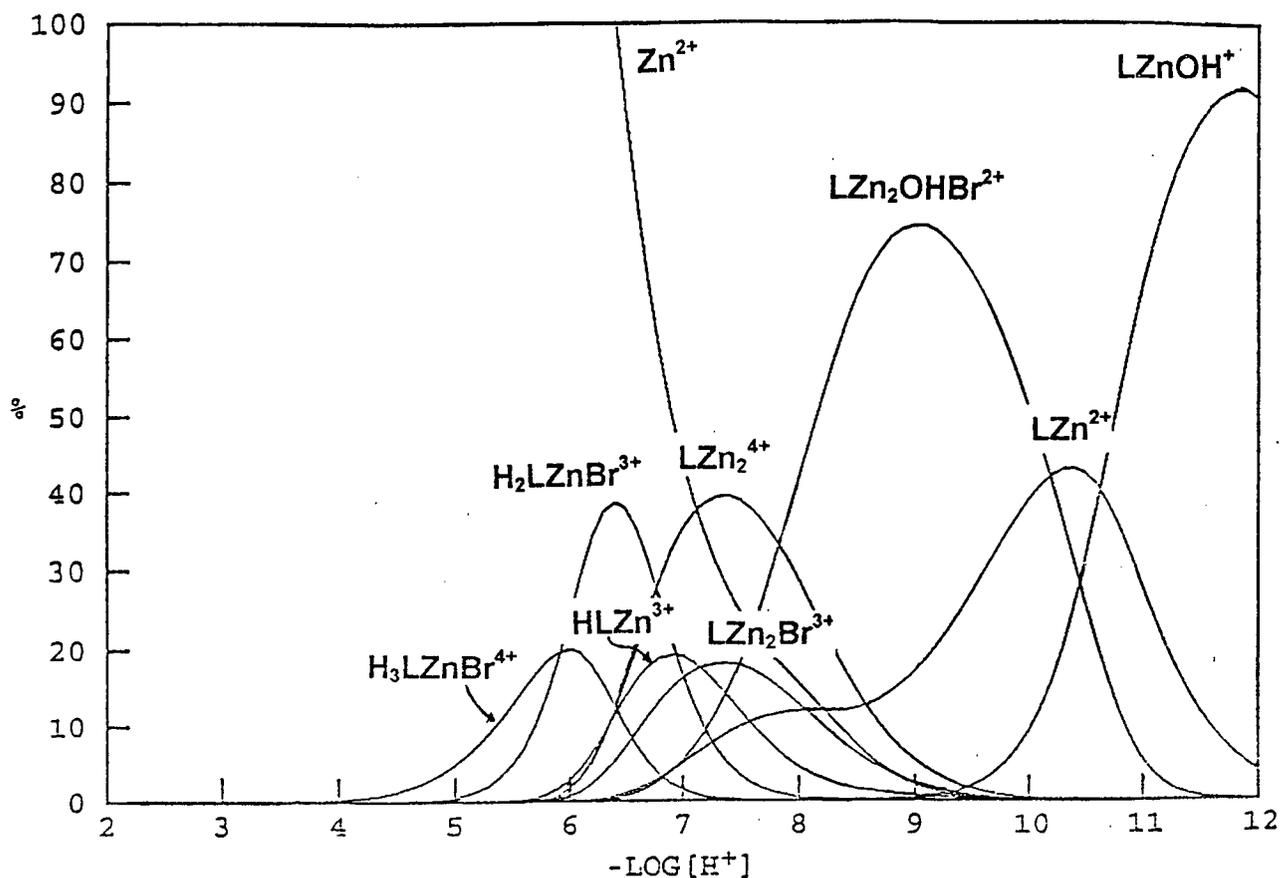
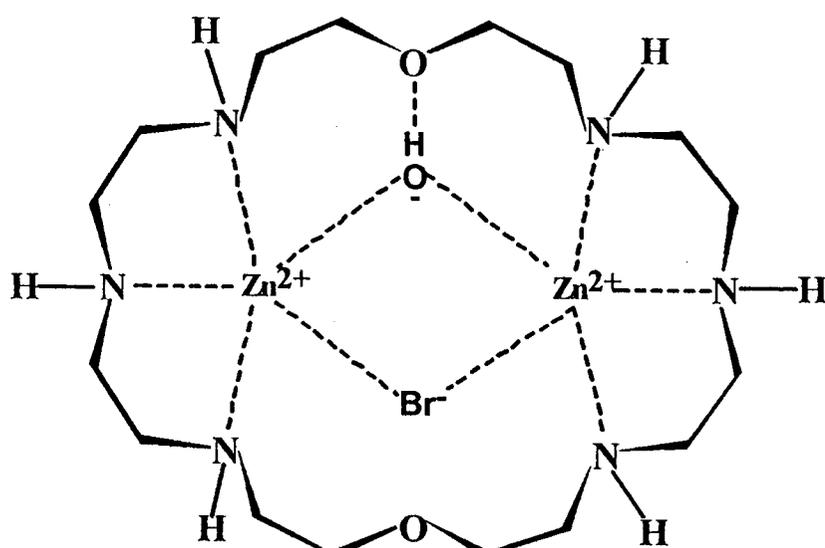


Figura 26. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Zn^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. H_2LZnBr^{3+} , H_3LZnBr^{4+} e LZn_2Br^{3+} representam as mononucleares di- e triprotonada e a binuclear desprotonada espécies do OBISDIEN: Zn^{2+} : Br^- respectivamente. LZn_2OHBr^{2+} é a espécie binuclear hidróxido do OBISDIEN: Zn^{2+} : Br^- . $HLZn^{3+}$ e LZn^{2+} são respectivamente a monoprotônica e completamente desprotonada espécies de OBISDIEN: Zn^{2+} e $LZnOH^+$ é a espécie hidróxido. LZn_2^{4+} é o binuclear complexo receptor. Todas as espécies não metálicas e o produto da hidrólise dos íons $Zn(II)$ não foram representados. Zn^{2+} é o íon $Zn(II)$ livre (aquo).



Complexo binuclear do (μ -Brometo)(μ -Hidroxo)
Zinco(II)-OBISDIEN (6)

mononuclear diprotonada ($\text{H}_2\text{LZnSO}_4^{2+}$) compete com a espécie $\text{H}_4\text{LSO}_4^{2+}$ (não mostrada na Figura 27) e a formação da última espécie, é a mais provável i.e., o equilíbrio é favorecido para a espécie não metálica a qual retém dois prótons a mais que as espécies com o íon brometo. As curvas de distribuição das espécies são apresentadas na Figura 27.

O íon Zn^{2+} não complexa a valores de $\text{p}[\text{H}]$ abaixo de 5,0, desta forma, as espécies de $\text{OBISDIEN}:\text{SO}_4^{2-}$ predominam nesta região. A maior espécie neste sistema é a espécie binuclear (di-hidroxo) (μ -sulfato) zinco(II)-OBISDIEN, **7**, a qual predomina a valores de $\text{p}[\text{H}]$ acima de 7,3. O grupo sulfato pode coordenar aos dois centros metálicos formando uma ponte como sugerido pela fórmula **7**. A espécie mononuclear monoprotionada, HLZnSO_4^+ possui um máximo a $\text{p}[\text{H}]$ 6,9 onde ela é 24,3% formada, enquanto a espécie mononuclear diprotonada $\text{H}_2\text{LZnSO}_4^{2+}$ possui um máximo a $\text{p}[\text{H}]$ 6,3 onde ela é somente 12,7% formada. A binuclear e completamente desprotonada espécie $\text{LZn}_2\text{SO}_4^{2+}$ foi encontrada em valores de $\text{p}[\text{H}]$ neutro, possuindo um máximo a $\text{p}[\text{H}]$ 7,0 onde ela é 31,1% formada.

V.2.2.3. COMPLEXOS DE OBISDIEN-ZINCO(II)-SELENITO

As curvas de equilíbrio potenciométrico do $\text{OBISDIEN}.6\text{HBr}$ na presença e na ausência de íons Zn^{2+} e selenito sob uma atmosfera de nitrogênio são ilustrados na Figura 25. A curva para o sistema $\text{OBISDIEN}.6\text{HBr}:\text{Zn}^{2+}:\text{SeO}_3^{2-}$ mostra que o íon SeO_3^{2-} retém um próton para a sua protonação pela formação do íon HSeO_3^- . Enquanto 2 mmoles de KOH são necessários para a observada forma da inflexão em $a = 2$ na curva do $\text{OBISDIEN}.6\text{HBr}$, para a curva do $\text{OBISDIEN}:\text{SeO}_3^{2-}$ aproximadamente 1 mmol de base é suficiente.

As constantes de equilíbrio para todos os prováveis complexos do sistema $\text{OBISDIEN}:\text{Zn(II)}:\text{SeO}_3^{2-}$ são definidas pela Equações 24, 25, 26, 27 e 30 e as constantes de estabilidade são mostradas na tabela 3. A valores de $\text{p}[\text{H}]$ abaixo de 8,0 os íons selenitos são monoprotionados ($\text{Log } K=8$), de maneira que as constantes de formação dos complexos de zinco(II)-OBISDIEN com este ânion, definidos pelas equações 25, 26, 27 e 28 representam a associação dos complexos de zinco(II)-OBISDIEN com os íons HSeO_3^- . Todas as constantes de equilíbrio consideradas

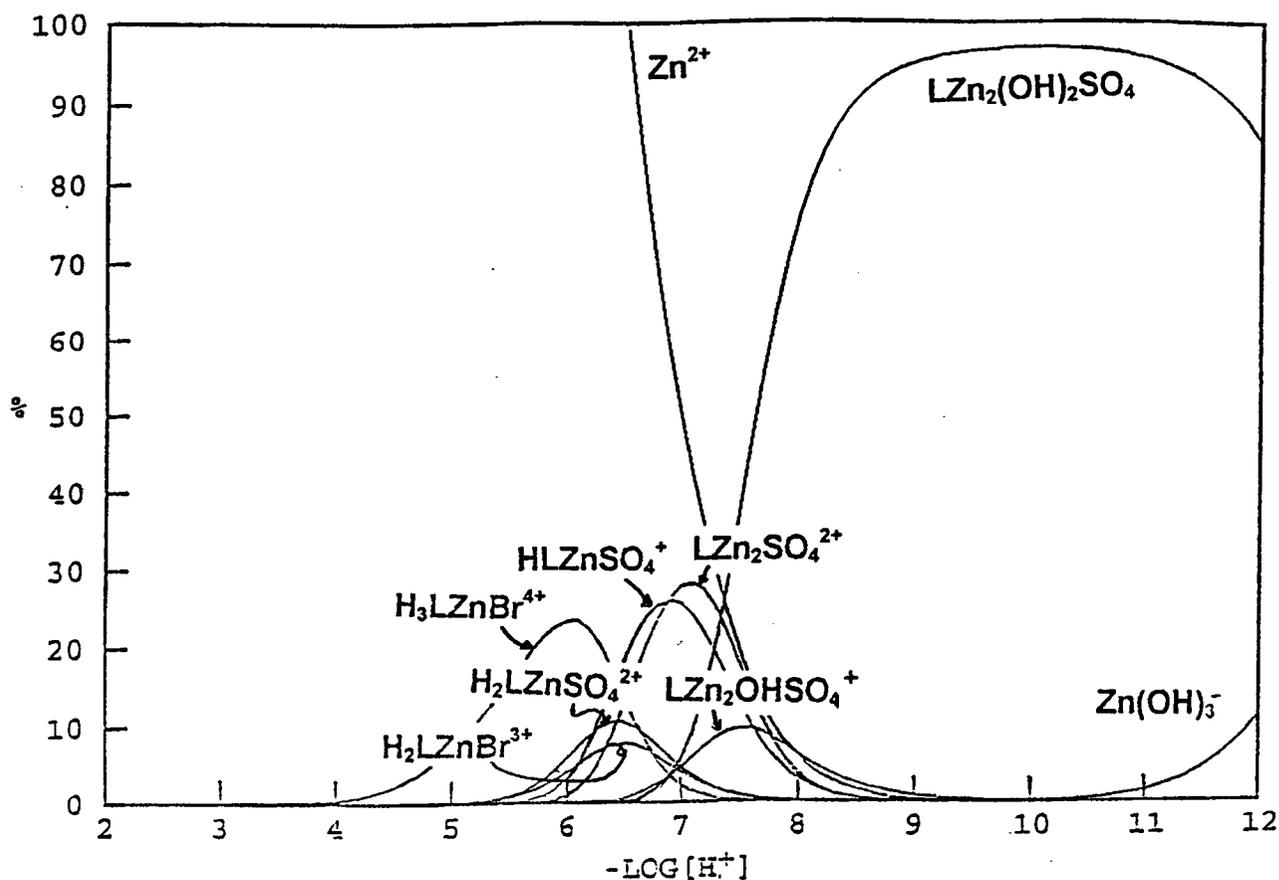
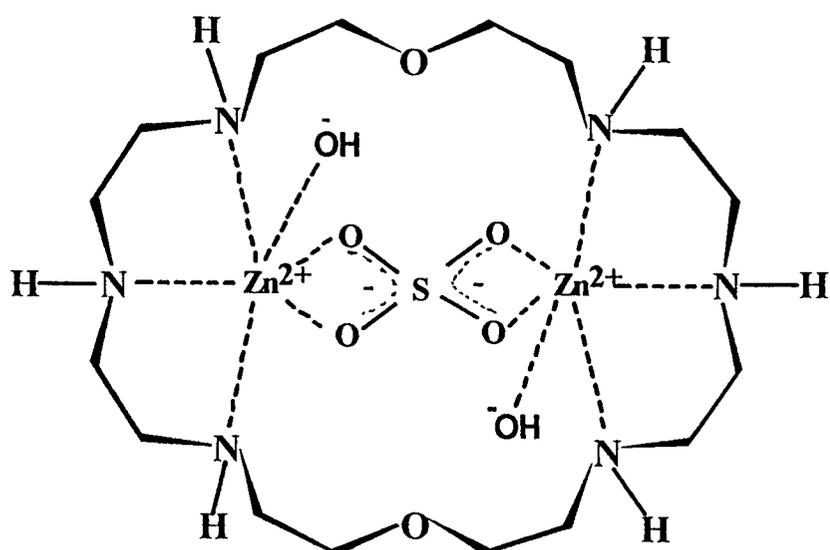


Figura 27. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Zn^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} , na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. $HLZnSO_4^+$, $H_2LZnSO_4^{2+}$ e $LZn_2SO_4^{2+}$ são as mononucleares, mono- e diprotionadas e binuclear desprotonada espécies do OBISDIEN: $Zn^{2+}SO_4^{2-}$ respectivamente. $LZn_2OHSO_4^+$ e $LZn_2(OH)_2SO_4$ são as espécies binucleares hidróxido do OBISDIEN: $Zn^{2+}SO_4^{2-}$. H_2LZnBr^{3+} , H_3LZnBr^{4+} representam as mononucleares di- e triprotionada espécies do OBISDIEN: $Zn^{2+}:Br^-$ respectivamente. Zn^{2+} é o íon Zn(II) livre (aquo) e $Zn(OH)_3^-$ é o produto da hidrólise do íon Zn(II). As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.



Sulfato aduto do binuclear di-hidroxo $Zn(II)$ -OBISDIEN (7)

neste sistema para fins de cálculos, foram encontradas na literatura. Não foi possível comparar algumas constantes de equilíbrio determinadas com as constantes de equilíbrio para o sistema OBISDIEN:Zn(II) e estas constantes estão colocadas no rodapé da Tabela 3 como constantes de estabilidade totais. Espécies menores (menor que 2%) não foram consideradas neste sistema.

As curvas de distribuição das espécies para o sistema OBISDIEN:Zn(II):SeO₃²⁻ são mostradas na Figura 28. Os íons zinco(II) iniciam a formação de complexos à valores de p[H] acima de 4,0 formando espécies protonadas dos complexos mononucleares OBISDIEN-zinco(II). As espécies mononucleares protonadas, H₂LZnHSeO₃³⁺, HLZnHSeO₃²⁺ e LZnHSeO₃⁺ possuem seus máximos a valores de p[H] de 6,1, 6,5 e 7,2 onde elas são 7,2, 44,3 e 27,6% formadas respectivamente. A espécie binuclear LZn₂SeO₃²⁺ possui um máximo a p[H] 7,5 onde ela é 43,2% formada e a espécie di hidróxido LZn(OH)₂SeO₃ é a maior espécie acima de p[H] 8,0, possuindo um máximo de 97,5% a p[H] 9,7. O grupo selenito pode coordenar formando uma ponte com dois íons zinco(II) como sugerido pela estrutura **8**, da mesma maneira como sugerido para os íons sulfato na estrutura **7**.

V.2.2.4. COMPLEXOS DE OBISDIEN-ZINCO(II)-SELENATO

As curvas de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença e na ausência dos íons Zn²⁺, selenito e selenato, sob uma atmosfera de nitrogênio foram determinadas pelo método descrito na parte experimental e os resultados são mostrados na Figura 25. A curva foi interrompida a p[H] 8,0 devido a formação de um precipitado. A curva mostra ainda que na presença dos íons SeO₄²⁻, a região de buffer estende-se quase a a = 6 indicando uma possível formação de complexos hidróxido e complexos binucleares deprotonados.

As constantes de equilíbrio para todas as prováveis espécies são definidas pelas Equações 25, 27, 28 e 30 e as constantes de estabilidade são mostradas na Tabela 3. As curvas de distribuição das espécies para o sistema OBISDIEN.6HBr:Zn(II): SeO₃²⁻: SeO₄²⁻ são mostradas na Figura 29. A formação de complexos metálicos ocorre a valores de p[H] acima de 4,0. Os complexos de zinco(II)-OBISDIEN estão coordenados com os íons SeO₃²⁻ e SeO₄²⁻. O complexo

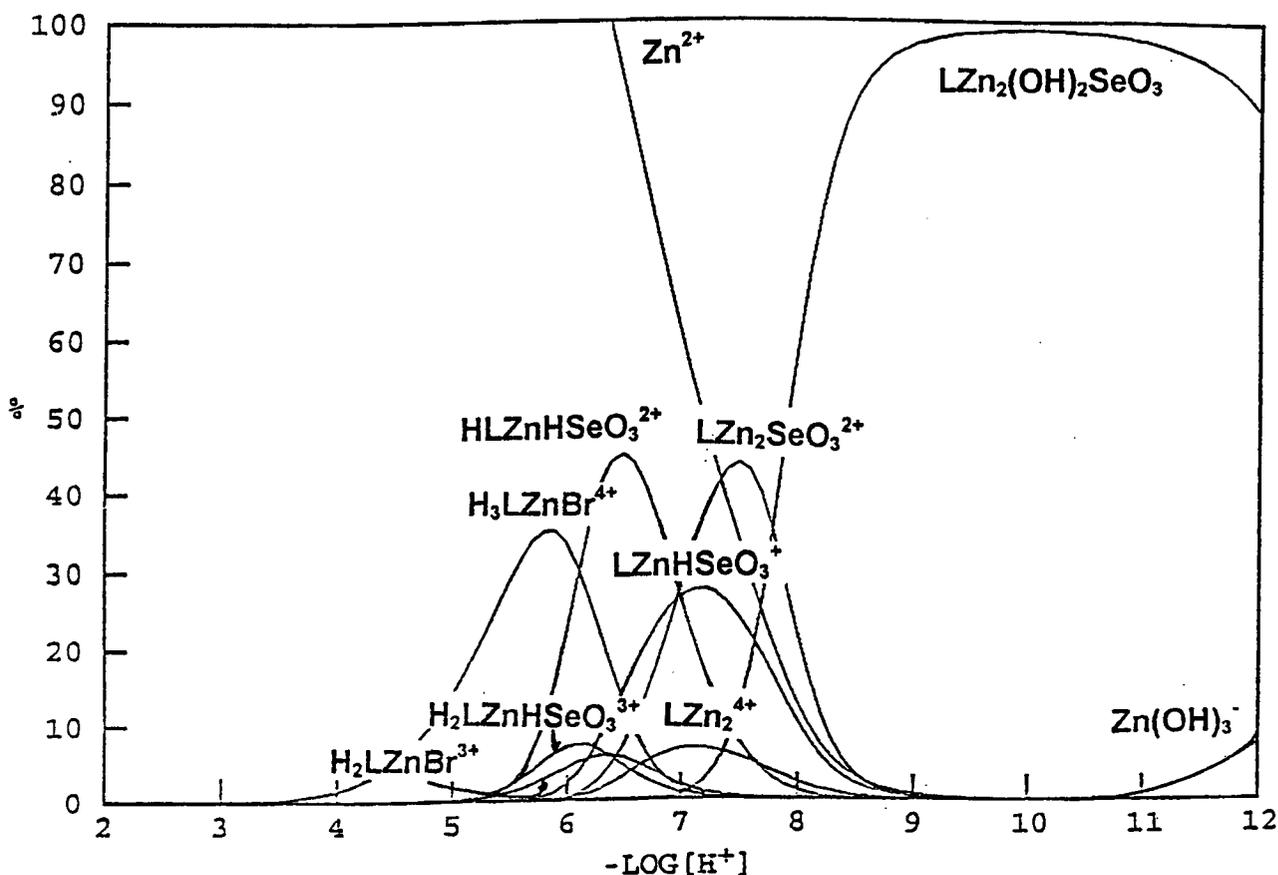
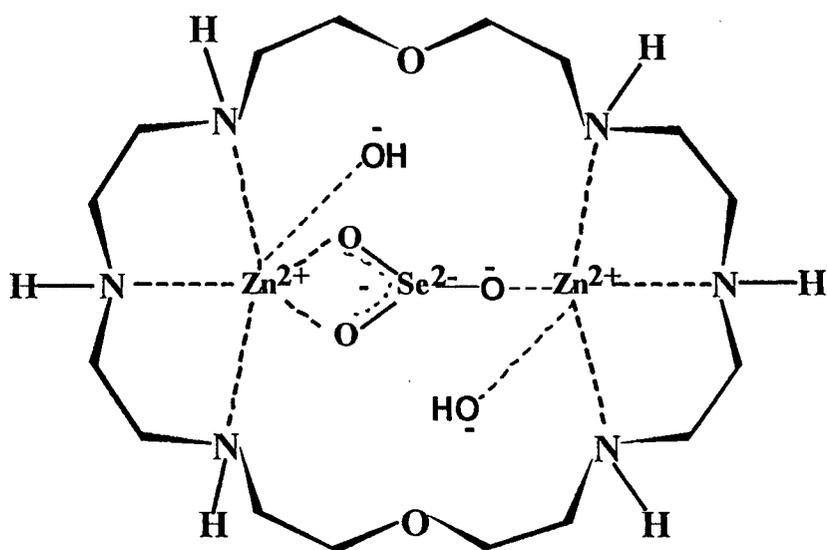


Figura 28. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Zn^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. $LZn_2SeO_3^{2+}$ e $LZn_2(OH)_2SeO_3$ são as espécies binucleares completamente desprotonada e di-hidroxo do OBISDIEN: $Zn^{2+}SeO_3^{2-}$. $LZnHSeO_3^+$, $HLZnHSeO_3^{2+}$ e $H_2LZnHSeO_3^{3+}$ são as espécies mononucleares e H_2LZnBr^{3+} e H_3LZnBr^{4+} , são as espécies di- e triprotonadas do OBISDIEN: $Zn^{2+}:Br^-$. LZn_2^{4+} é a espécie binuclear do OBISDIEN: Zn^{2+} . Zn^{2+} é o íon Zn(II) livre (aquo) e $Zn(OH)_3^-$ é o produto da hidrólise do íon Zn(II). As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.



Selenito aduto do binuclear di-hidroxo Zn(II)-OBISDIEN (8)

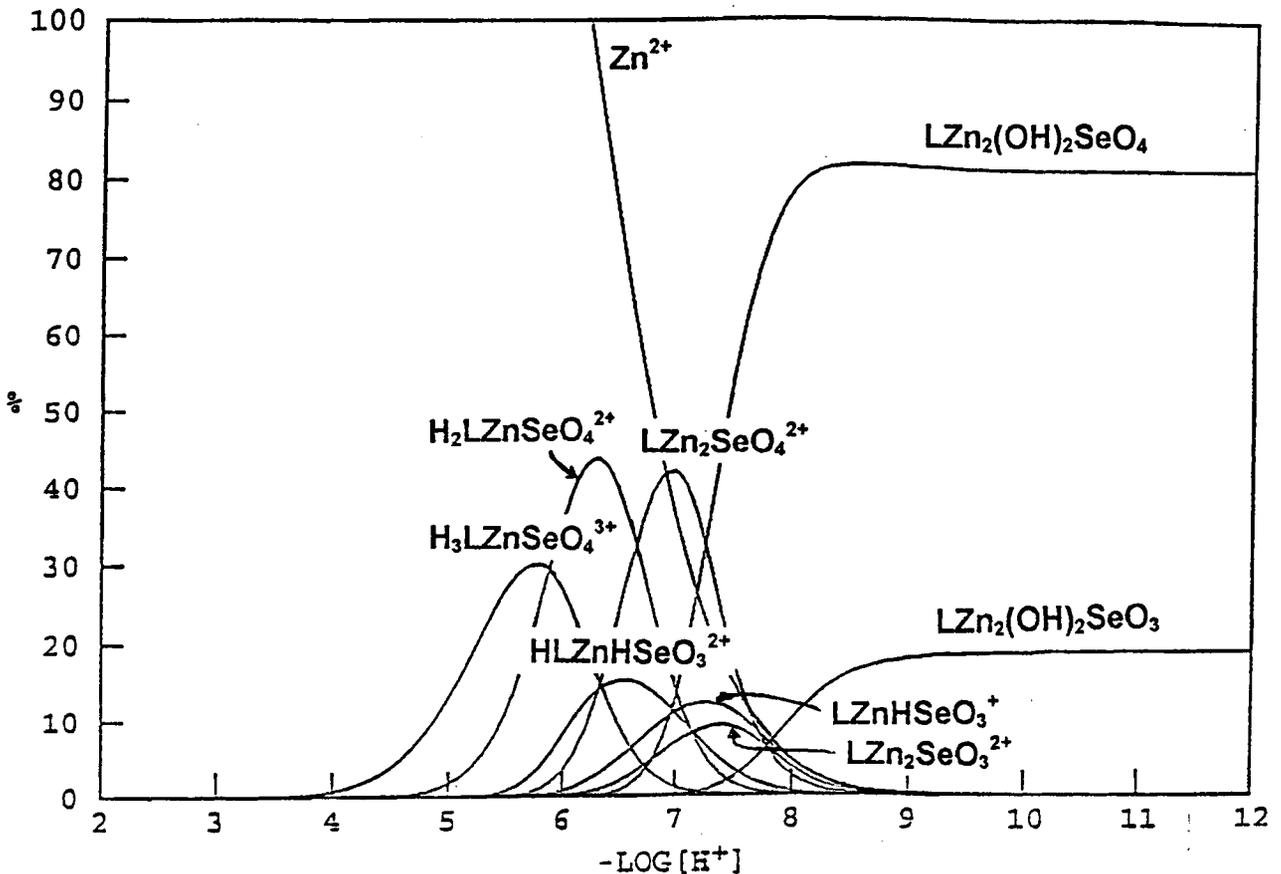


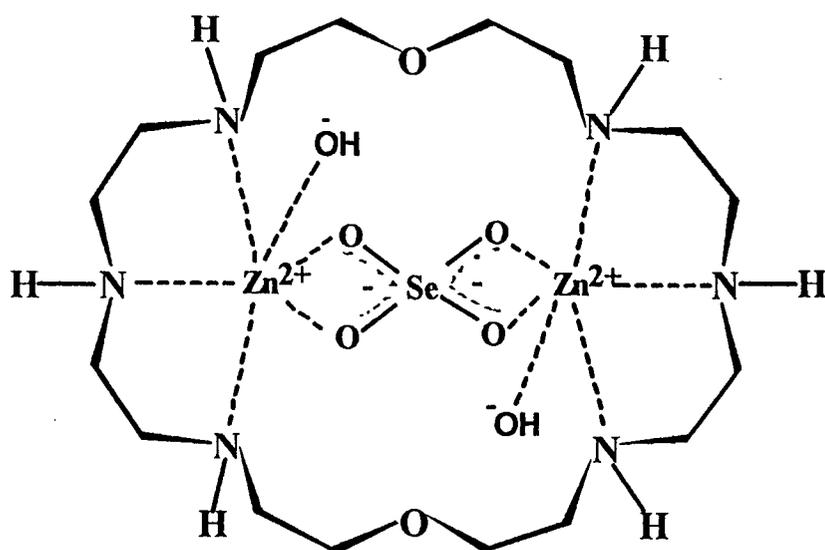
Figura 29. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Zn^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e SeO_4^{2-} na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. $\text{LZn}_2\text{SeO}_4^{2+}$ e $\text{LZn}_2(\text{OH})_2\text{SeO}_4$ são as espécies binucleares completamente desprotonada e di-hidroxo do OBISDIEN: $\text{Zn}^{2+}\text{SeO}_4^{2-}$. $\text{H}_2\text{LZnSeO}_4^{2+}$ e $\text{H}_3\text{LZnSeO}_4^{3+}$ são as espécies mononucleares. $\text{LZn}_2(\text{OH})_2\text{SeO}_3$ é a espécie binuclear di-hidroxo do OBISDIEN: $\text{Zn}^{2+}:\text{SeO}_3^{2-}$ e $\text{LZn}_2\text{SeO}_3^{2+}$ é a espécie binuclear completamente desprotonada. LZnHSeO_3^+ e HLZnHSeO_3^{2+} são as espécies mononucleares Zn^{2+} é o íon $\text{Zn}(\text{II})$ livre (aquo) As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.

mononuclear triprotonado ($H_3LZnSeO_4^{3+}$) possui um máximo a $p[H]$ 5,8 onde ela é 27,6% formada e o complexo diprotonado ($H_2LZnSeO_4^{2+}$) possui um máximo a $p[H]$ 6,3 onde ela é 42,0% formada. A maior espécie à $p[H]$ neutro é a espécie binuclear $LZn_2SeO_4^{2+}$ sendo 42% formada. A espécie binuclear di-hidroxo $LZn_2(OH)_2SeO_4$ predomina a valores de $p[H]$ acima de 7,3. A estrutura sugerida do complexo binuclear (dihidroxo)(μ -selenato) zinco(II)-OBISDIEN (9) é mostrada abaixo.

V.2.2.5. COMPLEXOS DO OBISDIEN-MAGNÉSIO(II)-BROMETO

As curvas de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença e na ausência de íons Mg^{2+} , sob uma atmosfera de nitrogênio e em uma razão molar 1:2:6 molar para o sistema OBISDIEN:Mg(II):Br⁻ foram realizadas e estão ilustradas na Figura 30. Esta Figura mostra que até aproximadamente $p[H]$ 6,5 o perfil da curva de titulação potenciométrica é idêntica ao perfil registrado para o sistema OBISDIEN.6HBr. Isto é uma indicação de que não há formação de complexos com os íons Mg(II) nesta faixa de $p[H]$ até que os dois primeiros prótons do ligante tenham sido neutralizados. Acima deste $p[H]$, a diferença nos perfis das duas curvas é muito pequena indicando a formação de complexos fracos.

As constantes de equilíbrio para os complexos do OBISDIEN:Mg(II):Br⁻ definidas pelas Equações 25, 28 e 29 foram determinadas e estão presentes na Tabela 4. As constantes de estabilidade para os complexos receptores OBISDIEN:Mg²⁺ foram também determinadas e são mostradas no rodapé da Tabela 4. As curvas de distribuição das espécies são mostradas na Figura 31. Muitas das espécies metálicas neste sistema são formadas em pequena quantidade. As espécies do OBISDIEN:Mg(II) formadas são: A binuclear LMg_2^{4+} o qual é 9,4% formada a $p[H]$ 10,3, a espécie hidroxido LMg_2OH^{3+} o qual é 12,4% formada a $p[H]$ 11,8 e as mononucleares LMg^{2+} , $HLMg^{3+}$, H_2LMg^{4+} e H_3LMg^{5+} que são 12,3%, 14,5%, 6,2% e 7% formadas aos valores de $p[H]$ 10,5, 9,3, 8,6 e 7,9 respectivamente. Um trabalho muito cuidadoso foi feito para avaliar as constantes das espécies cuja formação ocorre com menos de 5% com suas constantes podendo ser determinadas com uma margem de erro muito grande. menores que 3% não foram representadas na Figura 31. As espécies do OBISDIEN:Mg(II):Br⁻ também são formadas em pequenas quantidades.



Selenato aduto do binuclear di-hidroxo Zn(II)-OBISDIEN (9)

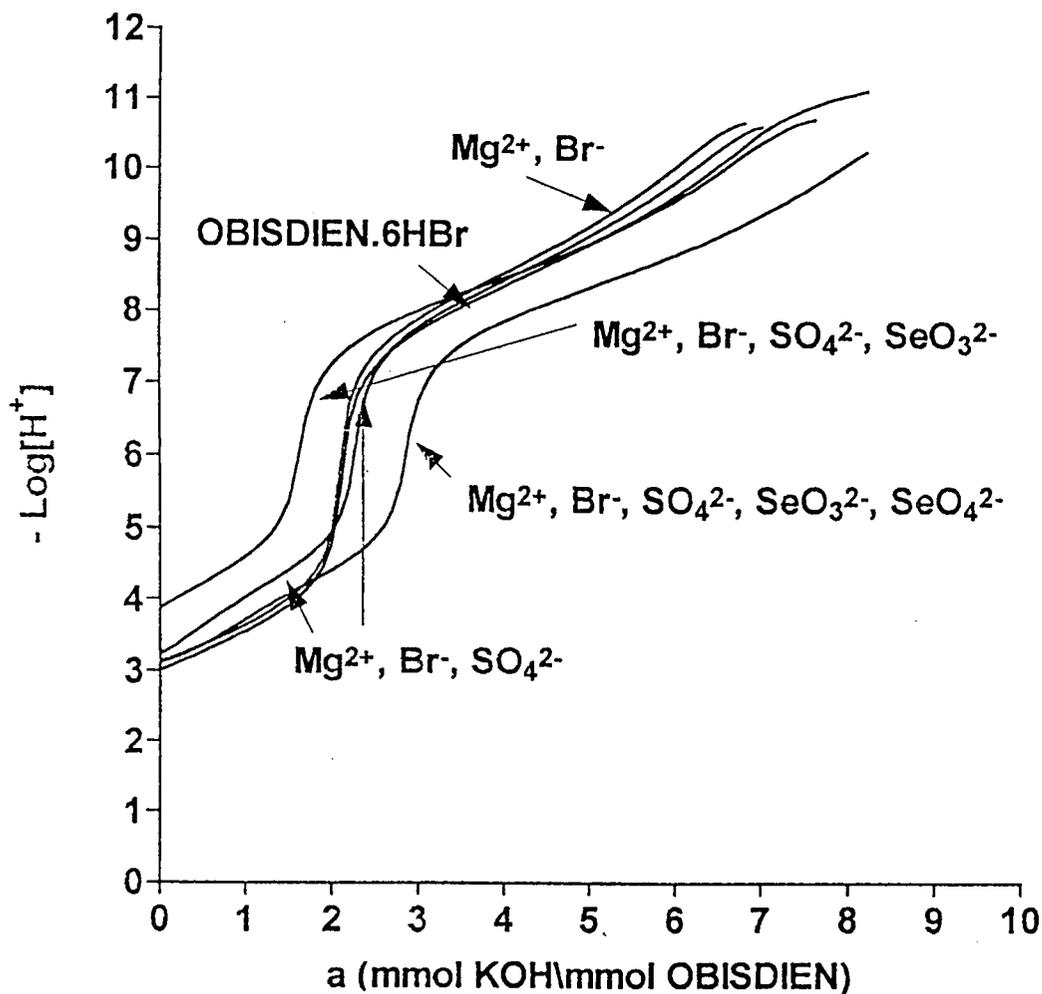


Figura 30. Perfis das curvas de titulação potenciométrica das soluções contendo a) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr; b) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr e $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Mg^{2+} ; c) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Mg^{2+} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} ; d) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Mg^{2+} , $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} , e) $1,00 \times 10^{-3}$ M de OBISDIEN.6HBr, $2,00 \times 10^{-3}$ M de íons Mg^{2+} , $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} , $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_4^{2-} (a = moles de base adicionada por moles de OBISDIEN; $t = 25,0^\circ\text{C}$; $\mu = 0,100$ M (KCl)).

Tabela 4. Log. das constantes de equilíbrio dos complexos do OBISDIEN-Mg²⁺-brometo, OBISDIEN-Mg²⁺-sulfato OBISDIEN-Mg²⁺-selenito e OBISDIEN-Mg²⁺-selenato (t = 25,00°C; μ = 0,100 M (KCl)).

	$\frac{[LMgX]}{[LMg][X]}$	$\frac{[HLMgX]}{[HLMg][X]}$	$\frac{[H_2LMgX]}{[H_2LMg][X]}$	$\frac{[H_3LMgX]}{[H_3LMg][X]}$	$\frac{[LMg_2X]}{[LMg_2][X]}$	$\frac{[LMg_2(OH)X]}{[LMg_2OH][X]}$
Br ⁻				1.90	1.70	2.10
SO ₄ ²⁻		3.00	3.45		3.34	3.67
SeO ₃ ²⁻					4.59	5.37
HSeO ₃ ⁻	5.62	4.74	4.38			
SeO ₄ ²⁻		5.66	6.00	6.58	6.98	7.94

Br⁻ σ-fit = 0.010974; SO₄²⁻ σ-fit = 0.013052; SeO₃²⁻ σ-fit = 0.009753; SeO₄²⁻ σ-fit = 0.020969.

σ-fit é o desvio padrão computado a partir dos p[H] calculados relativos à aqueles observados experimentalmente (Martell *et al.*, 1992).

Constantes de estabilidade total: para o sistema OBISDIEN:Mg²⁺: LMg²⁺ = 2.17; HLMg³⁺ = 12.04; H₂LMg⁴⁺ = 20.58; H₃LMg⁵⁺ = 28.88; LMg₂⁴⁺ = 4.90; LMgOH⁺ = -6.14 (Este trabalho)..

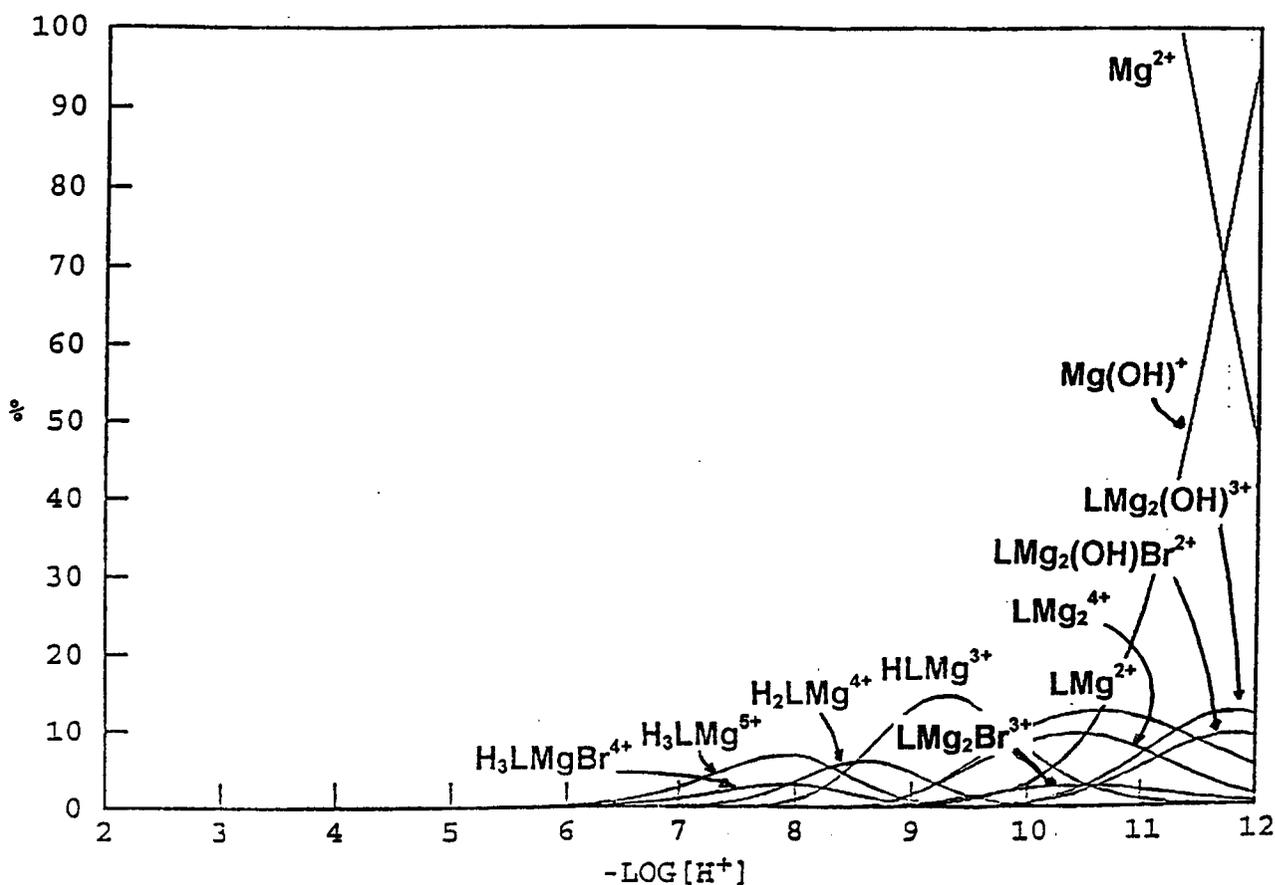


Figura 31. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Mg^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. H_2LMgBr^{4+} e LMg_2Br^{3+} representam as espécies mononuclear triprotonada e binuclear desprotonada do OBISDIEN: Mg^{2+} : Br^- respectivamente. LMg_2OHBr^{2+} é a espécie binuclear hidróxido do OBISDIEN: Mg^{2+} : Br^- . LMg^{2+} , $HLMg^{3+}$, H_2LMg^{4+} , H_3LMg^{5+} e $LMgOH^+$ são as espécies mononucleares OBISDIEN: Mg^{2+} e LMg^{2+} e LMg_2OH^{3+} são as espécies binucleares. Todas as espécies não metálicas, o produto da hidrólise dos íons $Mg(II)$ e as espécies com formação menores que 2%, não foram representados. Mg^{2+} é o íon $Mg(II)$ livre (aquo).

A espécie binuclear hidróxido $\text{LMg}_2\text{OHBr}^{2+}$ é 9,4% formada a p[H] 11,8, a espécie binuclear $\text{LMg}_2\text{Br}^{3+}$ é somente 3% formada a p[H] 10,2 e a espécie mononuclear triprotonada $\text{H}_3\text{LMgBr}^{4+}$ é 3,1% formada a p[H] 7,9.

V.2.2.6. COMPLEXOS DO OBISDIEN-MAGNÉSIO (II)-SULFATO

As curvas de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença e na ausência dos íons Mg^{2+} e SO_4^{2-} , sob uma atmosfera de nitrogênio em uma razão molar de 1:2:1 para o sistema OBISDIEN.6HBr:Mg(II): SO_4^{2-} foram feitas e são mostradas na Figura 30. As constantes de equilíbrio para os complexos detectados para o sistema OBISDIEN:Mg(II): SO_4^{2-} foram definidos pelas Equações 25, 26, 27, e 29. As constantes de equilíbrio estão ilustradas na Tabela 4.

As curvas de distribuição das espécies são mostradas na Figura 32. As espécies binucleares formam-se a valores de p[H] acima de 8,5 com as espécies mononucleares formando-se na faixa de p[H] entre 7,3 - 10,0. Não há formação de complexos metálicos a valores de p[H] menores que 7,3. Os complexos de Mg^{2+} são formados somente na região básica da mesma forma como foi observado para o sistema OBISDIEN:Mg(II): Br^- . A espécie mononuclear monoprotonada HLMgSO_4^+ possui um máximo a p[H] 9,3 onde ela é 8,4% formada, e a mononuclear diprotonada $\text{H}_2\text{LMgSO}_4^{2+}$ é 9,0% formada a p[H] 8,6. As espécies binucleares são formadas em grandes quantidades quando comparadas com as mononucleares. A espécie binuclear desprotonada $\text{LMg}_2\text{SO}_4^{2+}$ possui um máximo a p[H] 10,3 onde ela é 10,6% formada e a espécie binuclear monohidróxido $\text{LMg}_2\text{OHSO}_4^+$ é 23,1% formada a p[H] 11,8. A estrutura sugerida para o complexo $\text{LMg}_2\text{OHSO}_4^+$ **9** é mostrada abaixo.

V.2.2.7. COMPLEXOS DO OBISDIEN-MAGNÉSIO(II)-SELENITO

As curvas de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença e na ausência dos íons Mg^{2+} , sulfato e selenito, sob uma atmosfera de nitrogênio estão ilustrados na Figura 30. O perfil desta curva, mostra que um próton é retido para a formação do íon HSeO_3^- . As constantes de equilíbrio para todos os complexos do

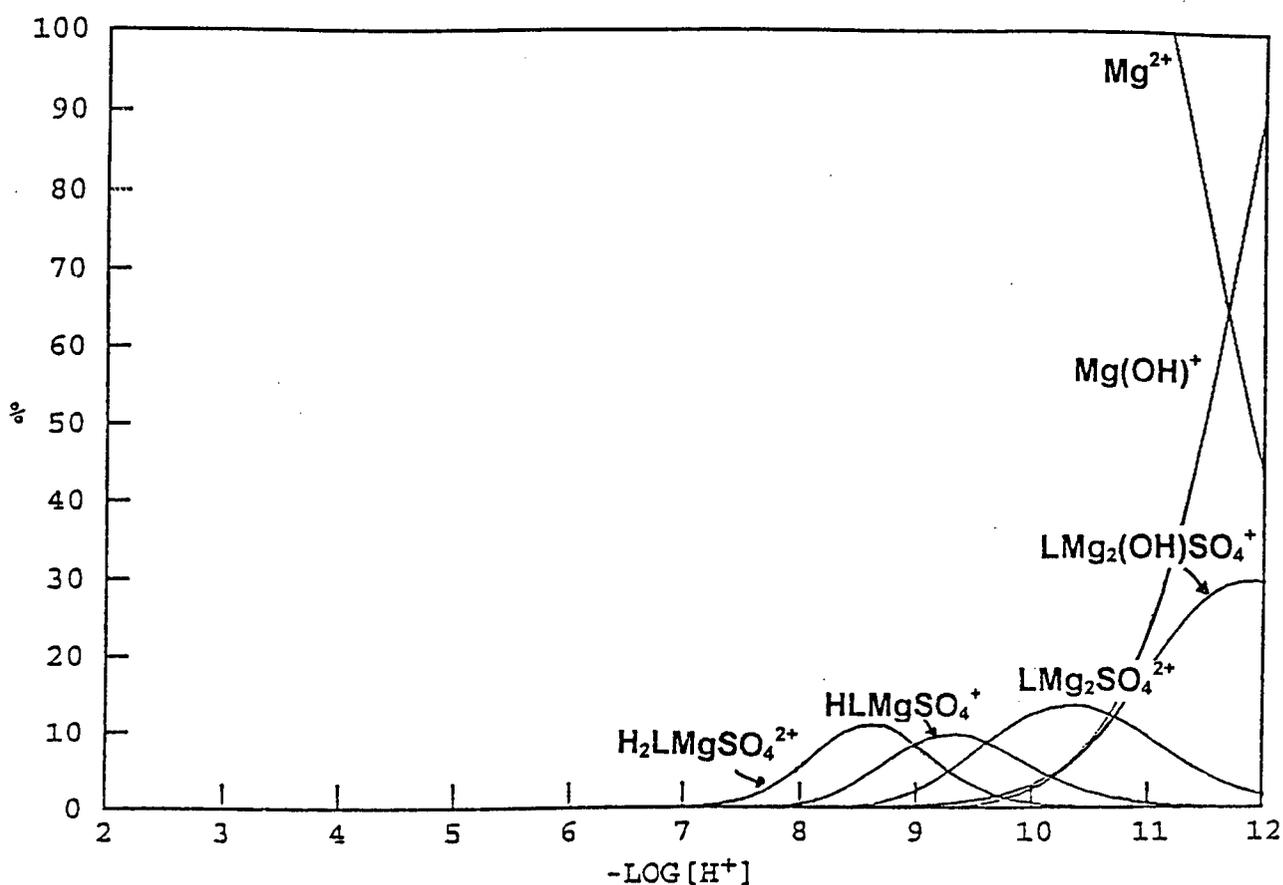
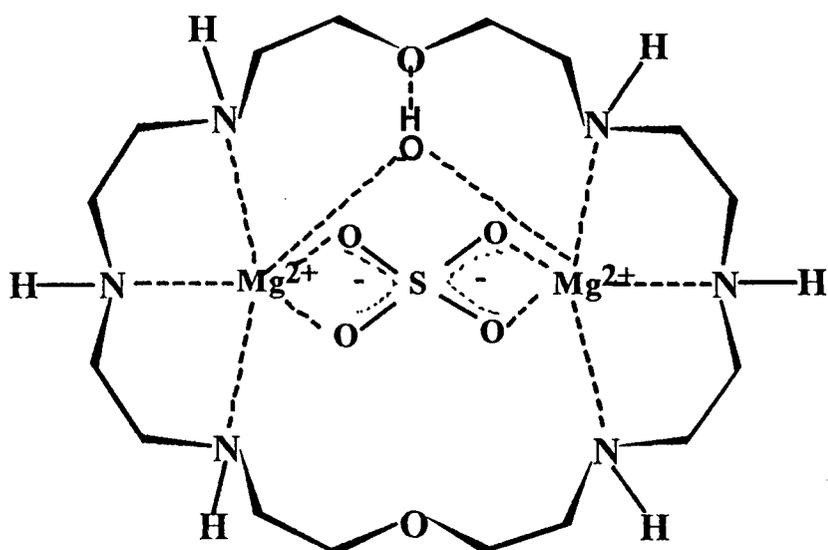


Figura 32. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Mg^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SO_4^{2-} , na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. $HLMgSO_4^+$, $H_2LMgSO_4^{2+}$ e $LMg_2SO_4^{2+}$ são as mononucleares, mono- e diprotionadas e binuclear desprotonada espécies do OBISDIEN: Mg^{2+} : SO_4^{2-} respectivamente e $LMg_2OHSO_4^+$ é a espécie binuclear hidróxido do OBISDIEN: Mg^{2+} : SO_4^{2-} . Mg^{2+} é o íon $Mg(II)$ livre (aquo) e $MgOH^+$ é o produto da hidrólise do íon $Mg(II)$. As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.



Sulfato aduto do binuclear hidroxó Mg(II)- OBISDIEN (10)

OBISDIEN:Mg(II):SeO₃²⁻ são definidas pelas Equações 24, 25, 26, 27 e 9 acima e as constantes de estabilidade das espécies detectadas são mostradas na Tabela 4. hidrólise do íon Mg(II). As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.

As curvas de distribuição das espécies do sistema OBISDIEN.6HBr:Mg(II):SO₄²⁻:SeO₃²⁻ são mostradas na Figura 33. As maiores espécies neste sistema são as espécies binucleares LMg₂SeO₃²⁺ e LMg₂OHSeO₃⁺ A espécie binuclear LMg₂SeO₃²⁺ possui um máximo a p[H] 9,9 onde ela é 32,6% formada e a espécie hidroxido LMg₂OHSeO₃⁺ é 67,8% formada a p[H] 12,0. Como na estrutura 7, é sugerido que o grupo selenito coordena e forma uma ponte com os dois íons metálicos como mostrado na estrutura 10. As espécies mononucleares aparecem na faixa de p[H] entre 7-10 e elas são menos de 20% formados (Figura 33).

V.2.2.8. COMPLEXOS DO OBISDIEN-MAGNÉSIO(II) -SELENATO

A curva de equilíbrio potenciométrico do OBISDIEN.6HBr na presença dos íons Mg(II), sulfato, selenito e selenato e sob uma atmosfera de nitrogênio é mostrada na Figura 30. O perfil da curva é aproximadamente o mesmo da curva com o selenito sem a presença de selenato (sistema anterior) mas a região de buffer acima de p[H] 7,0 é mais baixa, isto indica que a formação de complexos nesta faixa de p[H] é mais forte. As constantes de equilíbrio para todas as espécies detectadas são definidas pelas Equações 25, 26, 27, 28 e 29. As constantes de estabilidade determinadas são mostradas na Tabela 4. Espécies menores (menores que 3%) não foram consideradas neste sistema.

As curvas de distribuição das espécies dos complexos metálicos do SeO₄²⁻ na presença dos íons Br⁻, SO₄²⁻ e SeO₃²⁻ são mostrados na Figura 34. Todas as espécies metal complexo são adutos de SeO₄²⁻. Espécies binucleares e três espécies mononucleares foram detectadas. A espécie binuclear hidroxido LMg₂OHSeO₄⁺ é 99% formada a p[H] 12,0 e a espécie LMg₂SeO₄²⁺ possui um máximo a p[H] 9,5 onde ela é 50,5% formada.

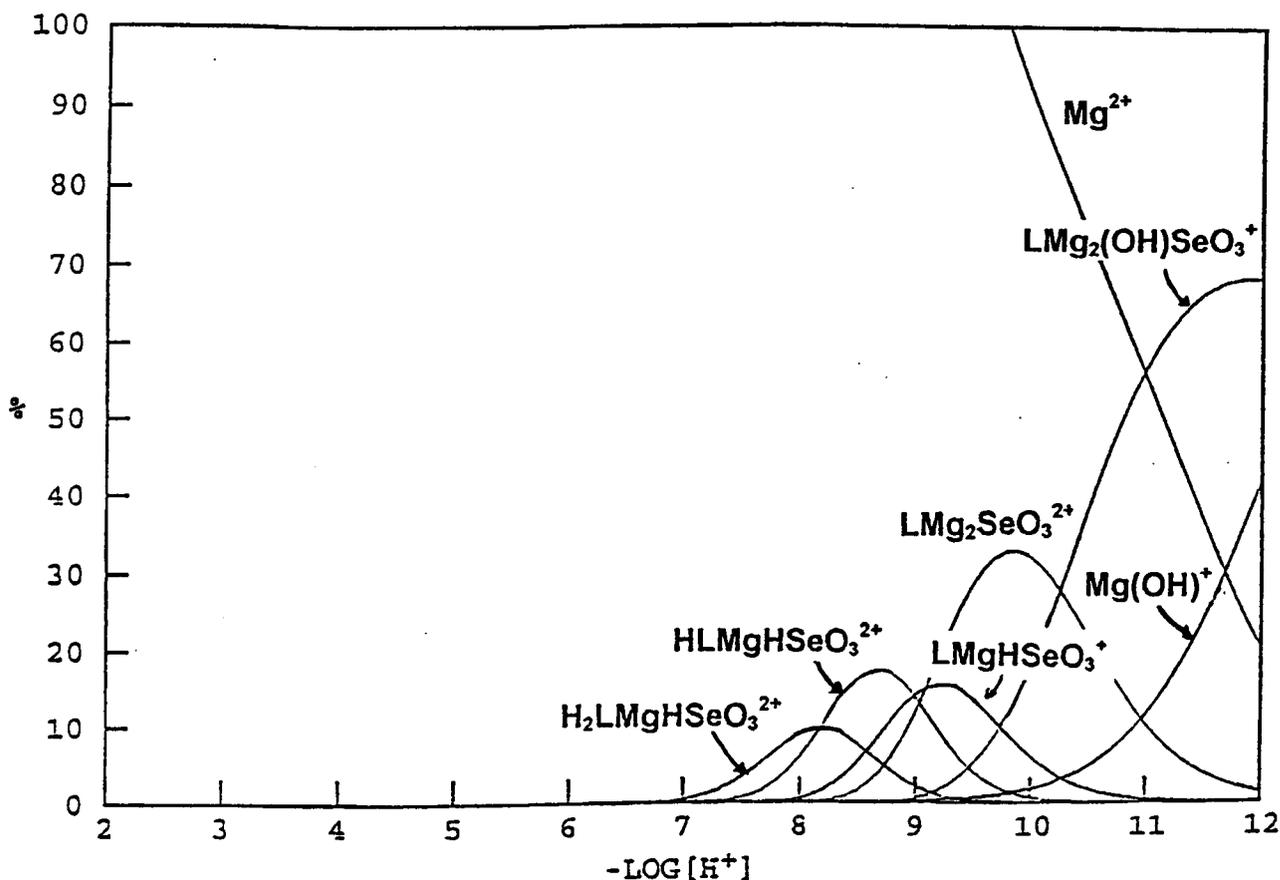
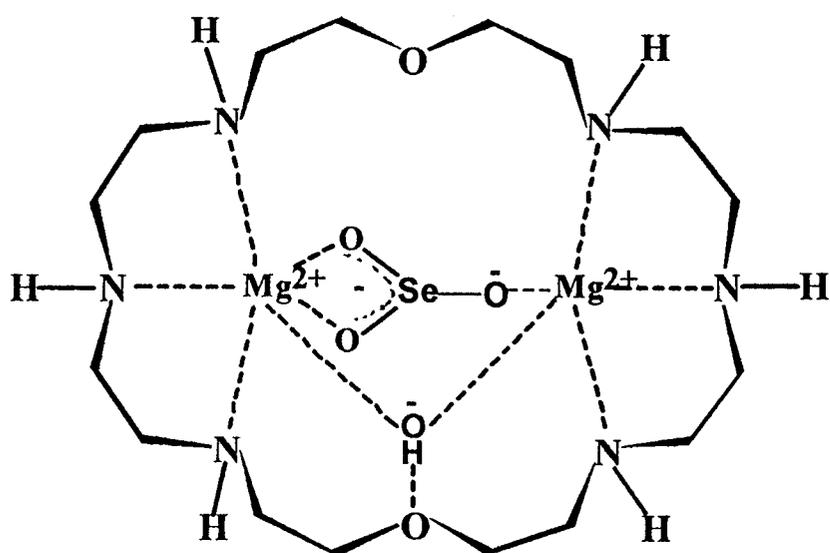


Figura 33. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Mg^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} e SO_4^{2-} na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. $LMgHSeO_3^+$, $HLMgHSeO_3^{2+}$, $H_2LMgHSeO_3^{3+}$, $H_3LMgHSeO_3^{4+}$ são as espécies mononucleares mono-, di- tri- e tetraprotonada do OBISDIEN: $Mg^{2+}SeO_3^{2-}$ respectivamente. $LMg_2SeO_3^+$ e LMg_2OHSeO_3 são as espécies binucleares completamente desprotonada e hidróxido do OBISDIEN: $Mg^{2+}SeO_3^{2-}$. Mg^{2+} é o íon $Mg(II)$ livre (aquo) e $MgOH^+$ é o produto da hidrólise do íon $Mg(II)$. As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.



Selenito aduto do binuclear hidroxido $Mg(II)$ -OBISDIEN (11)

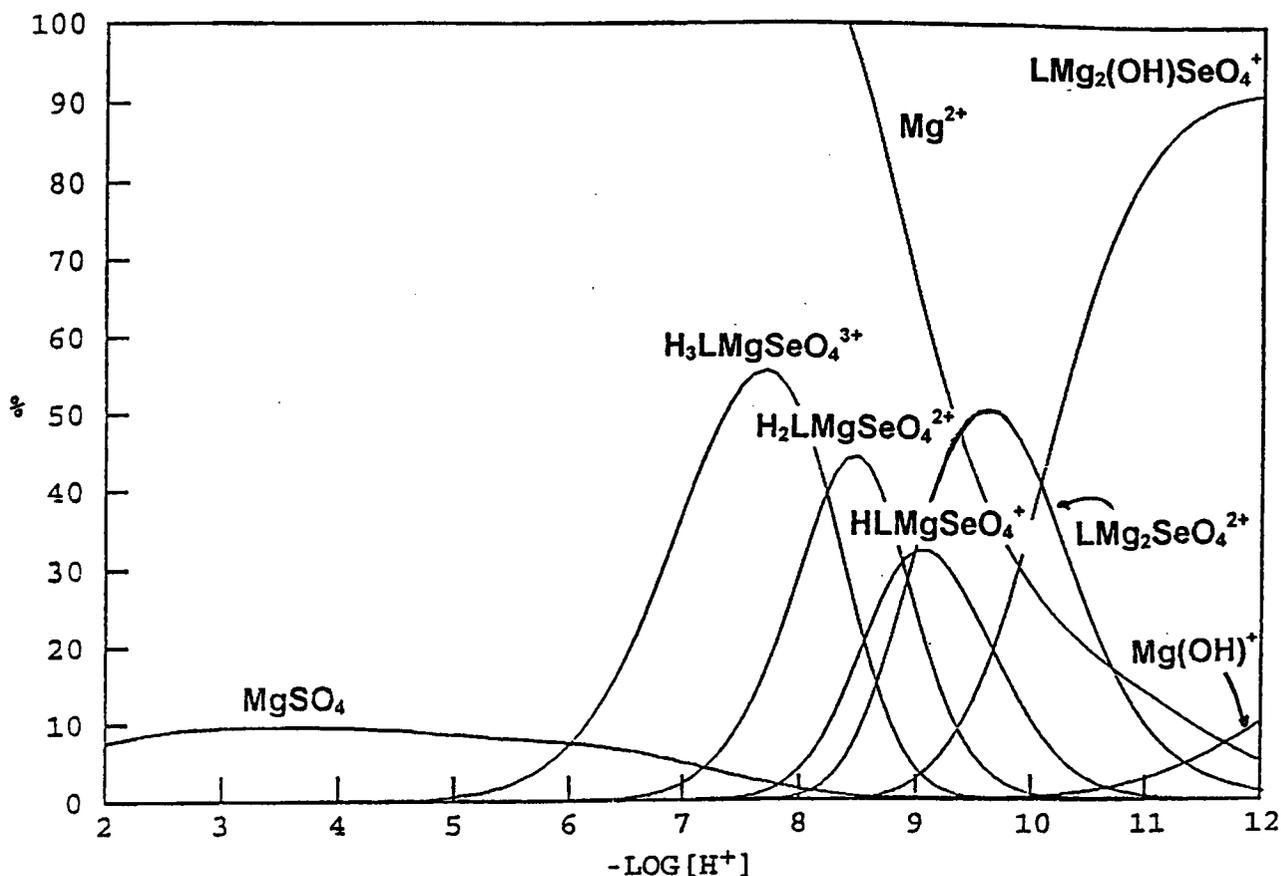


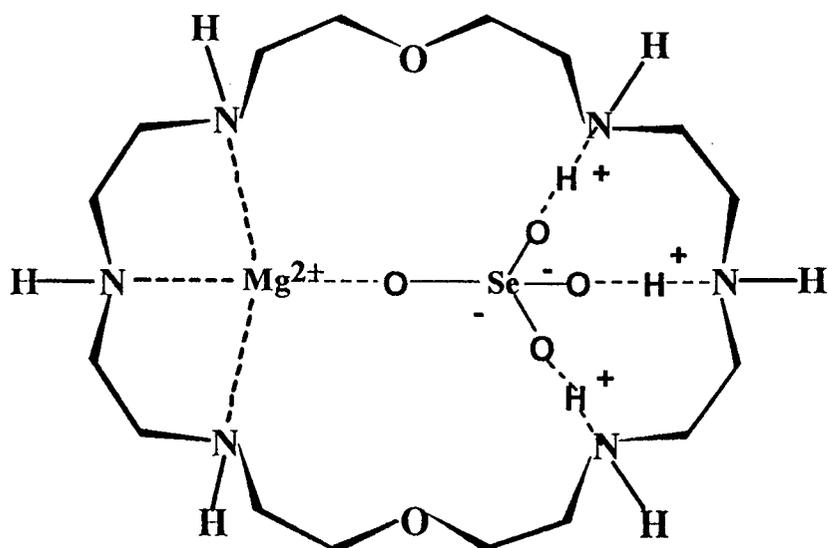
Figura 34. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo OBISDIEN $1,00 \times 10^{-3}$ M e íons Mg^{2+} $2,0 \times 10^{-3}$ M e $1,00 \times 10^{-3}$ M de íons SeO_3^{2-} , SO_4^{2-} e SeO_4^{2-} na presença de $6,00 \times 10^{-3}$ M de íons brometo. HLMgSeO_4^+ , $\text{H}_2\text{LMgSeO}_4^{2+}$, $\text{H}_3\text{LMgSeO}_4^{3+}$ e $\text{LMg}_2\text{SeO}_4^{2+}$ são as espécies do sistema OBISDIEN: $\text{Mg}^{2+}\text{SeO}_4^{2-}$. $\text{LMg}_2\text{OHSeO}_4^+$ é a espécie binuclear hidróxido do sistema OBISDIEN: $\text{Mg}^{2+}\text{SeO}_4^{2-}$. MgSO_4 é o sal de magnésio (II). Mg^{2+} é o íon Mg(II) livre (aquo) MgOH^+ é o produto de hidrólise do Mg(II). As espécies não metálicas não foram representadas assim como as espécies com menos de 2% de formação.

Os adutos de selenato destes complexos de OBISDIEN são ligados por ligações de coordenação e, no caso das espécies mononucleares $\text{H}_3\text{LMgSeO}_4^{3+}$, $\text{H}_2\text{LMgSeO}_4^{2+}$ e HLMgSeO_4^+ , ambas as ligações coordenadas e ligações de hidrogênio estão envolvidas (estrutura 11 para o $\text{H}_3\text{LMgSeO}_4^{3+}$)

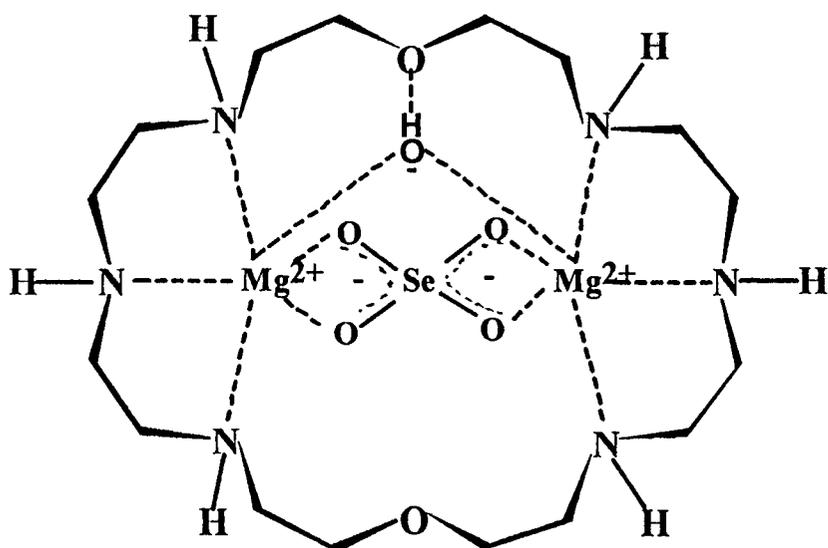
Nos complexos binucleares, o grupo selenato deve estar coordenado formando uma ponte entre os dois íons Mg(II) como sugerido na estrutura 12.

V.3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A determinação das constantes de equilíbrio e as curvas de distribuição das espécies na faixa de p[H] entre 2 - 12 para os sistemas OBISDIEN: Zn^{2+} e OBISDIEN: Mg^{2+} na presença dos íons Br^- , SO_4^{2-} , SeO_3^{2-} , e SeO_4^{2-} foram acompanhadas via estudos potenciométricos. Para ambos os sistemas, a força de ligação aumenta na ordem $\text{Br}^- < \text{SO}_4^{2-} < \text{SeO}_3^{2-} < \text{SeO}_4^{2-}$. Os estudos envolvendo um modelo macrocíclico que possui a capacidade de formar complexos metálicos binucleares como por exemplo, o OBISDIEN, podem proporcionar excelentes resultados para o entendimento do comportamento de ânions e metais em solução. Espécies metálicas complexadas aparecem acima de p[H] 6.0. Enquanto as espécies mononucleares predominam a valores de p[H] neutro e moderadamente básico para os sistemas com o íon Mg(II) , para o sistema com os íons Zn(II) , as espécies binucleares são as maiores espécies. A valores de p[H] mais básicos, as espécies binucleares predominam em ambos os sistemas, entretanto, as espécies binucleares di-hidroxo não são formadas no sistema com o magnésio(II) enquanto ela é a maior espécie no sistema com o zinco(II). Os íons zinco(II) têm uma forte tendência para formar complexos hidroxo e os resultados são consistentes com o comportamento do zinco(II) em solução aquosa. A espécie monohidroxo é a maior espécie no sistema com o magnésio(II). As espécies formadas no sistema com o magnésio(II) são menos estáveis do que aquelas formadas no sistema com o zinco(II). Entretanto, os íons Mg(II) são muito mais abundantes nos oceanos que os íons Zn(II) , sendo esperado que ele possua uma grande importância na complexação de ânions de ocorrência natural como os ânions Br^- , SO_4^{2-} , SeO_3^{2-} , SeO_4^{2-} investigados neste trabalho.



Selenato Aduto do complexo mononuclear triprotonado Mg(II)-OBISDIEN
 $H_3LMgSeO_4^{3+}$ (12)



Selenato Aduto do complexo binuclear hidroxó Mg(II)-OBISDIEN (13)

CAPITULO VI

DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE PROTONAÇÃO DO SELÊNIO-DL-CISTINA E DA SELÊNIO-DL-METIONINA. APLICAÇÃO À SUA SEPARAÇÃO POR HPLC ACOPLADO A UM ICP-MS.

VI.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O selênio apresenta duas importantes funções no meio ambiente, como um nutriente essencial e como uma substância tóxica (Tanzer *et al.*, 1991, Muñoz Olivas *et al.*, 1994), dependendo dos seus níveis de concentração e das espécies nas quais ele está presente. As espécies predominantemente identificadas nas matrizes ambientais são: compostos inorgânicos; selenato (SeO_4^{2-}), selenito (SeO_3^{2-}) e compostos orgânicos (Muñoz Olivas *et al.*, 1994); dimetil seleneto $[(\text{CH}_3)_2\text{Se}]$, dimetil disseleneto $[(\text{CH}_3)_2\text{Se}_2]$, selênio metionina (SeMet), selênio cistina (SeCys), selênio cisteína (SeCyst) e o íon trimetil selenônio (TMSe^+).

Nos últimos trinta anos, metodologias analíticas para a determinação de selênio total têm sido exaustivamente desenvolvidas. Mais recentemente, várias técnicas para a especiação de selênio têm sido também propostas (Muñoz Olivas *et al.*, 1994), para melhorar o entendimento do comportamento destas espécies nos sistemas ambientais e biológicos. Entre as espécies de selênio de ocorrência natural, os selênio aminoácidos apresentam uma importante função no ciclo biogeoquímico do selênio. Estes compostos são geralmente separados por cromatografia líquida. Porém, a literatura a respeito é ainda muito escassa (Walter *et al.*, 1969, Jiang *et al.*, 1988, Potin-Gautier *et al.*, 1993, Muñoz Olivas *et al.*, 1994, Sanz Alaejos *et al.*, 1995). A necessidade de informações é principalmente relativa à alta sensibilidade requerida. O acoplamento entre as técnicas de HPLC (Cromatografia líquida de alta precisão) e de ICP/MS (Plasma acoplado indutivamente/espectrômetro de massa) parece ser um método apropriado pois pode propiciar uma boa separação para estas espécies e uma alta sensibilidade para detectá-las a níveis de concentrações naturais ($\mu\text{g/L}$ - ng/L).

Todavia, a otimização dos parâmetros de separação é uma necessidade para a determinação de inúmeras propriedades químicas. Em particular, o equilíbrio ácido-base dos compostos orgânicos contendo átomos de selênio no lugar dos átomos de enxofre, têm sido pouco estudados (Greenstein *et al.*, 1961, Ganther *et al.*, 1974, Isab *et al.*, 1985). Para muitas espécies de selênio de ocorrência natural, as constantes de protonação, por exemplo, ainda permanecem desconhecidas. Este é o caso dos selênio aminoácidos como a selênio cistina e a selênio metionina. A titulação potenciométrica tem mostrado ser uma ferramenta conveniente para a determinação das constantes de protonação e para a elucidação da distribuição da espécies em uma grande faixa de p[H] (Lyons *et al.*, 1984, 1986, Cole *et al.*, 1985, Sóvágó *et al.*, 1987, Bonomo *et al.*, 1987).

Neste trabalho, nós utilizamos este método para determinar as constantes de protonação da selênio-DL-cistina e da selênio-DL-metionina em solução aquosa. As determinações das constantes de protonação conhecidas para aminoácidos sulfurados análogos (Tribolet *et al.*, 1983, Cole *et al.*, 1985, Sóvágó *et al.*, 1987, Smith *et al.*, 1994) foram feitas para comparação e também para verificar a acuracidade do método usado. Os valores de pKas encontrados para estes selênio aminoácidos e a distribuição das espécies formadas em função do pH apresentam grande importância para a otimização das condições experimentais em nossos trabalhos de especiação. Baseados nestes resultados, a separação da selênio-DL-cistina e da selênio-DL-metionina tem sido realizada pelo uso da cromatografia líquida (HPLC) acoplada ao ICP/MS.

VI.2. PARTE EXPERIMENTAL

VI.2.1. MATERIAIS.

Os reagentes e solventes utilizados são de alto grau de pureza. DL-Metionina, DL-cistina, selênio-DL-metionina e selênio-DL-cistina, são também reagentes de alto grau de pureza (>99%) obtidos junto a SIGMA Chemicals. Eles foram usados sem prévia purificação. O cloreto de potássio usado como suporte eletrolítico foi de alto grau de pureza e obtido junto à MERCK. Soluções de KOH 0,1000 M livre de

carbonatos foram preparadas a partir de ampolas Dilut-in (J.T. BAKER) e foram padronizadas por titulação com biftalato ácido de potássio obtido junto a MERCK. Os reagentes usados para a separação cromatográfica são também de alto grau de pureza.

VI.2.2. MEDIDAS DE EQUILÍBRIO POTENCIOMÉTRICO.

Estudos potenciométricos da selênio-DL-cistina, selênio-DL-metionina, DL-cistina, e DL-metionina, foram realizadas com um p[H]-METRO/IONÔMETRO de laboratório (ORION modelo 720A) com resolução de 0,001 unidades de p[H] completado com um eletrodo de vidro e um eletrodo de referencia Argenthal da INGOLD. O sistema foi calibrado da mesma maneira realizada nos trabalhos efetuados nos capítulos IV e V desta tese. A temperatura foi mantida a 25°C com um Criotermostato do tipo Ministat Bioblock e a força iônica (μ) foi ajustada para 0,100 M pela adição de KCl.

Amostras de aproximadamente 0.10 mmoles de DL-metionina e DL-cistina, 0.05 mmoles de selênio-DL-metionina e selênio-DL-cistina foram diluídas com 50 mL de água Milli-Q previamente fervida para remover o CO₂ dissolvido. Um pouco de HCl foi adicionado aos ligantes para a sua total solubilização. Uma célula hermética e termostatizada, com entrada e saída de gás para uso com nitrogênio foi utilizada em todos os experimentos. O N₂ foi purificado fazendo-o passar através de uma solução de KOH e Pirogallol. Todas as soluções foram tituladas com KOH 0.09906 M livre de CO₂ e uma bureta automática SCHOTT GERÄTE MODELO T80/10. Este estudo foi realizado na faixa de p[H] entre 2 e 12.

VI.2.3. CÁLCULOS COMPUTACIONAIS

As constantes de associação da selênio-DL-metionina, selênio-DL-cistina, DL-metionina e DL-cistina foram calculadas com a ajuda do programa interativo BEST (Motekaitis *et al.*, 1982, Martell *et al.*, 1992). A constante de dissociação da água (pK_w) usada foi 13.78. O excesso de ácido foi descontado, permitindo o cálculo exato das constantes de protonação a baixo p[H]. Maiores detalhes sobre os cálculos podem ser observados no capítulo III desta tese, incluso a bibliografia.

As curvas de distribuição das espécies foram calculadas com a ajuda do programa SPECIES que requer um arquivo de entrada (o arquivo de saída do programa BEST) e produz um arquivo de saída o qual é composto da porcentagem molar de todas as espécies processadas pelo programa BEST como função do p[H]. Maiores detalhes a respeito do método são dados na literatura (Martell *et al.*, 1992).

VI.2.4. MEDIDAS CROMATOGRÁFICAS

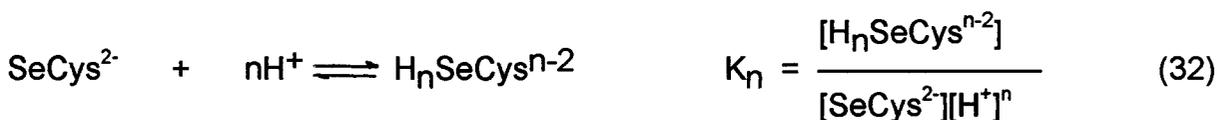
A bomba HPLC usada para a separação dos selênio aminoácidos foi da Perkin Elmer Series 410 Bio feita de titânio para evitar o risco de decomposição pelo reagente ou o analito. Uma coluna cromatográfica de fase reversa (Hamilton PRP1) foi usada para a separação dos compostos. A saída da coluna foi diretamente conectada a câmara de nebulização do ICP/MS. Um SCIEX Perkin Elmer ICP Espectrômetro de Massa ELAN 5000 foi usado como detetor. Maiores detalhes do sistema usado são dados na literatura (Muñoz Olivas *et al.*, 1995).

A fase móvel consiste de uma mistura de água/metanol contendo ácido pentano sulfônico como agente par iônico. O pH foi ajustado para o valor desejado pela adição de HCl.

VI.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

VI.3.1. CONSTANTES DE PROTONAÇÃO PARA A SELÊNIO-DL-CISTINA.

As constantes de protonação caracterizando as reações de equilíbrio entre as espécies protonadas e não protonadas da selênio-DL-cistina são definidas pela Equação 32.



Onde SeCys^{2-} é a forma completamente desprotonada da selênio-DL- cistina.

A curva de titulação representada na Figura 35, mostra um longo buffer a partir de $a = 0$ à $a = 10$ (onde $a = \text{mol de base por mol do ligante}$). Nesta faixa, a base é principalmente consumida para a neutralização do excesso de HCl inicialmente utilizado para solubilizar o ligante.

Duas fracas regiões de buffer podem ser observados a valores de $p[H]$ entre 8.0 e 9.0 ($a = 11$ e 12 respectivamente). Eles correspondem à sequencial neutralização dos dois grupos amônio. A neutralização dos dois grupos carboxílicos ocorre junto com a neutralização do HCl adicionado. De acordo com resultados reportados para aminoácidos similares (Smith *et al.*, 1994) é esperado que sua desprotonação ocorra a $p[H]$ igual ou menor que 2, i.e., além da faixa de $p[H]$ que nós estudamos. As constantes de protonação determinadas para esta curva são mostradas na Tabela 5. Os valores determinados apresentam uma boa concordância com os valores apresentados na literatura para outros aminoácidos (Smith *et al.*, 1994).

A distribuição das espécies envolvidas como uma função do $p[H]$ é mostrada na Figura 36. Nesta Figura, a totalmente desprotonada forma (SeCys^{2-}) aparece a $p[H]$ 7,2 e sua abundância aumenta com o $p[H]$ apresentando um máximo de 99,9% à $p[H]$ 12. A espécie monoprotionada (HSeCys^-) existe somente na faixa de $p[H]$ entre 6,0 e 11,5 com uma porcentagem máxima de 57,5% a $p[H]$ 8,5. A espécie diprotionada (H_2SeCys) o qual tem um caráter zwitteriônico é a maior espécie formada na faixa de $p[H]$ a partir de 2,0 à 8,0. Seu máximo é 99,7% a $p[H]$ 4,8 e é largamente dominante sobre todas as outras espécies na faixa de $p[H]$ entre 4,0 - 7,0. As espécies tri- (H_3SeCys^+) e tetraprotionada ($\text{H}_4\text{SeCys}^{2+}$) ocorrem a baixos valores de $p[H]$ ($< 4,0$). A $p[H]$ 2,0, enquanto a espécie triprotionada é 45,8%, a espécie tetraprotionada aparece somente com metade do valor (21,8%). Acima de $p[H]$ 3,0 ela pode ser considerada como não existente.

O intercepto das curvas de distribuição para duas espécies trocando prótons, corresponde ao valor de pK_a para a reação em equilíbrio. Desta forma, a segunda deprotonação do grupo carboxílico é bem evidenciada a $p[H]$ 2.15 onde as duas curvas correspondendo as espécies H_3SeCys^+ e H_2SeCys interceptam-se. A deprotonação do primeiro grupo carboxílico ocorre abaixo de $p[H]$ 2.0 e portanto não está evidenciado nesta Figura.

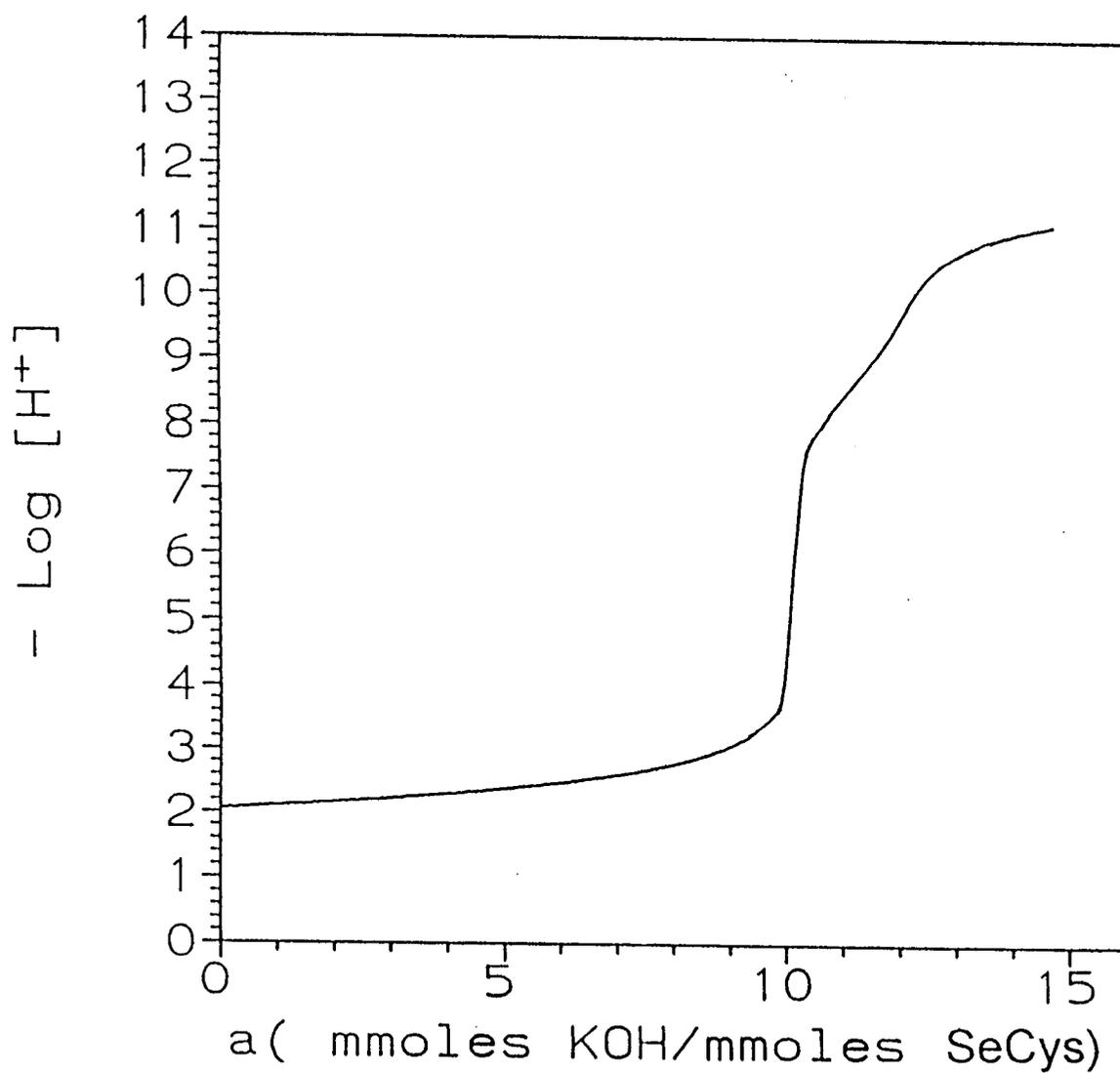


Figura 35. Perfis da curva de titulação potenciométrica para a solução contendo $9,40 \times 10^{-4}$ M de selênio-DL-cistina (a = moles de base adicionada por mol de selênio-DL-cistina; $t = 25,0^\circ\text{C}$; $\mu = 0,100$ M KCl)).

Tabela 5. Log. Das constantes de equilíbrio da selênio-DL-cistina, DL-cistina, selênio-DL-metionina e DL-metionina ($t = 25,0^{\circ}\text{C}$; $\mu = 0,100 \text{ M KCl}$).

X	$\frac{[\text{HL}]}{[\text{L}][\text{H}^+]}$	$\frac{[\text{H}_2\text{L}]}{[\text{HL}][\text{H}^+]}$	$\frac{[\text{H}_3\text{L}]}{[\text{H}_2\text{L}][\text{H}^+]}$	$\frac{[\text{H}_4\text{L}]}{[\text{H}_3\text{L}][\text{H}^+]}$
	DL-SELENOCYSTINE (c)	8.94	8.07(± 0.01)	2.15(± 0.01)
DL-CYSTINE (d)	8.97	8.25(± 0.02)	2.79(± 0.02)	1.51(± 0.03)
	8.80(a)	8.03(a)	2.05(± 0.05)(b)	1.5(± 0.01)(b)
DL-SELENOMETHIONINE (e)	9.05(± 0.01)	2.19(± 0.02)		
DL-METHIONINE (f)	9.08(± 0.02)	2.23(± 0.02)		
	9.08(± 0.04)(a')	2.16(± 0.03)(a')		

(a) Smith *et al.*, 1995 ($t = 20^{\circ}\text{C}$, $\mu = 0,1 \text{ M}$); (a') Smith *et al.*, 1995 ($t = 25^{\circ}\text{C}$, $\mu = 0,1 \text{ M}$); (b) Smith *et al.*, 1995 ($t = 37^{\circ}\text{C}$, $\mu = 0,15 \text{ M}$).

(c) $\sigma\text{-fit} = 0,00342$; (d) $\sigma\text{-fit} = 0,00619$; (e) $\sigma\text{-fit} = 0,00971$; (f) $\sigma\text{-fit} = 0,00775$

$\sigma\text{-fit}$ é o desvio padrão computado a partir dos $p[\text{H}]$ calculados relativos à aqueles observados experimentalmente (Martell *et al.*, 1992).

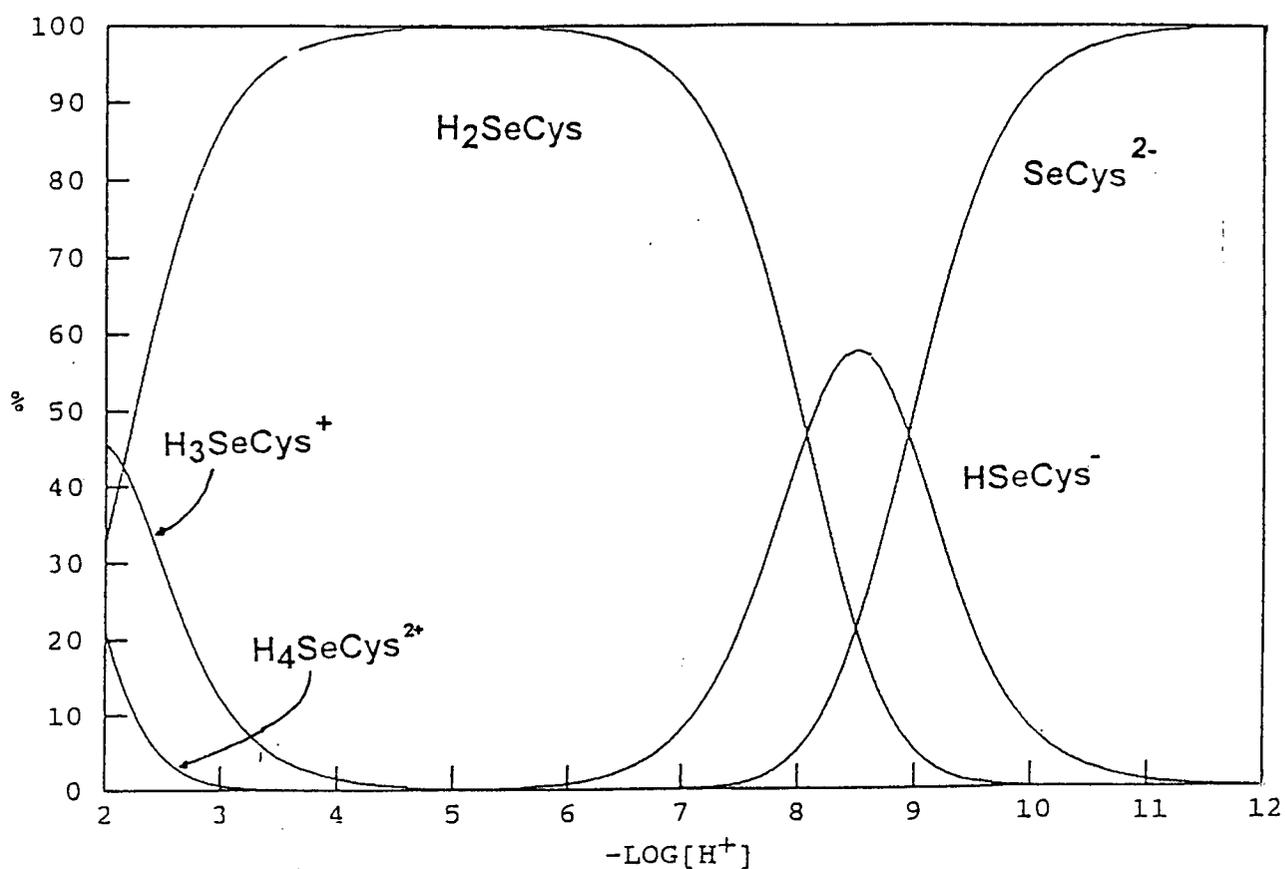


Figura 36. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $9,40 \times 10^{-4}$ M de selênio-DL-cistina. SeCys^{2-} é a forma completamente desprotonada do ligante e HSeCys^- , H_2SeCys , H_3SeCys^+ e $\text{H}_4\text{SeCys}^{2+}$ são as formas mono-, di-, tri- e tetraprotonada do ligante.

A p[H] 8,5 onde a espécie amina monodesprotonada (HSeCys^-) é 60 % formada, a completamente desprotonada espécie (SeCys^{2-}) e a espécie zwitterionica (H_2SeCys) existem ambas com 20% de abundância.

Para comparação, uma titulação potenciométrica da DL-cistina foi também realizada. As constantes de protonação determinadas são mostradas na Tabela 5. Os desvios padrões computados entre as curvas de p[H] experimental e calculada e a comparação entre os pesos moleculares experimental e teórico, nos permite considerar com confiança os resultados obtidos tanto para DL-cistina quanto para a selênio-DL-cistina (Martell *et al.*, 1992). Além disso, comparando com os valores encontrados na literatura para a DL-cistina, nossos valores apresentam uma boa concordância (Cole *et al.*, 1985, Smith *et al.*, 1994). Uma discrepância é observada no caso da deprotonação da espécie H_3L da DL-cistina e pode ser atribuída as diferentes condições experimentais utilizadas. As diferenças nos valores dos pKas entre a DL-cistina e seu selênio análogo são pequenas, exceto para a espécie citada acima. Todavia, nós observamos uma tendência geral para os valores de pKas da selênio-DL-cistina serem mais baixos que aqueles para a DL-cistina. Esta observação pode ser atribuída às diferenças nas interações intramoleculares o qual pode resultar igualmente a partir das diferenças nas propriedades atômicas entre selênio e enxofre ou a diferenças nas suas conformações moleculares.

A influência das interações intramoleculares sobre os valores de pKas e particularmente das interações entre os grupos funcionais ligados respectivamente aos dois braços da molécula é evidenciado pelos diferentes valores de pKas determinados para o mesmo tipo de grupos funcionais (Greenstein *et al.*, 1961). Interessantemente, nós observamos que a troca dos átomos de enxofre pelos átomos de selênio parece afetar diferentemente os pKas dos grupos carboxila e amina homólogos. Enquanto a diferença nos valores de pKas dos dois grupos aminas aumenta somente ligeiramente, uma importante diminuição para a diferença dos pKas dos grupos carboxilas é observado.

Estes resultados indicam que na selênio-DL-cistina, o grupo carboxílico protonado (H_3SeCys^+) apresenta interações eletrostáticas fracas a partir da carga negativa localizada sobre seu grupo homólogo quando comparado a DL-cistina. A partir de dados cristalográficos (Steinrauf *et al.*, 1958, Beryl *et al.*, 1959), tem sido mostrado que as formas da DL-cistina tetraprotonada e zwitteriônica apresentam

diferentes geometrias (Figura 37). Além disso, em solução tem sido sugerido (Ramachandran, 1967, Casey et al., 1972) que cada molécula enantiômera pode existir como uma distribuição de diferentes conformações. Ao que parece, a troca nos valores dos pKas partindo-se da DL-cistina para a selênio-DL-cistina é devido em grande parte as trocas na geometria (ou principalmente na geometria) das espécies envolvidas.

VI.3.2. CONSTANTES DE PROTONAÇÃO DA SELÊNIO-DL-METIONINA.

Os equilíbrios que operam no caso da selênio-DL-metionina são definidos pela Equação 33.



A curva de titulação plotada na Figura 38, mostra um buffer para um valor de $a = 2$ com um $p[\text{H}]$ próximo de 9. Ela corresponde a neutralização de um próton liberado pelo grupo amino. O grupo carboxílico tem teoricamente um valor de pKa muito próximo de 2,0 estando no limite da faixa de $p[\text{H}]$ que nós estamos explorando de modo que seu buffer não pôde ser observado nesta curva. As constantes de protonação calculadas são dadas na Tabela 5.

Similarmente à selênio-DL-cistina, a Fig. 39 mostra que a espécie completamente desprotonada (SeMet^-) ocorre a alto valor de $p[\text{H}]$ começando com $p[\text{H}]$ 7,0 e subindo até $p[\text{H}]$ 12,0 onde ela é 99,9% formada. A espécie zwitteriônica (HSeMet) existe em uma larga faixa de $p[\text{H}]$, a partir de 2,0 a 11,5. Entre $p[\text{H}]$ 4,0 e 7,0 ela é praticamente a única espécie presente em solução. A forma completamente protonada da selênio-DL-metionina (H_2SeMet^+) ocorre somente a valores de $p[\text{H}]$ menores que 5,0. A $p[\text{H}]$ 2,0, ela é 60,6% formada.

Para comparação, nós também determinamos as constantes de protonação da DL-metionina. Os valores que nós encontramos apresentam uma boa concordância com aqueles reportados da literatura (Cole et al., 1985, Sóvágó et al., 1987, Smith et al., 1994). Estes valores são mostrados na Tabela 5. Nós

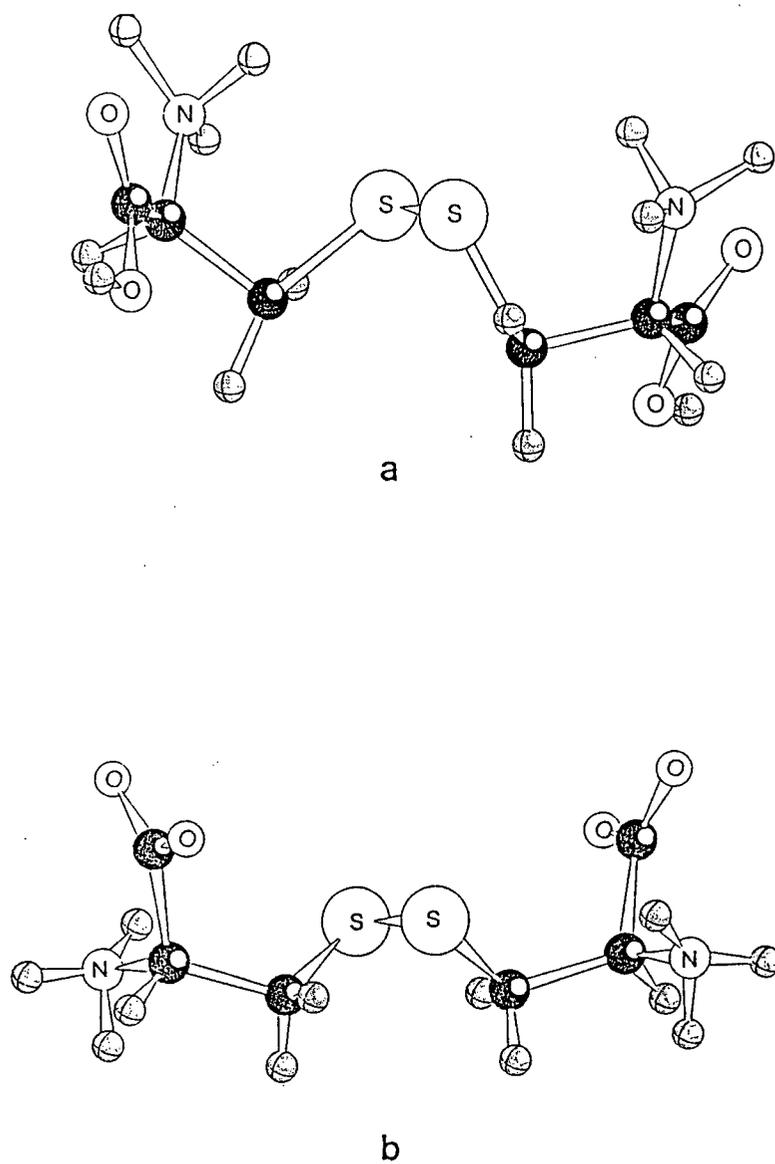


Figura 37. Perspectivas da molécula de cistina, a partir de dados cristalográficos, sob duas diferentes conformações: a) forma totalmente protonada (derivado clorídrico) (Steinrauf, *et al.*, 1958); b) forma neutra (zwitteriônica) (Beryl, *et al.*, 1959).

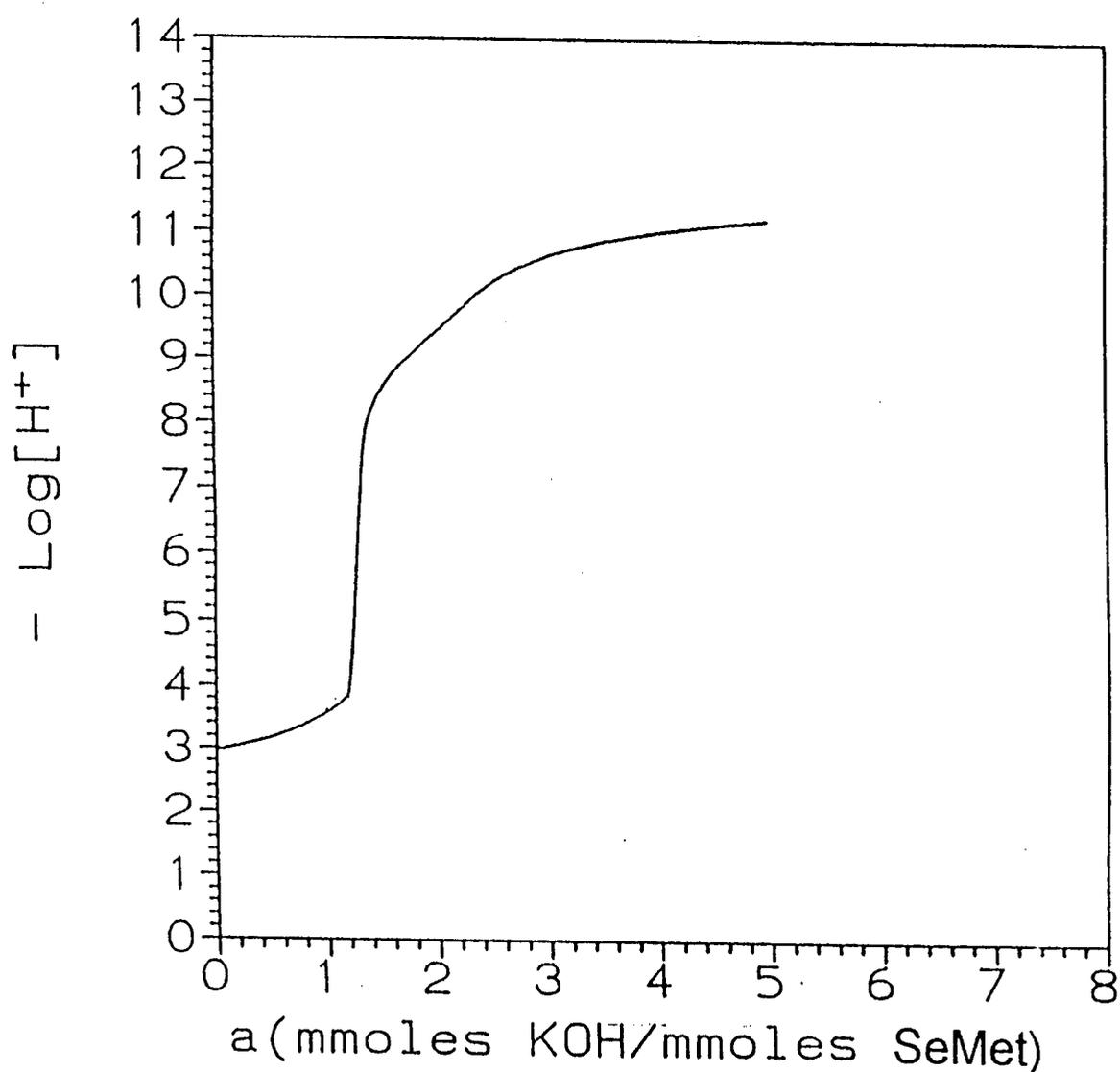


Figura 38. Perfis da curva de titulação potenciométrica para a solução contendo $9,95 \times 10^{-3}$ M de selênio-DL-metionina (a = moles de base adicionada por mol de selênio-DL-metionina; $t = 25,0^\circ\text{C}$; $\mu = 0,100$ M KCl).

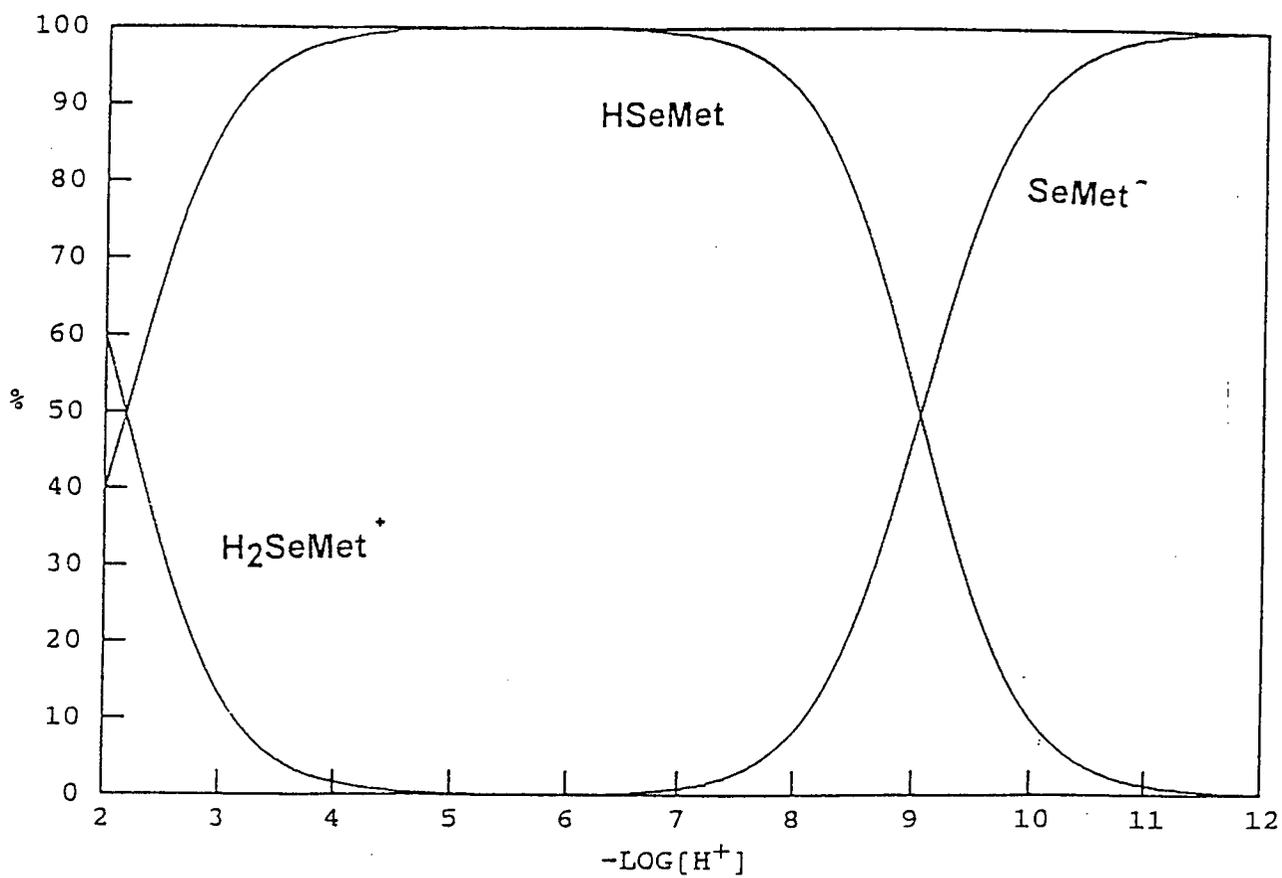


Figura 39. Curvas de distribuição das espécies para a solução contendo $9,95 \times 10^{-3}$ M de selênio-DL-metionina. SeMet^- é a forma completamente desprotonado ligante e HSeMet e H_2SeMet^+ são as formas mono- e diprotonada do ligante.

observamos que os valores de pKas para a selênio-DL-metionina são somente ligeiramente mais baixos que os valores para a DL-metionina. Isto é uma indicação que em ambas moléculas, DL-metionina e selênio-DL-metionina, as interações dos átomos de enxofre ou selênio com os grupos carboxílicos e aminas influenciam somente ligeiramente as constantes de protonação. Este resultado pode ser devido ao fato de que a presença dos dois grupos metílenos entre o átomo de enxofre ou selênio e os grupos funcionais contribuem para minimizar as interações intramoleculares (Greenstein *et al.*, 1961).

VI.3.3.SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE SELÊNIO-DL-CISTINA E SELÊNIO-DL-METIONINA

Seguindo o procedimento de Jiang e Houk (Jiang *et al.*, 1988) para a separação de aminoácidos sulfurados, cisteína e metionina, nós aplicamos o método da cromatografia de fase reversa baseado na formação de pares iônicos. Métodos similares têm sido estudados por outros autores (Potin-Gautier *et al.*, 1993).

O cromatograma na Figura 40 foi obtido com uma fase móvel consistindo em uma mistura H₂O/metanol (98/2) contendo ácido pentano sulfônico 10⁻⁵ M como agente par iônico e a um pH de 3,5. A concentração de cada composto na solução foi de 100 µg/l. Estas condições ótimas foram obtidas após a otimização de vários parâmetros tais como pH, composição da fase móvel, polaridade do eluente, força iônica, velocidade do fluxo de líquido, etc. (Muñoz Olivas *et al.*, 1995). sob tais condições, obtivemos os picos estreitos com um baixo nível de ruído e uma melhor separação entre os dois picos, oferecendo uma boa sensibilidade para a detecção destas moléculas.

Como mencionado acima, condições ótimas de pH foram estabelecidas na faixa entre pH 3,0 e 4,0. A força iônica da fase móvel foi ajustada pela adição do pentano sulfonato. Esta molécula contém uma cadeia alifática hidrofóbica podendo ter uma forte afinidade com a fase estacionária apolar e com o grupo sulfônico (SO₃⁻) o qual pode ser orientado pelo eluente, passando através da coluna. Em condições de pH favoráveis os grupos amônio (positivamente carregados) do selênio aminoácido pode ser impelido a interagir com os grupos sulfônicos

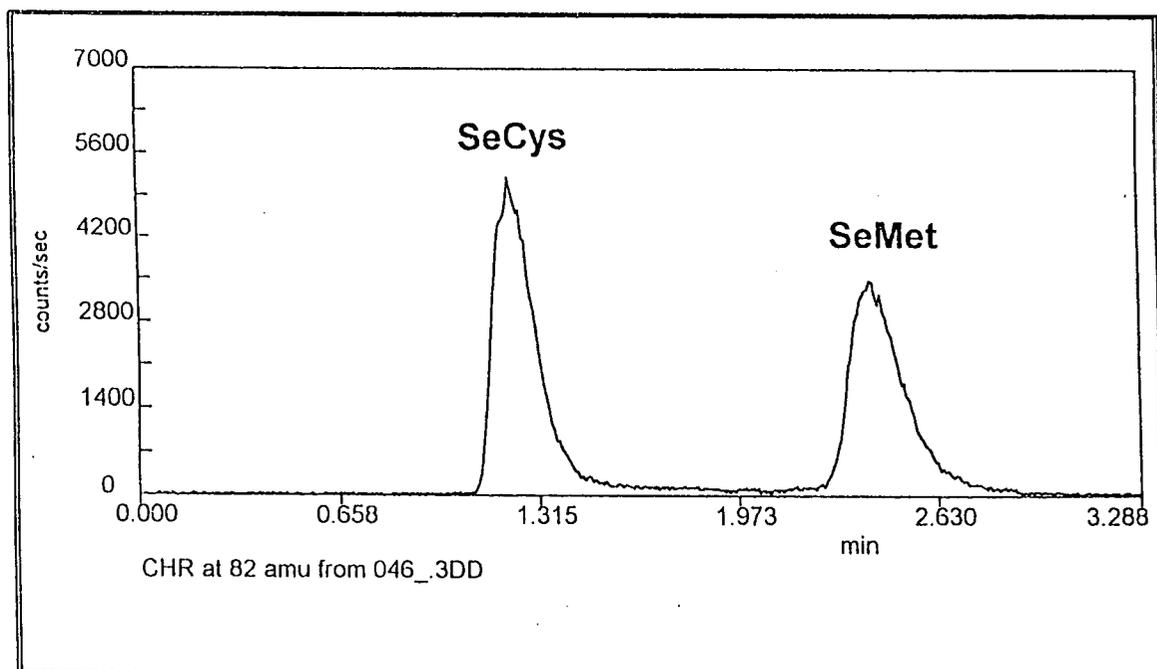


Figura 40. Cromatograma da selênio-DL-cistina e selênio-DL-metionina obtido por HPLC sob condições experimentais otimizadas. Fase estacionária: fase reversa, Hamilton PRP1. Concentração dos eluentes: 100 µg/L. Fase móvel: H₂O/Metanol: 98/2. Ácido pentano sulfônico 10⁻⁵ M. pH=3,5.

carregados negativamente. Mas, a formação de pares iônicos é esperada ser um dos mecanismos predominantes, responsável pela retenção da SeCys e da SeMet. Em adição a este mecanismo, outros mecanismos de partição baseados nas interações dipolares entre a fase móvel altamente polar e a fase estacionária, podem ser eventualmente operativas.

Em toda a faixa de pH explorada (3-7), nós observamos um pequeno tempo de retenção para a SeCys quando comparado à SeMet. A Fig. 41 mostra a variação do fator capacidade k' (definido como $k' = T_R - T_0 / T_0$, onde T_R é o tempo de retenção de cada composto e T_0 é o volume morto da coluna) contra pH. A grande diferença nos valores de k' entre as duas espécies foram obtidas em pH aproximadamente 3.0. Isto parece resultar essencialmente de um aumento do valor de k' para a SeMet em baixo pH, iniciando à aproximadamente pH 5.0.

Este aumento da diferença nos valores de k' entre SeCys e SeMet na medida em que se baixa o pH, pode ser explicada pelo aumento na concentração das formas moncatiônicas (H_3SeCys^+ e H_2SeMet^+) o qual estão em equilíbrio com as formas zwitteriônicas (Figs. 36 e 39). Considerando que, no caso, a forma catiônica da SeMet contem uma simples carga negativa, no caso da SeCys, ela contem duas cargas positivas e uma carga negativa. Por causa da presença desta carga negativa, nós podemos inferir que as interações eletrostáticas destas formas com os grupos SO_3^- pendentes são menos favorecidas do que aquela com a forma moncatiônica da SeMet. Este tipo de interpretação é consistente com o baixo valor de k' para a SeCys comparado a SeMet. Também consistente com esta interpretação é o fato que, contrariamente a SeMet, o valor de k' para SeCys foi observado ser pouco sensível aos parâmetros experimentais na faixa de pH 3-7 (Fig. 41). Este resultado pode ser interpretado pela presença de cargas negativas na forma H_3SeCys^+ o qual torna sua interação com o grupo sulfonato comparável à aquela da forma zwitteriônica..

Na faixa de pH de 5,0 a 7,0, as diferenças nos valores de k' são praticamente constantes. Nesta faixa de pH ambos compostos existem essencialmente como zwitterions e o baixo tempo de retenção observado para a SeCys pode resultar eventualmente dos equilíbrios entre as diferentes conformações a partir do efeito da polaridade ou a partir do mecanismo de exclusão pelo tamanho o qual depende da forma e da massa das moléculas.

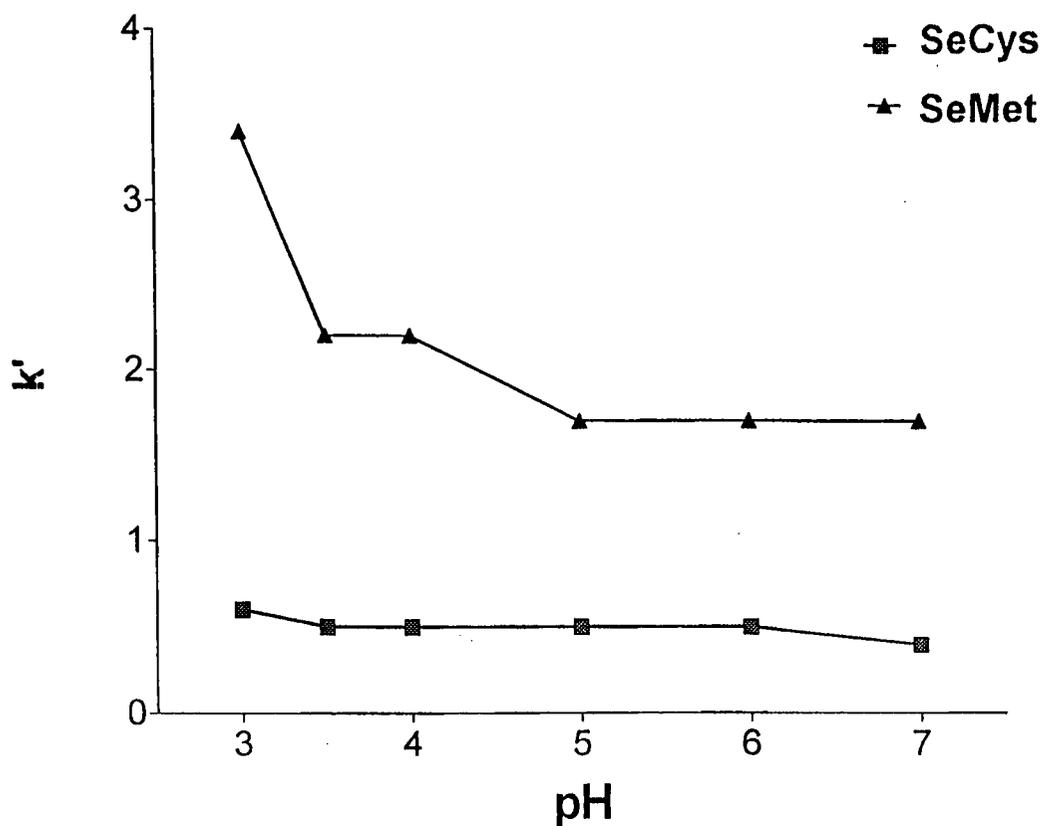


Figura 41. Influência do pH sobre a retenção de dois selênio aminoácidos (SeCys e SeMet) separados por HPLC/ICP-MS. Esta retenção é expressa como k' (fator capacidade) $= (T_R - T_0) / T_0$, onde T_R é o tempo de retenção de cada composto e T_0 é o volume morto da coluna.

VI.3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização das espécies presentes em solução aquosa de selênio-DL-cistina, selênio-DL-metionina, DL-cistina e DL-metionina tem sido realizada por estudos potenciométricos. Quatro constantes de protonação foram determinadas para a selênio-DL-cistina e DL-cistina, duas para os grupos carboxílicos e duas para os grupos amina. Constantes de protonação para, respectivamente, os grupos carboxílicos e grupos amino da selênio-DL-metionina e DL-metionina foram também determinadas e comparadas.

Em ambos os selênio aminoácidos, as espécies zwitteriônicas são as espécies dominantes na faixa de p[H] entre 4 e 7.

No caso da selênio-DL-cistina, a diferença entre os pKas para os dois grupos amino foram ligeiramente menores do que aqueles observados para a DL-cistina. Em contraste, a diferença entre os dois pKas para os grupos carboxilas foram mais fracos para a selênio-DL-cistina que para a DL-cistina. A partir deste resultado, pode ser inferido que no caso da selênio-DL-cistina, o grupo carboxílico protonado (H_3SeCys^-) possui uma fraca interação eletrostática a partir da carga negativa localizada sobre seu grupo homólogo do que na DL-cistina, provavelmente em razão das diferenças nas suas estruturas moleculares.

O conhecimento da distribuição das espécies permite-nos achar as condições ótimas de pH para a sua separação por cromatografia líquida acoplada ao ICP/MS. A melhor separação foi obtida na faixa de pH em torno de 3.5 onde as formas zwitteriônicas estão em equilíbrio com as formas carboxílicas monoprotionadas.

Como uma avaliação do método cromatográfico que nós utilizamos, a separação de selênio-DL-cistina e selênio-DL-metionina parece basar-s essencialmente no fato de que a pH 3,5, a forma diprotionada da selênio-DL-metionina possui uma simples carga positiva que permite uma ótima interação com o agente par iônico o qual está alinhado com o tempo de retenção. Em contraste, neste pH, a forma triprotionada da selênio-DL-cistina possui duas cargas positivas mas também uma carga negativa o qual supomos enfraquecer a interação com o agente par iônico e induzindo a um pequeno tempo de retenção.

TERCEIRA PARTE

**A ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA APLICADA AO
ESTUDO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS**

CAPITULO VII

A ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA APLICADA AO ESTUDO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS.

VII.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS.

VII.1.1. GENERALIDADES.

De uma maneira geral, a interação das moléculas com a radiação eletromagnética na faixa do UV-VIS pode originar quatro tipos de fenômenos radioativos:

- a emissão de fluorescência,
- a difusão Rayleigh,
- a difusão Tyndall,
- a difusão Raman.

A fluorescência é um processo de relaxação radioativo que se traduz pela emissão de energia, sob a forma de fótons, por uma molécula excitada anteriormente para os estados eletrônicos superiores. Na maioria dos casos, este processo se produz entre o primeiro estado singlete excitado (S_1) e o estado singlete fundamental (S_0) (regra de Kasha). Existe igualmente, em competição com estes processos, os processos de relaxação não radioativos. Os mais importantes são a conversão interna e a conversão inter-sistema (Figura 42).

A emissão de fluorescência é sensível aos fatores externos tais como a polaridade do solvente, temperatura, presença de espécies moleculares ou iônicas que podem modificar bem a intensidade (extinção da fluorescência) e os espectros (Parker, 1968).

As difusões Rayleigh e Tyndall resultam da interação da molécula com a energia excitadora. Eles são processos de interação elásticos que conduzem à uma emissão de luz com o mesmo comprimento de onda da energia excitadora ($\lambda_{exc.}$). A difusão Rayleigh manifesta-se no caso de espécies onde as dimensões são muito

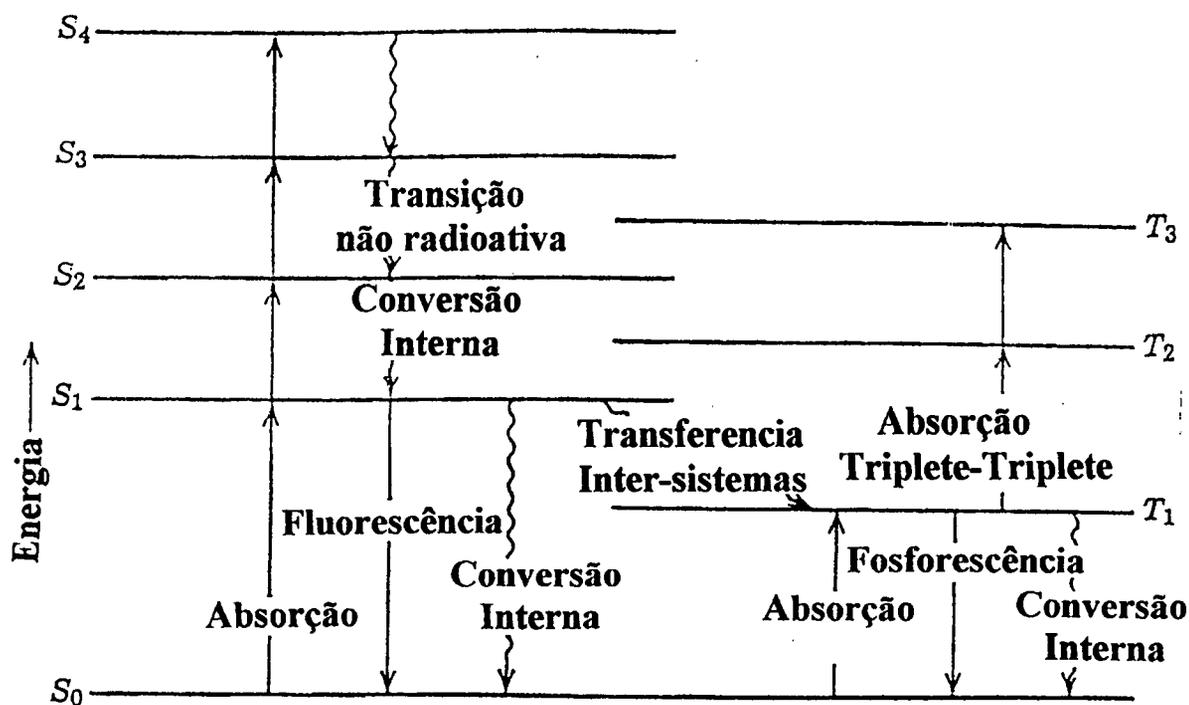


Figura. 42. Diagrama de energia dos estados eletrônicos de uma molécula poliatômica (Becker, 1969):

S_0 é o estado fundamental, S_j e T_j são respectivamente os estados singleto e tripleto.

inferiores a λ_{exc} . A difusão Tyndall manifesta-se no caso de espécies onde as dimensões são da ordem de grandeza do comprimento de onda excitador.

A difusão Raman é um processo de interação inelástico que se produz pela emissão de raios ou de bandas de emissão a comprimentos de onda superiores à λ_{exc} , e com as diferenças correspondentes as frequências de vibração das moléculas.

No caso de soluções diluídas, as difusões Rayleigh e Raman são essencialmente produzidas pelas moléculas do solvente.

VII.1.2. A EXTINÇÃO DA FLUORESCÊNCIA.

A extinção da fluorescência de uma molécula pode ser causada seja por uma reação da molécula no estado fundamental com um reativo conduzindo a produtos não fluorescentes, seja pela ação de um "inibidor" sobre a molécula no estado excitado. No primeiro caso, a extinção é dita estática, no segundo, dinâmica.

As reações que descrevem estes processos são as seguintes:



onde, A é o fluorófilo no estado fundamental, A^{*} é o primeiro estado singleto excitado, k_a exprime o numero de fótons absorvidos por segundo, k_{nr} é a constante de velocidade contendo o conjunto de processos de desativação não radioativa, k_f é a constante de emissão radioativa da fluorescência. [Q] é a concentração do "inibidor" (por exemplo um ligante) (Fraiji *et al.*, 1992). K_c é a constante de equilíbrio da reação entre A no estado fundamental e [Q] exprime a extinção estática, a espécie (o complexo) AQ não é fluorescente e k_q é a constante de velocidade bimolecular caracterizando os processos de extinção dinâmica.

A resolução matemática deste sistema de reações conduz a expressão seguinte que dá a razão das intensidades de fluorescência na ausência e na presença do "inibidor" nos casos onde ele se comporta as vezes no estado excitado, as vezes no estado fundamental.

$$\frac{F^{\circ}}{F} = (1 + K_{SV}[Q]) (1 + K[Q]) \quad (39)$$

Nesta expressão K_{SV} é a constante de Stern Volmer (Stern *et al.*, 1919) que exprime a extinção dinâmica (K_{SV} = k_q/k_f + k_{nr}). O termo (1 + K[Q]) exprime a extinção estática.

VII.2. FLUORESCÊNCIA DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS.

A matéria orgânica dissolvida (MOD) nas águas naturais possui uma fluorescência intrínseca devido principalmente as substâncias húmicas (Hayes *et al.*, 1978, Stevenson, 1982). Um espectro de fluorescência típico para substâncias húmicas obtido pela excitação de uma água natural é mostrado na Figura 43.

A espectroscopia de emissão de fluorescência constitui uma ferramenta particularmente atrativa para caracterizar as substâncias húmicas nos diferentes compartimentos aquáticos (De Souza Sierra, 1992, Mopper *et al.*, 1993). Sua grande vantagem reside na facilidade de realizar os trabalhos e sua grande sensibilidade, que oferece a possibilidade de realizar medidas de uma maneira direta sem tratamentos prévios das amostras. Do conjunto de estudos que tem sido

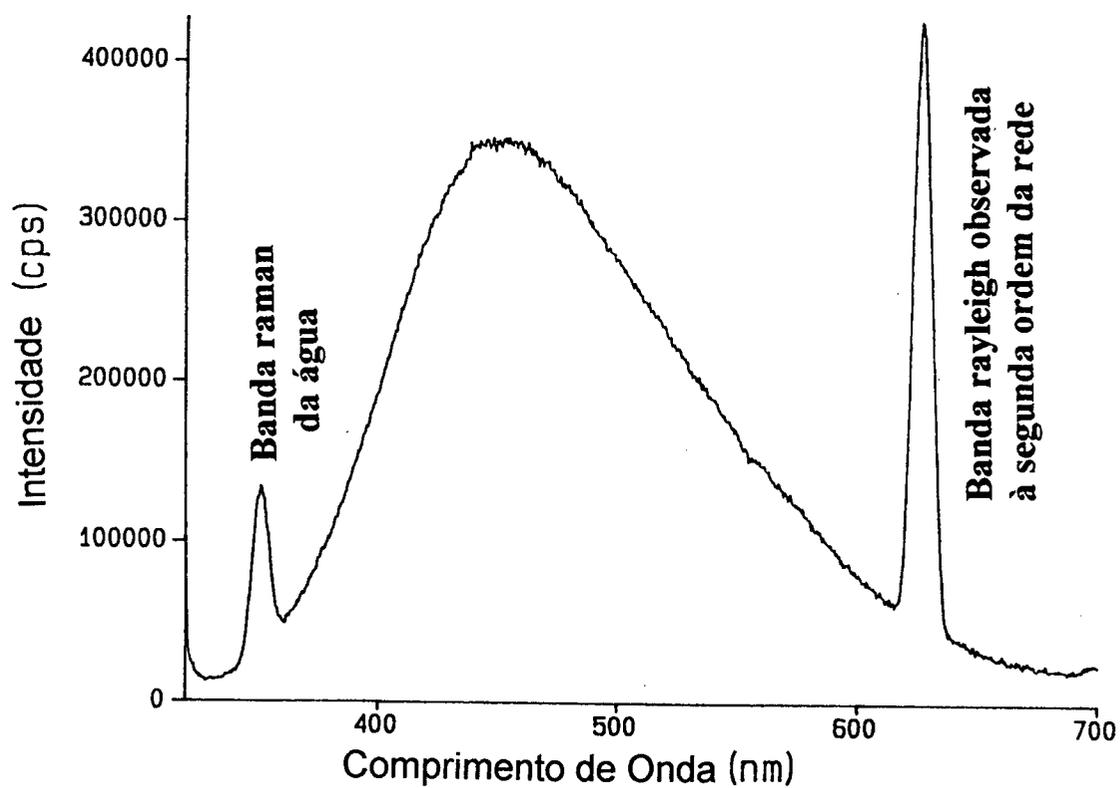


Figura 43. Espectro de emissão de uma água natural ($\lambda_{exc.} = 313$ nm).

feitos para analisar a fluorescência das substâncias húmicas, cabe salientar que os espectros apresentam as seguintes características:

- uma banda larga sem estrutura compreendida entre aproximadamente 350 e 650 nm (Frimmel, 1994),

- um máximo variável com o comprimento de onda de excitação. Este deslocamento pode atender 100 nm para os grandes comprimentos de onda quando o comprimento de onda de excitação aumenta,

- uma intensidade relativamente fraca mas que em certas condições permite uma boa determinação do teor em substâncias húmicas de águas marinhas ou continentais (Chen *et al.*, 1992).

Neste trabalho, nós fizemos num primeiro momento, uma análise crítica da determinação dos parâmetros C_L , K e I_{ML} em utilizando o método desenvolvido por Ryan e Weber e, em um segundo momento nós realizamos um estudo espectroscópico preciso do efeito do pH sobre a fluorescência do AFSR.

VII.3. APLICAÇÃO DA EXTINÇÃO DA FLUORESCÊNCIA A DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES COMPLEXANTES DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS.

VII.3.1. MODELO DE RYAN E WEBER.

A utilização da extinção da fluorescência das substâncias húmicas para estimar suas propriedades complexantes frente aos traços de metais nos meios naturais foi proposto pela primeira vez por Ryan e Weber (Ryan *et al.*, 1982). Estes autores derivaram uma expressão da intensidade de fluorescência em função da concentração em íons Cu^{2+} que permite estimar a capacidade complexante C_L assim como a constante de estabilidade K do complexo com as substâncias húmicas. O método proposto repousa sobre as hipóteses seguintes:

- A extinção é largamente dominada pelos processos estáticos de complexação,

- o material fluorescente é representativo das propriedades do conjunto,

- o material no seu conjunto comporta-se como um só tipo de ligante onde as propriedades médias são representadas por uma constante de complexação K e uma concentração de sítios complexantes C_L ,

- Os complexos formados são complexos 1:1 e são não fluorescentes,

- o fator de proporcionalidade entre a taxa de extinção da fluorescência e a concentração dos cations metálicos é constante.

VII.3.2. EXPRESSÃO ANALÍTICA.

Levando-se em conta o modelo descrito acima, o equilíbrio químico entre um ligante fluorescente L , o metal M e o complexo ML não fluorescente pode ser representado pela reação:



No caso de uma molécula susceptível de ter vários sítios de complexação, L representa um desses sítios.

Os espectros de fluorescência obtidos experimentalmente em presença de íons metálicos são esquematizados sobre a Figura 44 onde I_L° corresponde a intensidade inicial (C_M adicionado = 0).

A constante de complexação K é definida por:

$$K = \frac{[ML]}{[M][L]} \quad (41)$$

e a intensidade de fluorescência medida I , em presença de um íon metálico obedece a relação

$$I = I_L + I_{ML}^\infty \quad (42)$$

onde

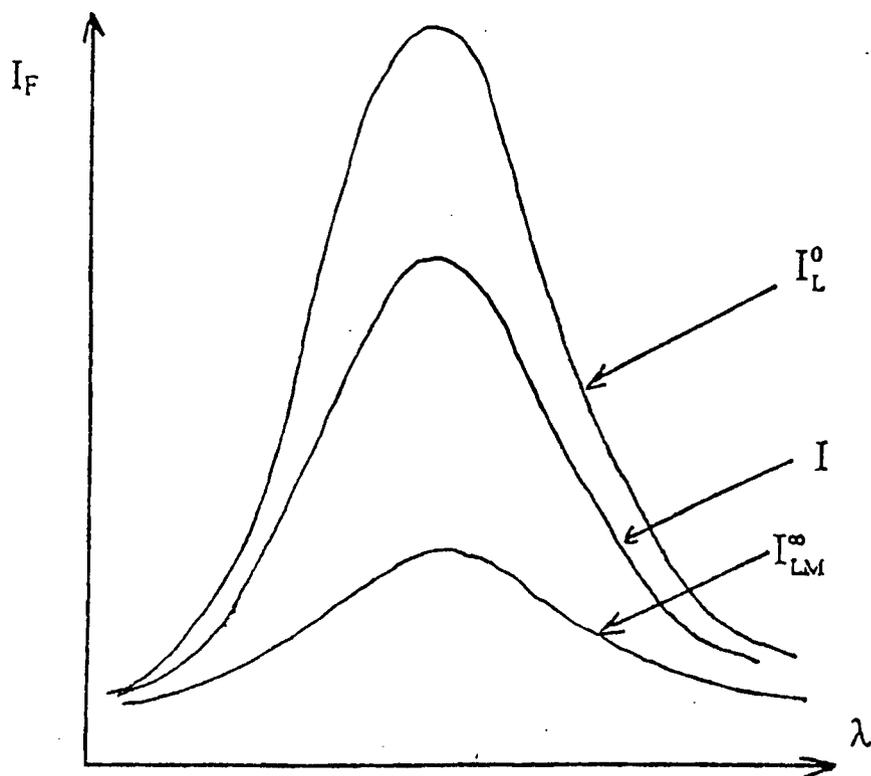


Figura 44. Representação esquemática da extinção da fluorescência de um ligante em presença de íons metálicos paramagnéticos com o qual seu complexo não fluorescente é formado.

I_L = intensidade de fluorescência devido aos sítios complexáveis mas não ainda complexados

I_{ML}^∞ = intensidade de fluorescência residual para C_M e devido aos sítios fluorescentes não complexantes.

Nós podemos escrever, na hipótese onde somente os sítios não complexados dão lugar a fluorescência:

$$C_M = [M] + [ML] \quad (43)$$

$$[ML] \propto (I_L^\circ - I) \quad (44)$$

$$[C_L] \propto (I_L^\circ - I_{ML}^\infty) \quad (45)$$

onde:

C_L = Concentração total dos sítios complexantes

C_M = Concentração total do metal

podemos definir $X_{ML} = \frac{[ML]}{[C_L]}$ (46) fração de sítios complexados. De onde,

$$X_{ML} = \frac{I_L^\circ - I}{I_L^\circ - I_{ML}^\infty} \quad (47)$$

e após a expressão de K

$$X_{ML} = \frac{K[L][M]}{[L] + K[L][M]} = \frac{K[M]}{1 + K[M]} \quad (48)$$

podemos trocar $[M]$ a partir de (43) e (46) e nós acharemos:

$$X_{ML} = \frac{K (C_M - X_{ML} C_L)}{1 + K (C_M - X_{ML} C_L)} \quad (49)$$

Esta expressão conduz a uma equação do segundo grau em X_{ML} . Ela admite uma só solução fisicamente aceitável.

Se colocarmos $I_L^\circ = 100$, nós acharemos para cada valor de C_M :

$$I = \frac{I_{ML}^\circ - 100}{2KC_L} [(KC_L + KC_M + 1) - \sqrt{(KC_L + KC_M + 1)^2 - 4K^2C_M C_L}] + 100 \quad (50)$$

A parametrização desta expressão com a ajuda do método de regressão não linear permite determinar os parâmetros K , I_{ML} e C_L a partir da curva $I = f(C_M)$. O programa de regressão não linear que nós utilizamos é de dupla precisão (10^{17} a 10^{18} decimais) e foi elaborado pelo Dr. W. Ellison do Laboratório de Física, Interações, Onda e Matéria da Universidade de Bordeaux I.

VII.3.3. Dificuldades do método e objetivos deste trabalho.

O método de Ryan e Weber contém dois tipos de dificuldades. A primeira é ligada ao modelo ele mesmo, o segundo ao tratamento matemático. Em função do modelo proposto, quatro tipos de centros moleculares podem ser definidos:

- a) Os centros que são fluorescentes e complexantes e, dão lugar à extinção da fluorescência.
- b) Aqueles que fluorescem mas que não são complexantes.
- c) Aqueles que não fluorescem mas são complexantes.
- d) Aqueles que não são nem complexantes nem fluorescentes.

Os tipos a e b são importantes para uso com o método. Aqueles do tipo d são ignorados e não podem influenciar os resultados. Porém aqueles do tipo c que não são levados em consideração mas intervêm nos resultados, podem constituir uma fonte de erro se a constante de estabilidade a ele associada é maior que aquelas do

tipo b e c. Uma outra fonte de erro que pode ser importante é devido ao fato de que no modelo, um só tipo de ligante é considerado (modelo monoligante) embora a complexidade dos meios naturais permitem supor a existência de vários tipos de ligantes.

Assim, o método repousa sobre um modelo que em vários pontos pode parecer um pouco distante do modelo real. Ele tem sido muito criticado, em particular por Cabaniss (Cabaniss *et al.*, 1990) que colocou em dúvida a validade do método, colocando outro método envolvendo o uso de eletrodos seletivos (ES), como alternativa. Uma análise das dificuldades inerentes aos dois métodos foi feita por Ryan e Ventry (Ryan *et al.*, 1990) e levou estes autores a conclusão que elas conduzem todavia sensivelmente as mesmas incertezas na estimação das constantes de estabilidade. Estes autores consideram igualmente que os resultados dados pelos dois métodos não podem ser diretamente comparados pelo fato de que eles não medem estritamente as mesmas espécies durante a complexação. O método de extinção da fluorescência permite verificar somente a complexação dos sítios fluorescentes (tipos a e b) enquanto que no método dos eletrodos seletivos, todos os sítios (fluorescentes ou não) são levados em conta. Em razão de sua simplicidade de trabalho e sua sensibilidade, o método fluorimétrico oferece vantagens, das quais a mais importante é a de realizar medidas em condições experimentais similares a aquelas encontradas nos ambientes aquáticos, o que não permitem outros métodos.

Dois tipos de medidas de intensidade de fluorescência podem ser realizadas: a medida clássica consiste tanto em medir a intensidade no máximo do espectro quanto a superfície do espectro corrigido obtido para um comprimento de onda de excitação fixo. É este tipo de medida que foi utilizado por Weber e outros autores (Grimm *et al.*, 1991, Nederlof *et al.*, 1992).

Um outro tipo de medida consiste em registrar os espectros de fluorescência fazendo variar os comprimentos de onda de excitação e de observação separados por uma diferença de comprimento de onda fixo (fluorescência síncrono). Este método tem sido utilizado recentemente por vários autores (Cabaniss, 1992, Machado *et al.*, 1994). Com relação a medida clássica, ele amplifica as diferenças espectrais e permite assim fazer aparecer mais distintamente as eventuais contribuições das famílias de fluorófilos distintos e de determinar as constantes de

complexação associadas a cada uma delas. Ele constitui assim um melhoramento do modelo de Ryan e Weber porque permite um estudo dos sistemas multi-ligantes mais próximos da realidade. Um estudo multi-ligante baseado sobre as medidas de fluorescência clássica tem sido igualmente proposto recentemente (Oliveira *et al.*, 1995). Mesmo com todos estes métodos, o método de Weber parece o mais simples a trabalhar porque o mais simples dos fluorímetros pode ser utilizado para o tratamento dos dados.

Levando-se em conta as aproximações e hipóteses contidas no modelo de Ryan e Weber, ele nós mostra quando comparados a outras técnicas, que ele conduz seguidamente a determinações satisfatórias das constantes de associação (Saar *et al.*, 1980, Ryan *et al.*, 1982) e é atualmente o mais utilizado (Lee *et al.*, 1992, Fang Lin *et al.*, 1995).

Qualquer que seja o modelo escolhido, mono-ligante ou multi-ligante, a determinação dos parâmetros procurados requer um tratamento matemático complexo dos dados experimentais que necessitam essencialmente de métodos de quimiometria e/ou de métodos modernos de parametrização (Joaquim *et al.*, 1994, 1995). Em numerosos casos tem sido observado que a regressão não linear da expressão (50) pode convergir para valores aberrantes muito fracos ou mesmo negativos de C_L (Ryan *et al.*, 1982, Berger *et al.*, 1984). Esta dificuldade mostra que o tratamento matemático dos dados constitui ele mesmo um problema importante para a utilização do método. Tem sido sugerido que as dificuldades encontradas podem ser devidas:

- a fraca concentração em ligantes (em particular para $C_L < 10$ mg/L),
- a um numero insuficiente de pontos experimentais,
- ao método numérico utilizado,
- a existência de uma forte covariância entre os parâmetros.

Neste trabalho, nós tentamos analisar a origem das dificuldades maiores encontradas no tratamento matemático dos dados e tentamos ainda determinar de uma maneira mais precisa o que tem sido feito até o presente, nos campos de aplicação do método. Nós tentamos igualmente tirar partido da forma analítica da expressão de Ryan e Weber para propor um teste de validade do método quando da sua aplicação a uma amostra natural.

Para este estudo, nós utilizamos o ácido fúlvico Suwannee River como modelo de substâncias húmicas e aplicamos igualmente o método a algumas amostras colhidas no Garonne, rio que corta a cidade de Bordeaux na França.

VII.3.4. ANÁLISE DAS CURVAS DE EXTINÇÃO.

Na Figura 45 são mostrados as variações simuladas a partir da expressão 50 dos perfis das curvas de extinção para diferentes valores de C_L para valores de K e I_{ML} fixos.

Uma variação importante do perfil é observada sempre que o produto KC_L é aproximadamente superior ou vizinho de 1. Sempre que KC_L torna-se menor que 1, o perfil torna-se cada vez menos sensível a variação de C_L e para o exemplo tratado, sempre que C_L é inferior a 10^{-6} ($KC_L < 0,2$) o perfil torna-se praticamente independente do valor de C_L .

Este comportamento leva em conta uma das limitações do método de Ryan e Weber no caso onde as concentrações das substâncias húmicas são fracas. Neste caso, parece agora evidente que a parametrização não pode convergir para valores exatos de C_L . Isto explica que valores normalmente fracos de C_L tenham sido encontrados no caso de amostras naturais (Berger *et al.*, 1984) pouco concentrados em ácidos húmicos ou em ácidos fúlvicos (De Souza Sierra, 1992).

Para os outros casos onde as dificuldades encontradas não podem ser devidas as fracas concentrações das substâncias húmicas, estas curvas mostram que em diluindo suficientemente o meio, é possível obter condições onde os perfis das curvas de extinção dependem somente de K e I_{ML} . Neste caso, a parametrização pode ser utilizada sobre dois parâmetros ao lugar de três o que simplifica o problema e limita as dificuldades do tratamento numérico. A partir dos valores de K e I_{ML} assim determinados, é possível estimar C_L em medindo a tangente a origem sobre as curvas de extinção obtidas com a solução original. Em efeito, a derivação da expressão (50) para $C_M = 0$ conduz a:

$$P_{C_M \rightarrow 0} = (I_{ML} - 100) \frac{K}{KC_L + 1} \quad (51)$$

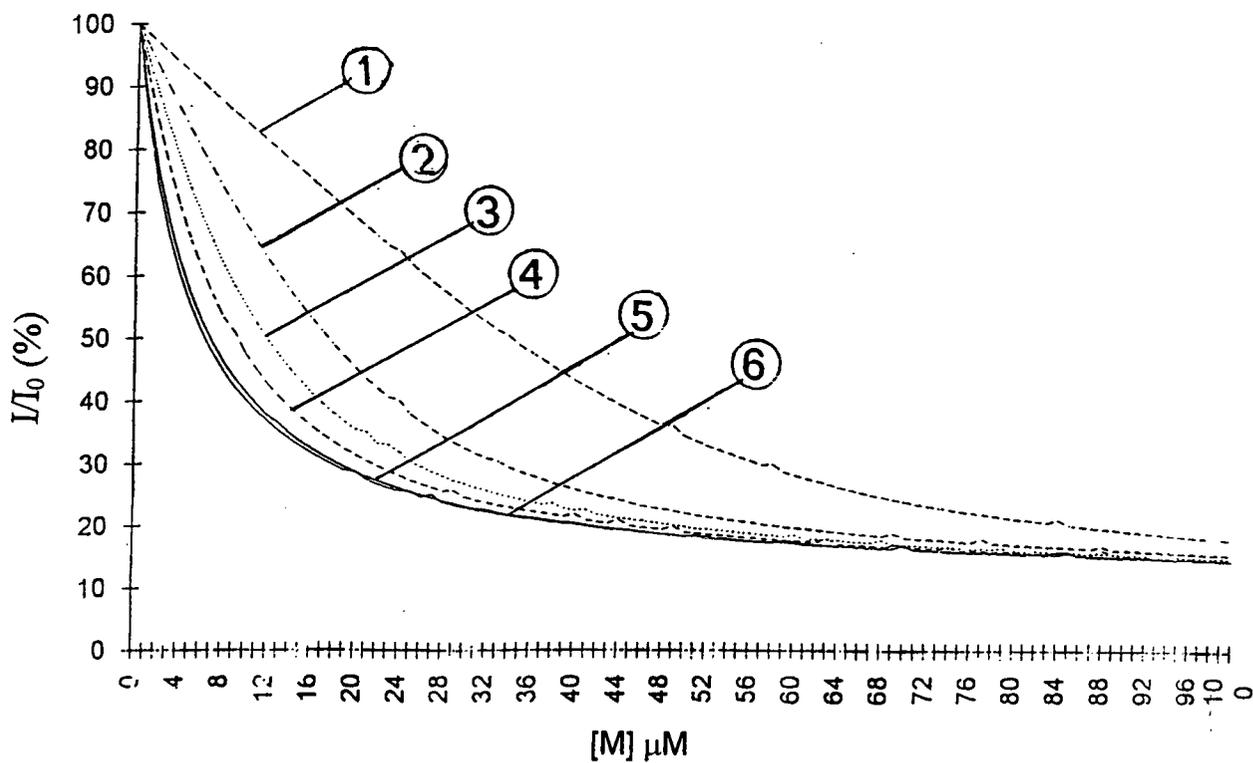


Figura 45. Simulação baseada na expressão de Ryan e Weber da variação do perfil das curvas de extinção da fluorescência do ácido fúlvico Suwannee River.

$$K = 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}; I_{ML} = 20\%$$

$$C_L = 1: 5 \times 10^{-5} \text{ M}; 2: 2 \times 10^{-5} \text{ M}; 3: 10^{-5} \text{ M}; 4: 5 \times 10^{-6} \text{ M}; 5: 10^{-6} \text{ M}; 6: 10^{-7} \text{ M}.$$

onde $P_{CM \rightarrow 0}$ é a tangente a origem.

De onde se tira:

$$C_L = \frac{(I_{ML} - 100) K - P_{CM \rightarrow 0}}{P_{CM \rightarrow 0} \times K} \quad (52)$$

Assim, em presença de um valor anormal de C_L encontrado por parametrização direta, este método permite aproximar-se de uma maneira mais precisa do valor real deste parâmetro e verificar a validade dos valores obtidos pela regressão linear.

Após a expressão (51), sempre que C_L torna-se muito fraco, a tangente a origem tende para um valor limite que é igual a

$$P_{CM \rightarrow 0} = \frac{(I_{ML} - 100) K}{C_{L \rightarrow 0}} \quad (53)$$

e que não depende mais de C_L como parece mostrar as curvas 5 e 6 da Figura 45.

VII.3.5. APLICAÇÃO AO ÁCIDO FÚLVICO SUWANNEE RIVER E AS AMOSTRAS DE ÁGUAS NATURAIS DO GARONNE.

VII.3.5.1. AMOSTRAS E REATIVOS QUÍMICOS.

O ácido fúlvico utilizado neste trabalho, é o ácido fúlvico Suwannee River (AFSR), fornecido pela International Humic Substances Society (IHSS). As amostras naturais foram coletadas em três sítios distintos da Garonne próximos das vilas de Pauillac, de Langoiran e de La Réole (Figura 46).

As amostras foram filtradas imediatamente (0,45 µm) após a coleta, protegidos da luz e guardados em um refrigerador. A solução mãe de íons Cu^{2+} que nós utilizamos foi preparada a partir do nitrato de cobre (II) $((Cu(NO_3)_2) \cdot 3 H_2O)$, de origem MERCK. Ela foi padronizada por titulação com EDTA utilizando murexida

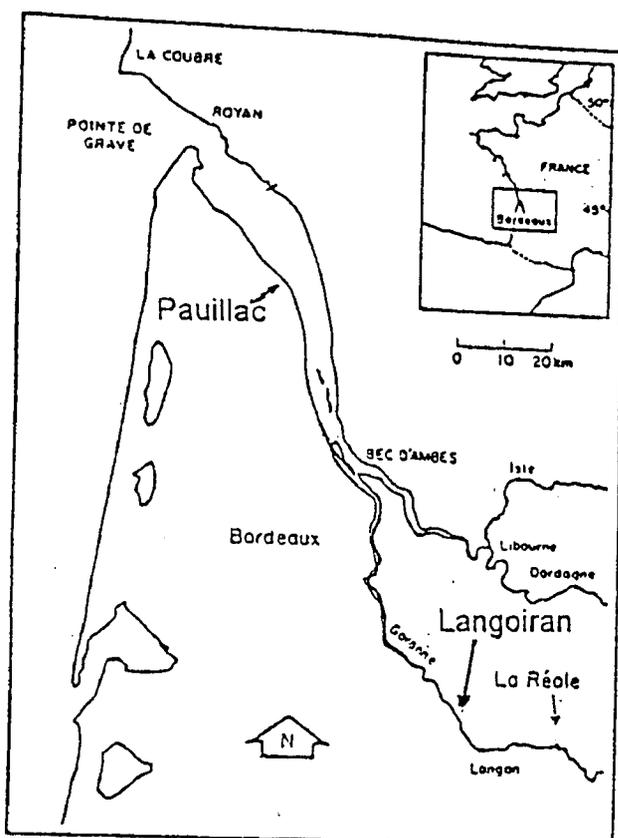


Figura 46. Mapa com a localização das amostras de água coletadas.

como indicador (Schwarzenbach *et al.*, 1969). O HCl e o KOH utilizados são também da MERCK. As soluções das substâncias acima foram preparadas com água purificada pelo sistema Millipore Milli-Q (eau Milli Q).

VII.3.5.2. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.

a) MEDIDAS FLUORIMÉTRICAS.

O registro dos espectros assim como as medidas de intensidade de fluorescência, foram realizadas com um espectrofotômetro SPEX 212 (FLUOROLOG 2) utilizando como fonte, uma lâmpada de xenônio de 450W. O espectrofluorímetro é constituído de um monocromador duplo tanto à emissão quanto à excitação. Os monocromadores são equipados de redes gravadas (1200 tr/mm) e a dispersão é de 1,8 nm/mm. O compartimento de medida foi termostatzado a uma temperatura de 20°C. As emissões de fluorescência foram observadas a 90° com relação a direção da luz excitadora. Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos para dois comprimentos de onda de excitação fixados a 313 nm e 370 nm. Para os espectros de excitação da fluorescência, o comprimento de onda de observação fixo escolhido corresponde sensivelmente ao máximo da fluorescência do AFSR. A largura das fendas foi ajustada de maneira a dar uma banda passante de 2 nm que, levando-se em conta os espectros largos registrados, oferece uma suficiente resolução. A velocidade de registro é de 1 nm/s, o passo do motor foi de 0,5 nm. O detetor é um fotomultiplicador R298 resfriado pelo efeito Peltier, o que assegura uma corrente de obscuridade fraca. Todos os espectros foram corrigidos pelas variações da transmissão do monocromador de excitação e da intensidade da fonte em função do comprimento de onda. Para a emissão, as variações das respostas do monocromador de emissão e da fotomultiplicadora com o comprimento de onda foram igualmente corrigidos. Estas correções foram aplicadas ao conjunto dos espectros que nós registramos. Nós também corrigimos a contribuição do solvente (água) pela subtração do sinal deste solvente sozinho.

b) MEDIDA DA EXTINÇÃO DA FLUORESCÊNCIA.

Para as medidas de extinção da fluorescência do AFSR em presença dos íons Cu^{2+} , as soluções foram preparadas a partir de uma solução mãe à 10 mg/L. Nosso estudo baseou-se em soluções à 10 mg/L, 7.5 mg/L, 5 mg/L, 2.5 mg/L e 1 mg/L. 50 ml de solução para cada experiência foi coletada e o pH foi ajustado para 6,2 pela adição de KOH. Os íons Cu^{2+} são provenientes de uma solução de nitrato de cobre (II) $((\text{Cu}(\text{NO}_3)_2) \cdot 3 \text{H}_2\text{O})$ ($C = 0.105\text{M}$). Afim de evitar modificar significativamente o volume das soluções de ácido fúlvico durante as titulações, nós trabalhamos com soluções de concentrações diferentes. $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ e $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$. Durante a titulação, a primeira solução de Cu^{2+} após a segunda, foram trocadas por uma solução mais concentrada desde que necessário de modo a que o volume total não ultrapasse 2% do volume inicial da solução titulada. Para as amostras coletadas nos três sítios do Garonne, as titulações foram realizadas em presença de íons cúpricos nas mesmas condições que para o AFSR, salvo que para as águas, o pH natural ($\sim 8,1$) foi conservado.

As intensidades foram medidas no máximo dos espectros. Em todos os casos as intensidades obtidas sobre as curvas de extinção são valores médios de ao menos duas medidas independentes. Os espectros foram registrados a pH constante e força iônica nula. A turbidez das soluções foi controlada em registrando ao mesmo tempo a banda devida a difusão Rayleigh e Tyndall observada na segunda ordem da rede ($2\lambda_{\text{exc.}}$). As adições de Cu^{2+} foram limitadas as concentrações pelas quais a intensidade da raia Rayleigh é o dobro da intensidade inicial.

O aparecimento da turbidez na solução a partir de uma certa concentração de íons Cu^{2+} é um fenômeno susceptível de alterar a precisão das medidas de intensidade. É um fenômeno geral que tem sido colocado por todos os autores. Ela manifesta-se para quantidades de Cu^{2+} adicionadas menores que as concentrações em ácido fúlvico e quando o pH ou força iônica são elevadas (De Souza Sierra, 1992, Cabaniss *et al.*, 1988). A pH 8,4 o aumento da turbidez é atribuído à precipitação do ácido fúlvico e ao hidróxido de cobre (II) $(\text{Cu}(\text{OH})_2)$ (Cabaniss *et al.*, 1988). Nossas medidas foram feitas à pH 6,2, condição onde a formação de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ é improvável (Baes *et al.*, 1976). Nós pensamos que a

turbidez que nós observamos é devida a um mecanismo análogo a aquele observado no caso dos colóides que, sempre que eles complexam na superfície com íons metálicos (Honeyman *et al.*, 1988, 1989) tendem a agregar-se devido a diminuição de seu caráter hidrófilo.

VII.3.5.3. ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA DO AFSR EM PRESENÇA DE Cu^{2+}

Os espectros de fluorescência do AFSR (10 mg/L) excitados a 313 nm e a 370 nm em presença de quantidades crescentes de Cu^{2+} são apresentados nas Figuras 47 e 48. O espectro de excitação da fluorescência registrado em observando a emissão à 445 nm é igualmente reproduzido na Figure 49.

O espectro de emissão da fluorescência excitado a 313 nm (Figura 47) possui uma banda larga, sem estrutura vibracional. Nós obtivemos um máximo de emissão próximo de 450 nm que é característico da maior parte dos ácidos fúlvicos. Superposto ao espectro de fluorescência, nós observamos igualmente sinais de emissão devidos a difusão da radiação. Do lado dos comprimentos de onda curtos à aproximadamente 350 nm nós observamos a banda Raman da água. Do lado dos comprimentos de onda grandes à aproximadamente 626 nm, nós remarcamos uma banda estreita que corresponde a difusão Rayleigh e que é observada aqui à 2ª ordem da rede ($2\lambda_{\text{exc.}}$).

Um aumento da concentração em íons cúpricos traduz-se por uma diminuição da intensidade de fluorescência devido a formação de complexos (extinção estática). No complexo, o ligante torna-se não fluorescente em razão da interação com os íons cúpricos paramagnéticos. Nós observamos igualmente um deslocamento dos máximos de emissão para os comprimentos de onda curtos. Esta diminuição dos máximos de emissão seguida por um deslocamento em direção ao espectro azul, tem sido explicada de um lado, por uma complexação mais favorável dos sítios com grande massa molecular devido a grande densidade de cargas na superfície (Green *et al.*, 1992). Do outro lado, pelas suas emissões preferenciais do lado dos grandes comprimentos de onda em razão da estabilização maior de seus estados excitados por efeitos indutivos ou mesoméricos.

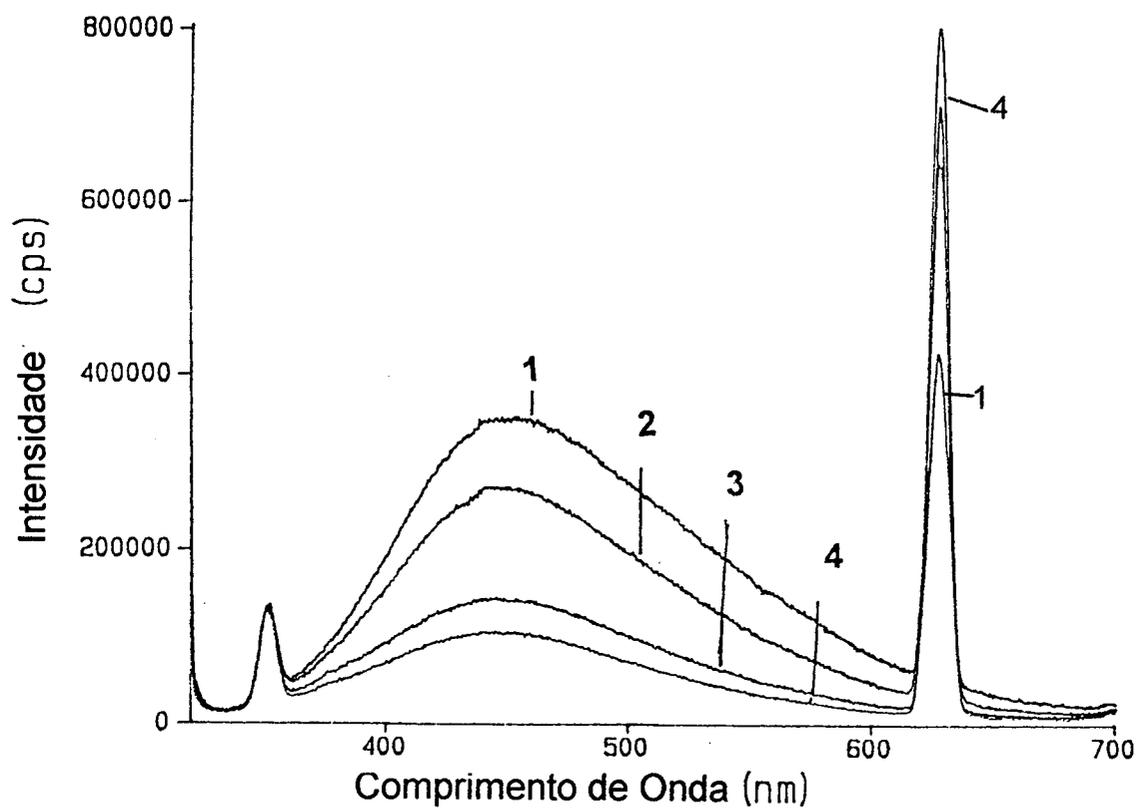


Figura 47. Espectro de emissão do ácido fúlvico Suwanne River e a extinção de sua fluorescência em presença de íons cúpricos.

$\lambda_{Exc.} = 313 \text{ nm}$; $\text{pH} = 6,2$

$[\text{Cu}^{2+}] = 1: 0,0; 2: 6 \times 10^{-6} \text{ M}; 3: 30 \times 10^{-6} \text{ M}; 4: 80 \times 10^{-6} \text{ M}.$

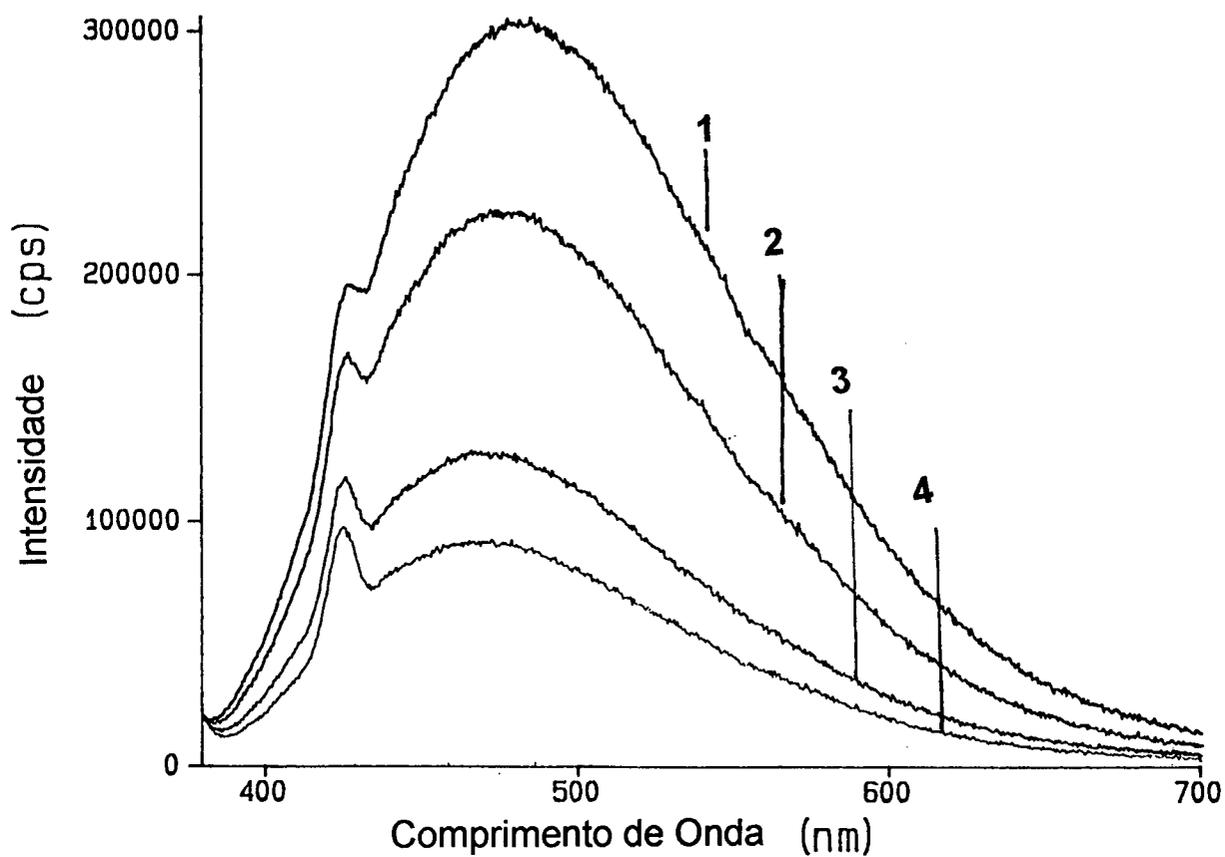


Figura 48. Espectro de emissão do ácido fúlvico Suwanne River e a extinção de sua fluorescência em presença de íons cúpricos.

$\lambda_{\text{Exc.}} = 370 \text{ nm}$; pH = 6,2

$[\text{Cu}^{2+}] = 1: 0,0$; 2: $6 \times 10^{-6} \text{ M}$; 3: $30 \times 10^{-6} \text{ M}$; 4: $80 \times 10^{-6} \text{ M}$.

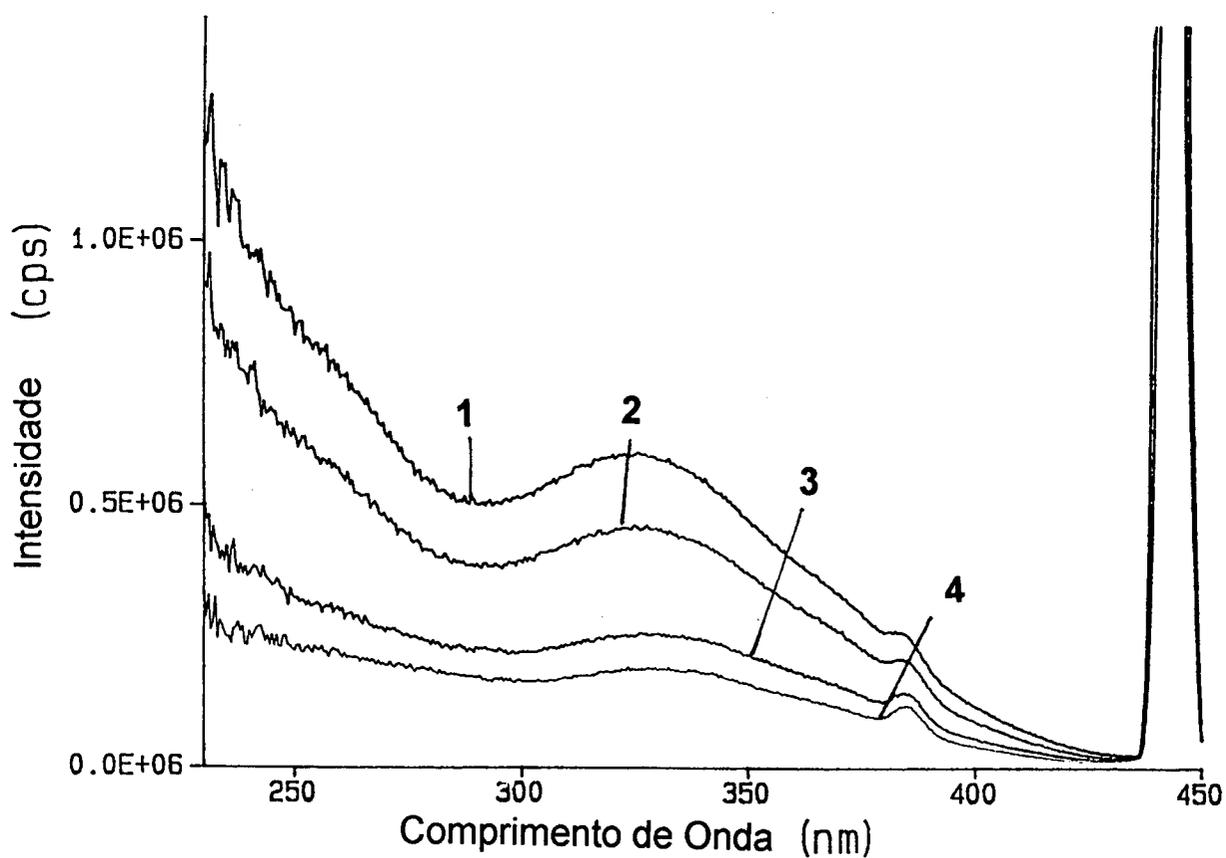


Figura 49. Espectro de excitação do ácido fúlvico Suwanne River e a extinção de sua fluorescência em presença de íons cúpricos.

$\lambda_{\text{Obs.}} = 445 \text{ nm}$; $\text{pH} = 6,2$

$[\text{Cu}^{2+}] = 1: 0,0$; $2: 6 \times 10^{-6} \text{ M}$; $3: 30 \times 10^{-6} \text{ M}$; $4: 80 \times 10^{-6} \text{ M}$.

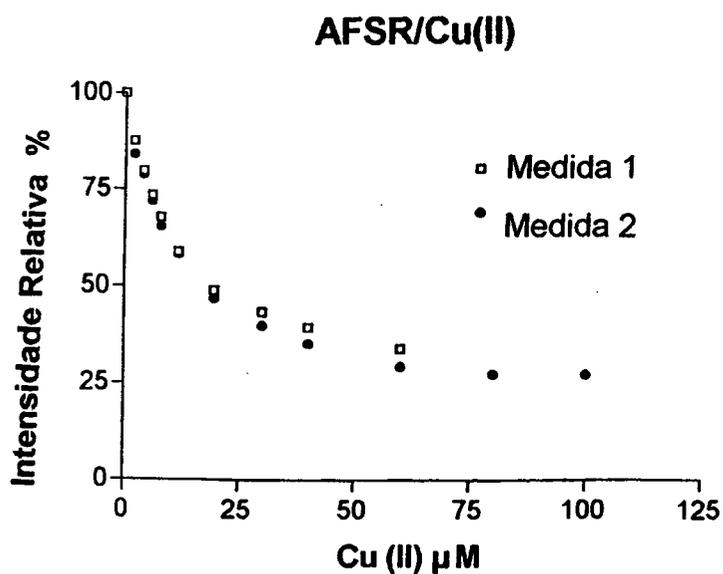
A fluorescência excitada a 370 nm em presença de íons cúpricos, manifesta um comportamento idêntico (Figura 48). O espectro de excitação da fluorescência observado a 445 nm (Figura 49) é caracterizado por uma banda larga e sem estrutura com um máximo pouco marcado próximo de 330 nm e um aumento contínuo em direção aos comprimentos de onda curtos (De Souza Sierra, 1992). Nenhuma modificação notável foi constatada no perfil deste espectro em presença de cobre.

VII.3.5.4. ANÁLISE DAS CURVAS DE EXTINÇÃO DA FLUORESCÊNCIA DO AFSR.

A simulação das curvas de extinção com a ajuda da fórmula de Ryan e Weber (parágrafo VII.3.4) mostra que é possível distinguir dois domínios de aplicação, seja a concentração em substâncias húmicas e mais precisamente, seja o valor de KC_L . Nós temos examinado estes dois casos analisando de uma parte as curvas de extinção para as concentrações de AFSR de 10 mg/L ($KC_L \approx 1$) que conduzem a perfis dependentes de três parâmetros K , C_L e I_{ML} e de outra parte as curvas obtidas pelas diluições crescentes de AFSR que convergem teoricamente para uma curva onde o perfil depende somente de K e de I_{ML} ($KC_L \ll 1$).

a) CASO ONDE KC_L É PRÓXIMO DE 1.

Na Figura 50, foram colocados os pontos experimentais obtidos após duas séries de medidas efetuadas em dias diferentes, sob as mesmas condições experimentais. Os pontos de cada série de medidas são as médias de ao menos duas medidas efetuadas consecutivamente. Os resultados da parametrização indicados sobre a Figura, mostram que a medida 2 dá um valor de C_L muito fraco, diferente daquele determinado para a medida 1 e diferente daquele determinado por Ryan e Weber. Por outro lado, valores muito próximos dos valores de Ryan e Weber foram encontrados para K . Estes resultados tornam-se surpreendentes pelo fato de que as duas séries de medidas que nós efetuamos, não fizeram aparecer diferenças importantes entre os valores dos pontos experimentais, mesmo para valores elevados de C_M onde as diferenças são provavelmente devidas em parte a



Parâmetro	Medida 1	Medida 2	(Ryan et Weber, 1988)
I_{ML} (%)	24,58	18,015	22,4
C_L (M)	$2,31 \times 10^{-6}$	$2,943 \times 10^{-10}$	$19,7 \times 10^{-6}$
K (M ⁻¹)	$1,09 \times 10^5$	$0,904 \times 10^5$	$1,08 \times 10^5$

Figura 50. Parâmetros obtidos por regressão não linear de duas series de pontos experimentais obtidas a partir de duas experiências independentes de extinção da fluorescência do AFSR (10 mg/L) em presença de íons cúpricos (pH = 6,2).

influência do efeito Tyndall que se manifesta, sendo maior na medida 1. Este exemplo mostra que as fracas variações nos pontos experimentais podem induzir a erros importantes na determinação dos parâmetros. Neste exemplo, é possível que o produto KC_L seja de fato relativamente diferente de 1 e neste caso, não é surpreendente que o processo de calculo numérico apresente problemas e que a parametrização convirja para valores relativamente imprecisos. É evidente que uma das duas medidas conduz a um valor errado de C_L . A estimação gráfica da tangente à origem dá um valor à tangente de $6,6 \pm 0,2 \times 10^{-6}$ M. Em utilizando a expressão (52), nós determinamos um valor de C_L igual a $2,29 \pm 0,6 \times 10^{-6}$ M a partir dos parâmetros dados pela medida 1 e de $1,25 \pm 0,8 \times 10^{-6}$ M a partir daqueles dados pela medida 2. Os valores são muito próximos do valor de C_L obtidos a partir da medida 1 que é identificada como sendo o valor que proporciona uma boa ordem de grandeza. Um valor de C_L maior, foi determinado por Ryan e Weber. Este resultado é correlato com a tangente à origem da sua curva de extinção, sendo menor que as outras. Nós não temos atualmente uma interpretação a propor para explicar este desacordo.

b) CASO ONDE $KC_L \ll 1$

A Figura 51 mostra as curvas de complexação que nós obtivemos para diferentes concentrações de AFSR. De acordo com as curvas simuladas, nós observamos uma variação nos perfis das curvas, notadamente sempre que a concentração passa de 10 mg/L a 7,5 mg/L. Abaixo de 5 mg/L, os perfis modificam pouco e neste caso, é possível supor que eles são praticamente independentes da concentração de AFSR e de C_L . Na Tabela 6, nós reportamos os valores de K , I_{ML} e C_L determinados por parametrização total pela formula de Ryan e Weber (50).

Teoricamente, os valores de K e I_{ML} são independentes da concentração, para I_{ML} . Isto é pouco verificado. Por outro lado, nós observamos diferenças notáveis sobre os valores de K que variam sensivelmente de 10 mg/L e 4,0 mg/L. Estas variações tem sua contra partida sobre os valores de C_L que manifestamente não são proporcionais as concentrações como seria normal de predizer. Por outro lado, como mostrado na Figura 52, aparece uma melhor correlação entre as constantes e a tangente à origem.

Ácido Fúlvico

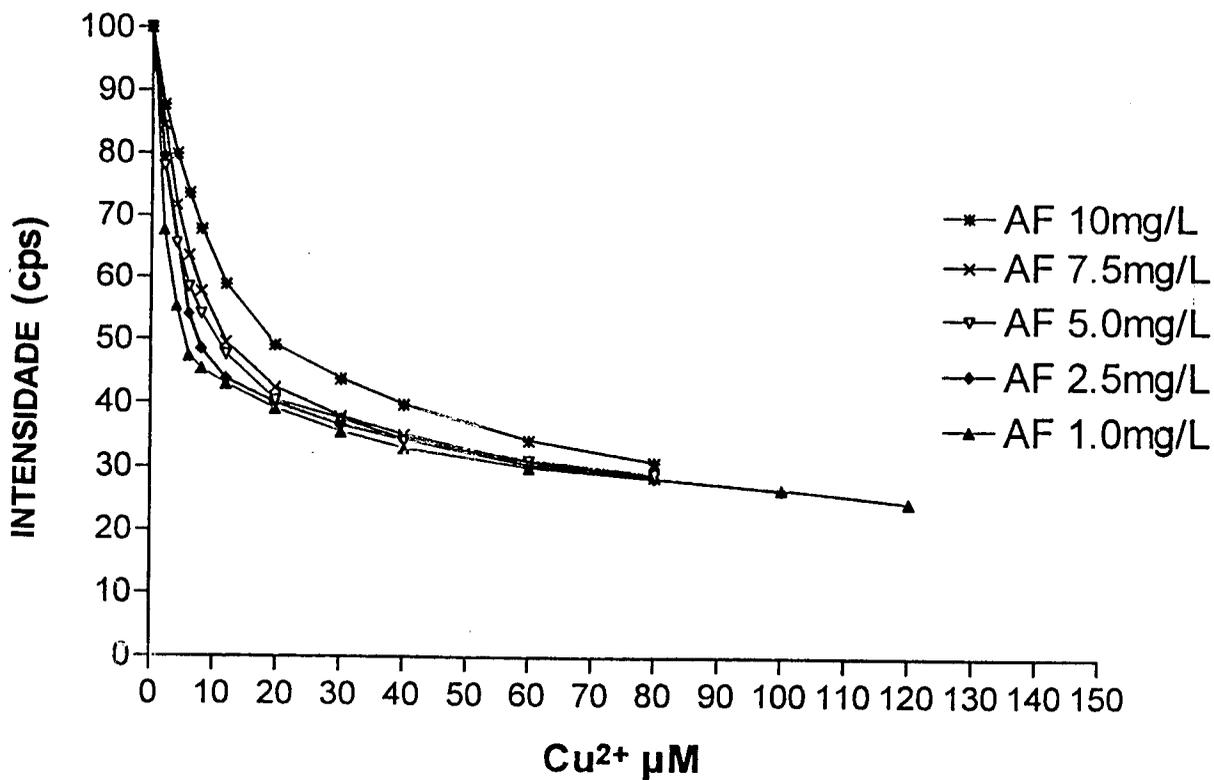


Figura 51. Efeito da diluição sobre o perfil das curvas de extinção da fluorescência do ácido fúlvico Suwannee River.

Tabela 6. Valores de K , I_{ML} e C_L determinados por parametrização total das curvas de complexação por Cu^{2+} para diferentes concentrações de AFSR.

Comparação dos valores de C_L (param.) com aqueles calculados a partir das tangentes à origem (C_L tangente). Para os cálculos de C_L tangente, os valores de K e I_{ML} utilizados são aqueles obtidos por parametrização da curva para $C_{AFSR} = 5,0$ mg/L, mantendo C_L fixo em 10^{-7} M. $K = 2,21 \times 10^5 M^{-1}$ e $I_{ML} = 27,2 \%$

C_{AFSR} (mg/L)	K (M^{-1})	I_{ML} (%)	C_L (param. dir)	dl/dC_M ($C_M \rightarrow 0$)	C_L (Tang)
1	$3,60 \times 10^5$	26,77	$1,20 \times 10^{-9}$ M	$15,38 \times 10^6$ $\pm 6,7 \times 10^5$	$0,21 \times 10^{-6}$ M $\pm 0,2 \times 10^{-6}$
2,5	$3,91 \times 10^5$	28,56	$2,81 \times 10^{-6}$ M	$9,81 \times 10^6$ $\pm 6,3 \times 10^5$	$3,13 \times 10^{-6}$ M $\pm 0,2 \times 10^{-6}$
5	$2,21 \times 10^5$	27,23	$7,08 \times 10^{-9}$ M	$10,20 \times 10^6$ $\pm 4,6 \times 10^5$	$2,61 \times 10^{-6}$ M $\pm 0,2 \times 10^{-6}$
7.5	$1,91 \times 10^5$	24,9	$2,30 \times 10^{-6}$ M	$8,12 \times 10^6$ $\pm 4,27 \times 10^5$	$4,35 \times 10^{-6}$ M $\pm 0,4 \times 10^{-6}$
10	$1,09 \times 10^5$	24,58	$2,31 \times 10^{-6}$ M	$6,66 \times 10^6$ $\pm 3,2 \times 10^5$	$6,39 \times 10^{-6}$ M $\pm 0,5 \times 10^{-6}$

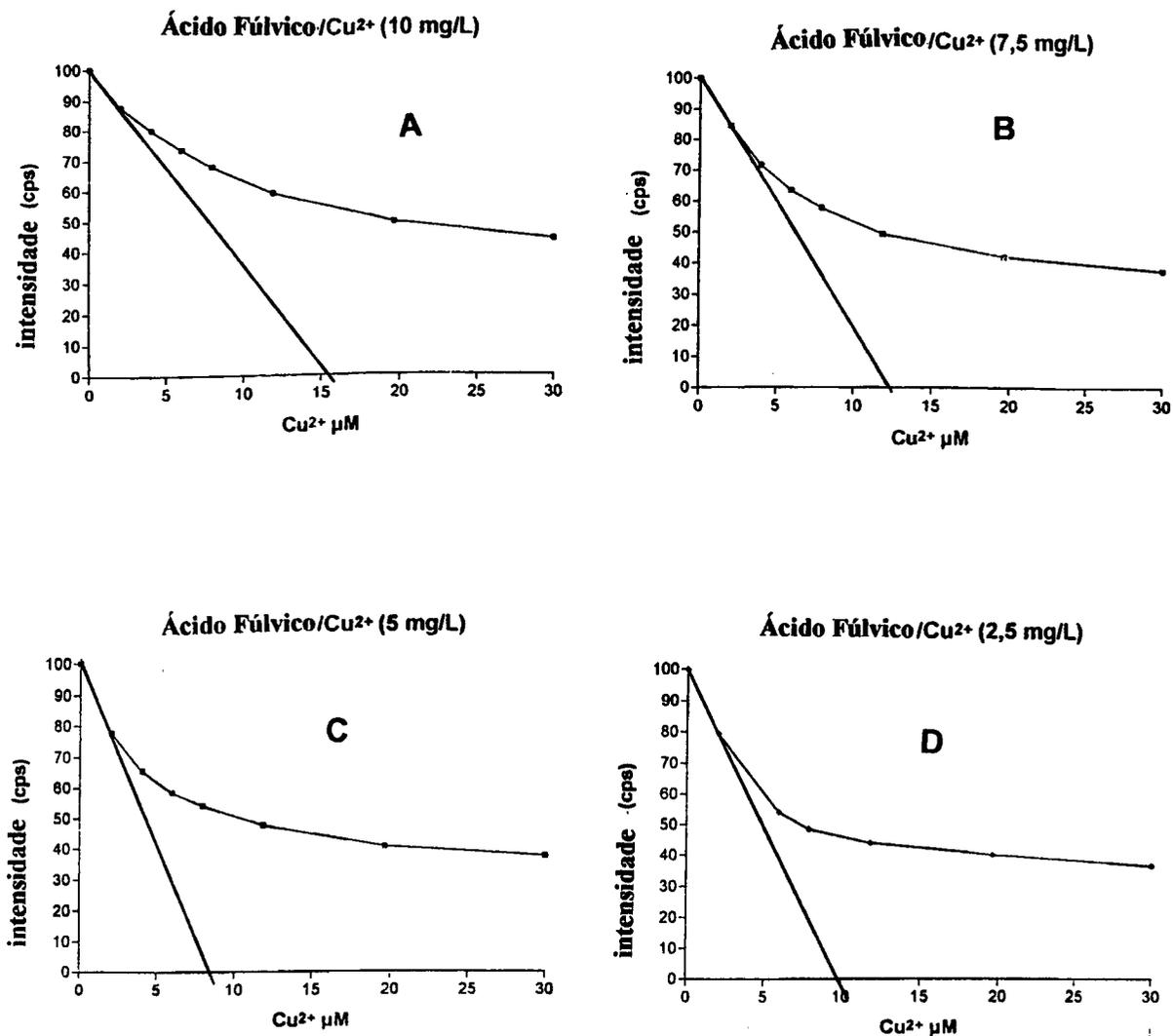


Figura 52. Curvas de extinção da fluorescência do ácido fúlvico Suwannee River e tangente à origem em função da concentração de íons cúpricos para diferentes concentrações de ácido fúlvico.

Entretanto, entre 5 e 2,5 mg/L a tangente à origem varia muito pouco e nós podemos considerar que os perfis das curvas para estas concentrações são independentes de C_L . Em fixando $C_L = 10^{-7}$ M, a parametrização da curva à 5 mg/L, considerando somente sobre K e I_{ML} , tem conduzido aos valores de $K = 2,21 \times 10^5$ M^{-1} , e $I_{ML} = 27.2$, ou seja, aos mesmos valores que aqueles obtidos por parametrização total. Com a ajuda da expressão 52 e em utilizando estes valores assim como as tangentes à origem determinadas graficamente, nós podemos calcular os valores de C_L . Estes valores (tangente C_L) são apresentados na ultima coluna da Tabela 6.

Na Figura 53 nós apresentamos os valores de C_L dados para os dois cálculos em função da concentração em AFSR (C_{AFSR}). Os valores de C_L parametrizados parecem totalmente aleatórios, por outro lado, uma boa correlação é obtida com os valores da tangente C_L até 5 mg/L. Para $C_{AFSR} = 2,0$ e 1,0 mg/L, na qual, muito provavelmente o valor de $K C_L$ é fraco para possuir uma influencia sobre a tangente à origem, esta correlação é menos evidente.

VII.3.5.5. APLICAÇÃO ÀS ÁGUAS NATURAIS.

a). ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA DAS ÁGUAS NATURAIS ESTUDADAS.

A Figura 54 representa os espectros de fluorescência excitados a 313 nm de uma amostra de água coletada próximo da vila de La Réole e colocada em presença de íons cúpricos em quantidades crescentes. O espectro observado é constituído de uma banda larga sem estrutura com um máximo a aproximadamente 450 nm, muito parecida com o espectro do ácido fúlvico Suwannee River. Sua intensidade na ausência de Cu^{2+} adicionado parece 3 vezes mais fraca que aquelas medidas a partir de uma solução de AFSR à 10 mg/L. Espectros semelhantes foram obtidos com as outras amostras coletadas próximos de Langoiran e Pauillac.

A fraca intensidade de fluorescência para estas águas, é devida as fracas concentrações das substâncias húmicas presentes. Os valores em carbono orgânico dissolvido (COD) determinados para estas amostras (Tabela 7) mostram que nestes

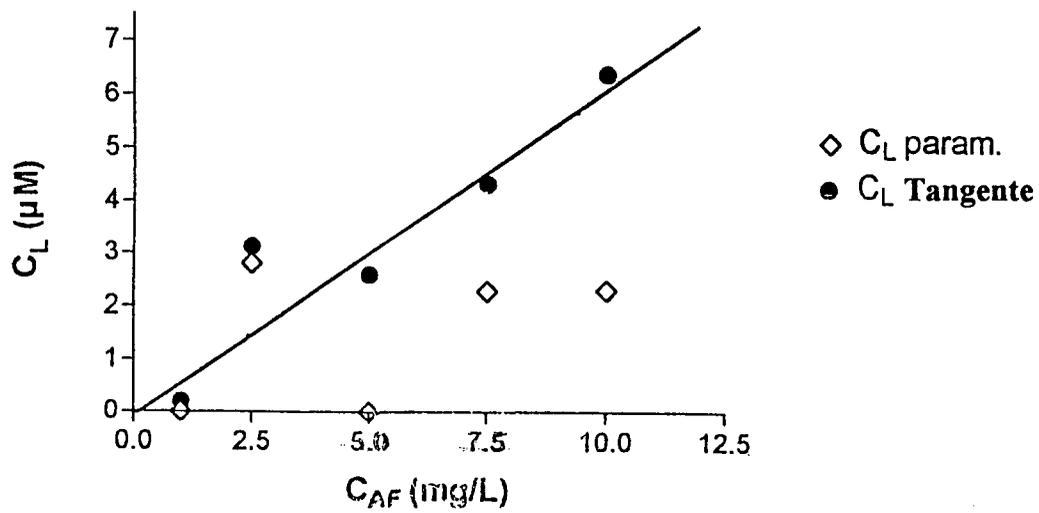


Figura 53. Efeito da diluição sobre os valores de C_L determinados pela tangente à origem das curvas de extinção obtidas para diferentes concentrações de ácido fúlvico.

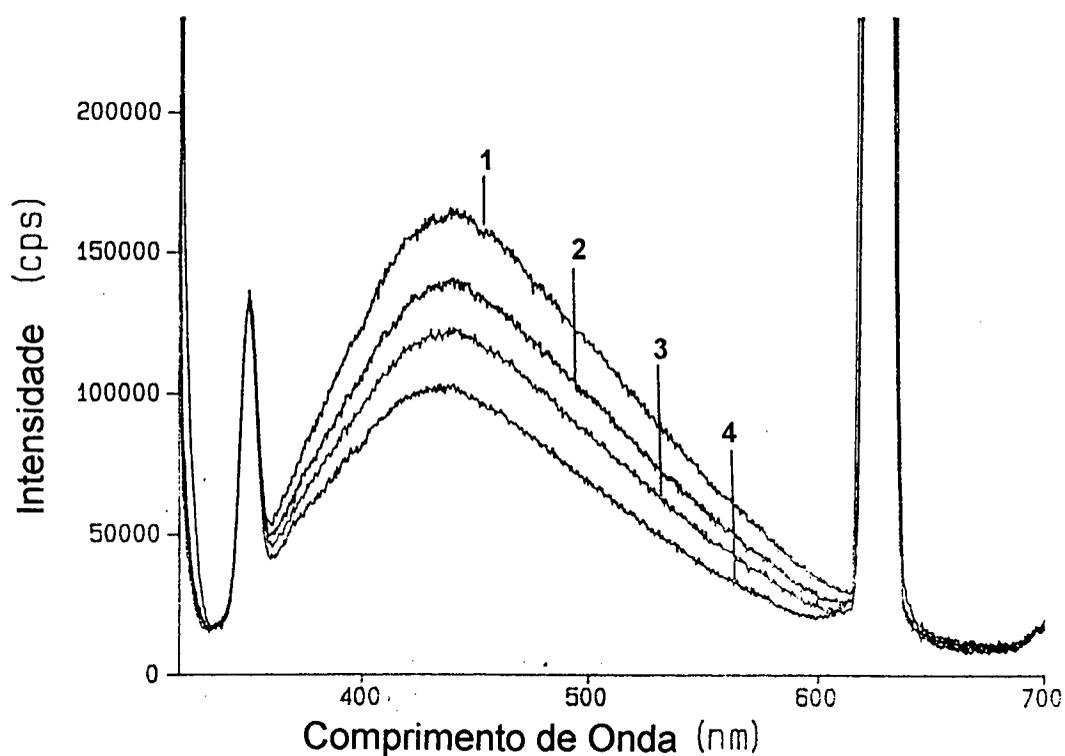


Figura 54. Espectro de emissão de fluorescência de água da Garonne coletada próximo de La Réole e a extinção de sua fluorescência em presença de íons cúpricos.

$\lambda_{Exc.} = 313 \text{ nm}$; pH = 8,1

$[Cu^{2+}] = 1: 0,0; 2: 12 \times 10^{-6} \text{ M}; 3: 40 \times 10^{-6} \text{ M}; 4: 60 \times 10^{-6} \text{ M}.$

Tabela 7. Valores de K, IML e CL (param.) determinados por parametrização total das curvas de complexação por Cu^{2+} de diferentes amostras de águas naturais e valores dos limites inferiores de K (K tangente) estimados após as tangentes à origem.

Comparação com os resultados obtidos com o AFSR à 10 mg/L.

Amostras	COD* mg/L	C_L (M) (param.)	$K \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$ (param.)	I_{ML} (%) (param.)	Dif. Quad. média	$K \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$ (Tang)
Pauillac	2,4	$8,7 \times 10^{-10}$	1,48	47,9	0,63	> 3,1
La Réole	1,95	$6,3 \times 10^{-10}$	0,49	67,5	0,40	> 1,3
Langoiran	2,6	$5,8 \times 10^{-10}$	2,09	52,5	0,76	> 3,6
AFSR (10 mg/L)	$\cong 5,5$	$6,4 \times 10^{-6}$	1,09	24,6	0,19	

* : COD determinado em um aparelho HORIBA por termólise em presença de oxigénio e detecção IR.

três sítios de coleta, as concentrações em COD são praticamente as mesmas. Estes valores são um pouco mais fracos que aqueles encontrados em análises precedentes (Berger *et al.*, 1984). A coleta das amostras foi realizada durante um período de fortes chuvas que proporcionaram fortes concentrações de partículas em suspensão constituídas em particular de argilas (Etcheber, 1978). É possível que uma grande parte do material orgânico tenha sido subtraído da fase dissolvida pela adsorção sobre estas partículas.

Tem sido observado que a adsorção de substâncias húmicas sobre as partículas de argila recobertas de oxido de ferro é particularmente eficaz (Hiraide, 1994). Em se baseando sobre um teor em carbono orgânico de 0,55 g/g de matéria estimada com relação ao ácido fúlvico Suwannee River (Reddy *et al.*, 1989) e aos valores do COD medidos para nossas amostras, a quantidade de substâncias húmicas dissolvidas em nossas amostras pode ser estimada entre 2 e 5 mg/L.

b) EXTINÇÃO DA FLUORESCÊNCIA EM PRESENÇA DE Cu^{2+} .

Na Figura 55 é apresentada a intensidade de fluorescência das amostras coletadas, excitadas à 370 nm e as medidas para as concentrações crescentes de Cu^{2+} . Os parâmetros K , C_L e I_{ML} determinados por parametrização são reagrupados na Tabela 7. Na figura 55, foram igualmente traçados, as curvas teóricas de extinção de fluorescência calculadas com a ajuda destes parâmetros. Os valores de C_L encontrados são extremamente fracos e provavelmente não significativos. Considerando as fracas concentrações em substâncias húmicas estimadas, deve-se lembrar que nós estamos em condições onde os perfis das curvas de extinção são independentes de C_L e que é portanto difícil de determinar C_L com precisão. As dificuldades encontradas por Berger (Berger *et al.*, 1984) por ocasião de uma experiência anterior, sem duvida explicam-se pelas mesmas razões. Um outro ponto a observar nestes resultados, são os valores importantes de I_{ML} que são todos superiores a 50%. Estes valores testemunham a presença em nossas amostras de centros fluorescentes que não interagem com o cobre. Isto pode resultar seja da ausência de uma possível complexação com o cobre, seja de uma competição com metais diamagnéticos como o níquel ou o zinco onde a complexação não perturba a fluorescência (Saar *et al.*, 1980). Em se referindo aos

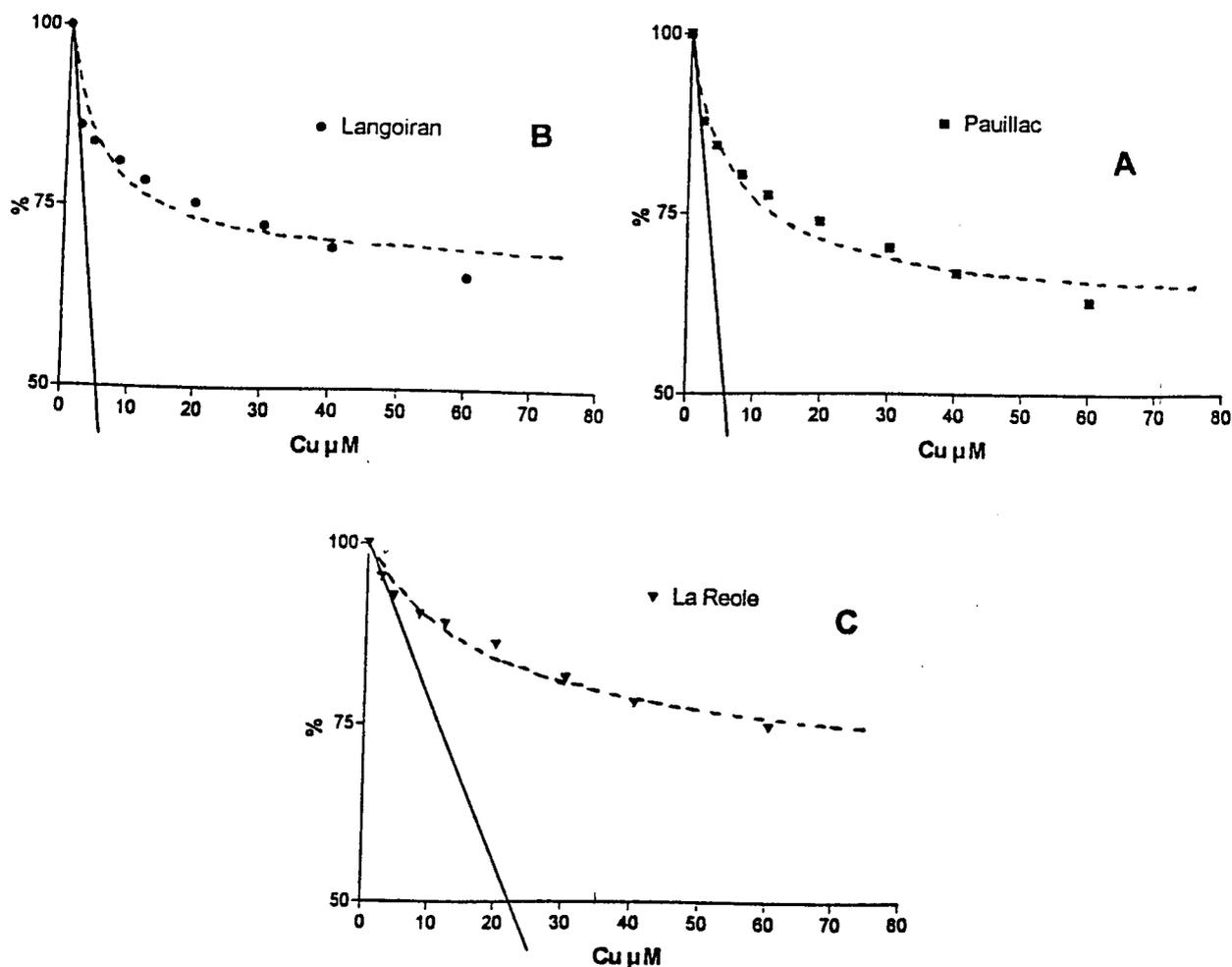


Figura 55. Comparação entre as curvas experimentais de extinção da fluorescência de três águas do Garonne coletadas (A) Pauillac, (B) Langoiran e © La Réole e suas respectivas curvas de extinção simuladas baseadas no modelo de Ryan e Weber.

— : Curvas experimentais

- - - - : Curvas teóricas calculadas com a ajuda dos parâmetros reproduzindo de forma satisfatória o perfil inicial das curvas experimentais.

(A): $K = 1,48 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$; $C_L = 10^{-6} \text{ M}$; $I_{ML} = 47,9$. **(B):** $K = 0,49 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$; $C_L = 10^{-6} \text{ M}$; $I_{ML} = 67,5$. **(C):** $K = 2,09 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$; $C_L = 10^{-6} \text{ M}$; $I_{ML} = 52,5$.

valores médios de zinco, níquel e cobre encontrados na Garonne (Etcheber, 1978) e outros metais como o cádmio, o manganês ou o cobalto (Besson, comunicação pessoal) todos inferiores à 10^{-6} M, a segunda hipótese parece pouco provável.

A primeira hipótese implica que as substâncias húmicas fluorescentes dissolvidas no Garonne apresentam um fraco poder complexante. A confirmação desta hipótese necessita de um estudo mais aprofundado.

Para todas as amostras, a duplicação da raia Rayleigh foi observada a partir aproximadamente de uma concentração em Cu^{2+} de 60 μM . Neste caso nós realizamos as experiências ao pH natural, ou seja, a pH 8,1. Nesta faixa de pH, a duplicação da raia Rayleigh pode ser devida a formação de $\text{Cu}(\text{OH})_2$ e a floculação de substâncias coloidais orgânicas e inorgânicas não retidas pela filtração a 0,45 μm (Berger *et al.*, 1984).

Após a expressão 52, pôd-se observar que sempre que C_L tende para um valor fraco, a tangente à origem que é proporcional a K tende para $(I_{ML} - 100)K$. Esta relação permite uma estimacão do limite inferior de K. Os valores limites também calculados (Tabela 7) são todos superiores aos valores determinados por parametrização. Mesmo que os valores sejam de mesma ordem de grandeza que aqueles determinados anteriormente (Berguer *et al.*, 1984), este resultado mostra que a parametrização das curvas dá valores de K muito fracos. Isto adicionado ao fato de que diferenças notáveis são constatadas entre os pontos experimentais e os pontos calculados como mostram as diferenças quadráticas médias calculadas. Elas são muito mais elevadas do que aquelas calculadas para o AFSR à 10 mg/L, mostrando que as curvas experimentais não podem ser parametrizadas com precisão à ajuda da expressão 50.

Os resultados relativamente satisfatórios obtidos com o AFSR, resultam provavelmente de uma certa homogeneidade das constantes de complexação dos diferentes centros tornando aplicável o modelo mono-ligante de Ryan e Weber. No caso das águas naturais, a composição das substâncias orgânicas é bem mais complexa. Mesmo que o material fluorescente seja provavelmente dominado pelos ácidos fúlvicos (Ewald *et al.*, 1983), outras substâncias como os ácidos húmicos, os ácidos hidrófilos ou as moléculas menores podem contribuir igualmente à fluorescência (Belin *et al.*, 1993). Neste caso, as constantes de complexação muito

diferentes umas das outras intervêm. Para estes sistemas um modelo multi-ligante é melhor adaptado. A solução de problemas deste tipo é extremamente complexa e poucos trabalhos têm sido desenvolvidos nesta área. Duas aproximações tem sido testadas. Machado et al., 1994 desenvolveu um método baseado na análise dos componentes principais dos espectros de fluorescência síncrono (Machado *et al.*, 1994). Uma outra aproximação foi desenvolvida baseada na teoria Ryan e Weber adaptado ao caso de vários ligantes. As duas aproximações requerem um tratamento complexo dos dados que tornam difícil sua utilização.

VII.4. EFEITO DO pH SOBRE OS ESPECTROS DE EMISSÃO E DE EXCITAÇÃO DA FLUORESCÊNCIA DO ÁCIDO FÚLVICO SUWANNEE RIVER (AFSR).

4.1. OBJETIVO DESTE TRABALHO.

Uma das propriedades fundamentais das substâncias húmicas é o seu caráter ácido-base. Isto é devido a presença de grupos carboxílicos e de grupos fenólicos. O ácido fúlvico Suwannee River, como a maior parte dos ácidos fúlvicos, contem aproximadamente 6,1 miliequivalentes por grama (meq/g) de grupos carboxílicos e 1,2 miliequivalentes por grama (meq/g) de grupos fenólicos (Bowles *et al.*, 1989).

As características ácido-base dos ácidos fúlvicos têm sido essencialmente estudadas por métodos de titulação potenciométrica. Poucos estudos tem sido feitos por fluorimetria, em particular por fluorimetria clássica. A razão reside nas fracas variações espectrais observadas com a variação do pH. Afim de evitar a fraqueza do efeito do pH, alguns autores tem proposto utilizar a técnica da fluorescência síncrono (De Souza Sierra, 1992, Cook *et al.*, 1995, Pullin *et al.*, 1995) que conduz à uma amplificação das variações conjugando os espectros de fluorescência e de excitação da fluorescência. Ainda que sensível, este método apresenta o inconveniente de produzir espectros onde as informações puramente espectrais não são diretamente acessíveis. Mesmo com uma boa sensibilidade aos perfis dos espectros, o método requer uma correção extremamente precisa das respostas

instrumentais tanto em emissão quanto em excitação, o que nem sempre bem avaliado nos trabalhos publicados.

Levando-se em conta a sensibilidade e a precisão do espectrofluorímetro SPEX que foi utilizado e a possibilidade que ele oferece de se obter espectros corrigidos, nós resolvemos retomar este estudo utilizando o método clássico de registro de espectros em função do pH. Neste trabalho, nós estudamos a influencia da variação do pH sobre os espectros de emissão de fluorescência e de excitação de fluorescência do AFSR.

VII.4.2. DISPOSITIVO EXPERIMENTAL.

O efeito do pH sobre o espectro de emissão de fluorescência e de excitação de fluorescência do ácido fúlvico Suwannee River (AFSR) foi estudado sobre uma solução à 10 mg/l deste ácido em água Milli-Q e com uma força iônica igual a zero. Os pH foram ajustados com a ajuda de uma solução de HCl 6M e de uma solução de KOH, 0,1M. As medidas de pH foram realizadas com um pH-Metro/ionômetro de Laboratório do tipo Orion modelo 720A acoplado a dois eletrodos Ingold; um eletrodo de referencia tipo Argenthal e um eletrodo de vidro. O pH-Metro foi calibrado com uma solução de HCl 10^{-2} M padrão na faixa de pH de 2 a 12 (Martell *et al.*, 1992). As medidas foram realizadas com a ajuda de uma célula com circulação como descrito na Figura 14 do capítulo III. Esta célula na qual são inseridos os eletrodos citados acima, possui varias entradas e saídas que servem para adicionar os reativos e para a circulação da solução para a célula fluorimétrica. A temperatura da solução foi mantida constante a 20°C por circulação entre a dupla parede da célula de um fluido termostatizado, com a ajuda de um criotermostato Ministat Bioblock. Os tubos ligando a célula ao fluorímetro assim como a bomba de circulação (Masterflex, débito de 25 ml/min.) foram em Teflon. O conjunto foi protegido da luz com folhas de alumínio.

VII.4.3. RESULTADOS.

Nas Figuras 56a e 56b estão representados os espectros de fluorescência do AFSR obtidos em diferentes pH e para excitações centradas respectivamente a 313

nm e 370 nm. De uma maneira global, como já observado em geral para ácidos fúlvicos (Pullin *et al.*, 1995), podem ser vistas variações muito fracas no perfil das curvas. As mais significativas são observadas do lado dos grandes comprimentos de onda. Para os espectros excitados a 313 nm, o aumento de pH é traduzido por um alargamento do espectro, ao contrário, para os espectros excitados a 370 nm, este mesmo aumento do pH conduz a um afinamento do espectro. Este comportamento indica que as excitações a 313 nm e a 370 nm conduzem a excitação de fluorófilos que diferem não somente por suas propriedades espectroscópicas (absorção diferente a 310 nm e a 370 nm) mais igualmente por suas propriedades ácido-básicas.

Neste estado, levando-se em conta as fracas variações dos espectros de fluorescência, é difícil tirar outras conclusões destas medidas. As informações mais precisas podem ser, entretanto, obtidas pelo exame dos espectros de excitação de fluorescência. Estes são reproduzidos nas Figuras 57a e 57b. O conjunto destes espectros foram registrados para um comprimento de onda de observação centrado a 445 nm.

A evolução dos perfis dos espectros de excitação em função do pH permite distinguir quatro faixas de pH.

- No pH inferior a aproximadamente 3,0, o espectro apresenta uma banda intensa com um máximo bem marcado a 320 nm.

- Entre os pH 3,0 e 5,0 esta banda diminui em intensidade de uma maneira significativa. Da observação dos pKas médios observados para os grupamentos carboxílicos, esta diminuição parece ter correlação com a desprotonação destes grupos (Pullin *et al.*, 1995).

- Entre pH 5 e aproximadamente 8,5, nós observamos um alargamento do espectro para os grandes comprimentos de onda, consecutivo a um aumento da intensidade na região de 350 - 400 nm enquanto que a intensidade a 320 nm está praticamente constante. Este resultado pode ser correlacionado com a desprotonação de grupos fenólicos ácidos.

- A pH superiores a 8,5 nós observamos uma diminuição global do espectro acompanhado de uma ligeira deformação da banda devido a uma diminuição mais rápida da intensidade entre 350-400 nm que a 313 nm. Esta modificação pode ser atribuída à desprotonação dos grupos fenólicos e/ou as modificações da

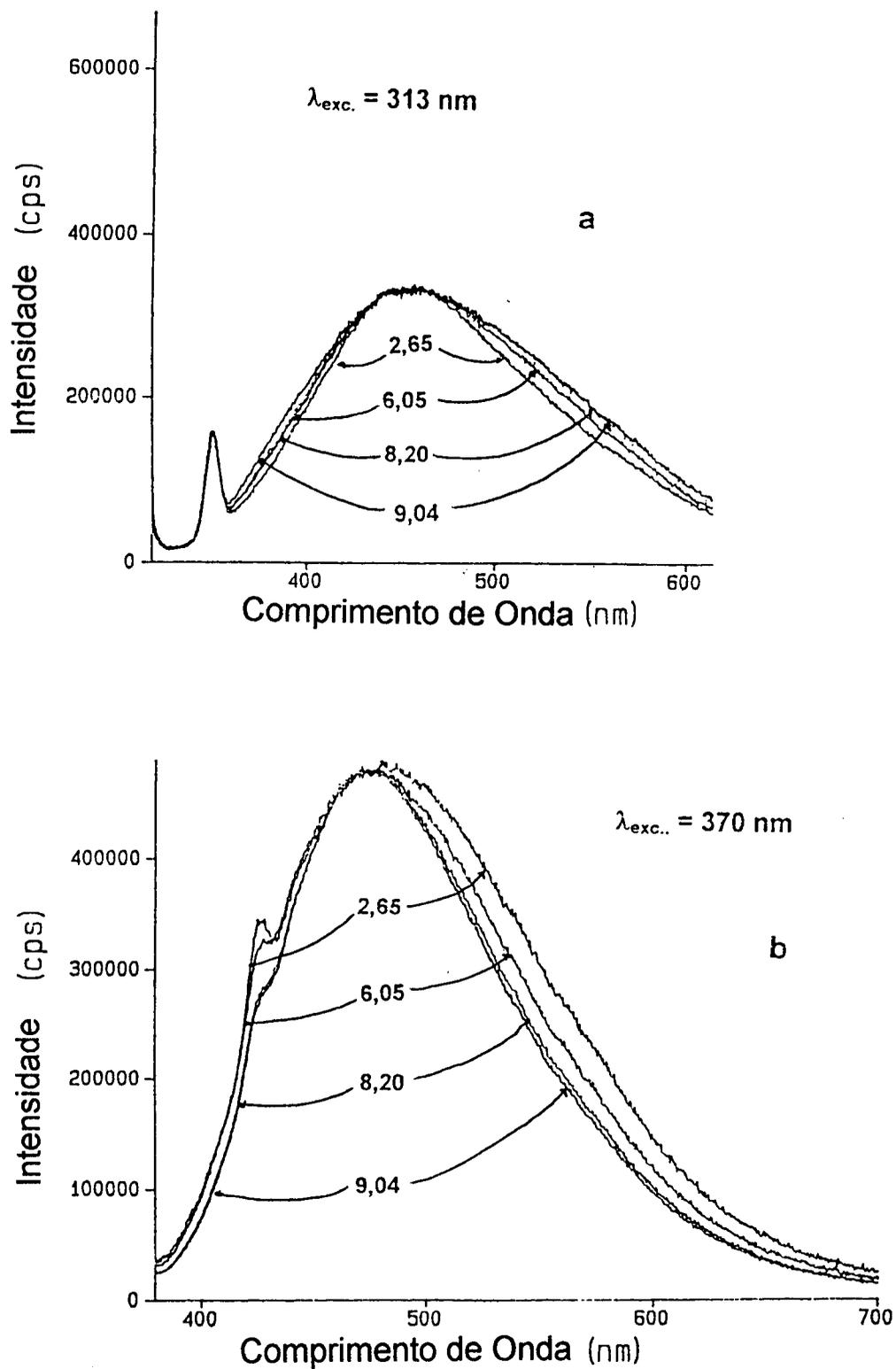


Figura 56. Espectros de fluorescência do AFSR (10 mg/L) à diferentes pH: a) $\lambda_{Exc.} = 313 \text{ nm}$, b) $\lambda_{Exc.} = 370 \text{ nm}$.

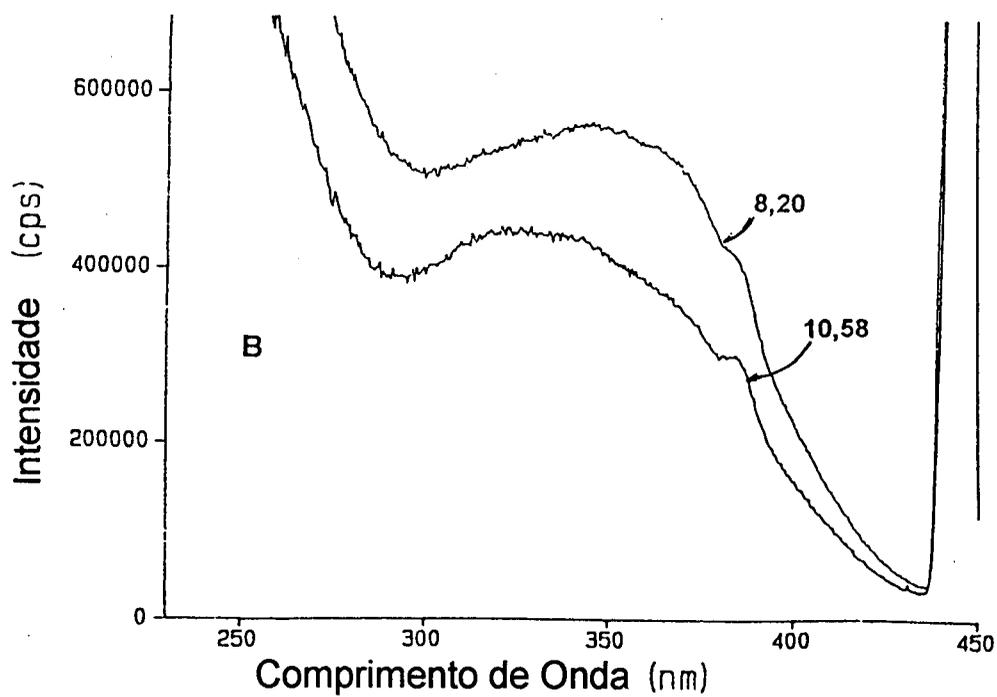
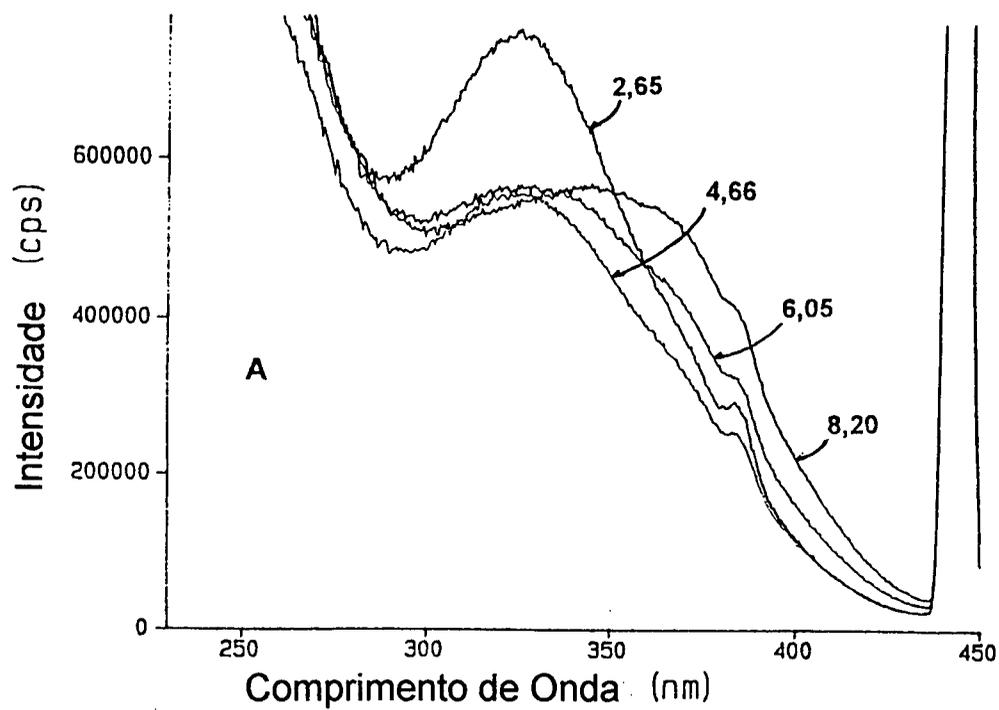


Figura 57. Expectros de excitaçao da fluorescência do AFSR (10 mg/L) à diferentes pH: $\lambda_{obs.} = 445$ nm.

conformação das moléculas consecutivas a uma modificação das interações eletrostáticas no meio (Ghosh *et al.*, 1980). Nesta hipótese, a diminuição da intensidade de fluorescência nesta faixa de pH parece estar ligada a uma floculação parcial de moléculas de ácidos fúlvicos como parece provar o aumento da turbidez que foi observada.

Do conjunto destes resultados, nós observamos que o espectro de excitação de fluorescência pode ser decomposto em dois componentes: o primeiro situado na região de 300 - 350 nm e o segundo na região de 350 - 400 nm. O primeiro componente parece ser dominado pelos fluorófilos ricos em grupos carboxílicos. O comportamento em função do pH do segundo componente indica uma contribuição majoritária de fluorófilos contendo grupos fenólicos.

As faixas de pH representados aqui e para as quais as modificações foram observadas estão de acordo com os resultados obtidos por fluorimetria síncrono (Cook *et al.*, 1995, Pullin *et al.*, 1995). Nossos resultados entretanto fizeram aparecer dados espectroscópicos novos conduzindo a localização das faixas espectrais diferentes para os fluorófilos carboxílicos e fenólicos. Estas informações possuem um grande interesse para se estabelecer de uma maneira precisa as diferenças a adotar entre comprimento de onda de excitação e comprimento de onda de emissão para o registro do espectro de fluorescência síncrono. Esta aproximação parece interessante e melhor adaptada para a aplicação deste método que normalmente consiste na escolha arbitrária desta diferença.

QUARTA PARTE

**CONTAMINAÇÃO POR METAIS PRESENTES EM SEDIMENTOS DE
SUPERFÍCIE DE MANGUES, LAGOAS E DA BAIÁ SUL NA ILHA DE
SANTA CATARINA.**

CAPITULO VIII

CONTAMINAÇÃO POR METAIS PRESENTES EM SEDIMENTOS DE SUPERFÍCIE DE MANGUES, LAGOAS E DA BAIJA SUL NA ILHA DE SANTA CATARINA

VIII.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Os metais em baixos teores (traços) de ocorrência no meio ambiente são resultantes ou de aportes naturais ou contaminação antropogênica (Förstner *et al.*, 1983, Ochiai, 1995). Estes aportes antropogênicos podem ser estimados após a determinação das anormalidades geoquímicas naturais (Bryan, 1976, Ochiai, 1995).

Ambientes estuarinos e costeiros são ecossistemas sob um importante stress contaminante, isto porque eles quase sempre representam áreas de alta atividade industrial (indústrias e portos) ou atividades livres (Wood, 1975, Bryan, 1976, Lacerda *et al.*, 1987, Long, 1992, Queiroz *et al.*, 1993). Metais tóxicos tais como mercúrio, cádmio, arsênico, cobre e outros podem então ser descarregados diretamente ou indiretamente no meio ambiente podendo acumular-se em sedimentos. O efeito 'memória' do sedimento pode depender de vários fatores tais como, sua possibilidade de mobilização via processos biogeoquímicos (bioturbação, dissolução, difusão ...). O esquema de especiação química sob o qual eles ocorrem pode também constituir um forte fator regulando seu comportamento e destino via acumulação na cadeia alimentar e passando aos seres humanos onde podem provocar doenças crônicas e graves (Förstner *et al.*, 1983).

A determinação de traços de metais em sedimentos é então uma fonte vital de informações para avaliar a contaminação antropogênica (Shine *et al.*, 1995). A variabilidade geográfica do conteúdo de metais em sedimentos permite identificar fontes de poluição quando corrigidos após determinação dos principais parâmetros geográficos (Goldberg *et al.*, 1977, Santschi *et al.*, 1984, Finney *et al.*, 1989).

Uma extensa série de fatores geoquímicos controlam a concentração e a distribuição de traços de metais nos sedimentos (Shine *et al.*, 1995). O uso de

técnicas estatísticas para a determinação das inter-relações entre as variáveis medidas é necessária para permitir uma avaliação racional dos fatores que controlam a concentração dos traços de metais no meio ambiente (Massart et al., 1988, Miller et al., 1988). Análise de componentes principais (ACP), múltipla regressão ou determinação da correlação parcial permite-nos obter inúmeras informações a partir de conjuntos de dados ambientais multi-variados.

O objetivo deste trabalho é realizar uma primeira averiguação geoquímica da distribuição de traços de metais em sedimentos de superfície na ilha de Santa Catarina. Análises prévias da contaminação por metais na ilha de Santa Catarina foram feitas somente sobre organismos aquáticos (Queiroz et al., 1994) e ficou evidenciado que altos níveis de metais pesados como Cd e Ni estavam presentes.

Este trabalho representa a primeira etapa de um programa devotado a determinação dos níveis de concentração de vários metais em sedimentos de mangues, lagoas e baías na ilha de Santa Catarina. Isto é uma parte de um projeto patrocinado pela comunidade europeia intitulado "Toward a Model of Latin-American/European Integration : A joint Research Project : Coastal Zone Management in Santa Catarina Island, Brazil".

Nesta primeira etapa, a análise do conteúdo total de metais foi realizada pelo uso da técnica de ICP-MS o qual assegura uma boa sensibilidade e uma análise multi elementar. Como complemento, os dados para a distribuição dos metais em diferentes áreas foram analisados pelo uso de varias técnicas estatísticas com o objetivo de obter uma estimativa dos níveis de contaminação de traços de metais na ilha. Nesta primeira etapa, nos determinamos as concentrações de metais em sedimentos de superfície, mas para um completo conhecimento do presente estado da contaminação por metais na ilha de Santa Catarina, a análise de metais em sedimentos mais profundos pode ser realizado no futuro como uma continuação do programa.

VIII.2. LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA.

A ilha de Santa Catarina (27° 37' S, 48° 27' W), está localizada na costa atlântica sul do Brasil (431 Km² de superfície total). Com um clima subtropical e adjacente ao continente, a ilha de Santa Catarina é caracterizada por um vigoroso

relevo de inselbergs graníticos. A distribuição da superfície nesta ilha mostra que as dunas cobrem aproximadamente 11% da superfície total, os mangues 14.7%, os lagos e as lagoas em conexão com o mar 6.5% (Figura 58). A costa tem 98 Km de praias. A ilha de Santa Catarina é separada do continente por duas baías, a baía norte e a baía sul. A cidade de Florianópolis está localizada sobre a linha que divide as duas baías. O lado continental é ocupado por uma parte da cidade de Florianópolis e outros importantes centros urbanos. No total, existem aproximadamente 455.000 habitantes em volta das duas baías. A principal atividade econômica é o turismo (na ilha) e a indústria (no continente) (Sierra de Ledo *et al.*, 1995).

VIII.3. PARTE EXPERIMENTAL

VIII.3.1. COLETA DE AMOSTRAS DE SEDIMENTOS DE SUPERFÍCIE.

Vinte e oito sedimentos de superfície foram coletados durante o mês de maio de 1995 em ambientes geográficos típicos da ilha de Santa Catarina: o mangue de Itacorubi (MI, 4 amostras), Ratonas (MR, 6 amostras) e Tavares (MT, 3 amostras), nas lagoas da Conceição (LC, 7 amostras) e Peri (LP, 5 amostras) e na Baía Sul (SB, 3 amostras) A localização da amostragem e suas coordenadas geográficas (GPS-REALMARINE-"ACCUNAV-EAGLE") são mostradas na Figura 59. Os sedimentos de superfície foram coletados nos primeiros 10 mm por uma raspagem suave com espátulas de Teflon e polietileno limpas. Após a coleta, as amostras foram colocadas em sacos plásticos anteriormente limpos com ácidos, selados e refrigerados até a análise. Parâmetros geoquímicos tais como conteúdo em água, distribuição da granulometria e o conteúdo em matéria orgânica (expresso após perda por calcinação) foram também determinados. A distribuição granulométrica foi determinada por métodos clássicos de densimetria. Os sedimentos foram secos a temperatura ambiente sob condições de limpeza e foram moídos com um morteiro de ágata para obter uma mistura homogênea de granulometria aproximadamente 100 mesh.



Figura 58. Mapa da ilha de Santa Catarina com as suas características geográficas.

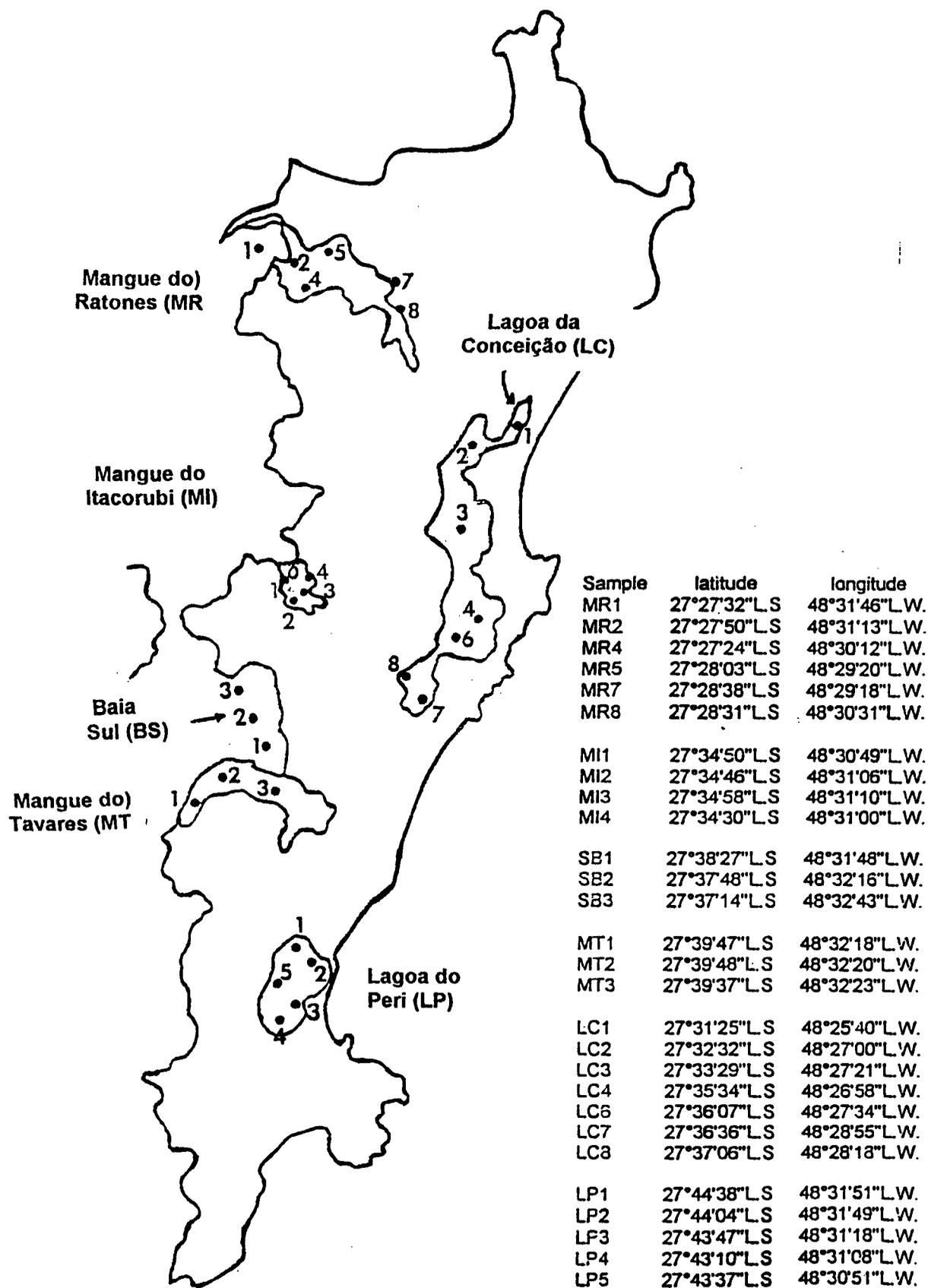


Figura 59. Localização e coordenadas geográficas das amostras de sedimento de superfície coletadas na ilha de Santa Catarina.

VIII.3.2. ANALISE DOS SEDIMENTOS.

As concentrações totais de Hg, Pb, Cd, Se, As, Sn, U, Zn, Ni, Cu, Cr, Sb, Sr, Pd e Ag, foram determinadas em cada sedimento de superfície. A extração dos metais foi realizada com o auxílio da técnica de digestão por microondas (Microdigest A301 PROLABO) em cinco etapas, adaptado a partir da técnica de Vidot (Vidot et al., 1992). A digestão foi feita sobre 100 ± 1 mg de sedimento seco.

O protocolo de digestão, como dito acima, possui cinco etapas de digestão e é descrito como segue. As amostras foram primeiro dissolvidas em 2,0 mL de uma solução de HNO_3 69% e expostas à radiação microondas por 5 minutos a uma potência de 20 W. Na segunda etapa, 1,0 mL de uma solução de HCl 37% foi automaticamente adicionada às amostras que foram expostas ao microondas a uma potência de 40 W por 5 minutos. Na terceira etapa, 2,0 mL de uma solução de HF 40% foi adicionada às amostras e foram irradiadas (40 W) por 20 minutos. Na quarta etapa, a solução foi exposta a uma potência de 170 W por 20 min até a secagem. Na etapa final, 20,0 mL de uma solução de HNO_3 2% foi adicionada às amostras secas e então expostas no microondas à uma potência de 70 W por adicionais 10 minutos. Este procedimento, extraiu e solubilizou com eficiência os metais contidos nas matrizes sedimentares (Lalere, 1995). A solução resultante foi transferida para um frasco de polietileno e então pesada cuidadosamente.

Todos os reagentes utilizados possuíam um alto grau de pureza para análise de traços e as soluções foram preparadas em água Milli-Q. Todas as digestões dos sedimentos foram realizadas em frascos de Teflon abertos. Este material é particularmente utilizado por causa da sua boa resistência química a ácidos, boa estabilidade térmica e transparência ao microondas. Os frascos em Teflon foram vigorosamente limpos entre cada tratamento das amostras, com soluções ácidas (HNO_3 , HCl, HF concentrado). Após cada oito amostras um branco foi processado usando o mesmo procedimento como para uma amostra real e a solução final foi analisada para permitir uma correção das medidas do ICP-MS.

As concentrações dos metais foram determinadas por um Plasma Acoplado Indutivamente-Espectrômetro de Massa (ICP-MS - Perkin Elmer Elan 5.000) usando-se as soluções sem previa diluição. Os resultados finais foram expressos em μg de metal por grama de sedimento seco. O instrumento foi calibrado com

padrões externos. Após cada dez amostras, quatro soluções referencia frescas (10, 20, 40 e 100 ppb) e um branco preparado foram analisados para checar possíveis desvios na sensibilidade do instrumento. Um sedimento padrão, MAG-1, foi analisado para determinar a precisão analítica. Em todos os casos, a discrepância entre os valores medidos e os valores certificados estavam dentro do intervalo de confiança. A calibração realizada mostrou um coeficiente de correlação de 99.9% para cada metal analisado. A quantificação para cada elemento foi baseada sobre o mais abundante isótopo do elemento conhecido ser livre de interferências analíticas.

VIII.3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Os dados de concentração de metais, porcentagens de granulometria (menor que 0,062 mm) e matéria orgânica foram analisados por técnicas estatísticas multivariadas (Jöreskog *et al.*, 1976, Legendre *et al.*, 1983). Análise dos componentes principais (ACP), análise de múltipla regressão e cálculos dos coeficientes de correlação parcial com o software STATGRAPHICS versão 4.0. Os histogramas de concentração de metais foram feitos com o software EXCEL versão 4.0. Neste trabalho, a granulometria (Luoma, 1990, Wallace *et al.*, 1991, Loring *et al.*, 1992, Daskalakis *et al.*, 1995) (< 0.062 mm) e a matéria orgânica foram consideradas para verificar a correlação com as concentrações de metais encontrados nos sedimentos.

VIII.4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.

VIII.4.1. CONCENTRAÇÃO DOS METAIS NOS SEDIMENTOS DE SUPERFÍCIE.

A média e a faixa das concentrações que nós determinamos para os metais nos sedimentos de superfície da ilha de Santa Catarina estão sumariados na Tabela 8. Todas as concentrações foram reportadas como micrograma de metal por grama de sedimento pesado e seco. Quando comparamos nossos resultados com outros resultados compreendendo sedimentos de varias baias e estuários apresentando vários níveis de contaminação (Holmes *et al.*, 1974, Stenner *et al.*, 1975,

Summerhayes et al., 1977, Shine et al., 1995), nós verificamos que a concentração dos metais encontrados são muito variáveis tanto no conteúdo total dos metais quanto na locação. Esta observação pode entretanto ser corrigida pelo fato de que, em geral, a distribuição granulométrica dos finos (menor que 0.062 mm) é pequena, na verdade, menor que 15 % e com um alto teor de matéria orgânica (em geral maior que 15 %) sugerindo uma larga heterogeneidade dos materiais estudados.

Todas as concentrações determinadas para os metais foram comparadas com a composição média elementar de diferentes tipos de sedimentos (Salomons et al., 1984). O valor médio calculado sobre a Figura 60 e 61 tem um valor meramente indicativo. Os resultados sumariados na Tabela 8 mostram que para metais como Hg, Pb, Se, As, Sn, U, e Ag, as concentrações encontradas são maiores que a composição média elementar dos sedimentos enquanto para outros metais tais como Cd, Zn, Ni, Cu, Cr, Pd, Sb e Sr, as concentrações que nós encontramos são equivalentes ou ligeiramente menores. Estas observações não estão corretas para as concentrações que nos achamos para a distribuição granulométrica nem para o conteúdo de matéria orgânica.

A comparação entre as concentrações nas áreas que nós estudamos mostram que o mangue de Itacorubi e a baía sul na ilha de Santa Catarina são as áreas onde as concentrações para vários metais são mais altas. A matéria orgânica também foi encontrada ser mais abundante nestas áreas. Considerando a localização geográfica e a proximidade dos centros urbanos e industriais, estas áreas parecem ter a maior probabilidade para entradas antropogênicas.

A lagoa do Peri é uma reserva natural localizada em uma zona pouco urbanizada. Como esperado, as concentrações de muitos metais são pequenas. Selênio e prata o qual são maiores nesta lagoa são entretanto exceções.

Foram encontradas concentrações de Hg na faixa de 0 a 0,51 $\mu\text{g/g}$ com um valor médio de 0.22 $\mu\text{g/g}$ o qual é similar ao valor de 0.19 $\mu\text{g/g}$ correspondente a composição média elementar dos sedimentos (Salomons et al., 1984). Entretanto, o histograma de concentrações de Hg (Figura 60) mostra que grandes diferenças no teor de mercúrio podem ser observados não só de uma área para outra, mas também de uma amostra para outra na mesma área. Este é o caso para os mangues de Itacorubi e Ratoles com, respectivamente, 0.51 e 0.22 $\mu\text{g/g}$ de Hg sendo determinados em duas amostras (MI2 e MR2) enquanto em outras amostras, as

Tabela 8. Sumario dos dados para metais, granulometria (< 0,062 mm) e matéria orgânica em sedimentos de superfície de mangues, lagoas e baía sul na ilha de Santa Catarina. Todos os valores foram expressos em µg/g sobre o sedimento seco e pesado para os metais e em porcentagem para a granulometria (< 0,062 mm) (G0062) e matéria orgânica (ORG.MAT).

Metal		Baía Sul (BS)	Lagoa da Conceição (LC)	Lagoa do Peri (LP)	Mangue do Itacorubi (MI)	Mangue do Ratoões (MR)	Mangue do Tavares (MT)
	Average	0.03	0.05	0.01	0.22	0.07	0.06
Hg	Range	0 - 0.05	0 - 0.09	0 - 0.07	0.12 - 0.51	0.03 - 0.22	0.05 - 0.09
	Average	42.56	23.79	17.77	51.29	10.98	18.57
Pb	Range	41.96-43.5	6.17-31.42	2.74 - 24.84	47.95-56.45	2.28 - 28.12	13.67 - 26.1
	Average	0.09	0.11	0.13	0.12	0.05	0.07
Cd	Range	0.07 - 0.11	0.05 - 0.16	0.006 - 0.22	0.02 - 0.19	0.02 - 0.09	0.05 - 0.09
	Average	1.33	1.99	2.88	0.06	0	0.19
Se	Range	0.35 - 2.01	0 - 2.96	0.29 - 4.77	0 - 0.24	-	0 - 0.57
	Average	20.76	5.78	3.46	24.78	6.81	10.81
As	Range	18.1-56.16	1.37 - 9.25	0.54 - 5.73	21.36-31.12	0.77 - 16.06	9.06 - 12.57
	Average	4.96	3.35	2.72	6.56	1.43	1.97
Sn	Range	4.53 - 5.36	0.69 - 4.66	0.14 - 4.14	5.65 - 7.28	0.38 - 3.43	1.23 - 3.19
	Average	2.39	2.93	2.11	5.16	0.72	5.12
U	Range	0 - 3.6	0.5 - 35.1	0.28 - 3.95	5.1 - 5.24	0 - 3.38	3.57 - 7.95
	Average	101.05	56.09	59.66	94.41	26.89	42.83
Zn	Range	94.24-114	36.89-72.61	8.92 - 82.17	89.08-97.20	5.56 - 78.76	31.21 - 65.1
	Average	30.03	8.91	1.13	17.57	6.01	9.29
Ni	Range	18.84-51.06	0 - 14.91	0 - 5.69	15.62-25.04	1.13 - 17.15	6.28 - 13.84
	Average	25.25	32.96	36.52	33.18	14.57	20.33
Cu	Range	22.66-28.13	28.16-41.23	5.69 - 55.12	27.75-46.21	0.34 - 21.41	17.35 - 24.8
	Average	15.93	2.98	0	8.56	3.38	5.17
Cr	Range	11.01-25.07	0.85 - 5.33	-	8.17 - 8.82	0.55 - 10.05	3.69 - 7.26
	Average	0.58	0.43	1.06	0.38	0.14	0.34
Pd	Range	0.54 - 0.61	0.07 - 0.91	0.04 - 1.79	0.25 - 0.68	0.03 - 0.41	0.21 - 0.44
	Average	1.48	2.35	0.19	1.21	3.95	1.02
Sb	Range	1.11 - 2.08	1.14 - 3.26	0.07 - 0.28	1.03 - 1.37	0.10 - 19.65	0.81 - 1.25
	Average	348.69	185.22	79.14	69.85	74.51	159.69
Sr	Range	308.6-399.3	25.11-283.2	13.03-124.5	28.14-107.4	8.36 - 237.5	146.8 - 168
	Average	0.69	0.42	0.67	0.86	0.17	0.21
Ag	Range	0.57 - 0.86	0.09 - 0.70	0.06 - 1.29	0.82 - 0.91	0.06 - 0.33	0.14 - 0.31
	Average	19.47	17.43	25.38	24.16	5.5	23.8
OrgMat	Range	15.54-24.18	2.73 - 32.92	0.80 - 40.98	20.12-28.20	0.98 - 17.98	16.11 - 35.6
	Average	14.66	11.32	12.13	12.13	2.56	6.49
G0062	Range	11.46-18.40	0.62 - 17.35	0.08 - 25.33	10.42-15.36	0 - 8.59	4.24 - 7.67

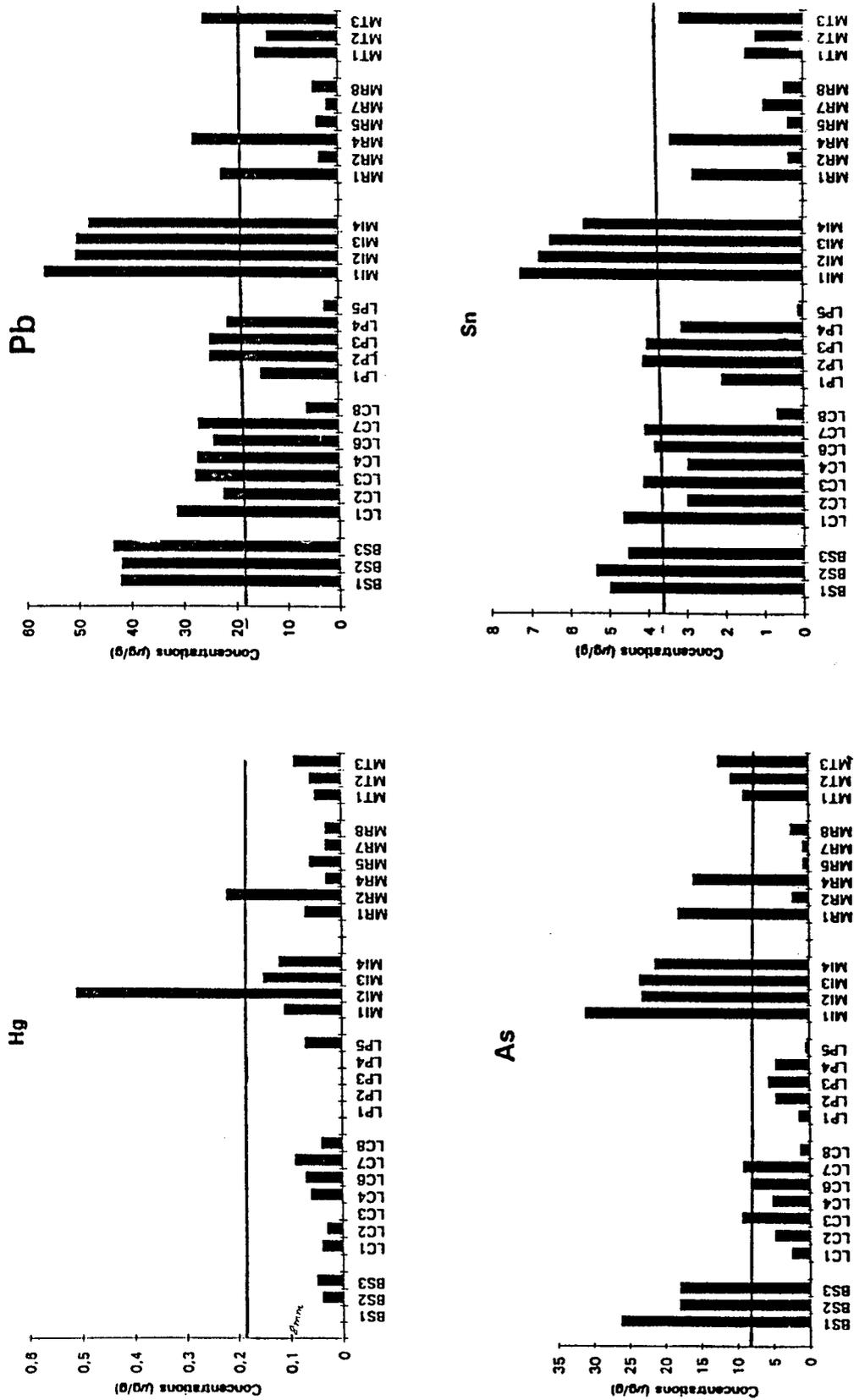


Figura 60. Histogramas para as concentrações de Hg, Pb, As e Sn contra os sítios de coleta dos sedimentos de superfície. As concentrações são expressas em µg/g. A linha reta representa a composição média elementar determinada para os sedimentos (Salomons *et al.*, 1983).

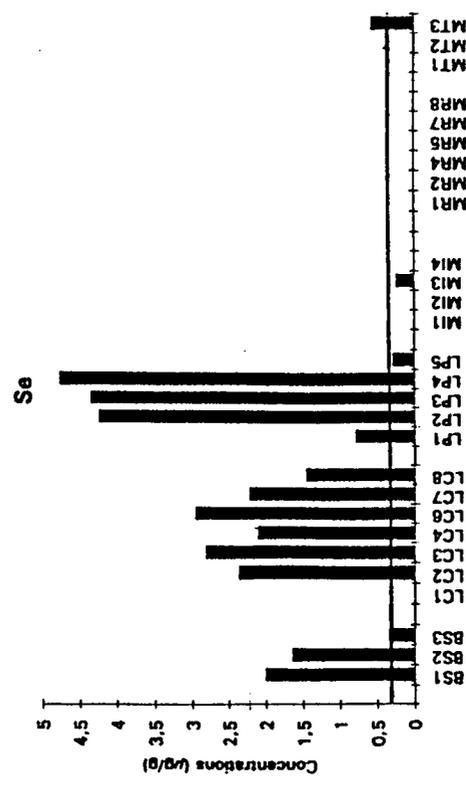
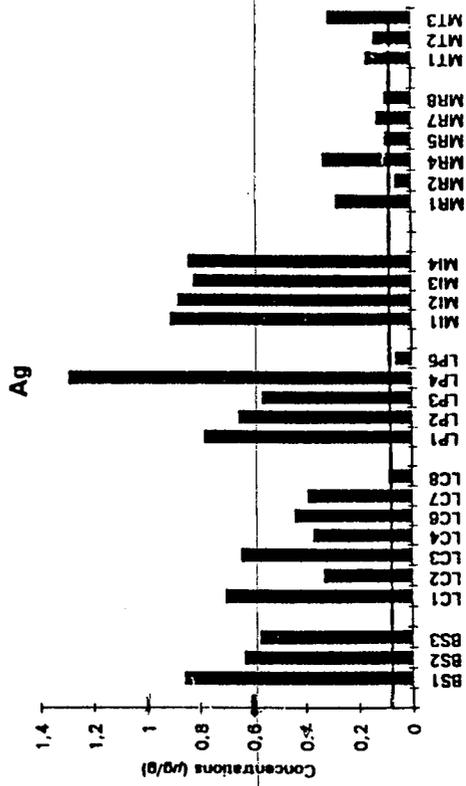
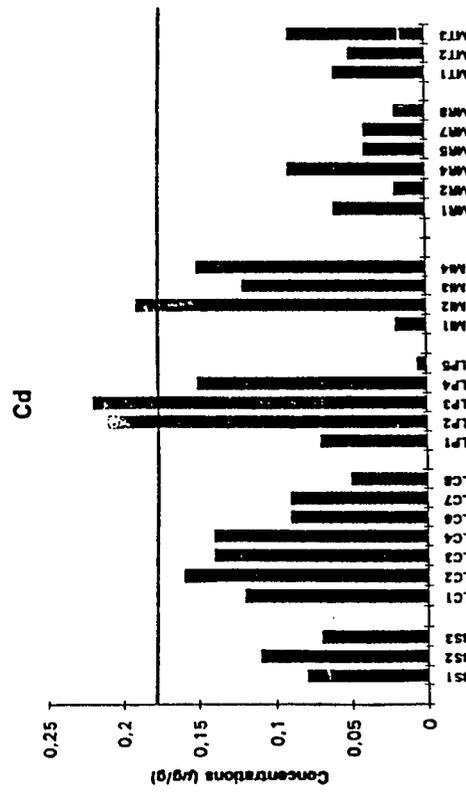


Figura 61. Histogramas para as concentrações de Cd, U, Se e Ag contra os sítios de coleta dos sedimentos de superfície. As concentrações são expressas em µg/g. A linha reta representa a composição média elemental determinada para os sedimentos (Salomons *et al.*, 1983).

2.50:25
05

concentrações foram menores que 0.1 µg/g. Estes resultados sugerem a ocorrência de uma severa contaminação local.

Para o Pb, nós observamos que em muitas áreas, as concentrações registradas excedem a média do valor estimado para o sedimento (Salomons *et al.*, 1984) (19 µg/g), especificamente no mangue do Itacorubi, baía sul e lagoa da Conceição. O histograma de distribuição para o Pb (Fig. 60) mostra que ele é mais concentrado no mangue do Itacorubi (faixa de concentração: 48 µg/g - 57 µg/g), na baía sul (42 µg/g - 44 µg/g) e na lagoa da Conceição (6.2 µg/g - 32 µg/g). Estas altas concentrações são de fato devido a vizinhança de áreas altamente povoadas. A proximidade de vários centros de pesquisa no caso do mangue do Itacorubi pode ser também uma fonte de aporte antropogênico. Em outras áreas, as concentrações são menores mas mostram uma larga variação, particularmente no mangue de Ratoles onde concentrações maiores que 20 µg/g foram encontradas nas amostras MR1 e MR4 enquanto nas outras amostras, menos de 5 µg/g de Pb foi detectado.

Selênio (Fig. 61) foi encontrado em elevada concentração na lagoa do Peri (0.29 - 4.77 µg/g), na lagoa da Conceição (0 - 2.96 µg/g) e também na baía sul (0.35 - 2.01 µg/g). Na lagoa do Peri, a concentração média foi aproximadamente seis vezes mais alta que a concentração média (Salomons *et al.*, 1984) (0.42 µg/g) encontrada nos sedimentos. Em contraste, este elemento não foi encontrado nos mangues, exceto nas amostras MT3 e MI3 onde as concentrações de Se foram então equivalentes a concentração média citada acima.

Altas concentrações de As foram encontradas no mangue do Itacorubi e na baía sul. No mangue do Itacorubi, a faixa de concentração de As foi de 21.36 a 31.12 µg/g com um valor médio de 24.78 µg/g que é aproximadamente quatro vezes maior que o valor médio citado acima (7.7 µg/g). Na baía sul, a faixa de concentração é de 18.1 - 26.16 µg/g com um valor médio de 20.78 µg/g. No mangue do Ratoles as amostras MR1 e MR4 possuem concentrações de As aproximadamente duas vezes maior que o valor do sedimento referencia. Baixos valores foram determinados nas outras amostras (< 3 µg/g). Esta observação é similar ao que foi feito no caso do Pb. O mesmo tipo de comentário serve também para o Sn (Fig. 60) e em menor escala para o Cd e a Ag (Fig. 61). Por essa razão, as amostras MR1 e MR4 foram encontradas exibirem maiores concentrações para Pb, As, Sn, Cd e Ag que as outras amostras coletadas no mesmo mangue. Estes

níveis para os sítios MR1 e MR4 são correlatos com uma alta porcentagem da distribuição da granulometria dos finos (< 0.062 mm) e elevado conteúdo de matéria orgânica apresentando, portanto, uma típica tendência de associação geoquímica. Os sítios MR1 e MR4 correspondem às zonas onde a sedimentação é particularmente importante e pode favorecer à uma acumulação de metais nos sedimentos sempre que a poluição local aumenta a concentração natural de traços de metais. A heterogeneidade na distribuição de Hg no mangue do Ratoles foi também observada, mas, neste caso, a alta concentração de Hg encontrada para o sítio MR2 é certamente anormal desde que as características geoquímicas deste sedimento mostram ambos uma baixa distribuição granulométrica e conteúdo em matéria orgânica. Isto mostra que o teor em mercúrio naquele sítio tem uma origem totalmente diferente que os outros elementos registrados.

A Figura 61 apresenta os histogramas para as concentrações de Cd, Se, U e Ag nos diferentes ambientes estudados. A concentração encontrada para o Cd é ligeiramente menor que a média da concentração em sedimentos (Salomons *et al.*, 1984) ($0.17 \mu\text{g/g}$). Isto sugere que na ilha de Santa Catarina, Cd ocorre naturalmente não sendo resultado de uma contaminação antropogênica.

As concentrações de Sn são mais altas no mangue do Itacorubi onde varia de 5.65 a $7.28 \mu\text{g/g}$ com um valor médio de $6.56 \mu\text{g/g}$ enquanto a concentração média nos sedimentos referencia (Salomons *et al.*, 1984) é $4.6 \mu\text{g/g}$. Pequenas concentrações deste elemento foram determinadas em outras áreas.

A presença de U em altas concentrações foram observadas no mangue do Tavares onde nos achamos concentrações na faixa de 3.57 - $9.5 \mu\text{g/g}$ com um valor médio de $5.12 \mu\text{g/g}$ e no mangue do Itacorubi com concentrações variando entre 5.1 a $5.24 \mu\text{g/g}$ com um valor médio de $5.16 \mu\text{g/g}$. Estes valores são aproximadamente duas vezes mais altos que a média calculada para os sedimentos (Salomons *et al.*, 1984). Em outras áreas, as concentrações que nós encontramos são menores que estes valores.

Prata é o metal a qual a concentração está sempre em excesso quando comparado a média da concentração em sedimentos (Salomons *et al.*, 1984) ($0.06 \mu\text{g/g}$). Em todas as áreas a concentração média que nós achamos foi aproximadamente quatro vezes maior. Ela é em torno de vinte vezes maior no sítio LP4 da lagoa do Peri. Altas concentrações deste metal foram também encontradas

em outras áreas. As mais baixas concentrações que nós achamos estão nos mangues de Ratonés e Tavares. A presença deste metal em altas concentrações no ecossistema de Florianópolis não pode ser considerada como entrada antropogênica devido a completa ausência de atividades relacionadas ao uso deste metal. A mais provável origem é a geológica desde que a ilha possui um importante embasamento granítico.

VIII.4.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA.

VIII.4.2.1. COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO PARCIAL E MÚLTIPLO.

Os resultados para os modelos de múltipla regressão e os coeficientes de correlação parcial contra granulometria (< 0.062 mm) e matéria orgânica são dados na Tabela 9. Os coeficientes de múltipla regressão (R^2) para Pb, Cd, Se, As, Sn, U, Zn, Cu, Pd, Sr, Ni, Cr e Ag foram calculados contra os parâmetros geoquímicos principais (conteúdo em matéria orgânica e distribuição da granulometria dos finos). Eles apontam para aproximadamente 46% e 90% da variância. Hg e Sb somente parecem ser menos correlato com estes dois parâmetros, mostrando 26% e 7.9% da variância respectivamente. O coeficiente de correlação para cada fator separadamente indica que U e Hg sozinhos parecem ser mais associados com a matéria orgânica que com a granulometria (< 0.062 mm) (Nível de conf. 95%). U mostra 76% da variância contra matéria orgânica e 62% da variância contra a granulometria (<0.062 mm) enquanto Hg mostra 25% da variância contra matéria orgânica e 19% da variância contra granulometria (< 0.062 mm).

Hg é conhecido por ser preferencialmente associado aos detritos orgânicos (Hanson *et al.*, 1993) Isto não foi realmente confirmado pelas nossas análises dos coeficientes de correlação parcial (Tabela 9) o qual mostra que, Hg é negativamente correlato com a granulometria (-0.54) e somente pobremente (embora positivamente) correlato com a matéria orgânica (0.19).

A distribuição para o Pb, mostra uma boa variância com os dois principais fatores geoquímicos (81%). Mas a inspeção dos coeficientes de correlação parcial mostram que eles são de fato muito fracamente correlatos com estes dois

Tabela 9. Coeficientes de múltipla correlação (R^2) para as concentrações de metais contra ambos e isolados; granulometria (< 0,062 mm) e matéria orgânica e os coeficientes de correlação parcial (r_x) contra granulometria (< 0,062 mm) e matéria orgânica. G0062 é a granulometria (< 0,062 mm) e ORG.MAT é a matéria orgânica. ns é não significante.

Metal	Coeficiente de correlação parcial		Coeficiente de múltipla correlação (R^2)	R^2 (G0062)	R^2 (Org.Mat)
	r_x G0062/Org.Mat	r_x Org.Mat/G0062			
Hg	-0.54	0.19	0.26	0.19	0.25
Pb	ns	ns	0.81	0.80	0.76
Cd	0.51	0.17	0.90	0.86	0.87
Se	0.66	-0.18	0.67	0.67	0.55
As	0.55	-0.13	0.61	0.61	0.55
Sn	0.28	-0.25	0.85	0.83	0.79
U	-0.29	0.57	0.76	0.62	0.76
Zn	-0.28	0.14	0.89	0.87	0.83
Ni	0.21	ns	0.48	0.48	0.44
Cu	-0.34	0.14	0.86	0.83	0.83
Cr	-0.30	ns	0.46	0.46	0.41
Pd	0.37	ns	0.66	0.65	0.61
Sb	0.16	-0.08	0.079	0.08	0.07
Sr	0.42	ns	0.71	0.71	0.61
Ag	-0.18	0.16	0.84	0.81	0.80

parâmetros. Isto pode sugerir que alto teor orgânico e concentração de Pb podem independentemente resultar de uma contaminação antropogênica.

Se, As, Sb e Sn são positivamente correlatos com a granulometria e negativamente correlatos com a matéria orgânica. Coeficientes de correlação parcial mostram que Se possui um forte coeficiente de correlação (0.66) contra granulometria (<0.062 mm) enquanto o coeficiente de correlação parcial contra matéria orgânica é negativa e fraca (-0.18). Para As, o coeficiente de correlação com a granulometria (<0.062 mm) é também forte (0.55) mas negativo e fraco contra matéria orgânica (-0.13). O coeficiente de correlação parcial para o Sn e Sb indica uma fraca correlação com ambos os dois fatores.

Ni, Cr, Pd e Sr não apresentam alguma tendência significativa nos teores em matéria orgânica. Ag o qual foi achado estar presente em altas concentrações em varias áreas, parece ser pobremente correlato com a matéria orgânica e ser negativamente correlato com a granulometria. U, Zn, Cu, e Cr mostram um coeficiente de correlação negativo com a granulometria.

VIII.4.2.2. ANALISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS.

A determinação dos coeficientes de correlação parcial e múltiplos contra granulometria (< 0.062 mm) e matéria orgânica nos permite ter um ensaio no modo de associação entre eles. Para avaliar melhor as interrelações entre os 15 metais analisados nas 28 amostras, nós usamos a análise dos componentes principais.

O objetivo desta análise foi: *i.* A comparação da distribuição dos metais com respeito as diferentes áreas amostradas, estudando as diferentes interdependências nestas áreas. *ii.* a covariância dos diferentes metais e as possíveis associações com as atividades humanas.

Os resultados da análise dos componentes principais mostraram que os dados podem ser representados com os dois principais eixos o qual apresentam respectivamente 45.9 e 20.6 % da variância total (somatório de 66.5 % da variância total). A Figura 62 mostra o score plot para todos os sítios amostrados para os quais a distribuição dos metais foi representada em função da derivada da análise dos componentes principais. Sobre a Figura 63, nos plotamos a projeção em duas dimensões dos teores de metais e suas relações.

Os resultados apresentados na Figura 63 podem sugerir que o eixo principal (eixo dos X) pode controlar a abundância natural dos elementos nos sedimentos enquanto o segundo eixo (eixo dos Y) pode representar a influencia dos aportes antropogênicos.

Os resultados chamam a atenção para três tipos de comentários.

i : Na Figura 62, os pontos representativos dos diferentes sítios estão espalhados sobre a maior parte do gráfico, ilustrando a grande diversidade da distribuição dos metais que podem ser encontrados na ilha de Santa Catarina. É esperado que as amostras extraídas de mesmas áreas possam ser incluídas em um mesmo "cluster". Isto é praticamente verdade para amostras originárias da lagoa da Conceição, baía sul, mangue do Itacorubi e mangue do Tavares. Em contraste, isto não é verificado para o mangue do Ratonés e a lagoa do Peri. Isto obviamente resulta das grandes flutuações registradas nos teores de metais nos sedimentos.

Este fato é particularmente bem ilustrado pelas amostras MR1 e MR2 o qual apresentam altas concentrações em Pb, Sn e As. Este é também o caso para as amostras LP1 e LP5 da lagoa do Peri o qual, comparada a outras amostras apresentam uma baixa concentração em praticamente todos os metais. Uma situação similar pode também ser observada para o Hg no mangue do Itacorubi (amostra MI2).

ii: Um interessante aspecto é o fato de que as amostras do mangue do Itacorubi e da baía sul estão incluídas no mesmo "cluster". Isto pode indicar que, nestas duas áreas, a distribuição dos metais são similares. Isto pode ser traçado pelo fato de que ambos correspondem a áreas o qual são mais influenciadas pelas atividades humanas e portanto recebem o mesmo tipo de aporte antropogênico. Isto é coerente com a abundância nestas áreas, de metais tais como Pb, Sn, As o qual são provavelmente resultantes de atividades humanas.

iii : Na Figura 63 é mostrado o plot do teor em metal para os metais determinados. Este gráfico claramente mostra a ocorrência de dois importantes grupos de metais formando dois distintos "clusters" respectivamente no alto a direita e em baixo do lado direito do gráfico.

O primeiro cluster contem elementos tais como As, Pb e Sn o qual tem sido encontrados serem um grande excesso (Salomons *et al.*, 1984) e que podem ser

Gráfico dos dois primeiros componentes

Gráfico dos escores

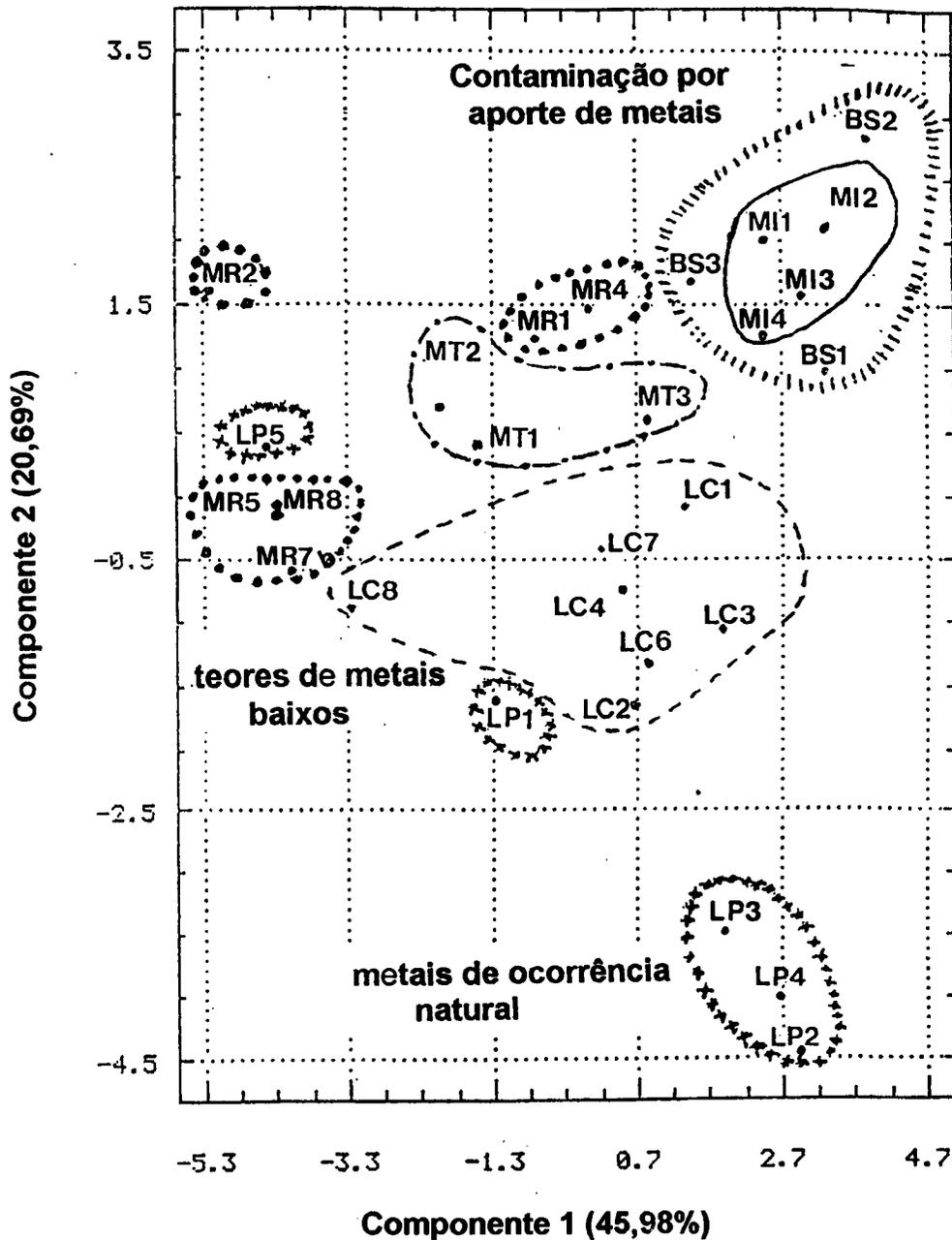


Figura 62. Escore plot dos componentes principais das amostras de sedimento de superfície da ilha de Santa Catarina nas novas coordenadas de espaço definidas pelos dois primeiros componentes. A variância retida para cada eixo do componente principal é mostrada em parêntesis. Os clusters delimitados por linhas idênticas correspondem as regiões geográficas similares.

Gráfico dos dois primeiros componentes

Gráfico de distribuição

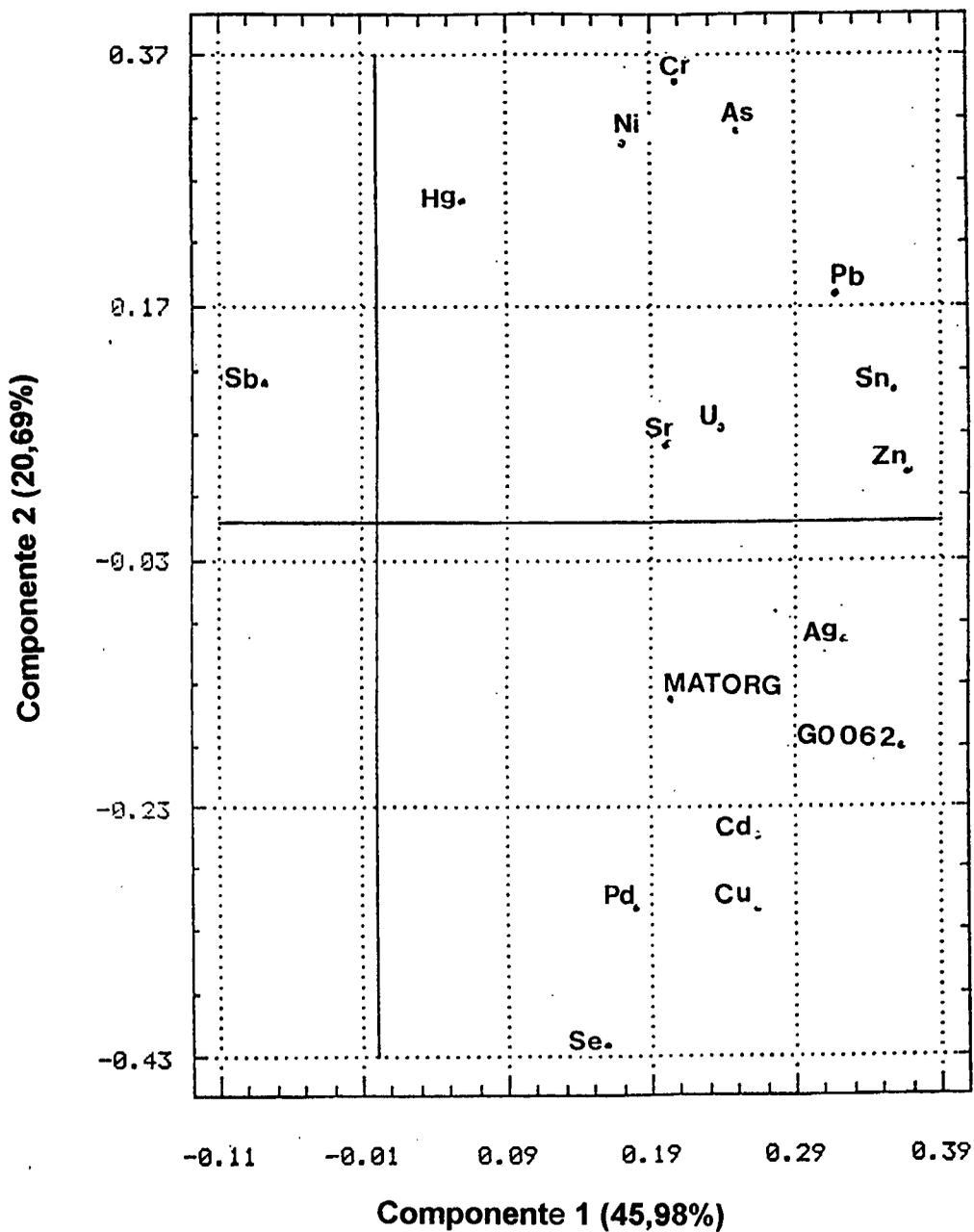


Figura 63. Loadings plot dos dois componentes principais mostrando as interrelações entre metais nas amostras da ilha de Santa Catarina.

considerados como traçadores para aportes antropogênicos. A comparação dos dois plots na Figura 62 e 63 mostra evidencia de que todos os sítios na baía sul e no mangue do Itacorubi correspondem as concentrações dominadas por estes metais. Em cima e no lado direito do plot de escores corresponde as áreas o qual são principalmente expostas à contaminação antropogênica. Isto confirma também a origem antropogênica dos sítios MR1 e MR4 no mangue do Ratoles.

O segundo "cluster" contem Se, Pd, Cu, e Cd e está localizado na mesma parte do gráfico que o "cluster" formado pelos sítios LP2, LP3 e LP4 da lagoa do Peri. Esta lagoa é uma área de preservação com uma baixa densidade populacional e nós podemos deste modo sugerir que todos os metais detectados estão naturalmente presentes dando um ruído de fundo geoquímico natural para esta área especifica somente devido a diversidade em função da disposição geológica da ilha.

Na lagoa da Conceição, as concentrações de metais são muito parecidas com a média dos valores determinados para os sedimentos exceto para o Se e a Ag como na lagoa do Peri. Entretanto, as amostras para esta área estão todas localizadas no meio do plot de escores (Figura 62). Este resultado parece indicar que aportes naturais e antropogênicos contribuem para o conteúdo total de metais nesta lagoa.

VIII.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.

Os resultados mostram que para metais como Pb, Se, As, Sn, U e Ag, as concentrações encontradas em muitos sítios da ilha Florianópolis são maiores que a composição média elementar para sedimentos. Para os outros metais como Cd, Zn, Ni, Cu, Cr, Pd, Sb, e Sr, as concentrações que nós encontramos são similares ou ligeiramente menores.

A análise estatística mostra que metais tais como Se, As, Sb e Sn são positivamente correlatos contra a granulometria e negativamente correlatas contra a matéria orgânica. Para outros metais, uma correlação significativa não foi observada nem contra granulometria (< 0.062 mm) nem contra matéria orgânica.

Nossos resultados mostram que uma importante heterogeneidade na distribuição dos metais dentro de uma mesma área pode ser relacionada a contaminação antropogênica acidental. Isto é particularmente observado no mangue

do Ratores onde dois sítios foram achados serem contaminados por Pb, Sn e As e no mangue do Itacorubi onde uma alta concentração de Hg foi achada em um sítio.

A análise dos componentes principais claramente ilustra as distinções que ocorrem entre as zonas o qual incluem a baía sul e o mangue do Itacorubi (sob uma influência antropogênica) e a zona da lagoa do Peri onde a influência natural é predominante. Elementos tais como As, Pb e Sn aparecem como traçadores para contaminação por atividades humanas enquanto Se e Ag estão mais relacionados com a abundância natural.

Na lagoa da Conceição, concentração de metais muito próximas dos valores médios encontrados nos sedimentos foram encontrados. A análise estatística mostra evidência que nesta lagoa entradas naturais e antropogênicas apresentam contribuições claramente definidas.

De acordo com os nossos resultados, a ordem decrescente de áreas estudadas para aportes antropogênicos é: o mangue de Itacorubi, a baía sul, a lagoa da Conceição, o mangue do Ratores, o mangue do Tavares e finalmente a lagoa do Peri.

CONCLUSÃO GERAL

Neste trabalho vários aspectos foram abordados, tanto no campo da química analítica quanto no geológico que juntos são susceptíveis de aportar elementos de conhecimento indispensáveis a compreensão dos processos naturais.

O tema chave que constitui o objetivo geral do nosso trabalho é o transporte e acumulação de metais e espécies orgânicas e inorgânicas nos meios aquosos. Os mecanismos de complexação por ligantes naturais ou artificiais ocupam uma situação importante nestes processos.

As substâncias húmicas possuem igualmente uma função importante e todo método, como a fluorimetria, que permite caracterizar e avaliar a contribuição destas substâncias complexas devem ser levadas em conta e exploradas.

A determinação dos ciclos biogeoquímicos dos metais nos ecossistemas necessita de métodos de análise de mais em mais sensíveis e precisos como o ICP-MS utilizado neste trabalho. Os dados obtidos nestes sítios variados assim como o conhecimento de suas propriedades físico-químicas (em particular suas características complexantes frente aos metais) constituem uma etapa primordial para uma melhor gestão do meio ambiente que deve levar em conta a influência das atividades humanas e as influências geológicas naturais.

Os trabalhos apresentados nesta tese foram divididos em duas partes distintas. A primeira parte é concernente a utilização de técnicas de titulação para o estudo dos equilíbrios de dissociação ou complexação entre ligantes naturais e artificiais com os íons metálicos e/ou espécies aniônicas orgânicas e inorgânicas. Dois tipos de técnicas titulométricas foram abordadas. A titulação potenciométrica foi utilizada para estudar o comportamento de um ligante artificial, o OBISDIEN em presença dos ânions selenito e selenato e de diversos cations metálicos (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+}). O resultado marcante é a evidencia de uma complexação seletiva de íons selenato em presença destes metais, na faixa de pH 6-8 que corresponde ao pH das águas naturais. O resultado permite a utilização deste ligante em presença em particular do cátion Cu^{2+} , para desenvolver métodos de extração ou de concentração de selenatos em águas naturais. A titulação potenciométrica tem sido igualmente aplicada ao estudo das propriedades ácido-básicas das selênio cistina e selênio metionina. Este estudo permitiu precisar as condições ótimas de pH para a separação destes dois orgâno-selênio por cromatografia líquida baseada na formação de pares iônicos.

Foi utilizada a titulação fluorimétrica proposta por Ryan e Weber, essencialmente com o objetivo de precisar os limites de aplicação e propor algumas soluções para minimizar as principais dificuldades que a aplicação deste método apresenta para a determinação das propriedades complexantes das substâncias húmicas fluorescentes. A maior dificuldade do método reside no fato de que ele necessita uma parametrização com a ajuda de três parâmetros. Nós pudemos mostrar que uma das condições necessárias para a parametrização das curvas de extinção da fluorescência que conduz a valores fracos de constantes de complexação (K) e sobretudo da capacidade complexante (C_L) é que o produto destes dois valores seja próximo ou superior a 1. Esta não é, entretanto, uma condição suficiente e existem casos para os quais embora esta condição seja satisfeita, o cálculo conduz a valores aberrantes de C_L . Neste caso nós propusemos um método baseado na medida da tangente à origem da curva de extinção que conduz a estimação da ordem de grandeza deste parâmetro.

Este método repousa sobre o fato de que sempre que C_L é muito fraco ou por uma diluição das soluções, os perfis das curvas de extinção tornam-se praticamente independentes de C_L . Nós mostramos que é sempre possível determinar K por uma parametrização destas curvas com a ajuda somente de dois parâmetros. Neste caso, é possível igualmente verificar a ordem de grandeza de K após a determinação da tangente à origem.

Nós tentamos aplicar o método às águas naturais coletadas em diversos sítios da Garonne, rio que corta a cidade de Bordeaux na Gironde. Resultados bem similares à aqueles achados anteriormente por Berger et al., 1994 foram encontrados. Entretanto, estes resultados são afetados por uma imprecisão importante que resulta de uma parametrização imperfeita dos perfis das curvas de extinção e eles mostram que o modelo de Ryan e Weber que considera a presença de um só tipo de ligante (modelo mono-ligante) não se aplica bem a estes meios. No caso das águas naturais, parece necessário considerar a presença de sítios complexantes caracterizados por constantes de complexação muito diferentes (modelo multi-ligante).

Em complemento a este estudo, nós verificamos o efeito do pH sobre os espectros de fluorescência do ácido fúlvico Suwannee River que mostra a variabilidade das propriedades ácido-básicas e fluorimétricas dos fluorófilos

presentes nestes tipos de substâncias húmicas, responsável em média por 60% da fluorescência total das águas naturais. A análise dos espectros de excitação da fluorescência nos tem permitido localizar nas duas regiões comportamentos diferentes em função do pH. Um parece ser dominado por cromóforos contendo grupos carboxílicos e o outro provavelmente por cromóforos fenólicos.

A segunda parte foi consagrada a determinação das concentrações de metais nos sedimentos de superfície coletados nos meios aquáticos de natureza bem diferentes todos situados na ilha de Santa Catarina. Este trabalho constitui uma aproximação preliminar de um programa destinado a avaliar o grau de contaminação em metais nesta ilha, determinando o impacto da atividade humana nos diferentes sítios aquáticos da ilha e a mais longo termo, seguir a evolução das concentrações em metais para modelizar os processos de sedimentação e de transporte.

A determinação das concentrações totais dos metais seguintes: Hg, Pb, Cd, Se, As, Sn, U, Zn, Ni, Cu, Cr, Sb, Sr, Pd e Ag foram realizadas nos sedimentos de superfície provenientes de três mangues, duas lagoas e da baía sul da ilha. Em vários sítios, as concentrações de metais como o Pb, Se, As, Sn, U e Ag foram achados mais elevados que as médias das concentrações encontradas nos sedimentos terrestres. Por outro lado, as concentrações encontradas para o Cd, Zn, Ni, Cu, Cr, Pd, Sb e Sr foram encontradas em média mais fracas ou muito próximas dos valores referenciados.

As análises dos componentes principais mostraram as características seguintes. *i*: uma certa heterogeneidade nos teores em metais no interior de uma mesma zona devido hipoteticamente aos aportes antropogênicos locais e acidentais. Isto é particularmente verdadeiro para o mangue do Ratonés; *ii*: Uma distinção clara entre a zona que agrupa a baía sul e o mangue do Itacorubi sob influência antropogênica evidente e a zona correspondente a lagoa do Peri dominada pelos aportes naturais. Na lagoa da Conceição, as concentrações próximas das médias terrestres foram encontrados para o conjunto de metais salvo para o Se e Ag que foram encontrados em abundância igualmente na lagoa do Peri e onde a origem parece natural. Os resultados deixam a pensar que nesta zona, a importância dos aporte antropogênicos e naturais são da mesma ordem de grandeza.

Segundo nossos resultados, a ordem de contaminação pelos aportes antropogênicos das zonas estudadas parece estabelecer-se da maneira seguinte:

mangue do Itacorubi, Baía Sul, lagoa da Conceição, mangue do Ratoões ;
mangue do Tavares, lagoa do Peri.

REFERÊNCIAS

Ahrland, S., 1985. Inorganic Chemistry of the Ocean, In: Environmental Inorganic Chemistry. Irgolic, K.J. and Martell, A.E. (eds.). VCH Publishers Inc. Deerfield Beach, Florida. 66p.

Aiken, G.R.; McKnight, D.M.; Wershaw, R.L. and MacCarthy, P. (eds.), 1985. In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water. Wiley, New York, 692p.

Allard, B.; Boren, H. and Grimvell, A. (eds.), 1991. In: Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment. Springer, Berlin Heidelberg, New York, 1 -89p.

Anderegg, G. and Kholeif, S., 1994. The extrapolation of experimental equilibrium constant data to zero ionic strength: Critical review and new approach. *Talanta*, 41(9): 1507 - 1522.

Andrés, A.; Bazzicalupi, C.; Bencini, A.; Bianchi, A.; Fusi, V.; Garcia-Espana, E.; Paoletti, P. and Valtancoli, B., 1994. Oxa - aza macrocyclic molecules as receptors for metal cations. *Inorg. Chem.*, 33: 617 - 620.

Aono, T.; Nakaguchi, Y.; Hiraki, K. and Nagai, T., 1990. Determination de seleno-amino acid in natural waters samples. *Geochem. J.*, 24: 255 - 261.

Baes Jr., C.; Charles, F.; Mesmer, R.E., 1976. The hidrolisis of cations. John Wiley & sons, New York, pp. 99, 274, 293.

Battaglia, L.P.; Bianchi, A.; Bonamartini Corradi, A.; Garcia-Espana, M. and Julve, M., 1988. Synthesis, crystal structure, magnetic properties, and thermodynamic and electrochemical studies of the binuclear complex (μ -oxalate) bis [1,4,8,11 - tetraazacyclotetradecane] nickel (II) nitrate. *Inorg. Chem.*, 27: 4174 - 4179.

Beauchamp, A.L.; Olivier, M.J.; Wuest, J.D. and Zacharie, B.J., 1986. Multidentate Lewis acids. Crystal structure of the 2:1 adduct of 1,2-phenylenedimercure dichloride with tetraphenylphosphonium chloride. *J. Am. Chem. Soc.*, 108: 73 - 77.

Beck, M.T. and Nagypál, I., 1990. In: *Chemistry of Complex Equilibria*. Ellis Horwood Limited (eds.), 192 - 195 p.

Becker, R.S., Beck, M.T. and Nagypál, I., 1990. In: *Chemistry of Complex Equilibria*. Ellis Horwood Limited (eds.), 192 - 195 p.

Belin, C.; Quéllec, C.; Lamotte, M.; Ewald, M. and Simon, Ph., 1993. Characterization by fluorescence of the dissolved organic matter in natural water. Application to fractions obtained by tangential ultrafiltration and XAD resin isolation. *Environ. Technol.* 14: 1131 - 1144.

Bencini, A.; Bianchi, A.; Garcia-Espana, E.; Micheloni, M. and Paoletti, P., 1989. Anaerobic complexation of cobalt (II) by [3k]aneN_k (k = 7-12) polyazacycloalkanes. *Inorg. Chem.*, 28: 2480 - 2482.

Bencini, A.; Bianchi, A.; Dapporto, P.; Garcia-Espana, E.; Micheloni, M. and Paoletti, P., 1989. Polynuclear zinc(II) complexes with large polyazacycloalkanes. 2. Equilibrium studies and crystal structure of the binuclear complex [Zn₂LCI₂](Cl)ClO₄.H₂O (L = 1,4,7,10,13,16,19,22 - octaazacyclotetacosane. *Inorg. Chem.*, 28: 1188 - 1191.

Bencini, A.; Bianchi, A.; Castelló, M.; Faus, J.; Di Vaira, M.; Garcia-Espana, E.; Micheloni, M. and Paoletti, P., 1989. Thermodynamic study of the formation in aqueous solution of cadmium(II) complexes with polyazacycloalkanes. Synthesis and crystal structure of the di-cadmium(II) complex Na[Cd₂(L)Cl₂](ClO₄)₃ (L = 1,4,7,10,13,16,19,22,25,28, - decaazacyclotriacontane). *Inorg. Chem.*, 28: 347 - 351.

Bencini, A.; Bianchi, A.; Castelló, M.; Dapporto, P.; Faus, J.; Garcia-Espana, E.; Micheloni, M.; Paoletti, P. and Paoli, P., 1989. Nickel (II) complexes of [3k]aneN_k

- polyazacycloalkanes ($k = 7-12$) solution and solid state studies. *Inorg. Chem.*, 28: 3175 - 3181.
- Bencini, A.; Bianchi, A.; Micheloni, M.; Paoletti, P.; Garcia-Espana, E. and Nino, M.A., 1991. Coordination tendency of $[3k]aneN_k$ polyazacycloalkanes. Thermodynamics study of solution equilibria. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1171 - 1174.
- Bencini, A.; Bianchi, A.; Paoletti, P. and Paoli, P., 1992. Thermodynamic and structural aspects of transition metal compounds. Polynuclear complexes of aza macrocycles. *Coordination Chemistry Reviews*, 120: 51 - 85.
- Bencini, A.; Bianchi, A.; Burguere, M.I.; Dapporto, P.; Doménech, A.; Garcia-Espana, E.; Luis, S.V.; Paoli, P. and Ramirez, J.A., 1994. Selective recognition of carboxylate anions by polyammonium receptors in aqueous solution. Criteria for selectivity in molecular recognition. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 569 - 577.
- Bender, M. and Komiyama, M., 1978. In: *Cyclodextrin Chemistry*. Spring, New York (eds.), 1 - 260p.
- Bensson, T., Comunicação pessoal.
- Berger, P.; Ewald, M., Liu, D. and Weber, J.H., 1984. Application of the fluorescence quenching titration method to the complexation of copper (II) in the Gironde estuary (France). *Mar. Chem.*, 14: 289 -295.
- Berggren, D., 1990. Speciation of cadmium (II) using donnan dialysis and differential-pulse anodic stripping voltametry in a flow-injection system. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 41: 133 - 148.
- Bertelsen, F.; Gissel-Nielsen, G.; Kjaer, A. and Skrydstrup, T., 1988. Selenoglucosinolates in nature: fact or myth? *Phytochemistry*, 27: 3743 - 3749.

- Beryl, M.O. and Harrison, P.M., 1959. The crystal structure of hexagonal L-cystine *Acta Cryst.* 12, 396.
- Blain, S., 1992. Application de Polyamines Immobilisées a la Preconcentration de Traces Métalliques en Milieu Marin. Thèse de Doctorat n°212, Université de Bretagne Occidentale. 1 - 22p.
- Blotcky, A.J.; Hansen, G.T.; Borkar, N.; Ebrahim, A. and Rack, E.P., 1987. Simultaneous determination of selenite and trimethylselenonium ions in urine by anion exchange chromatography and molecular neutron activation analysis. *Anal. Chem.*, 59: 2063 - 2066.
- Boggs, S.; Livermore, D.G. and Seitz, M.G., 1985. Humic macromolecules in natural waters. *J. Macromol. Sci-Rev. Macromol. Chem. Phys.*, C25: 599 - 657.
- Bonomo, R.P.; Maccarrone, G.; Rizzarelli, E. and Vidali, M., 1987. Copper (II) complexes of diastereoisomeric methionylmethionines in aqueous solution. Favoring of the amide-deprotonated complex in the L,L-dipeptide without sulfur coordination. *Inorg. Chem.* 26, 2893.
- Bottino, N.R.; Banks, C.H.; Irgolic, K.J.; Micks, P.; Wheeler, A.E. and Zingaro, R.A., 1984. Selenium containing amino acids and proteins in marine algae. *Phytochemistry*, 23: 2445 - 2452.
- Bourdon, S.; Decian, A.; Fischer, J.; Hosseine, M.W.; Lehn, J.M.; Wipff, G.J., 1991. *J. Coord. Chem.* 23, 113.
- Bowles, E.C.; Antweiler, R.C. and MacCarthy, P., 1989. Acid-base titration and hydrolysis of fulvic acid from the Suwanne River. In: *Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Interactions, Properties, and Proposed Structures*. U.S. Geological survey, Open file Report 87-557. 209 - 229 p.
- Bruland, K.W.; Knauer, G.A. and Martin, J.H., 1978. Cadmium in northeast pacific waters. *Limnol. Oceanogr.*, 23: 618 - 625.

Bruland, K.W. 1980. Oceanographic distributions of cadmium, zinc, nickel and copper in the north pacific. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 47: 176 - 198.

Bryan, G.W., 1976. Heavy metal contamination in the sea. In: *Marine Pollution*. Johnston, R. (eds.). London, Academic Press, pp. 185 - 302.

Buffle, J.; Tessier, A. and Haerdi, W., 1984. In: *Complexation of Trace Metals in Natural Waters*. Kramer, C.J.M., and Duinker, C.J. (eds.), Nijhoff/Junk, The Hague, 1-190p.

Buffle, J., 1988. In: *Complexation Reactions in Aquatic Systems: an Analytical Approach*. Ellis Horwood Ltd., Chinchester, 195 - 303p.

Burba, P.; Rocha, J. and Klockow, D., 1994. Labile complexes of trace metals in aquatic humic substances: Investigations by means of an ion exchange-based flow procedure. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 349: 800 -807.

Burba, P., 1994. Labile/inert metal species in aquatic humic substances: an ion-exchange study. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 348: 301 -311.

Cabani, S.; Ceccanti, N. and Tiné, M.R., 1991. Thermodynamic and kinetic aspects of the binding reaction of molecular oxygen on Co(II) complexes in aqueous solutions. *Pure & Appl. Chem.*, 63: 1455 - 1464.

Cabaniss, S.E. and Shuman, M.S., 1988. Fluorescence quenching measurements of copper fulvic acid binding. *Anal. Chem.*, 60: 2418 - 2421.

Cabaniss, S.E. and Shuman, M.S., 1990. Reply to comments on "Fluorescence quenching measurements of copper-fulvic acid binding". *Anal. Chem.*, 62: 1526 - 1528.

Carlson, C.L.; Adriano, D.C. and Dixon, P.M., 1991. Effects of soil-applied selenium on the growth and selenium content of a forage species. *J. Environ. Qual.*, 20: 363 - 368.

Carter, W. and Suffet, I., 1982. Binding of DDT to dissolved humic materials. *Environ. Sci. Technol.*, 16: 735 - 740.

Casey, J.P. and Martin, R.B., 1972. Disulfide stereochemistry. Conformations and chiroptical properties of L-cystine derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* 94, 6141.

Chau, Y.K.; Wong, P.T.S.; Silverberg, B.A.; Luxon, P.L. and Bengert, G.A., 1976. Methylation of selenium in the aquatic environment. *Science*, 192: 1130 - 1131.

Chau, Y.K. and Craig, P.J.(eds.), 1986. In: *Organometallic Compounds in the Environment*. Vol. 7. Longman, Harlow, 259p.

Chen, R.F. and Bada, J.L., 1992. The fluorescence of dissolved organic matter in seawater. *Mar. Chem.*, 37: 191 - 221.

Cole, C.; Furnival, A.; Huang, Z.X.; Jones, D.C. May, P.M.; Smith, L.G.; Whittaker, J. and Williams, D.R., 1985. *Inorganica Chimica Acta*, 108, 165.

Coleman, A.W.; Ling, C.C. and Miocque, M., 1992. Synthesis and complexation properties of a cyclodextrin - Derived siderophore analogue. *Angew. Chem. Ind. Ed. Engl.*, 31(10): 1381 - 1383.

Comarmond, P.; Lehn, J.M.; Agnus, Y.; Louis, R.; Weiss, R.; Kahn, O. and Badarau, I.M., 1982. Dinuclear copper(II) cryptates of macrocyclic ligands. Synthesis, crystal structure, and magnetic properties. Mechanism of the exchange interaction through bridging azido ligands. *J. Am. Chem. Soc.*, 104: 6330 - 6340.

Cook, R.L. and Langford, C.H., 1995. Metal ion quenching of fulvic acid fluorescence intensities and lifetimes: nonlinearities and a possible three-component model. *Anal. Chem.*, 67: 174 - 180.

Cooke, T.D. and Bruland, K.W., 1987. Aquatic chemistry of selenium: evidence of biomethylation. *Environ. Sci. Technol.*, 21: 1214 - 1219.

Cooper, W.C., 1967. In: *Proceedings of the Symposium on Selenium in Biomedicine*. Muth, O.H.; Olfield, J.E. and Weswig, P.H. (eds.). Avi, Westport, CT, 185p.

Coughlin, P.K. and Lippard, S.J., 1984. Copper(II) chemistry in hexaaza binucleating macrocycles: hydroxide and acetate derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, 106: 2328 - 2336.

Cullinane, J.; Gelb, R.I.; Margulis, T.N. and Zompa, L.J., 1982. Hexacyclen complexes of inorganic anions: bonding forces, structure, and selectivity. *J. Am. Chem. Soc.*, 104: 3048 - 3053.

Cutter, G.A., 1982. Selenium in reducing waters. *Science*, 217: 829 - 831.

Cutter, G.A., 1989. In: *Occurrence and Distribution of Selenium: Fresh Water Systems*. Ihnat, M. (eds.). CRC Press, Boca Raton, F.L., 243 - 262p.

Daskalakis, K. and O'Connor, T., 1995. Normalization and elemental sediment contamination in the coastal United States. *Environ Sci. Technol.*, 29, 470 - 477.

De Haan, H. & Boer, T., 1986. Geochemical aspects of aqueous iron, phosphorus and dissolved organic carbon in the humic lake Tjeukemeer, the Netherlands. *Freshwater Biology*, 16: 661 - 672.

Degens, E.T., 1970. Molecular nature of nitrogenous compounds in seawater and recent marine sediments. In: *Organic Matter in Natural Waters*. Hood, D.W. (eds.), Institute of Marine Science, University of Alaska, 7 - 106p.

De Souza Sierra, M.M., 1992. *Caracterisation et Reactivité de la Matière Organique Fluorescente Dissoute dans des Milieux Cotiers et Marins*. Thèse de Doctorat n°751, Université de Bordeaux I, 116 - 143p.

Diaz, D.; Vargas - Baca, I. and Gracia-Mora, J., 1994. β -cyclodextrin inclusion complexes with iodine. *Journal of Chemical Education*, 71(8): 708 - 714.

Diederich, F., 1988. Complexation of neutral molecules by cyclophane hosts. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 27: 362 - 386.

Diederich, F., 1990. Molecular recognition in aqueous solution. *Journal of Chemical Education*, 67(10): 813 - 820.

Dietrich, B.; Lehn, J.M.; Guilhem, J. and Pascard, C., 1989. Anion receptor molecules: synthesis of an octaaza - cryptand and structure of its fluoride cryptate. *Tetrahedron Letters*, 30(31): 4125 - 4128.

Duursma, E.K., 1961. Dissolved organic carbon, nitrogen and phosphorus in the sea. *Neth. J. Sea Res.*, 1: 1 - 147.

Dzombak, D.A.; Fish, W. and Morel, F.M.M., 1986. Metal-humate interactions. 1. Discrete ligand and continuous distribution models. *Environ. Sci. Technol.*, 20: 669 - 675.

Echavarren, A.; Galàn, A.; Lehn, J.M. and Mendoza, J.D., 1989. Chiral recognition of aromatic carboxylate anions by an optically active abiotic receptor containing a rigid guanidinium binding subunit. *J. Am. Chem. Soc.*, 111: 4994 - 4995.

Edmonson, A.J.; Norman, B.B. and Suther, D., 1993. *JAVMA*, 202: 865 - 872.

Etcheber, H., 1978. *Etude de la Repartition et du Comportement de Quelques Oligo-Elements Métalliques (Zn, Pb, Cu et Ni) dans le Complexe Fluvio-Estuarien de la Gironde*. Thèse de Doctorat n°1455 Université de Bordeaux I.

Ewald, M.; Belin, C.; Berger, P. and Weber, J.H., 1983. Corrected Fluorescence spectre of fulvic acids isolated from soil and water. *Environ. Sci. Technol.*, 20: 669-675.

Fang Lin, C.; Yuan Lee, D.; Tsai Chen, W. and Lo, K.S., 1995. Fractionation of fulvic acids: Characteristics and complexation with copper. *Environ. Pollut.*, 87: 181 - 187.

Finger, W. and Klamberg, H., 1992. In: *Progress in Hydrogeochemistry*. Matthes, G.; Frimmel, F.H.; Hirsch, P. and Schulz, E. (eds.), Springer, Berlin Heidelberg, New York, 67 - 70p.

Finney, B.P.; Huh, C.A., 1989. History of metal pollution in the Southern California Bight: an update. *Environ. Sci. Technol.*, 23, 294 - 303.

Fischer, J.C. and Wartel, M., 1992. Les métaux traces dans l'environnement marin. *Analisis Magazine*, 20(6): M38 -M41.

Fish, W. and Morel, F.M., 1985. Propagation of errors in fulvic acid titration data: a comparison of three analytical methods. *Can. J. Chem.*, 63: 1185 - 1193.

Fish, W.; Dzombak, D.A. and Morel, F.M.M., 1986. Metal-humate interactions. 2. Application and comparison of models. *Environ. Sci. Technol.*, 20: 676 - 683.

Förstner, U. and Wittmann, G.T.W., 1983. In: *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer - Verlag (eds.), 6 - 7p.

Fournaise, R. and Petifaux, C., 1987. Study of formation of complexes in aqueous solutions. III. Method for refinement of stability constants of complexes and other parameters of protometric titrations. *Talanta*, 29: 385 - 395.

Fraiji, L.K.; Hayes D.M. and Werner, T.C., 1992. Static and dynamic fluorescence quenching experiments for the physical chemistry laboratory. *J. Chem. Ed.*, 69(5): 424 - 428.

Franck, D.A. & Heath, R.T., 1979. Functionally distinct classes of complex phosphorus compounds in lake water. *Limnology and Oceanography*, 24: 463 - 473.

Frausto da Silva, J.J.R. and Willians, R.J.P., 1993. In: *The Biological Chemistry of the Elements. The Inorganic Chemistry of Life*. Clarendon Press, Oxford. 460 - 462p.

Frimmel, F.H. and Christman, R.F. (eds.), 1988. In: *Humic Substances and their Role in the Environment*. Wiley, Chichester, 271p.

Frimmel, F.H., 1994. Photochemical aspects related to humic substances. *Environ. Int.*, 20 (3): 373 - 385.

Gaizer, F. and Kiss, I.I., 1994. A PC program for calculation of the constants of complexes $M_qL_pH_r$ from pH-metric measurements. *Talanta*, 41(3): 419 - 424.

Ganther, H.E., 1974. In: *Selenium*, edited by R.A. Zingaro and X.C. Cooper, pp.546 - 549. Van Nostrand Reinhold Co.

Gjessing, E., 1976. In: *Physical and Chemical Characteristics of Aquatic Humus*. Ann Arbor Science, Ann Arbor, Mich., 564p.

Gokel, G.W. and Korseniowski, S.W., 1982. In: *Macrocyclic Polyether Syntheses*. Springer: Berlin (eds.), 1 - 380p.

Goldberg, E.D.; Gambles, E.; Griffin, J.J.; Koide, M., 1977. Pollution history of Narragansett Bay as recorded in its sediments. *Estuarine Coastal Mar. Sci.*, 5, 549 - 561.

Goldeberg, E.D., 1981. Editors and revolutions. *Mar. Pollut. Bull.*, 12: 225 - 228.

Gorham, E., 1961. Factors influencing supply of major ions to inland waters with special reference to the atmosphere. *Geol. Soc. Am. Bull.*, 72: 795 - 840.

Ghosh, K. And Schnitzer, M., 1980. Macromolecular structure of humic substances. *Soil Sci.*, 129: 266 - 276.

Gran, G., 1953. Determination of the equivalence point in potentiometric titrations. II. *Analyst*, 77: 661 - 671.

Green, S.A.; Morel, F.M.M. and Blough, N.V., 1992. Investigation of the electrostatic properties of humic substances by fluorescence quenching. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 294 - 302.

Greenstein, J.P. and Winitz, M., 1961. In: *Chemistry of the Amino Acids*, Vol. 1, pp. 507-508. John Wiley & Sons, New York.

Grimm, D.M.; Azarraga, L.V.; Carreira, L.A. and Susetyo, W., 1991. Continuous multiligand distribution model used to predict the stability constant of Cu (II) metal complexation with humic material from fluorescence quenching data. *Environ. Sci. Technol.*, 25: 1427 - 1431.

Gustafsson, J.P., and Johnsson, L., 1994. The association between selenium and humic substances in forested ecosystems - Laboratory evidence. *Applied Organometallic Chemistry*, 8: 141 - 147.

Hag Park, J. and Hwa, N., 1994. Binding forces contributing to the complexation of organic molecules with β -cyclodextrin in aqueous solution. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*: 1359 - 1362.

Hamilton, A.D., 1990. Molecular recognition. *Journal of Chemical Education*, 67(10): 821 - 828.

Hancock, R.D., 1992. Chelate ring size and metal ion selection. *Journal of Chemical Education*, 69(8): 615 - 621.

Hanson, P.J.; Evans, D.W.; Colby, D.R. and Zdanowicz, V.S., 1993. Metal contaminant assessment for the Southeast Atlantic and Gulf of Mexico coasts. Results of the national benthic surveillance project over the first four years. *Mar. Environ. Res.*, 36, 237 - 266.

Hawthorne, M.F.; Yang, X. and Zheng, Z., 1994. Host guest chemistry of anion - complexation by macrocyclic multidentate Lewis acids. *Pure & Appl. Chem.*, 66: 245 - 254.

Haygarth, P.M.; Rowland, A.P.; Sturup, S. and Jones, K.C., 1993. Comparison of instrumental methods for the determination of total selenium in environmental samples. *Analyst*, 118: 1303 - 1308.

Hayes, M.H.B. and Swift, R.S., 1978. The chemistry of soil organic colloids. In the *Chemistry of Soil Constituents* (D.J. Greenland and M.H.B. Hayes, eds.). Wiley-Interscience, New York, 179 - 230 p.

Hester, K. and Boyle, E., 1982. Water chemistry control of cadmium content in recent benthic foraminifera. *Nature*, 298: 260 - 262.

Hiraide, M., 1992. Heavy metals complexed with humic substances in fresh water. *Analytical Sciences*, 8: 456 - 459.

Hiraide, M.; Shima, T. and Kawaguchi, H., 1994. Separation and determination of dissolved and particulate humic substances in river water. *Mikrochim. Acta*, 113: 269 - 276.

Hirose, K., 1994. Conditional stability constants of metal complexes of organic ligands in seawater: past and present, and a simple coordination chemistry model. *Analytica Chimica Acta*, 284: 621 - 634.

Holmes, C.W.; Slade, E.A. and McLerran, C.J., 1974. Migration and redistribution of zinc and cadmium in marine estuarine system. *Environ. Sci. Technol.*, 8, 255 - 259.

Honeyman, B.D. and Santschi, P.H., 1988. Metals in aquatic systems. *Environ. Sci. Technol.*, 23(8): 863 - 871.

Honeyman, J.T. and Santschi, P.H., 1989. A "Brownian-pumping" model for oceanic trace metal scavenging: evidence from Th isotopes, *J. Mar. Res.*, 47: 951 - 992.

Hosseine, M.W.; Lehn, J.M.; Maggiora, L.; Mertes, K.B. and Mertes, M.P., 1987. Supramolecular catalysis in the hydrolysis of ATP facilitated by macrocyclic polyamines: mechanistic studies. *J. Am. Chem. Soc.*, 109: 537 - 544.

Isab, A.A. and Arnold, A.P., 1985. Complexation of methylmercury(II) by DL-selenomethionine. *J. Coord. Chem.* 14, 73.

Jackson, G.E. and Seymour, L.F., 1995. Formation constants at high ionic strength. I. Potentiometric determination of protonation constants for succinic, propionic and mono-methyl succinic acid in different ionic media. *Talanta*, 42(1): 5 - 8.

Jackson, G.E. and Seymour, L.F., 1995. Formation constants at high ionic strength. II. The ionic strength correction of formation constants using a simplified pitzer equation. *Talanta*, 42(1): 9 - 16.

Jiang, S.J. and Houk, R.S., 1988. Inductively coupled plasma mass spectrometric detection for phosphorus and sulfur compounds separated by liquid chromatography. *Spectrochimica Acta*, 45, 43B, 405.

Joaquim, C.G.; Esteves da Silva and Machado, A.A.S.C., 1994. A combination of synchronous fluorescence spectroscopy with chemometric treatment and internal standards in non-aqueous potentiometric titrations of fulvic acids. *Talanta*, 41(12): 2095 - 2104.

Joaquim, C.G.; Esteves da Silva and Machado, A.A.S.C., 1995. Evolving factor analysis of synchronous fluorescence spectra of humic substances in the presence of Cu (II). *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 27: 115 - 128.

Johnsson, L., 1989. Selenium levels in the mor layer of swedish forest soils. Swedish J. Agric. Res., 19: 21 - 28.

Johnsson, K.S.; Coale, K.H. and Jannasch, H.W., 1992. Analytical chemistry in oceanography. Analytical Chemistry, 64(22): 1065A - 1075A.

Johnston, R., 1964. In: Sea Water, the Natural Medium of Phytoplankton. II. Trace Metals and Chelation, and General Discussion. J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 44: 87 - 109.

Jöreskog, K.G.; Klovan, J.E. and Reymont, R.A., 1976. Geological Factor Analysis, Elsevier Scientific Publishing CO., New York, pp. 178.

Jurek, P.E.; Martell, A.E.; Motekaitis, R.J.; Hancock, R., 1995. Molecular recognition of pyrophosphate by 1,13-dioxa-4,7,10,16,19,22-hexaazacyclotetracosane (OBIS DIEN) and by its binuclear and dinuclear copper (II) complexes. A thermodynamic and molecular mechanics study. Inorg. Chem. 34,1823.

Katz, H.E., 1986. Anion complexation and migration in (8 - Silyl - 1 - naphthyl) boranes. Participation of hypervalent silicon. J. Am. Chem. Soc., 108: 7640 - 7645.

Kerndorff, H. and Schnitzer, M., 1980. Sorption of metals on humic acid. Geochim. Cosmochim. Acta, 44: 1701 - 1708.

Kimura, E., 1985. Macrocyclic polyamines as biological cation and anion complexones - an application to calculi dissolution. Topics in Curr. Chem., 128: 113 - 141.

Kolbl, G., 1995. Concepts for the identification and determination of selenium compounds in the aquatic environment. Mar. Chem., 48: 185 - 197.

Kotz, J.C. and Purcell, K.F., 1991. In: Chemistry & Chemical Reactivity, second edition. Saunders College publishing (eds.), 1037 - 1071p.

Lacerda, L.D. & Rezende, C.E., 1987. Simp. ecossist. costa sul e sudeste Brasil: sintese dos conhecimentos. Publ. ACIESP, Sao Paulo, pp. 123 - 131.

Lalere, B., 1995. Speciation des composés organostanniques dans l'environnement par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à photométrie de flamme après préparation de l'échantillon sous champ micro-ondes. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux I.

Laurie, S.H., 1986. 22- Naturally Occurring Ligands. Comprehensive Coordination Chemistry. The Synthesis, Reactions, Properties & Applications of Coordination Compounds. Sir Geoffrey Wilkinson (Editor in Chief), Pergamon Press, 959 - 988p.

Lavander, O.A., 1982. Selenium: biochemical actions, interactions, and some human health implications. Curr. Top. Nutr. Dis., 6: 345 - 368.

Lavigne, J.A.; Langford, C.H. and Mak, M.K.S., 1987. Kinetic study of speciation of nickel(II) bound to a fulvic acid. Anal. Chem., 59: 2616 - 2620.

Lee, D.Y.; Lin, C.F.; Houg, L.M. and Lo, K.S., 1992. Spectrofluorometric investigation of Cu and Pb complexation by dissolved organic matter. Chinese Inst. of Environ. Engr., 2: 51 - 56.

Legendre, L. and Legendre, P., 1983. Numerical Ecology, Elsevier Scientific Publishing CO., New York, pp. 419.

Leggett, D.J. and McBryde, W.A.E., 1975. General computer program for the computation of stability constants from absorbance data. Anal. Chem., 47: 1065 - 1070.

Lehn, J.M.; Pine, S.H.; Watanabe, E. and Willard, A.K., 1977. Binuclear cryptates. synthesis and binuclear cation inclusion complexes of BISTREN macrobicyclic ligands. *J. Am. Chem. Soc.*, 99: 6766 - 6768.

Lehn, J.M.; Sonveaux, E., and Willard, A.K., 1978. Molecular recognition. Anion cryptates of a macrobicyclic receptor molecule for linear triatomic species. *J. Am. Chem. Soc.*, 100: 4914 - 4916.

Lehn, J.M., 1988. Supramolecular chemistry - scope and perspectives, molecules, supermolecules, and molecules devices. *Angew. Chim. Int. Ed. Engl.*, 27: 89 - 112.

Lehn, J.M., 1990. Perspectives in supramolecular chemistry - From molecular recognition towards molecular information processing and self-organization. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 29: 1304 - 1319.

Lévesque, M., 1974. Some aspects of selenium relationships in eastern canadian soils and plants. *Can. J. Soil Sci.*, 54: 205 - 214.

Lichiang, J.B.D. and Magge, R.J., 1992. A review of electroanalytical determinations of some important elements (zinc, cadmium, selenium and arsenic) in environmental samples. *Sci. Int. (Lahore)*, 4: 25 - 37.

Long, E.R., 1992. Ranges in chemical concentrations in sediments associated with adverse biological effects. *Mar. Pollution Bull.*, 24(1): 38 - 45.

Loring, D. and Rantala, R.T., 1992. *Earth Sci. Rev.*, 32, 235 - 283.

Luoma, S.N., 1990. In *Heavy Metals in the Marine Environment*. Furness, R.W. and Rainbow, P.J., (eds.). CRC press, Boca Raton; chapter 4.

Lyons, Q.A. and Pettit, L.D., 1984. Formation constants of silver(I) complexes of some sulphur-containing dipeptides and valylvaline. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 2305.

Lyons, Q.A. and Pettit, L.D., 1986. Thermodynamics of formation of binuclear complexes of some sulphur-containing dipeptides with silver(I) and copper(II). Crystal structure of a methionyl-S-methylcysteine complex of copper(II). *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 499.

Machado, A.A.S.C.; Joaquim, C.G.; Esteves da Silva and Maia, J.A.C., 1994. Multi-wavelength analysis of synchronous fluorescence spectra of the complexes between a soil fulvic acid and Cu(II). *Analytica Chimica Acta*, 292: 121 -132.

Maier, K.J.; Foe, C.; Ogle, R.S.; Willians, M.J.; Knight, A.W.; Kiffney, P. and Melton, L.A., 1987. The dynamics of selenium in aquatic ecosystems. *Trace Subst. Environ. Health*, 21: 361 - 408.

Mantoura, R.F.C. and Riley, J.P., 1975. The analytical concentration of humic substances from natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 76: 97 - 106.

Martell, A.E. and Motekaitis, R.J., 1988. Formation and degradation of an oxalato- and peroxo - bridged dicobalt OBISDIEN dioxygen complex. Binuclear complexes as hosts for the activation of two coordinated guests. *J. Am. Chem. Soc.*, 110: 8059 - 8064.

Martell, A.E. and Motekaitis, R.J., 1992. In: *Determination and Use of Stability Constants*, second edition. CCH Publishers, Inc. 2 - 35p.

Martell, A.E., 1993. *Mat. Chem. Phys.* 35, 273.

Martell, A.E.; Hancock, R.D. and Motekaitis, R.J., 1994. Factors affecting stabilities of chelate, macrocyclic and macrobicyclic complexes in solution. *Coordination Chemistry Reviews*, 133: 39 - 65.

Martell, A.E.; Motekaitis, R.J.; Rockcliffe, D.; Menif, R. and Ngwenya, P.M., 1994. Binuclear macrocyclic and macrobicyclic complexes for dioxygen activation and transport. *Pure & Appl. Chem.*, 66(4): 859 - 866.

Matsui, Y.; Nishioka, T. and Fujita, T., 1985. Quantitative structure, reactivity, analysis of the inclusion mechanism by cyclodextrins. *Topics in Curr. Chem.* 128: 61 - 89.

Matsui, Y.; Tanemura, E. and Nonomura, T., 1993. Complexation of inorganic anions with heptakis (6 - butyl amino - 6 - deoxy) - β -cyclodextrin and its analogs in acidic media. *Bull. Chem. Jpn.*, 66: 2827 - 2831.

McCurdy, E.J.; Lange, J.D. and Haygarth, P.M., 1993. The determination of selenium in sediments using hydride generation ICP-MS. *Sci. Total Environ*, 135: 131 - 136.

McNeal, J.M. and Balistrieri, L.S., 1989. In: *Geochemistry and Occurrence of Selenium: An Overview*. Jacobs, L.W. (eds.). SSSA Spec. Publ., 23. Selenium Agric. Environ., Madison, WI., 1 - 13p.

MacPherson, A.K.; Sampson, B. and Diplock, A.T., 1988. Comparison of methods for the determination of selenium in biological fluids. *Analyst*, 113: 281 - 283.

Massart, D.L.; Vandeginste, B.G.M.; Deming, S.N.; Michote, Y. and Kaufman, L., 1988. In: *Chemometrics a Textbook*. Elsevier, New York, , pp. 1 - 470.

Measures, C.J. and Burton, J.D., 1978. Behavior and speciation of dissolved selenium in stuarines waters. *Nature*, 273: 293 - 295.

Mertes, M.P.; Mertes, K.B., 1990. Polyammonium macrocycles as catalysts for phosphorus transfer: The evolution of an enzyme mimic. *Acc. Chem. Res.* 23, 413.

Miles, C.J. ; Tuschall Jr., J.R. and Brezonik, L., 1983. Isolation of aquatic humus with diethylaminoethylcellulose. *Anal. Chem.*, 55: 410 - 411.

Miller, J.C. and Miller, J.N., 1988. *Statistics for analytical chemistry*, second edition. Ellis Horwood Limited, pp. 1 - 224.

Monzyk, B. and Crumbliss, A.L., 1979. Mechanism of ligand substitution on high-spin iron(III) by hydroxamic acid chelators. Thermodynamic and kinetic studies on the formation and dissociation of a series of monohydroxamatoiron(III) complexes. *J. Am. Chem. Soc.*, 101: 6203 - 6213.

Mopper, K. and Schultz, C.A., 1993. Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components. *Mar. Chem.*, 41: 229 - 238.

Motekaitis, R.J.; Martell, A.E.; Lehn, J.M. and watanabe, E.I., 1982. bis (2,2',2'' - triaminotriethylamine) cryptates of cobalt(II), nickel(II), copper(II), and Zinc(II). Protonation constants, formation constants and hydroxo bridging. *Inorg. Chem.*, 21: 4253 - 4257.

Motekaitis, R.J.; Martell, A.E.; Lecomte, J.P. and Lehn, J.M., 1983. Stabilities of mononuclear and dinuclear macrocyclic complexes of 1,4,7,13,16,19 - hexaaza - 10,22 - dioxacyclotetracosane (BISDIEN). *Inorg. Chem.*, 22: 609 - 614.

Motekaitis, R.J. and Martell, A.E., 1987. Speciation of metals in the oceans. 1. Inorganic complexes in seawater, and influence of added chelating agents. *Marine Chemistry*, 21: 101 - 116.

Motekaitis, R.J.; Martell, A.E.; Murase, I.; Lehn, J.M. and Hosseine, M.W., 1988. Comparative study of the copper(II) cryptates of C-BISTREN and O-BISTREN. Protonation constants and secondary anion bridging by fluoride and hydroxide. *Inorg. Chem.*, 27: 3630 - 3636.

Motekaitis, R.J.; Rudolf, P.R.; Martell, A.E. and Hancock R., 1989. Crystal and molecular structure of the (μ -hydroxo) dicopper(II) O-BISTREN complex $\text{Cu}_2(\text{OH})(\text{C}_{24}\text{O}_3\text{H}_{54})\text{Br}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. *Inorg. Chem.* 28,112.

Motekaitis, R.J.; Sun, Y. and Martell, A.E., 1991. New multidentate ligands. 29. Stabilities of iron(III) and gallium(III) complexes of a tris(hydroxamate) cryptand and two open - chain analogues. *Inorg. Chem.*, 30: 1554 - 1556.

Motekaitis, R.J. and Martell, A.E., 1992. Molecular recognition by protonated OBISDIEN and its metal complexes. *Inorg. Chem.*, 31: 5534 - 5542.

Motekaitis, R.J.; Sun, Y. and Martell, A.E., 1992. New synthetic, selective, high-affinity ligands for effective trivalent metal ion binding and transport. *Inorgânica Chimica Acta*, 198-200: 421 - 428.

Muñoz Olivas, R.; Donard, O.F.X.; Câmara, C. and Quevauviller, P., 1994. Analytical techniques applied to the speciation of selenium in environmental matrices. *Analytica Chimica Acta*, 286: 357 - 370.

Muñoz Olivas, R. and Donard, O.F.X.. to be published.

Nakaguchi, Y.; Hiraki, K.; Tamari, Y.; Fukunaga, Y.; Nishikawa, Y. and Shigematsu, T., 1985. Fluorimetric determination of inorganic selenium (IV), selenium (VI) and organic selenium in natural waters. *Anal. Sci.*, 1: 247 - 252.

Nazarenko, I.I. and Ermakov, A.N., 1972. In: *Selenium and Tellurium*. Hallsted Press, New York. 158p.

Nederlof, M.M.; Riemsdijk, W.H. and Koopal, L.K., 1992. Comparison of semianalytical methods to analyse complexation with heterogenous ligands. *Environ. Sci. Technol.*, 26: 763 - 771.

Nederlof, M.M.; Van Riemsdijk, W.H. and Koopal, L.K., 1994. Analysis of the rate of dissociation of ligand complexes. *Environ. Sci. Technol.*, 28: 1048 - 1053.

Nève, J. and Therond, P., 1991. In: *Oligoéléments en Médecine et Biologie*. Chappuis, P. (eds.). Lavoisier, Paris, 425 - 453p.

Newcomb, M.; Horner, J.H.; Blanda, M.T. and Squattampo, P.J., 1989. Macrocycles Containing Tin. Solid Complexes of Anions Encrypted in Macrobicyclic Lewis Acidic Hosts. *J. Am. Chem. Soc.*, 111: 6294 - 6301.

Newman, M.C. and Jagoe, C.H., 1994. Bioavailability. Physical, chemical and biological interactions. Session 3 - Inorganic toxicants. Chapter 1. Ligands and the bioavailability of metals in aquatic environments. Lewis publishers (eds.), 39 - 61p.

Norden, M.; Ephraim, J.E. and Allard, B., 1993. The binding of strontium and europium by an aquatic fulvic acid ion-exchange distribution and ultrafiltration studies. *Talanta*, 40: 1425 - 1432.

Nriagu, J.O. and Coker, R.D., 1980. Trace metals in humic and fulvic acids from lake ontario sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 14: 443 - 446.

Nriagu, J.O., 1989. Natural versus anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. *NATO ASI Serv., Serv. C.*, 268, 3-16.

Ochiai, E.I., 1995. Toxicite of heavy metals and biological defense. *J. Chem. Ed.*, 72(6), 479 - 484.

Oliveira, C.R.; Lombardi, A.T. and Jardim, W.F., 1995. Copper complexation by naturally occurring organic matter. A multiligand model. Submitted to publication.

Ornemark, U., 1994. In: Determination and Speciation of Selenium in Fresh Water. Comprehensive summaries of Uppsala dissertations from the faculty of science and technology 33. *Acta Universitatis Upsaliensis*, Uppsala, 2 - 5p.

Parker, C.A., 1968. In: *Photoluminescence of Solutions*. Elsevier, Amsterdam, 544p.

Patty, F.A., 1962. In: *Industrial Hygiene and Toxicology*, Vol. 2. Wiley Interscience, 886p.

- Paxeus, N., 1985. Studies on Aquatic Humic substances (dissertation). Department of Analytical and Marine Chemistry, University of Gothenburg, 154p.
- Pearson, R., 1968. Hard and soft acids and bases, HSAB, part I. Fundamental principles. *J. Chem. Educ.*, 45: 581 - 587.
- Pedersen, C.J., 1967. Cyclic polyethers and their complexes with metal salts. *J. Am. Chem. Soc.*, 89: 2495 - 2496.
- Pelletier, E., 1985. Mercury-selenium interactions in aquatic organisms: a review. *Mar. Environ. Res.*, 18: 111 - 132.
- Perrin, D.D., 1979. Stability constants of metal ion complexes. Part A. Inorganic Ligands. Part B. Organic Ligands. IUPAC, Chemical Data Series n° 21 and 22. Pergamon press (eds.), Oxford. 106 - 107p.
- Pierre, J.L.; Chautemps, P.; Refait, S.; Beguin, C.; Marzouki, A.E.; Serratrice, G.; Saint-Aman, E. and Rey, P., 1995. Imidazolate - bridged dicopper(II) and copper - zinc complexes of a macrobicyclic ligand (cryptand). A possible model for the chemistry of Cu - Zn superoxide dismutase. *J. Am. Chem. Soc.*, 117: 1965 - 1973.
- Piispanen, J. and Lajunen, L.H.J., 1995. Complex formation equilibria of some aliphatic α -Hydroxycarboxylic acids. 1. The determination of protonation constants and the study of calcium(II) and magnesium(II) complexes. *Acta Chemica Scandinavica*, 49: 233 - 240.
- Piispanen, J. and Lajunen, L.H.J., 1995. Complex formation equilibria of some aliphatic α -Hydroxycarboxylic acids. 2. The study of copper(II) complexes. *Acta Chemica Scandinavica*, 49: 241 - 247.
- Potin-Gautier, M.; Séby, F. and Astruc, M., 1994. Interference of humic substances on the speciation analysis of inorganic selenium in waters and soils by DPCSV. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 53 - 58.

Potvin, G.P., 1994. Modelling complex solution equilibria III. Error-robust calculation of equilibrium constants from pH or potentiometric titration data. *Analytica Chimica Acta*, 299: 43 - 57.

Pullin, M.J. and Cabaniss, S.E., 1995. Rank analysis of the pH-dependent synchronous fluorescence spectra of six standard humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 1460 - 1467.

Queiroz, R.U.; Stadler, E.; Sierra de Ledo, B.; Soriano-Sierra, 1993. E.J. & Hass, P.; *Proc. VIII Symp. Coastal and Ocean. Manag.*, 3. 3326 - 3333.

Queiroz, R.U.; Sierra de Ledo, B. e Soriano-Sierra, E.J., 1994. *ACIESP*, 1, 371 - 375.

Ramachandran, G.N., 1967. Conformation of Biopolymers. In: *Study of the Conformation of Amino Acids*, edited by A.V. Lakshminarayanan, V. Sasisekharan and G.N. Ramachandran, pp 61-82. Academic Press.

Raptis, S.E.; Kaiser, G. and Tolg, G., 1983. A survey of selenium in the environment and a critical review of its determination at trace levels. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 316: 105 - 123.

Reamer, D.C. and Zoler, W.H., 1980. Selenium biomethylation products from soil and sewage sludge. *Science*, 208: 500 - 502.

Reddy, M.M.; Leenheer, J.A. and Malcolm, R.L., 1989. Elemental Analysis and heat of combustion of fulvic acid from the Suwannee River. In: *Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Interactions, Properties, and Proposed Structures*. U.S. Geological survey, Open file Report 87-557. 147 - 161 p.

Renfrew, R.W.; Jamison, R.S. and Weatheburn, D.C., 1979. Aqueous solution equilibrium involving the ligand 2,2,4 - trimethyl - 1,5,9 - triazacyclododecane and nickel(II), copper(II), and zinc(II). *Inorg. Chem.*, 18: 1584 - 1589.

Ryan, D.K. and Weber, J.H., 1982. Fluorescence quenching titration for determination of complexing capacities and stability constants of fulvic acid. *Anal. Chem.*, 54: 986 -990.

Ryan, D.K. and Ventry, L.S., 1990. Exchange of comments on fluorescence quenching measurements of copper - fulvic acid binding. *Anal. Chem.*, 62: 1523 - 1526.

Riley, G.A., 1970. In: *Particulate Organic Matter in Seawater. Advances in Marine Biology*, 8: 1 - 118p.

Rippey, B.; Murphy, R.J. and Kyle, S.W., 1982. Anthropogenically derived changes in the sedimentary flux of magnesium, chromium, nickel, copper, zinc, mercury, lead, and phosphorus in lough neagh northern ireland. *Environ. Sci. Technol.*, 16: 23 - 30.

Robberecht, H. and Grieken, R., 1982. Selenium in environmental waters: determination, speciation, and concentrations levels. *Talanta*, 29: 823 - 844.

Rosso, N.D.; Szpoganicz, B.; Debacher, N.; Martell, A.E., *Quimica Nova*, Submitted

Rotruck, J.T.; Pope, A.L.; Gauther, H.E.; Swanson A.B.; Hafeman, D.G. and Hoekstra, W.G., 1973. Selenium. Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179: 588 - 590.

Saar, R.A. and Weber, J.C., 1980. Comparison of spectrofluorometry and ion-selective electrode potentiometry for determination of complexes between fulvic and heavy-metal ions. *Anal. Chem.*, 52: 2095 - 2100.

Sabatini, A.; Vacca, A. and Gans, P., 1974. MINIQUAD. General computer program for the computation of formation constants from potentiometric data. *Talanta*, 21: 53 - 77.

Salomons, W. and Förstner, U., 1984. In: *Metals in the Hydrocycle*. Springer-Verlag, New York, 1p.

Santos, M.A.; Esteves, M.A.; Vaz, M.C.T. and Gonçalves, M.L.S.S., 1993. A new Iron(III) ion sequestering ligand: Synthesis, solution chemistry and electrochemistry. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 927 - 932.

Santschi, P.H.; Nixon, S.; Pilson, M. and Hunt, C., 1984. Accumulation of sediments trace metals (lead, copper) and total hydrocarbons in Narragansett Bay, Rhode Island. *Estuarine Coastal Shelf Sci.*, 19, 427 - 449.

Sanz Alaejos, M.; Diaz Romero, C., 1995. Analysis of selenium in body fluids: a review. *Chemical Reviews*, 95, 227.

Sarkis, M. and Mickey, C.D., 1980. Selenium: Part. 1. Its chemistry and occurrence. *Journal of Chemical Education*, 57 (12): 886 - 889.

Sayce, I.G., 1968. Computer calculation of equilibrium constants of species present in mixtures of metal ions and complexing agents. *Talanta*, 15: 1397 - 1411.

Schmidtchen, F.P.; Gleich, A. and Schummer, A., 1989. Selective molecular hosts for anions. *Pure & Appl. Chem.*, 61(9): 1535 - 1546.

Schnitzer, M. and Khan, S.U. (eds.), 1978. In: *Soil Organic Matter*. Elsevier, New York, 319p.

Schnitzer, M., 1978. Humic Substances: Chemistry and Reactions. in: *Soil Organic Matter*, Schnitzer, M. and Khan, S.U. (eds.). Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1 - 64p.

Schulten, H.R. and Schnitzer, M., 1993. A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften*, 80 (29): 29 - 30.

Schwarzenbach; G. And Flaschka, H. 1969, Complexometric Titration. Methuen co. Ltd.; London; pp. 173, 256, and 264.

Seel, C.; Galàn, A. and Mendoza, J., 1995. Molecular recognition of organic acids and anions receptor models for carboxylates, aminoacids, and nucleotides. Topics in Curr. Chem., 175: 101 - 131.

Sell, C. and Vögtle, F., 1992. Molecules with large cavities in supramolecular chemistry. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 31: 528 - 549.

Senesi, N., 1990. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part II. The fluorescence spectroscopy approach. Anal. Chim. Acta, 232: 77 - 106.

Shanzer, A.; Libman, J. and Lifson, S., 1992. Multiple weak forces in ion - binding molecules. Pure & Appl. Chem., 64(10): 1421 - 1435.

Shapira, J.R., 1971. In: Organic Selenium Compounds, Their Chemistry, and Biology. Klayman, D.L. and Gunther, W.H. (eds.). Wiley Interscience, New York, 701p.

Shine, J.P.; Ika, R.V. and Ford, T.E., 1995. Multivariate statistical examination of spatial and temporal patterns of heavy metal contamination in New Bedford Harbor marine sediments. Environ. Sci. Technol., 29, 1781 - 1788.

Shuman, M.S.; Collins, B.J.; Fitzgerald, P.J. and Olson, D.J., 1983. In: Aquatic and Terrestrial Humic Material, (eds.) Ann Arbor press: Ann Harbor, MI, chapter 17, 349 - 370p.

Sierra de Ledo, B.; Klingebiel, A. et Soriano-Sierra, E.J., 1995. Evolution des ecosistemas côtiers et occupation humaine dans une île subtropicale du Brésil. Travail présenté à BORDOMER.

Sigg, L.; Stumm, W. and Behra, P., 1992. *Chimie des Milieux Aquatiques. Chimie des Eaux Naturelles et des Interfaces dans L'environnement*. Masson (eds.), 1p.

Sillen, L.G. and Warnqvist, B., 1969. High-speed computers as a supplement to graphical methods. X. Application of LETAGROP to spectrophotometric data, for testing models and adjusting equilibrium constants. *Arkiv. Kemi*, 31: 377 - 390.

Skopintsev, B.A., 1971. Recent advances in the study of organic matter in oceans. *Oceanology*, 11: 775 - 789.

Smith, R.M.; Martell, A.M. and Motekaitis, R.J., 1995. NIST Critical Stability Constants of Metal Complexes Database version 1.0, NIST Standard Reference Database 46, U. S. Department of Commerce, Gaithersburg, USA

Sóvágó, I. and György, P., 1987. Studies on transition-metal-peptide complexes. Part 13. Copper(II) and nickel(II) complexes of amino acids and peptides containing a thioether group. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1717.

Stadtman, T.C., 1990. Selenium Biochemistry. *Annu. Rev. Biochem.*, 59: 111 - 127.

Stadtman, T.C., 1991. Selenocystine Biochemistry. *Korean J. Biochem.*, 28: 77 - 81.

Steinberg, C. & Baltes, G.F., 1984. Influence of metal compounds on fulvic acid/molybdenum blue reactive phosphate associations. *Archiv. fur Hydrobiologie*, 100: 61 - 71.

Steinrauf, L.K.; Peterson, J. and Jensen, L.H., 1958. *J. Am. Chem. Soc.* The crystal structure of L-cystine hydrochloride. 80, 3835.

Stenner, R.D. and Nickless, G., 1975. Heavy metals in organisms of the atlantic coast of South-West Spain and Portugal. *Mar. Pollut. Bull.*, 6, 89 - 92.

- Stern, O and Volmer, M., 1919. The extinction period of fluorescence. *Phys. Z.*, 20: 183 - 188.
- Stevens, R.J. & Stewart, B.M., 1982. Concentration, fractionation and characterization of soluble organic phosphorus in river water entering Lough Neagh. *Water Research*, 16: 1505 - 1519.
- Stevenson, F.J., 1982. In: *Humus Chemistry; Genesis, Composition, Reactions*. Wiley-inter-Science, New York, 443p.
- Studer, M.; Riesen, A. and Kaden, T.A., 1989. 37-Metal complexes with macrocyclic ligands. Part XXVIII. Structures and stabilities of the Cu^{2+} complexes with 1,4,7 - triazacyclononane - 1 - acetic acid. *Helv. Chim. Acta*, 72: 307 - 312.
- Stuermer, D.H., 1975. The characterization of humic substances in sea water. Ph.D. Thesis, Massachusetts Institute of technology and Woods Hole Oceanographic Institution, MA, 188p.
- Stupp, S.I.; Son, S.; Lin, H.C. and Li, L.S., 1993. Synthesis of two - dimensional polymers. *Science*, 259: 59 - 63.
- Sugimura, Y.; Suzuki, Y. and Miyake, Y., 1976. The content of selenium and its chemical form in sea water. *J. of the Ocean. Soc. of Japan*, 32: 235 - 241.
- Summerhayes, C.P.; Ellis, J.P.; Stoffers, P.; Briggs, S.R. and Fitzgerald, M.G., 1977. Fined-grained sediment and industrial waste distribution in New Bedford and Western Buzzard Bay, Massachusetts. *Woods Hole Oceanogr. Inst.*, 110 pp.
- Sun, Y.; Martell, A.E. and Motekaitis, R.J., 1985. New multidentate ligands. 27. Synthesis and evaluation of metal ion affinities of new endocyclic hydroxamate macrocycles. *Inorg. Chem.*, 24: 4343 - 4350.
- Szpoganicz, B.; Motekaitis, R.J. and Martell, A.E., 1990. Equilibrium studies and molecular recognition in the catechol and tiron-bridged binuclear cobalt (II)

1,4,7,13,16,19 - Hexaaza - 10,22 - dioxacyclotetracosane dioxygen complexes. *Inorg. Chem.*, 29(8): 1467 - 1474.

Tabushi, I.; Shimizu, N.; Sugimoto, T.; Shiozuka, M. and Yamamura, K., 1977. Cyclodextrin flexibly capped with metal ion. *J. Am. Chem. Soc.*, 99: 7100 - 7101.

Tamao, K.; Hayashi, T.; Ito, Y. and Shiro, M., 1990. Novel pentacoordinate anionic silicate $[O-C_6H_4(SiPhF_2)_2F^-]K^+ \cdot 18\text{-crown} - 6$ containing a bent fluoride bridge between two silicon atoms. *J. Am. Chem. Soc.*, 112: 2422 - 2424.

Tanzer, D. and Heumann, K.G., 1991. Determination of dissolved selenium species in environmental water samples using isotope dilution mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 63: 1984 - 1989.

Thurman, E.M. and Malcolm, R., 1981. Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 24: 463 - 466.

Tribolet, R.; Sigel, H. and Trefzer, K., 1983. Intramolecular ionic interactions in ternary amino acid complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 79, 278.

Turner, M.A. and Rudd, J.W.M., 1983. The english-wabigoon river system: Selenium in lake enclosures: its geochemistry, bioaccumulation, and ability to reduce mercury bioaccumulation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 40: 2228 - 2240.

Vetrogon, V.I.; Lukyanenko, N.G.; Schwing-Weill, M.J. and Arnaud-Neu, F., 1994. A PC compatible computer program for the calculation of equilibrium constants by the simultaneous processing of different sets of experimental results. *Talanta*, 41(12): 2105 - 2115.

Vidot, F.; Zinbi, Y.; Dubarry, D. and De Kersabiec, A.M., 1992. Méthodes de dissolution des matériaux géologiques. Journée scientifique du ministère de la Recherche et de l'Espace, Paris.

Vyas, N.K.; Vyas, M.N. and Quioco, F.A., 1988. Sugar and signal - transducer. Binding sites of the escherichia coli galactose chemoreceptor protein. *Science*, 242: 1291 - 1295.

Wallace, G.T.; Krahforst, C.F.; Pitts, L.C.; Shine, J.P.; Studer, M.M. and Bollinger, C.R., 1991. Assessment of the chemical composition of the fox point CSO effluent and associated subtidal and intertidal environments. Technical Report, University of Massachusetts/Boston, Department of Environmental Protection, Office of Coastal Zone Management- Commonwealth of Massachusetts: Boston, MA., pp.225.

Walter, R.; Schlesinger, D.H. and Schwartz, I.L., 1969. *Analytical Biochem.* 27, 231.

Warzeska, S. and Kramer, R., 1995. Synthese und struktur zweikerniger kupfer (II) komplexe eines neuen hexaaza makrocyclus mit verbruckenden oxalat und acetat ionen. *Chem. Ber.*, 128: 115 -119.

Wendel, A., 1992. Biochemical functions of selenium. phosphorus, Sulfur Silicon *Relat. Elem.*, 67: 405 - 415.

Wilber, Ch.G., 1980. Toxicology of selenium: a review. *Clin. Toxic.*, 17(2): 171 - 230.

Williams, P.J. B., 1975. Biological and chemical aspects of dissolved organic material in sea water. In: *Chemical Oceanography*, 2nd edition. Riley, J.P. and Skirrow, G. (eds.), Academic Press, London, 301 - 363p.

Wood, J.M., 1975. Biological cycles for elements in the environment. *Naturwissenschaften*, 62, 357 - 364.

Wojcik, J.F. and Rohrbach, R.P., 1975. Small anion binding to cycloamylose. Equilibrium constants. *J. Phys. Chem.*, 79(21): 2251 - 2253.

Yuen Ng, C.; Rodgers, S.J. and Raymond, K.N., 1989. Ferric ion sequestering agents. 21. Synthesis and spectrophotometric and potentiometric evaluation of trihydroxamate analogues of ferrichrome. *Inorg. Chem.*, 28: 2062 - 2066.

Zuberbeuhler, A.D. and Kaden, T.A., 1982. TITFIT, a comprehensive program for numerical treatment of potentiometric data by using analytical derivatives and automatically optimized sub routines with the newton-gauss-marquardt algorithm. *Talanta*, 29(3): 201 - 206.