

# **Estudo de bases de Schiff para a complexação e detecção de metais pesados**

Joana Filipa Costa Simões

**Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Química, área de especialização em Química Forense**

Orientador: Professor Doutor Hugh Burrows

Co-Orientadoras: Professora Doutora Luísa Ramos e Doutora Sofia Fonseca

Setembro 2011

**Universidade de Coimbra**

---

# Agradecimentos

Muito poucas são as coisas que conseguimos sozinhos. Este trabalho é mais uma prova disso, pois para ele houve diversas contribuições. Gostaria de salientar algumas, sem esquecer que todas foram importantes. Obrigado!

Gostaria de agradecer ao **Professor Doutor Hugh Burrows** a sua ajuda na preparação deste trabalho, o seu apoio e o seu incentivo.

À **Professora Doutora Maria Luísa Ramos**, co-orientadora desta tese, toda a disponibilidade, amizade e ensinamentos prestados ao longo deste trabalho.

À **Professora Doutora Sofia Fonseca** co-orientadora desta tese, toda a dedicação, paciência e atitude ao longo deste trabalho.

·  
Ao **Professor Doutor Canelas Pais**, o Pai deste Mestrado, o empenho e dedicação pelos seus alunos.

A todos os colegas do Departamento, principalmente à **Dulce Gabriel**, a ponte de ligação entre o Mestrado e os seus alunos, e ao **Luís Carlos** pela ajuda constante sempre demonstrada.

Aos meus **pais**, aos meus **irmãos**, pelo constante apoio, motivação e incentivo.

Ao **Mário**, pelo companheirismo, amizade, paciência e motivação nos momentos mais difíceis.

---

# Índice

ÍNDICE DE FIGURAS.....	III
ÍNDICE DE TABELAS.....	VII
RESUMO .....	VIII
ABSTRACT .....	IX
ABREVIATURAS.....	X
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. METAIS PESADOS.....	1
1.2. O ZINCO .....	3
1.2.1. Propriedades do zinco.....	3
1.2.2. O papel biológico do Zinco.....	3
1.2.3. Zinco e os seus compostos binários e ternários .....	5
1.2.4. A aplicação de zinco em galvanização e protecção contra corrosão .....	6
1.2.5. A presença de zinco em meios biológicos .....	7
1.2.6. Toxicidade do Zinco.....	8
1.3. BASES DE SCHIFF COMO COMPLEXANTES LUMINESCENTES.....	9
1.4. A HIDRÓLISE DE ZN (II) E O DIAGRAMA DE ESPECIAÇÃO EM ÁGUA EM FUNÇÃO DO PH.....	10
1.5. APRESENTAÇÃO DOS MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS UTILIZADOS NESTE ESTUDO .....	11
1.5.1. Fotofísica Molecular.....	11
1.5.1.1. Espectroscopia de absorção UV/visível.....	11
1.5.1.2. Espectroscopia de Fluorescência .....	12
1.5.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ .....	14
2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	16
2.1. REAGENTES.....	16
2.2. SOLUÇÕES.....	17
2.3. EQUIPAMENTO .....	18
2.3.1. Espectroscopia de absorção UV/Visível .....	18
2.3.2. Fluorescência.....	18
2.3.3. Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	19
2.4. MÉTODOS .....	19
2.4.1. Fotofísica Molecular.....	19
2.4.1.1. Espectroscopia de absorção no UV/Visível e Fluorescência .....	19
2.4.2. RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ .....	19
2.4.3. Adição do metal pesado .....	19
3. RESULTADOS.....	20
3.1. FORMAÇÃO DE BASE DE SCHIFF COM GLICÍNA.....	21
3.1.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência.....	21
3.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ .....	30
3.2. FORMAÇÃO DE BASE DE SCHIFF COM TRIS .....	34
3.2.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência.....	35
3.2.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ .....	39
3.3. FORMAÇÃO DE BASE DE SCHIFF COM PROPILAMINA.....	42
3.3.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência.....	42
3.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ .....	44
3.4. FORMAÇÃO DE BASE DE SCHIFF COM ETANOLAMINA.....	47
3.4.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência.....	47
3.4.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ .....	48
3.5. FORMAÇÃO DE BASE DE SCHIFF COM ÉTILENODIAMINA .....	50

3.5.1.	Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência.....	50
3.5.1.1.	Adição de zinco.....	52
3.5.1.2.	Adição de Cádmió.....	55
3.6.	BASE DE SCHIFF (SALICILALDEÍDO E ETILENODIAMINA) SINTETIZADA- LIGANDO SALÉN.....	58
3.6.1.	Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência.....	59
3.6.1.1.	Complexação da base de Schiff Salén (salicilaldeído+etilenodiamina) sintetizada e zinco..	59
3.6.1.2.	Interação entre a base de Schiff (salicilaldeído+etilenodiamina) sintetizada e cádmio.....	60
3.6.1.3.	Interação entre a base de Schiff (salicilaldeído+etilenodiamina) sintetizada e o mercúrio	62
3.6.2.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C.....	64
3.7.	TENTATIVA DE FORMAÇÃO DE BASE DE SCHIFF COM 2-AMINOPIRIDINA EM SOLUÇÃO AQUOSA	66
3.7.1.	Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência.....	66
3.7.1.1.	Interação entre 2-Aminopiridina e Zn(II) .....	69
3.7.2.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H e de <sup>13</sup> C.....	71
3.8.	COMPARAÇÃO DAS CINÉTICAS DE FORMAÇÃO DAS BASES DE SCHIFF .....	73
4.	DISCUSSÃO .....	74
5.	CONCLUSÕES.....	77
	BIBLIOGRAFIA.....	78

## Índice de Figuras

Figura 1. 1	Alguns tipos de grupos de doadores e da geometria de zinco (II) em proteínas, a geometria é condicionada sobretudo pela macromolécula quelante. N representa um resíduo de histidina e S pode representar tiolato ou um resíduo de cisteína.	4
Figura 1. 2	Disposição dos grupos que coordenam o catião zinco na enzima carboxipeptidase A, a cheio é mostrado o substrato gliciltirosina.	5
Figura 1. 3	Tabela periódica com os elementos mais importantes que entram na constituição dos semicondutores.	6
Figura 1. 4	Representação da estrutura do Salén.	9
Figura 1. 5	Representação do estado fundamental e dos estados excitados singleto e tripleto	13
Figura 1. 6	Diagrama de Jablonski: A) Absorção de fotão,(S <sub>0</sub> ) estado fundamental, (S <sub>n</sub> ) estado excitado singuleto, (S <sub>1</sub> ) primeiro estado excitado singuleto, (RV) relaxação vibracional, (CI) conversão interna, (CIS) cruzamento intersistemas, (T <sub>n</sub> ) estado excitado tripleto, (F) fluorescência e (P) fosforescência.	13
Figura 2. 1	Reacção entre salicilaldeído e etilenodiamina, relação de 2:1, respectivamente.	17
Figura 2. 2	Estrutura da base de Schiff (salicilaldeído e etilenodiamina).	17
Figura 2. 3	Complexação do salen com o metal.	18
Figura 3. 1	Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído (1x10 <sup>-5</sup> M), com sucessivas adições de uma solução de glicína, a pH=8.	22
Figura 3. 2	Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído (1x10 <sup>-5</sup> M), com sucessivas adições de uma solução de glicína, a pH=8.	22

---

Figura 3. 3 Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M, $1 \times 10^{-2}$ M de glicína e com sucessivas adições de uma solução de nitrato de zinco.	23
Figura 3. 4 Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M, $1 \times 10^{-2}$ M de glicína e com sucessivas adições de uma solução de nitrato de zinco.	23
Figura 3. 5 Espectros de absorção de uma solução de $1 \times 10^{-5}$ M salicilaldeído, $5 \times 10^{-3}$ M glicína e $1 \times 10^{-4}$ M de nitrato de zinco, preparada no próprio dia (linha preta) e preparada no dia anterior (linha vermelha).	25
Figura 3. 6 Espectros de emissão de uma solução de $1 \times 10^{-5}$ M salicilaldeído, $5 \times 10^{-3}$ M glicína e $1 \times 10^{-4}$ M nitrato de zinco.	25
Figura 3. 7 Espectros de emissão de uma solução de $1 \times 10^{-5}$ M salicilaldeído e $1 \times 10^{-2}$ M glicína variando a concentração de nitrato de zinco.	25
Figura 3. 8 Cinética da reação de três soluções com salicilaldeído, glicína e nitrato de zinco.	26
Figura 3. 9 Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M; glicína $1 \times 10^{-2}$ M e nitrato de zinco $3 \times 10^{-4}$ M.	27
Figura 3. 10 Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M; glicína $2 \times 10^{-2}$ M e nitrato de zinco $3 \times 10^{-4}$ M.	28
Figura 3. 11 Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído $5 \times 10^{-5}$ M; glicína $2 \times 10^{-2}$ M e nitrato de zinco $3 \times 10^{-4}$ M.	28
Figura 3. 12 Reação de condensação de salicilaldeído e glicína.	30
Figura 3. 13 Espectros de RMN de $^1\text{H}$ a) solução de glicína livre com uma concentração de 10 mM, b) solução de 10 mM salicilaldeído livre, c) mistura 10:10 mM salicilaldeído: glicína d) solução de salicilaldeído, glicína e zinco 10:10:5 mM f) solução de salicilaldeído, glicína e zinco 10:10:10 mM à temperatura 298K, pH 8.	31
Figura 3. 14 Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ a) solução de glicína livre com uma concentração de 10 mM, b) solução de 10 mM salicilaldeído livre, c) mistura 10:10 mM salicilaldeído: glicína d) solução de salicilaldeído, glicína e zinco 10;10;5 f) solução de salicilaldeído, glicína e zinco 10;10;10, à temperatura 298K, pH 8	33
Figura 3. 15 Misturas de nitrato de zinco, glicína e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ sinais adicionais devido à forma complexada, dependendo do pH.	34
Figura 3. 16 Espectros de absorção de uma solução com $1 \times 10^{-5}$ M salicilaldeído, com sucessivas adições de 1 a 10 mM de tris.	35
Figura 3. 17 Espectros de emissão de uma solução com $1 \times 10^{-5}$ M salicilaldeído, com sucessivas adições de 1 a 10 mM de tris.	36
Figura 3. 18 Espectros de absorção de uma solução de $1 \times 10^{-5}$ M de salicilaldeído 10 mM de tris com sucessivas adições de nitrato de zinco variando de $1 \times 10^{-5}$ M a $3 \times 10^{-4}$ M.	36
Figura 3. 19 Espectros de emissão de uma solução de $1 \times 10^{-5}$ M de salicilaldeído juntamente com a) solução de 1 mM de tris, b) solução de 5 mM de tris e c) solução contendo 10 mM de tris, adicionado as concentrações de zinco que variam entre $1 \times 10^{-5}$ M a $3 \times 10^{-4}$ M.	37
Figura 3. 20 Cinética de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M, tris $1 \times 10^{-2}$ M e nitrato de zinco $3 \times 10^{-4}$ M.	38

---

Figura 3. 21 Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M, tris $1 \times 10^{-2}$ M e nitrato de zinco $3 \times 10^{-4}$ M. $\Delta t = 200$	38
Figura 3. 22 Reacção de condensação entre o salicilaldeído e tris.	39
Figura 3. 23 Espectro de RMN de $^1\text{H}$ a) solução de tris livre de concentração 10 mM, b) solução de 10 mM salicilaldeído livre, c) solução da mistura 10:10 mM salicilaldeído: tris d) solução de salicilaldeído, tris e zinco 10:10:5 mM, à temperatura 298K, pH 8.	40
Figura 3. 24 Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ a) solução de tris livre de concentração 10 mM, b) solução de 10 mM salicilaldeído livre, c) solução da mistura 10:10 mM salicilaldeído: tris d) solução de salicilaldeído, tris e zinco 10:10:5 mM, à temperatura 298K, pH 8.	41
Figura 3. 25 Misturas de nitrato de zinco, tris e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ sinais adicionais devido à forma complexada, dependendo do pH.	41
Figura 3. 26 Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M, propilamina $1 \times 10^{-2}$ M e zinco (II) $3 \times 10^{-4}$ M.	42
Figura 3. 27 Cinética de uma solução com salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M; propilamina $1 \times 10^{-2}$ M e zinco $3 \times 10^{-4}$ M, a $\lambda = 430$ nm	43
Figura 3. 28 Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído, propilamina e zinco	43
Figura 3. 29 Reacção de condensação de salicilaldeído e propilamina.	45
Figura 3. 30 Espectros de RMN de $^1\text{H}$ a) solução de 10 mM propilamina b) solução da mistura de 10:10 mM propilamina com salicilaldeído e c) solução de 10:10:5 mM salicilaldeído, propilamina e zinco	45
Figura 3. 31 Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ a) solução de 10 mM propilamina, b) solução da mistura de 10:10 mM propilamina com salicilaldeído e c) solução de 10:10:5 mM salicilaldeído, propilamina e zinco.	46
Figura 3. 32 Misturas de nitrato de zinco, propilamina e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ sinais adicionais devido à forma complexada, dependendo do pH	46
Figura 3. 33 Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M, etanolamina $1 \times 10^{-2}$ M e nitrato de zinco $3 \times 10^{-4}$ M no início (linha preta) e no fim (linha vermelha) da experiência.	47
Figura 3. 34 Reacção de condensação entre salicilaldeído e etanolamina	48
Figura 3. 35 Espectros de RMN de $^1\text{H}$ a) solução de 10 mM etanolamina b) solução da mistura de 10:10 mM etanolamina com salicilaldeído e c) solução de 10:10:5 mM salicilaldeído, etanolamina e zinco.	49
Figura 3. 36 Misturas de nitrato de zinco, etanolamina e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ sinais adicionais devido à forma complexada.	49
Figura 3. 37 Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M com sucessivas adições de uma solução de etilenodiamina.	50
Figura 3. 38 Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M com sucessivas adições de uma solução de etilenodiamina, a $\lambda_{\text{exc}} = 325$ nm.	51
Figura 3. 39 Espectro de emissão de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M; com sucessivas adições de uma solução de etilenodiamina, a $\lambda_{\text{exc}} = 337$ nm.	51
Figura 3. 40 Espectros de absorção de uma solução com $1 \times 10^{-5}$ M de salicilaldeído e $1 \times 10^{-3}$ M de etilenodiamina, adicionando três concentrações de zinco.	52

---

Figura 3. 41 Espectro de emissão de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M com a) etilenodiamina $1 \times 10^{-3}$ M b) etilenodiamina $5 \times 10^{-3}$ M e c) etilenodiamina $1 \times 10^{-2}$ M, com sucessivas adições de zinco, $\lambda_{exc}$ 337 nm.	54
Figura 3. 42 Espectros de absorção de uma solução de $1 \times 10^{-5}$ M de salicilaldeído e $1 \times 10^{-2}$ M de etilenodiamina, com sucessivas adições de nitrato de cádmio.	55
Figura 3. 43 Espectros de emissão de uma solução de $1 \times 10^{-5}$ M salicilaldeído com a) $1 \times 10^{-3}$ M etilenodiamina b) $5 \times 10^{-3}$ M etilenodiamina e c) $1 \times 10^{-2}$ M de etilenodiamina, com sucessivas adições de nitrato de cádmio, $\lambda_{exc}$ 355 nm	57
Figura 3. 44 Estrutura do complexo entre salicilaldeído e etilenodiamina 1:1 e o metal.	57
Figura 3. 45 Representação da estrutura do Salen.	58
Figura 3. 46 Estrutura do complexo entre salicilaldeído e etilenodiamina 2:1 e o metal.	58
Figura 3. 47 Espectros de absorção com a adição de nitrato de zinco à base de Schiff ( $4.47 \times 10^{-5}$ M) sintetizada.	59
Figura 3. 48 Espectro de emissão com a adição de nitrato de zinco à base de Schiff ( $4.47 \times 10^{-5}$ M) sintetizada, $\lambda_{exc} = 325$ nm	60
Figura 3. 49 Espectros de absorção com a adição de nitrato de cádmio à base de Schiff ( $4.58 \times 10^{-5}$ M) sintetizada.	61
Figura 3. 50 Espectros de emissão com a adição de nitrato de cádmio à base de Schiff ( $4.58 \times 10^{-5}$ M) sintetizada, $\lambda_{exc} = 325$ nm	61
Figura 3. 51 Espectros de absorção com a adição de cloreto de mercúrio à base de Schiff ( $4.55 \times 10^{-5}$ M) sintetizada.	62
Figura 3. 52 Espectros de emissão com a adição de cloreto de mercúrio à base de Schiff ( $4.55 \times 10^{-5}$ M) sintetizada, $\lambda_{exc} = 325$ nm.	63
Figura 3. 53 Gráfico de Stern -Volmer	63
Figura 3. 54 Reacção de condensação entre salicilaldeído e etilenodiamina, estequiometria 2:1.	64
Figura 3. 55 Espectro de RMN $^1\text{H}$ da base de Schiff	64
Figura 3. 56 Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ da base de Schiff	65
Figura 3. 57 Misturas de nitrato de zinco, etilenodiamina e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ sinais adicionais devido à forma complexada, depende pH	65
Figura 3. 58 Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M (preto); de uma solução de 2-aminopiridina $1 \times 10^{-5}$ M (vermelho) e uma solução com a mistura dos dois (azul); pH=8.	66
Figura 3. 59 Espectro de emissão de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M (preta); de uma solução de 2-aminopiridina $1 \times 10^{-5}$ M (azul) e uma solução com a mistura dos dois (vermelha), pH=8, $\lambda_{exc} = 325$ nm	67
Figura 3. 60 Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M com 2-aminopiridina $1 \times 10^{-2}$ M variando a concentração de nitrato de zinco	68
Figura 3. 61 Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído $1 \times 10^{-5}$ M, 2-aminopiridina $1 \times 10^{-2}$ M variando a concentração de nitrato de zinco, $\lambda_{exc} = 325$ nm	68
Figura 3. 62 Espectros de absorção da 2-aminopiridina com a adição de concentrações de nitrato de zinco.	69

---

Figura 3. 63 Espectro de emissão da 2-aminopiridina com a adição de concentrações de nitrato de zinco, $\lambda_{exc}$ =300 nm.	70
Figura 3. 64 Gráfico de Stern- Volmer.	70
Figura 3. 65 Estrutura da 2-aminopiridina.	71
Figura 3. 66 Espectros de RMN $^1H$ de uma solução de 2-aminopirina livre e com a adição de nitrato de zinco.	72
Figura 3. 67 Espectros de RMN $^{13}C$ de uma solução de 2-aminopiridina livre e com a adição de nitrato de zinco.	72
Figura 3. 68 Comparação das cinéticas de formação de base de Schiff da glicína, tris e propilamina.	73

## Índice de Tabelas

Tabela 1.1 Propriedades nucleares dos núcleos magnéticos.....	15
Tabela 2.1 Lista dos Reagentes utilizados.....	16
Tabela 3.1 Tabela com as constantes de velocidade e o coeficiente de correlação das três soluções apresentadas na cinética, variando a concentração de salicilaldeído e glicína, e mantendo constante a concentração de nitrato de zinco.....	29
Tabela 3. 2 Concentrações modelo para comparação de resultados na cinética.....	29
Tabela 3. 3 Valores para desvio químico $^e$ , $\delta$ , e para o acoplamento químico $^e$ , J, no espectro de RMN $^1H$ para o salicilaldeído livre, glicína livre, a mistura do salicilaldeído com glicína, e o complexo Zn(II), salicilaldeído e glicína, a 298K.....	32
Tabela 3. 4 Valores para desvio químico $^e$ , $\delta$ , e para o acoplamento químico $^e$ , J, no espectro de RMN $^{13}C$ para o salicilaldeído livre, glicína livre, a mistura do salicilaldeído com glicína, e o complexo Zn(II), salicilaldeído e glicína, a 298K.....	33
Tabela 3. 5 Tabela com os valores da constante de velocidade e do coeficiente de correlação para a solução de salicilaldeído, tris e nitrato de zinco.....	39
Tabela 3. 6 Tabela com os valores da constante de velocidade e do coeficiente de correlação para a solução de salicilaldeído, propilamina e zinco.....	44
Tabela 3. 7 Tabela com as constantes de velocidade da glicína, o tris e a propilamina.....	73
Tabela 3. 8 Intensidades de fluorescência dos metais com as diferentes bases de Schiff, e respectivos comprimentos de onda de absorção e de emissão.....	75



---

## Resumo

Este trabalho foca-se no desenvolvimento de um método analítico para a detecção e quantificação de metais pesados, resultando da necessidade da Química Forense ter métodos sensíveis e fiáveis para a detecção de pequenas quantidades desses metais. Assim, realizou-se a síntese de uma série de bases de Schiff fluorescentes a partir das reacções em solução aquosa do salicilaldeído e seis diferentes aminas (Glicína, Tris-Hidroxiaminometano, Propilamina, Etanolamina, Etilenodiamina e 2-Aminopiridina) em que as propriedades luminescentes são modificadas na presença de iões metálicos. Submeteu-se os compostos obtidos à complexação com sais de zinco (Zn (II)), mas também com cádmio e mercúrio. Os compostos foram caracterizados por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), espectroscopia de absorção UV/visível e espectroscopia de fluorescência. Também foi estudada a interacção entre a base de Schiff de salicilaldeído e etilenodiamina previamente sintetizada com nitrato de zinco, nitrato de cádmio e cloreto de mercúrio.

Os casos da etanolamina e etilenodiamina, parecem ser os melhores sistemas de bases de Schiff para a detecção e quantificação de zinco e outros metais pesados em soluções aquosas.

O estudo com a etilenodiamina é interessante porque é possível sintetizar um complexo 2:1 (salicilaldeído:glicína, Salen) e comparar o comportamento da complexação com o metal com o complexo 1:1 formado em solução.

---

# Abstract

The existence of sensitive and reliable analytical methods capable of detecting traces of heavy metals is very important in the field of forensic chemistry. The work presented in this thesis describes the development of an analytical method for the detection of heavy metals. We synthesized various fluorescent Schiff bases obtained from chemical reactions involving salicylaldehyde and five different amines (glycine, tris-hydroxy aminomethane, propylamine, ethanolamine, ethylenediamine, and 2-Aminopyridine). The luminescent properties of the compounds were modified in the presence of metal ions. The compounds obtained were afterwards complexed with salts of Zn (II), cadmium and mercury and characterized using nuclear magnetic resonance (NMR), UV-Vis and fluorescence spectroscopy.

The cases of ethanolamine and ethylenediamine, to be the best systems of Schiff bases for the detection and quantification of zinc and other heavy metals in aqueous solutions.

The study with ethylenediamine is interesting because it is possible to synthesize a complex 2:1 (salicylaldehyde: glycine, Salen) and compare the behavior of the metal complexation with the 1:1 complex formed in solution.

---

# Abreviaturas

$^{13}\text{C}$  RMN- Ressonância Magnética Nuclear de carbono

$^1\text{H}$  RMN- Ressonância Magnética Nuclear de próton

u.a. – unidades arbitrárias

$\delta$  – Desvio químico

J- acoplamento químico

mM- milimolar

ppm- parte por milhão

$S_0$ - estado singuleto fundamental

$S_1$ - primeiro estado singuleto excitado

$S_n$ - estado excitado singuleto

Tris- Tris-Hidroxiaminometano

# 1. Introdução

## 1.1. Metais pesados

A poluição por metais pesados é um dos mais importantes problemas ambientais da actualidade, como consequência é importante desenvolver metodologias sensíveis para a detecção e quantificação dessas espécies. Em Química Forense é relevante determinar a fonte de qualquer poluição de metais pesados.

Várias indústrias produzem resíduos contendo diferentes metais pesados no ambiente, tais como indústrias de mineração, fusão de metais, acabamento de superfície, produção de combustíveis, fertilizantes, pesticidas, metalúrgicas galvanoplastia, indústria fotográfica e de produção de equipamentos eléctricos.<sup>2</sup>

As águas residuais industriais são a principal fonte de vários tipos de metais poluentes, como crómio, chumbo e cádmio. Além de estarem entre os mais importantes poluentes, os metais pesados, (em termos de tratamento de água) constituem problemas sérios em relação à saúde humana.<sup>2</sup>

Os iões dos metais pesados são estáveis como contaminantes ambientais persistentes, já que não podem ser degradados e/ou destruídos. Estes iões metálicos podem ser prejudiciais à vida aquática e causar uma grave poluição no solo.

Um dos critérios mais utilizados para classificar um metal como “pesado” é a sua densidade específica que deve ser maior ou igual a 5 g/cm<sup>3</sup>. Por esta classificação, os elementos do grupo 2 e dos grupos 3, 4, 5 e 6 da série de transição da tabela periódica são considerados metais pesados, por exemplo, o titânio, crómio e manganês. Provavelmente os metais pesados mais importantes são cádmio, mercúrio e chumbo, que mostram elevada toxicidade e a utilização desses metais é limitada por regulamento nacional, Europeu e internacional. Em termos ambientais, a definição para metal pesado é aplicada quanto à conotação de toxicidade, incluindo neste grupo também metais com densidade específica menor, como o alumínio e alguns semi-metais.<sup>3</sup>

Na verdade, a atenção pública em relação aos metais pesados cresceu desde a emblemática doença de Minamata causada pelo Mercúrio no Japão. A toxicidade dos metais pesados pode resultar em prejuízo ou redução mental e do sistema nervoso central e danos à homeostase sanguínea, bem como aos tecidos de pulmões, rins, fígado e outros órgãos vitais. Podem ocorrer alergias e o contacto prolongado com alguns metais ou os seus compostos podem mesmo causar cancro.<sup>3,4</sup>

No entanto, nem todos os metais possuem características desfavoráveis e vários deles são nutricionalmente essenciais aos organismos vivos em quantidades pequenas. Alguns metais não são essenciais, mas podem ser considerados benéficos em quantidades adequadas, como o cobalto, o

## Introdução

---

níquel e o vanádio. Com altas concentrações, a maioria deles são tóxicos e tem influência directa e adversa em vários processos fisiológicos e bioquímicos.<sup>5</sup>

Os metais cobalto, zinco e níquel são elementos essenciais quando presentes em traços, tendo um papel importante nas funções do corpo. Os elementos cádmio, crómio e chumbo são reconhecidos por serem altamente tóxicos e prejudiciais à saúde.<sup>5,6</sup>

Riviera- Utrilla e Sanchez-polo (2003) e Inglezakis et al (2003) apontam o chumbo, cobre, ferro, níquel, zinco, cádmio, alumínio e crómio como metais comuns, presentes em instalações industriais que tendem a acumular-se nos organismos causando doenças.<sup>42</sup>

Juntamente com o cobre, níquel e crómio, o zinco é considerado extremamente fitotóxico quando em excesso no solo. O zinco é um micronutriente essencial para numerosos processos fisiológicos a baixas concentrações, sendo tóxico a altas concentrações.<sup>42</sup>

A quantidade de chumbo usada no século XX excede o total consumido em todas as épocas anteriores. O seu uso extensivo tem causado contaminação local e global do ar, água e solo. Este elemento comprovadamente provoca disfunções físicas, bioquímicas e de comportamento em humanos e em animais de laboratório. A sua presença na água potável causa vários tipos de problemas sérios para a saúde como anemia, danos cerebrais, deficiência mental e problemas de comportamentos podendo levar à morte em casos extremos.<sup>42</sup>

Há muitas fontes de exposição humana ao metal cádmio, incluindo trabalhadores nas indústrias de metais, de produção de baterias e processos de galvanoplastia. Vários estudos ligam a exposição ocupacional ao cádmio ao cancro do pulmão nos humanos, além do cancro renal e da próstata.<sup>7</sup>

Compostos de cádmio foram listados como carcinogénicos pela EPA. Este elemento assumiu importância como contaminante na década de 50 quando no Japão, vários habitantes desenvolveram a doença de Itai-itai, que é a mais severa forma de envenenamento crónico por cádmio, causada por ingestão de arroz cultivado com água contaminada por este metal. Os pacientes com esta doença apresentam problemas renais e disfunção nos ossos consistente com a combinação de osteomalácia e osteoporose.<sup>8</sup>

Neste estudo vamos focar na detecção e análise de zinco em água. O zinco normalmente não é considerado elemento tóxico nas quantidades em que estão presentes na água. Mas o zinco serve de modelo aos outros metais. Depois do desenvolvimento de métodos adequados para o zinco, vamos aplicar aos metais do mesmo grupo, o cádmio e o mercúrio.

### 1.2. O Zinco

#### 1.2.1. Propriedades do zinco

O zinco é continuamente mobilizado e transportado no meio ambiente, como resultado dos processos naturais de erosão, incêndios das florestas, formação e aerossol acima do mar, erupções vulcânicas e actividade biológica. Consequentemente, o zinco está naturalmente presente em todo o meio ambiente.<sup>2</sup>

Todas as formas de vida na terra evoluíram na presença do zinco, que é utilizado pela natureza para processos biológicos específicos. A biodisponibilidade do zinco depende das propriedades químicas e físicas do meio ambiente e dos processos biológicos, como temperatura, pH, dureza da água, idade e tamanho do organismo e outros factores. O zinco é um metal reactivo que se combina facilmente com outros elementos para formar compostos insolúveis de zinco (II) que não são biodisponíveis.<sup>2</sup>

O zinco metálico não é considerado tóxico, porém alguns dos seus componentes como o óxido e o sulfeto são nocivos. Na década de 40, observou-se que na superfície do aço galvanizado formava-se, com o tempo, “pelos de zínco” (“zinc whiskers”) que libertados no ambiente provocavam curtos circuitos e falhas nos componentes electrónicos.<sup>2</sup>

#### 1.2.2. O papel biológico do Zinco

O catião zinco (II), que é o elemento vestigial mais abundante depois do ferro, tem importantes funções intra e extra celulares, e ocorre sobretudo associado a proteínas, muitas delas são enzimas em que o zinco faz parte do centro activo.

Além do estado elementar, Zn, o único estado de oxidação importante é o estado divalente. A estabilidade deste estado de oxidação +2 é suficiente para impedir um envolvimento directo em reacções de oxidação-redução e, por outro lado, a sua dureza intermédia permite que forme ligações com uma grande variedade de grupos orgânicos de uma forma selectiva, funcionando como um ácido, funcionando como um ácido de Lewis.<sup>9</sup>

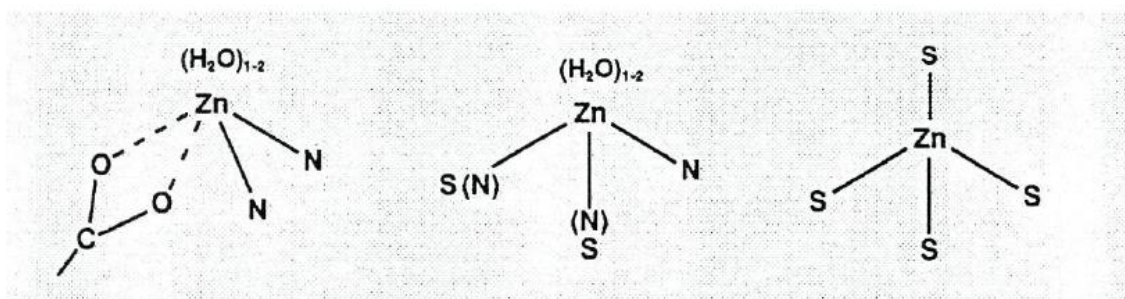
O catião zinco tem um papel essencial na organização da estrutura dos cromossomas nos eucariotas, onde se ligam aos nucleotídeos do ADN, bem como na regulação da expressão genética através dos receptores/promotores dedos-de-zinco (*Zinc-fingers*: coordenação do zinco a cadeias polipeptídicas e ácidos nucleicos), na síntese da bases nucleotídicas (aspartato transcarbamilase) e do ADN e ARN (ADN polimerase e RNA polimerase). Está assim intimamente relacionado com o

## Introdução

crescimento e desenvolvimento celular e a sua deficiência na dieta provoca crescimento retardado (mental e físico) e malformações corporais.<sup>9,10</sup>

Nas proteínas de armazenamento e transporte de cátions metálicos, como na metalotionina, o zinco está coordenado por quatro átomos de enxofre (resíduos de cisteína) numa geometria aproximadamente tetraédrica. Esta geometria de coordenação também se encontra em proteínas onde o zinco tem uma função estrutural ou reguladora, envolvendo átomos de azoto e enxofre como doadores.<sup>10</sup>

Nas enzimas em que o zinco tem uma função catalítica (no centro activo) a esfera de coordenação é constituída por átomos de azoto (anel imidazola da histidina), oxigénio (grupos carboxílicos e vários aminoácidos) ou enxofre (cisteína, ficando sempre uma ou duas posições de coordenação livres para a ligação do substrato).<sup>10</sup> Alguns exemplos de coordenação são apresentados na figura 1.1.



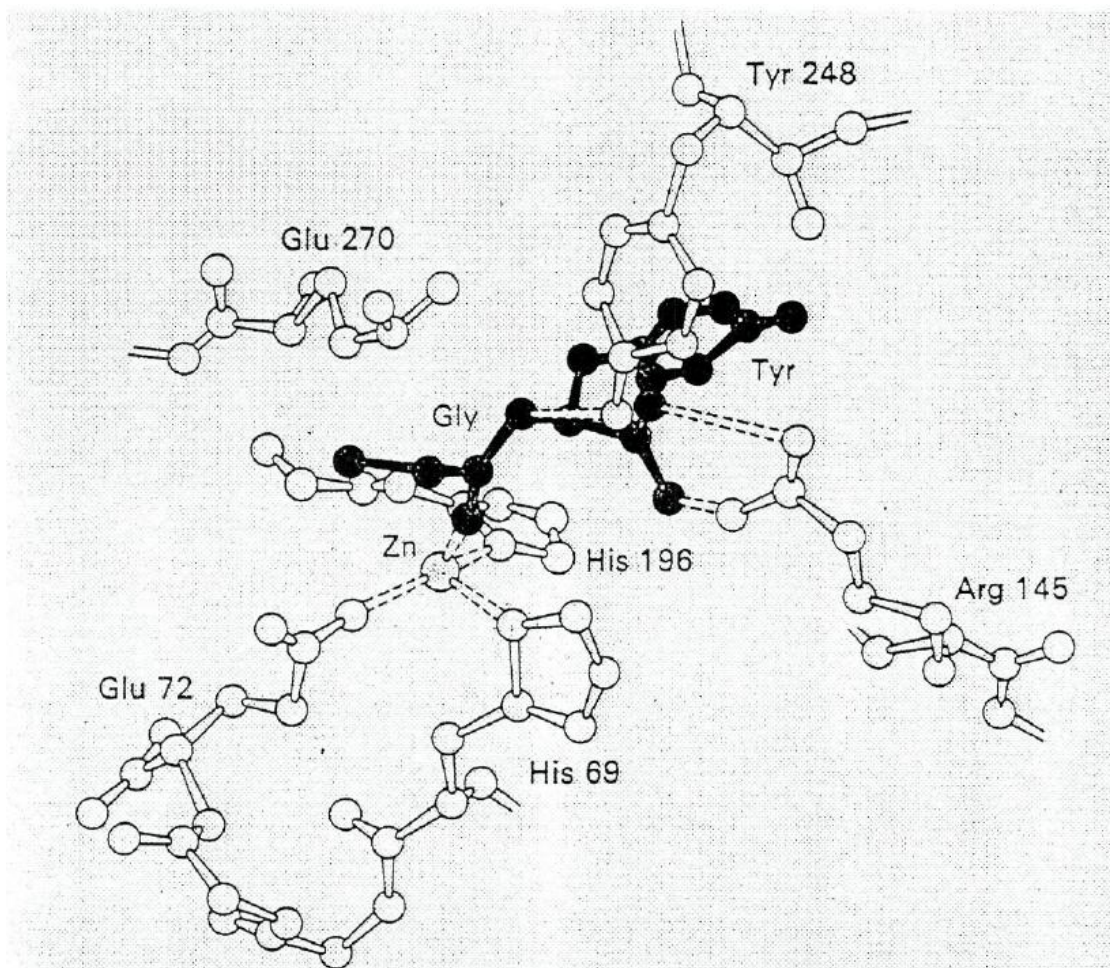
**Figura 1. 1** Alguns tipos de grupos de doadores e da geometria de zinco (II) em proteínas, a geometria é condicionada sobretudo pela macromolécula quelante. N representa um resíduo de histidina e S pode representar tiolato ou um resíduo de cisteína.

A constante de ligação de  $Zn^{2+}$  às enzimas tem um valor alto, tipicamente da ordem dos  $10^9$ , mas essa ligação é no entanto bastante lábil, como também o é a ligação do substrato ao cátion metálico. O cátion Zn (II) tem uma configuração de valência  $3d^{10}$ , praticamente não polarizável, e assume várias geometrias de coordenação. Estas características, aliadas à não rigidez dos grupos que ligam o cátion zinco às enzimas, tornam possíveis pequenas variações na sua geometria de coordenação que permitem aumentar a velocidade das reacções catalisadas. As geometrias de coordenação variam bastante ao longo do grupo. Para o cátion zinco forma preferencialmente complexos com geometria tetraédrica, embora também se observem complexos octaédricos deste cátion.<sup>9,10,11</sup>

As reacções catalisadas pelas enzimas de zinco II, que é o um ácido de Lewis forte, tiram partido da sua capacidade de captação de pares electrões para a activação de substratos, aumentando a sua electrofilicidade. Encontra-se assim no centro activo de enzimas intracelulares e extracelulares de degradação hidrolítica de proteínas (carboxipeptidases, aminopeptidases e collagenases) e de ligações

## Introdução

fosfato (fosfatases); uma representação esquemática da configuração do centro activo da enzima carboxipeptidase A pode ser observada na figura 1.2<sup>10</sup>.



**Figura 1. 2** Disposição dos grupos que coordenam o catião zinco na enzima carboxipeptidase A, a cheio é mostrado o substrato glicil-tirosina.

### 1.2.3. Zinco e os seus compostos binários e ternários

Geralmente os semicondutores são constituídos por mais que um tipo de átomos e são designados por binários, ternários ou quaternários conforme sejam constituídos por 2 tipos, 3 tipos ou 4 tipos de átomos.<sup>11</sup>

Os semicondutores compostos binários mais importantes são obtidos por combinação de elementos do grupo IV da Tabela Periódica: SiC, SiGe, elementos dos grupos III-V: InP, GaAs,



## Introdução

GaP, ou elementos dos grupos II-VI: ZnS, ZnTe, CdS. Nesta secção consideramos os sistemas binários envolvendo Zn(II).

Nos semicondutores de banda directa as transições dos electrões envolvem variações de energia e portanto quando um electrão transita entre a banda de valência e a banda de condução (ou no sentido inverso) a energia é fornecida sob a forma de um fóton que possui um momento desprezável.<sup>11</sup>

Estes materiais são os mais adequados para o fabrico de dispositivos emissores de luz ou como fosfores em ecrans de televisão. As transições nos semicondutores de banda indirecta envolvem energia e momento, o que conduz a rendimentos de emissão muito baixos, e portanto limitam na prática a sua utilização no fabrico de dispositivos emissores de luz (LEDs).

Em LEDs, a largura da banda proibida determina o comprimento de onda da radiação emitida e traduz a energia mínima dos fótons que são absorvidos.<sup>11</sup> A utilização de zinco nesses dispositivos representa uma fonte importante da entrada deste metal no ambiente.

Nome		Nº atómico		Símbolo		Massa específica (g/cm <sup>3</sup> )		Rede cristalina		Configuração Electrónica		Temperatura de fusão (K)		Constante de rede (Å)		Legenda	
Boro		5		B		2.34		TET		1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>1</sup>		2600		8.73		↓	
Carbono		6		C		2.26		DIA		1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>2</sup>		4300		3.57		↓	
Azoto		7		N		1.03		HEX		1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>3</sup>		63.3		4.039		↓	
Oxigénio		8		O		1.43		CUB		1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>4</sup>		54.7		6.83		↓	
Flúor		9		F		1.97		MCL		1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>5</sup>		53.5		53.5		7A	
Neón		10		Ne		1.56		CFC		1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>6</sup>		24.5		4.43		↓	
Alumínio		13		Al		2.70		CFC		[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>1</sup>		933		4.05		↓	
Silício		14		Si		2.33		DIA		[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>2</sup>		1683		5.43		↓	
Fósforo		15		P		1.82		CUB		[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>3</sup>		317.3		7.17		↓	
Enxofre		16		S		2.07		ORT		[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>4</sup>		386		10.47		↓	
Cloro		17		Cl		2.09		ORT		[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>5</sup>		172.2		6.24		↓	
Argon		18		Ar		1.78		CFC		[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>6</sup>		83.9		5.26		↓	
Cobre		29		Cu		8.96		CFC		[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>1</sup>		1356		13.56		1B	
Zinco		30		Zn		7.14		HEX		[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup>		693		2.66		↓	
Gálio		31		Ga		5.91		ORT		[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> 4p <sup>1</sup>		303		4.51		↓	
Germânio		32		Ge		5.32		DIA		[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> 4p <sup>2</sup>		1211		5.66		↓	
Arsénico		33		As		5.72		ROM		[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> 4p <sup>3</sup>		1090		4.13		↓	
Selénio		34		Se		4.79		HEX		[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> 4p <sup>4</sup>		490		4.36		↓	
Bromo		35		Br		4.10		ORT		[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> 4p <sup>5</sup>		266		6.67		↓	
Kripton		36		Kr		3.07		CFC		[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> 4p <sup>6</sup>		116.5		5.72		↓	
Prata		47		Ag		10.5		CFC		[Kr]4d <sup>10</sup> 5s <sup>1</sup>		1234		4.09		↓	
Cádmio		48		Cd		8.65		HEX		[Kr]4d <sup>10</sup> 5s <sup>2</sup>		594		2.96		↓	
Índio		49		In		7.31		TET		[Kr]4d <sup>10</sup> 5s <sup>2</sup> 5p <sup>1</sup>		429.8		4.59		↓	
Estanho		50		Sn		7.30		TET		[Kr]4d <sup>10</sup> 5s <sup>2</sup> 5p <sup>2</sup>		505		5.82		↓	
Antimónio		51		Sb		6.62		ROM		[Kr]4d <sup>10</sup> 5s <sup>2</sup> 5p <sup>3</sup>		904		4.51		↓	
Telúrio		52		Te		6.24		HEX		[Kr]4d <sup>10</sup> 5s <sup>2</sup> 5p <sup>4</sup>		723		4.45		↓	
Iodo		53		I		4.94		ORT		[Kr]4d <sup>10</sup> 5s <sup>2</sup> 5p <sup>5</sup>		387		7.27		↓	
Xenon		54		Xe		3.77		CFC		[Kr]4d <sup>10</sup> 5s <sup>2</sup> 5p <sup>6</sup>		161.3		6.20		↓	
Ouro		79		Au		19.3		CFC		[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>1</sup>		1337		4.06		↓	
Mercúrio		80		Hg		13.6		RBD		[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup>		234.3		2.99		↓	
Tálio		81		Tl		11.85		HEX		[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup> 6p <sup>1</sup>		577		3.46		↓	
Chumbo		82		Pb		11.4		CFC		[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup> 6p <sup>2</sup>		601		4.95		↓	
Bismuto		83		Bi		9.8		ROM		[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup> 6p <sup>3</sup>		544.5		4.75		↓	
Polónio		84		Po		9.4		CUB		[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup> 6p <sup>4</sup>		527		3.75		↓	
Astató		85		At		(575)		(575)		[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup> 6p <sup>5</sup>						↓	
Radon		86		Rn		(4.4)		(4.4)		[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup> 6p <sup>6</sup>						↓	

Figura 1. 3 Tabela periódica com os elementos mais importantes que entram na constituição dos semicondutores.

### 1.2.4. A aplicação de zinco em galvanização e protecção contra corrosão

O zinco apresenta, na maioria dos ambientes naturais, velocidades de corrosão bastantes inferiores àquelas observadas para os aços de carbono. Além disso, por ser menos nobre que este, é protegido, em qualquer descontinuidade do revestimento, através do mecanismo conhecido como

## Introdução

---

protecção catódica. Estas são as duas razões do seu enorme sucesso, tornando o zinco o metal de maior exposição à atmosfera.

A galvanização a fogo é um processo de aplicação de revestimentos de zinco a componentes de aço ou ferro fundido através da imersão do componente em banho de zinco fundido. A simplicidade do processo é uma vantagem sobre outros métodos de protecção contra corrosão.

A galvanização a fogo pode ser encontrada em todo o tipo de aplicação e indústria onde o aço é empregue. As indústrias de utilidades domésticas, processos químicos, papel e celulose, construção civil, automotiva e de transporte e no controlo da corrosão. Em qualquer situação onde o zinco é corroído como revestimento de sacrifício para o aço, a massa do zinco disponível determinará o desempenho frente à corrosão.

As vantagens da utilização deste processo tem um custo inicial inferior, pequena manutenção/custo menor a longo prazo, vida longa, preparo superficial, o revestimento não é tóxico logo não existem contaminação ambiental. Como desvantagens t as dimensões dos componentes ou estrutura a galvanizar, a coloração do zinco só pode ser alterada através da pintura, a alta temperatura do banho a que está sujeito pode causar distorções em certos componentes.

### 1.2.5. A presença de zinco em meios biológicos

O zinco encontra-se distribuído no fígado, pâncreas, rins, íris e coróide do olho e na medula óssea, localiza-se principalmente no núcleo celular sendo a pele bastante rica neste elemento. É essencial para o crescimento dos tecidos animais, sendo parte integrante de diversas enzimas e cofactores como a enolase e catalase dos rins. É um constituinte específico da enzima anidrase carbónica que actua no equilíbrio ácido-base do organismo. Está presente no plasma, eritrócitos e nos leucócitos. O zinco está envolvido no metabolismo de proteínas e dos ácidos nucleicos sendo, portanto fundamental no processo de multiplicação de células; participa também na formação de proteínas.<sup>12</sup> A absorção de zinco ocorre, principalmente, pelo intestino delgado e é afectada pela quantidade e proporção de outros nutrientes e pela forma química em que é administrado. Elementos como Cd, Ca, Cu, Fe, Mn e Se podem afectar o metabolismo do zinco.<sup>12</sup>

O excesso de zinco no organismo provoca uma diminuição do nível de cobre no fígado, evitando o efeito tóxico do cobre, pois o desloca quando se liga à proteína mucosa duodenal. Entretanto, se a concentração de cobre não for muito grande, um excesso de zinco provoca a deficiência de cobre e, consequentemente anemia. Sintomas de deficiência de zinco são caracterizados principalmente por lesões na epiderme. A falta deste elemento no período de crescimento pode afectar as funções do cérebro.

---

## Introdução

---

Fontes ricas de zinco, na dieta do homem, são os alimentos marinhos, carnes e nozes. As fontes mais pobres são o açúcar, frutas cítricas e óleos vegetais.<sup>12,13</sup>

Sabe-se que uma das causas da contaminação dos alimentos é o material usado para os recipientes onde são processados. Porém, maior fonte de contaminação dos alimentos por metais é causado pelo uso de insecticidas e fungicidas metálicos na preservação do solo.<sup>13</sup>

O zinco é encontrado na litosfera numa concentração aproximada de 80 µg/ml; solos contêm vestígios de zinco, variando de 10 a 300 µg/ml, dos quais aproximadamente um décimo do total é assimilável pelas plantas. Ocorre em minerais, como catião móvel, na solução de solo e matéria orgânica. Pode ser um factor limitante na produção de solos alcalinos ou de solos com elevados teores de matéria orgânica ou de fosfatos. As camadas superficiais geralmente têm mais zinco do que as profundas. Isto deve-se à remoção pelas plantas e à devolução efectuada pelas folhas que caem no solo e se decompõe, existindo uma acumulação do elemento na camada superior.<sup>13</sup>

A pouca assimilação de zinco pelas plantas depende de factores como a acidez, a influência da argila e da matéria orgânica. A disponibilidade do zinco do solo é maior em pH ácido. Minerais como calcite ( $\text{CaCO}_3$ ) e magnesite ( $\text{MgCO}_3$ ), empregados como correctivos, adsorvem o zinco, imobilizando-o.<sup>13,14</sup>

### 1.2.6. Toxicidade do Zinco

O zinco é necessário, em baixo teor, para o crescimento das plantas, sendo adicionado como micronutriente em fertilizantes quando constatada a sua falta nos solos ou plantas. Algumas fontes de zinco como fertilizantes são  $\text{ZnO}$ ,  $\text{ZnS}$ ,  $\text{ZnCO}_3$  e  $\text{ZnSO}_4$ . A aplicação de zinco pode ser feita no solo ou directamente nas folhas das plantas.<sup>15</sup>

O zinco é um micronutriente de absorção rápida e de difícil lavagem. Plantas como feijão absorve, em 24 horas 50% do zinco. A sua superfície e a lavagem retiram menos que 1% do conteúdo absorvido.<sup>15,16</sup>

Quantidades excessivas de zinco podem ser tóxicas para as plantas, dependendo estas quantidades do solo e da cultura consideradas.

Sais de zinco como cloreto e sulfato são solúveis na água. Outros como carbonato, óxido e sulfureto são insolúveis, podendo certa quantidade de zinco ser removida por decantação nos processos de tratamento de água. O sabor da água sofre alteração maior quando o zinco se encontra na forma de sulfato do que quando está presente como cloreto ou nitrato.<sup>15,16</sup>

Os padrões internacionais para a água de consumo humano da Organização Mundial de Saúde adoptam como teores máximo desejável e permissíveis, 5 mg/l e 15 mg/l.<sup>15</sup>

### 1.3. Bases de Schiff como complexantes luminescentes

De acordo com a definição de IUPAC, as bases de Schiff são compostos orgânicos que apresentam pelo menos um grupo  $R_2C=N-$ , em que  $R=H$  ou aril e são formadas a partir da condensação de uma amina primária com um grupo carbonilo.<sup>17</sup>

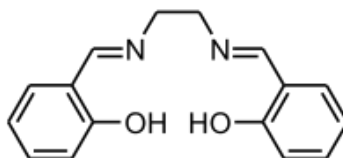
As bases de Schiff foram apresentadas inicialmente pelo químico alemão Hugo Schiff ao publicar um trabalho em 1864 sobre estes compostos. Uma reacção esquema genérica para obtenção de bases de Schiff é apresentada em baixo. As condições experimentais que determinam a posição de equilíbrio dependem da natureza da amina e, principalmente, do composto carbonilado. A reacção é reversível e prossegue com a formação do intermediário carbinolamina, com conseqüente remoção de água.

Há poucos métodos químicos qualitativos para detectar especificamente compostos contendo grupo  $C=N$ . Entretanto, há diversas ferramentas analíticas para determinar a presença do grupo  $C=N$ , as quais incluem espectrometria na região do IV, espectrometria de massa, fluorescência e RMN além dos métodos químicos.<sup>20</sup>

Os compostos que apresentam na sua estrutura grupos  $C=N$  hidrolisam-se facilmente, especialmente sob condições ácidas, formando amina e o composto carbonilo ou cetona de partida. A hidrólise das bases de Schiff, produzindo os seus compostos geradores, serve para identificar estas entidades.

As bases de Schiff apresentam um papel importante na química de coordenação, pois elas formam complexos estáveis com vários metais de transição. São bastante utilizadas como reagentes analíticos, uma vez que elas possibilitam determinações não dispendiosas e simples de muitas substâncias, tanto inorgânicos como orgânicos. Por exemplo, na área de bioinorgânica, as bases de Schiff possibilitam a construção de modelos sintéticos de metalo-proteínas e metalo-enzimas.<sup>18,19</sup>

Dentro das bases de Schiff já estudadas, a mais conhecida é o N-N (bis-salicilideno) etilenodiamina, também conhecida pela abreviação Salen representada na figura 1.4, obtida da reacção de condensação entre o salicilaldeído e a etilenodiamina, tendo a vantagem de ser fluorescente.<sup>18</sup>



**Figura 1. 4** Representação da estrutura do Salen.

## Introdução

---

A etilenodiamina é um ligante bidentado e básico, com dois grupos amino. Nas bases de Schiff, a ligação C=N apresenta propriedades básicas e uma forte tendência a formar complexos com metais. A força da ligação C=N é insuficiente para, sozinha, formar complexos de coordenação através de um par de electrões livres a um ião metálico.<sup>19</sup>

Assim, para formar compostos estáveis, é necessário que esta ligação tenha um outro grupo funcional próximo a um átomo de hidrogénio substituível, preferencialmente um grupo hidroxilo.<sup>19</sup>

### 1.4. A hidrólise de Zn (II) e o diagrama de especiação em água em função do pH

Os catiões aquosos, especialmente os 4+ , 3+ , e os iões pequenos com 2+ tendem a participar em reacções ácido-base em solução aquosa:<sup>38</sup>



Os iões metálicos são ácidos de Lewis que em solução aquosa formam iões hidratados de fórmula geral  $M(H_2O)_n^{m+}$ .

A hidrólise de complexos metálicos é uma reacção química durante a qual as moléculas de água coordenadas são separadas em protões ( $H^+$ ) e hidróxido coordenado ( $OH^-$ ).<sup>38</sup>

A primeira etapa de hidrólise é dada genericamente como:<sup>38,39</sup>



Assim a água coordenada, comporta-se como um ácido de Bronsted-Lowry, teoria ácido-base. A diferença entre a dissociação da água coordenada e a água normal é facilmente explicada, considerando o efeito indutivo do ião metálico carregado positivamente, o que enfraquece a ligação O-H de uma molécula de água, fazendo a libertação de um protão relativamente fácil.<sup>39,40</sup>

A constante de dissociação,  $pK_a$ , para esta reacção é mais ou menos linearmente relacionada com a razão de carga - tamanho do ião metálico. Os iões com cargas baixas, como  $Na^+$  são ácidos muito fracos com a hidrólise quase imperceptível.<sup>40</sup>

Os grandes iões divalentes como  $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  e  $Pb^{2+}$  têm um  $pK_a$  de 6 ou mais, e normalmente não são classificados como ácidos, mas os iões divalentes pequenos, como  $Be^{2+}$  sofrem hidrólise extensiva, por sua vez os iões trivalentes como  $Al^{3+}$  e  $Fe^{3+}$  são ácidos fracos cuja  $pK_a$  é comparável à do ácido acético.

## Introdução

---

As soluções de sais, tais como  $\text{BeCl}_2$  ou  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  em água são visivelmente ácidas, a hidrólise pode ser suprimida pela adição de um ácido, como ácido nítrico, tornando a solução mais ácida.<sup>39</sup>

A hidrólise pode continuar para além do primeiro passo, muitas vezes com a formação de espécies polinucleares, esta tende a aumentar à medida que o pH sobe levando, em muitos casos, à precipitação de um hidróxido, tais como  $\text{Al}(\text{OH})_3$  ou  $\text{AlO}(\text{OH})$ .<sup>38,40</sup>

Os iões com carga de 4+ sofrem hidrólise extensa e sais de  $\text{Zr}^{4+}$ , por exemplo, só podem ser obtidos a partir de soluções fortemente ácidas. Com cinco estados de hidrólise, e quanto maior a concentração do ião livre em solução água é desprezível.

### 1.5. Apresentação dos métodos espectroscópicos utilizados neste estudo

Recorrendo à técnica de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, RMN, foram realizados estudos tendo sido obtidos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O RMN  $^1\text{H}$  fornece várias informações que permitem elucidar a estrutura dos complexos, através do valor de desvio químico ( $\delta$ ), da integração dos sinais obtidos e do valor das constantes de acoplamento (J). O RMN  $^{13}\text{C}$  fornece informações para a determinação do número e da natureza dos carbonos da molécula. Também, espectroscopia de absorção visível/UV e de fluorescência fornecem informação sobre as propriedades electrónicas do sistema.

#### 1.5.1. Fotofísica Molecular

##### 1.5.1.1. Espectroscopia de absorção UV/visível

A espectroscopia de absorção UV/Visível resulta das transições electrónicas que ocorrem devido à absorção de radiação pelos electrões nas ligações ou grupos funcionais específicos na molécula. O comprimento de onda de absorção é uma medida de energia necessária para a referida transição, enquanto a intensidade, em termos do coeficiente de absorção molar, é função da probabilidade da ocorrência da transição, ou seja, obtêm-se bandas de absorção correspondentes às transições electrónicas do estado fundamental a um estado excitado.<sup>32,33</sup>

A espectroscopia de absorção, envolve a absorção de luz UV/Visível através de uma molécula, promovendo a passagem de um electrão desde uma orbital molecular de menor energia (HOMO) para uma orbital de maior energia (LUMO). Sendo assim, esta técnica baseia-se na energia de excitação que é necessária para a transição de electrões entre orbitais moleculares que permite obter informação sobre a estrutura do sistema.<sup>32</sup>

## Introdução

---

A espectroscopia de absorção UV/Visível é uma técnica quantitativa, uma vez que a radiação absorvida por uma espécie (absorvância) depende directamente da sua concentração na amostra, relação descrita pela lei de Beer- Lambert (equação 2), onde A é a absorvância,  $\epsilon$  é o coeficiente de absorção molar da espécie ( $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), l é o percurso óptico (cm) e C é a concentração molar.<sup>33</sup>

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C \quad \text{Equação 2}$$

No caso dos ligandos, as bandas de absorção correspondem a transições de electrões em orbitais não ligantes, n, ou ligantes,  $\pi$ , para as orbitais anti-ligantes ( $n - \pi^*$ ) e ( $\pi - \pi^*$ ). No que diz respeito aos complexos metálicos, a absorção da radiação Ultravioleta ou Visível pode ser resultante de uma ou mais das seguintes transições:

- Transições nas orbitais d-d do ião metálico, que no caso dos metais de transição são transições d-d;
- Transições entre orbitais do ligando (referida anteriormente);
- Transições de transferência de carga ligando-metal, metal-ligando, ligando-ligando, ou metal-metal;

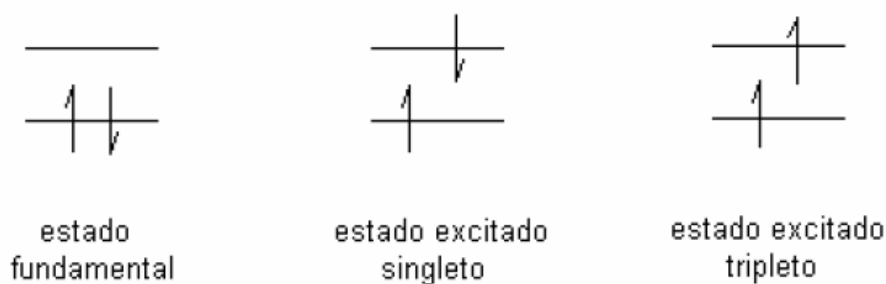
Estas transições dependem do ião metálico, do ligando, dos átomos envolvidos na coordenação e da geometria do complexo.<sup>32,33</sup>

### 1.5.1.2. Espectroscopia de Fluorescência

A luminescência molecular é a emissão de radiação electromagnética (geralmente na região do UV/Visível) proveniente de moléculas que foram excitadas por absorção de luz quando regressam ao seu estado fundamental.<sup>34</sup>

A luminescência está dividida em fluorescência e fosforescência, dependendo cada uma delas da natureza dos estados electrónicos envolvidos no processo. Para a maioria dos compostos orgânicos, o estado fundamental é um singuleto. À luminescência em que o estado excitado também é singuleto, onde o spin do electrão na orbital excitada mantém o valor original, chama-se fluorescência (figura 1.4). Por outro lado, a luminescência em que a orientação do electrão que foi excitado ao estado superior é invertida (estado excitado tripleto,  $T_n$ ) chama-se fosforescência (figura 1.4). Esta transição é proibida pela regra de spin,  $\Delta S = 0$ , e tem menor probabilidade. A consequência prática é que o tempo de vida de fosforescência (geralmente entre ms e segundos) é bastante superior ao tempo de vida de fluorescência (na ordem dos ns).<sup>34</sup>

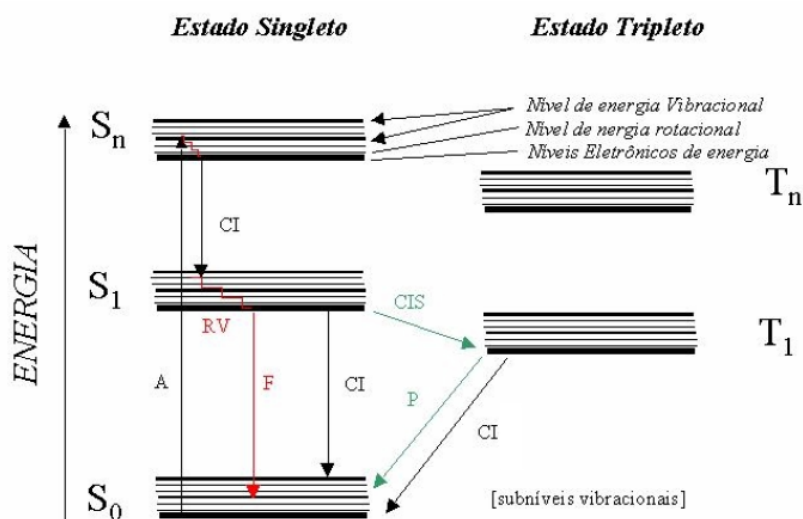
## Introdução



**Figura 1. 5** Representação do estado fundamental e dos estados excitados singlete e tripleto

Após a absorção da radiação no comprimento de onda característico as moléculas são excitadas para o estado singlete, representado por um  $S_n$  (figura 1.5).

Pela regra de Kasha, a molécula, é desativada por relaxação através dos níveis vibracionais, de estados eletrônicos com a mesma multiplicidade, até atingir o primeiro nível vibracional de estado excitado singlete de menor energia ( $S_1$ - figura 1.5).<sup>35</sup> A este processo de relaxamento envolve a conversão interna e relaxação vibracional. O diagrama que indica estes processos chama-se Diagrama Jablonski.



**Figura 1. 6** Diagrama de Jablonski: A) Absorção de fóton, ( $S_0$ ) estado fundamental, ( $S_n$ ) estado excitado singlete, ( $S_1$ ) primeiro estado excitado singlete, (RV) relaxação vibracional, (CI) conversão interna, (CIS) cruzamento intersistemas, ( $T_n$ ) estado excitado tripleto, (F) fluorescência e (P) fosforescência.



## Introdução

---

A partir do primeiro estado excitado singuleto,  $S_1$ , se a multiplicidade das moléculas não alterar, há duas hipóteses para as moléculas retomarem o estado fundamental: <sup>34,35</sup>

- Se a diferença de energia entre os níveis  $S_1$  e  $S_0$  for pequena e o sistema relativamente flexível, a molécula pode retomar o estado fundamental, por conversão interna e relaxação vibracional com a produção de calor, mas sem emissão de radiação e electromagnética;

Se a diferença de energia  $S_1$  e  $S_0$  for elevada, e o sistema rígido, a desactivação para o estado fundamental ocorre com emissão de radiação, na forma de fluorescência.

No entanto, se a partir de  $S_1$  a multiplicidade das moléculas se alterar, isto é, se a orientação do electrão que foi excitado for invertida (estado excitado tripleto) a desactivação para o estado fundamental pode ocorrer com a emissão de fosforescência.<sup>36</sup>

### 1.5.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$

A Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) baseia-se no estudo das propriedades de spin nuclear dos átomos e explora os efeitos de um campo magnético nos núcleos.<sup>28</sup>

Em química, o RMN é frequentemente usado no estudo da estrutura dos compostos usando técnicas uni ou bidimensionais simples. Trata-se de uma técnica não destrutiva que permite a análise de compostos orgânicos e inorgânicos.<sup>28</sup>

Como outras técnicas espectroscópicas, o RMN depende das variações de energia quantificáveis que podem ser induzidas em, moléculas num campo magnético quando estas são irradiadas por radiação electromagnética. Os requisitos energéticos do RMN ( $10^{-6}$  kJ.mol<sup>-1</sup>) são relativamente pequenos quando comparados com outras técnicas espectroscópicas (a radiação de infravermelho situa-se nos  $10^{-4}$  kJ.mol<sup>-1</sup>; ultravioleta no intervalo 160-1300kJ.mol<sup>-1</sup>).<sup>29</sup>

Este tipo de espectroscopia está relacionado com as transições induzidas pelas radiofrequências entre estados quantificados de spin dos núcleos orientados num campo magnético.<sup>28</sup>

O núcleo de certos elementos e/ou isótopos comportam-se como se fossem ímanes girando em torno de um eixo. Quando se coloca um composto que contem átomos de  $^1\text{H}$  ou  $^{13}\text{C}$  num campo magnético muito forte e simultaneamente se irradia, os núcleos podem absorver energia num processo denominado ressonância magnética.<sup>28,29</sup>

Tal como os electrões possuem o numero quântico spin, os núcleos  $^1\text{H}$  e de alguns isótopos também o possuem. O núcleo do hidrogénio comporta-se como um electrão em que tem valores do número quântico de spin  $1/2$  e  $-1/2$ , o que pressupõe a existência de momentos magnéticos. O

## Introdução

---

sinal é então proporcional à diferença populacional entre os estados considerados. Uma vez que a capacidade de detectar estas pequenas diferenças populacionais é acentuada, a espectroscopia de RMN é um método sensível.<sup>30</sup>

As influências magnéticas dos átomos de hidrogênio adjacentes aos átomos responsáveis pelo sinal têm o nome de acoplamento spin-spin. Este acoplamento spin-spin de prótons de carbonos adjacentes, também responsável por cada um dos sinais observados, é muito importante para a determinação da estrutura de compostos. Porém, há que ter em conta que os prótons não são somente afectados pelo campo magnético externo mas também pelos campos magnéticos de todos os prótons dos carbonos adjacentes.<sup>28,29</sup>

Quando estamos perante o acoplamento de um próton com outro forma-se um sinal duplo (duplete), entre três prótons forma-se um sinal triplo (triplete) e assim sucessivamente. Os sinais múltiplos são geralmente, designados por multipletos.<sup>29</sup>

Nesta técnica utiliza-se o fenómeno de RMN para o estudo físico, químico, e biológico das propriedades da matéria. Como consequência, a espectroscopia de RMN encontra aplicações em algumas áreas de ciência. Esta é usada rotineiramente pelos químicos para o estudo da estrutura química usa as técnicas de uma dimensão. As técnicas de duas dimensões são utilizadas para determinar a estrutura de moléculas mais complexas.<sup>12</sup>

Na tabela 1.1 estão representadas as propriedades nucleares dos núcleos magnéticos: <sup>40,41,42</sup>

**Tabela 1.1** Propriedades nucleares dos núcleos magnéticos

Núcleo	Massa atómica	Abundância natural (%)	Spin nuclear (I)	Momento dipolar magnético (nm)
<sup>1</sup> H	1.0078	99.98	+1/2	+2.7928
<sup>13</sup> C	13.0034	1.1	+1/2	+0.7024

## 2. Procedimento Experimental

### 2.1. Reagentes

Tabela 2.1 Lista dos Reagentes utilizados.

Nome sistemático ou comum, ou abreviatura	Fórmula química	Massa molecular (g.mol <sup>-1</sup> )	Fabricante do reagente	Qualidade e/ou grau de pureza (%)
Salicilaldeído	C <sub>7</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	122.12	Merck	99
Glicina	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> N	75.07	Merck	99.7
Etilenodiamina	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> (NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	60.10	Aldrich	
Propilamina	C <sub>3</sub> H <sub>9</sub> N	59.11	Aldrich	98
Etanolamina	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO	61.08	Aldrich	
2-Aminopiridina	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	94.11	Aldrich Chemie	99
Tris	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	171.20	Sigma	99.9
Óxido de deutério	D <sub>2</sub> O	20.03	Aldrich	99.9
Nitrato de Zinco 6-hidrato crit. Puro	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	297.47	Merck	
Cloreto de Mercúrio	HgCl <sub>2</sub>	271.50	Merck's Reagenzien	99.5
Nitrato de Cádmio 4-hidrato puro	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	308.47	Merck	99.5
Ácido clorídrico	HCl	36.46	Panreac Quimica Sau	37
Água Milli-Q				

### 2.2. Soluções

#### Estudos Fotofísicos

As soluções de salicilaldeído, das aminas (glicína, tris, propilamina, etanolamina, etilenodiamina, e 2-aminopiridina) de Zn(II), Cd(II) e Hg(II), nas suas diferentes concentrações, foram preparadas dissolvendo a quantidade adequada em água Milli-Q.

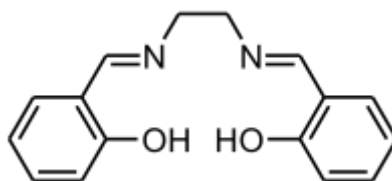
Os valores de pH foram ajustados com soluções de NaOH e de HCl e com o auxílio de um aparelho de pH Crison equipado com um microelectrodo de vidro, após calibração com tampões aquosos.

#### Preparação do Salen

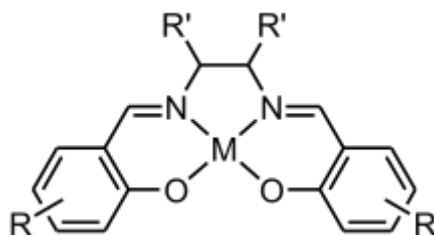
Num balão de fundo redondo de 50 mL foram colocados 25 mL de etanol, etilenodiamina (3 mmol) e salicilaldeído (6 mmol). De seguida a mistura foi refluxada com agitação. O evoluir da reacção foi controlada por tlc. Quando a reacção estava completa (cerca de 1,5 horas) parte do etanol foi evaporado (aproximadamente metade) e adicionaram-se algumas gotas de água. O produto cristalizado, foi filtrado e seco.



**Figura 2. 1** Reacção entre salicilaldeído e etilenodiamina, relação de 2:1, respectivamente.



**Figura 2. 2** Estrutura da base de Schiff (salicilaldeído e etilenodiamina).



**Figura 2. 3** Complexação do salen com o metal.

### Ressonância Magnética Nuclear

As soluções de aldeído (salicilaldeído), aminas (glicína, tris, etilenodiamina, propilamina, etanolamina e 2-aminopiridina) e metais pesados (zinco, cádmio, mercúrio) preparam-se dissolvendo a quantidade apropriada em D<sub>2</sub>O.

O valor de pH das soluções foi ajustado com soluções de NaOH e HCl e os valores de pH lidos directamente num aparelho medidor de pH Crison equipado com um microelectrodo de vidro, após calibração com tampões aquosos.

## 2.3. Equipamento

### 2.3.1. Espectroscopia de absorção UV/Visível

Os espectros de absorção UV/Visível foram obtidos no espectrómetro Shimadzu U.V.2100, utilizando células de quartzo, com o percurso óptico de 1 cm, à temperatura ambiente e nos comprimentos de onda de 200 nm a 450 nm.

### 2.3.2. Fluorescência

Os espectros de fluorescência foram realizados no espectrómetro Spex Industries Inc., modelo Fluorolog DM 3000F, utilizando para esse efeito células de quartzo com o percurso óptico de 1 cm. A aquisição foi feita nas seguintes condições: nº de scans: 1; comprimentos de onda: entre os 360 nm e os 700 nm; incremento: 1 nm; tempo de integração: 0.5 s; comprimento de onda de excitação: 325 nm fendas: excitação 1 mm a 1.5 mm; emissão 1 mm a 1.5 mm.

### 2.3.3. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  foram obtidos um espectrômetro de RMN Variant Unity-500, e num espectrômetro Varian de 600 MHz, à frequência de 499.843; 125.695; 152.444; e 130.248 MHz, respectivamente. Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foram obtidos com  $\text{sw}=5000$  Hz,  $\text{at}=5$  s, e o tempo de espera entre os pulsos,  $\text{d1}=5$  s. Nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  as condições utilizadas foram  $\text{sw}=40000$  s Hz  $\text{at}=1.5$  s e  $\text{d1}=5$  s.

As amostras foram colocadas em tubos de 5 mm de diâmetro, estando os deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  referidos relativamente ao tetrametilsilano, TMS, tendo sido usada como referência interna o tert-butanol ( $\delta=1.3$  ppm e 3.12 ppm relativamente ao TMS, respectivamente).

## 2.4. Métodos

### 2.4.1. Fotofísica Molecular

#### 2.4.1.1. Espectroscopia de absorção no UV/Visível e Fluorescência

Com o objectivo de conhecer as características fluorescentes dos complexos de salicilaldeído com as seis aminas escolhidas para o nosso estudo, foram realizados vários ensaios, variando os parâmetros de concentração a pH 8. A concentração do salicilaldeído manteve-se constante a  $1 \times 10^{-5}$  M.

#### 2.4.2. RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

A atribuição do aldeído, aminas e metais é feita utilizando soluções em  $\text{D}_2\text{O}$  com o valor de pH cerca de 8. Para a atribuição dos prótons e dos carbonos são apresentados gráficos e tabelas, ao longo do trabalho, onde se representa a variação do deslocamento químicos dos prótons e dos carbonos.

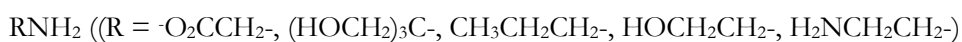
#### 2.4.3. Adição do metal pesado

Procedeu-se à adição de zinco (o nosso sistema modelo) e também de cádmio e mercúrio, que são metais que pertencem ao mesmo grupo da tabela periódica dos elementos químicos, às soluções de salicilaldeído e das aminas. Quando estes metais estão na presença das bases de Schiff ocorre complexação.

### 3. Resultados

A escolha da sequência para o estudo da formação de bases de Schiff entre aminas e o salicilaldeído, e conseqüentemente para um método de detecção e quantificação de metais pesados foi pensada e decisiva para a obtenção de bons resultados.

A sequência de reacções equivalentes de uma série de aminas, foi a seguinte:



Em vários artigos, <sup>25, 27</sup> a glicina é apontada como uma amina que forma base de Schiff com o salicilaldeído, de estequiometria 1:1, em que a adição do metal forma um complexo tridentado à temperatura ambiente. Tentamos também aumentar a temperatura para 50°C, mas os resultados não foram conclusivos, sendo semelhantes aos já obtidos.

O tris também é apontado como uma solução tampão capaz de formar base de Schiff com o salicilaldeído, do qual resulta um complexo tridentado com o metal de estequiometria 1:1.

Como a propilamina forma base de Schiff com o salicilaldeído, resultando um complexo bidentado, estequiometria 1:1, funciona como referência ao nosso estudo.

O estudo da cinética é importante, para otimizar as condições, em que a cinética das três primeiras aminas estudadas são lentas, com tempo de meia vida em média de 25 minutos, dificultando a otimização das condições.

A etanolamina e a etilenodiamina formam complexos tridentados, e têm cinéticas rápidas.

A formação da base de Schiff, em solução aquosa, entre etilenodiamina com o salicilaldeído tem uma estequiometria 1:1 tendo uma estrutura flexível, enquanto a base de Schiff sintetizada em etanol tem estequiometria (salicilaldeído: etilenodiamina) 2:1, tendo uma estrutura mais rígida.

Os valores de pH utilizados têm um valor entre 6 e 8 adequado à formação, para permitir a formação da base de Schiff e a cinética da reacção e favorecer as reacções ácido-base. Com valores de pH baixos (1-6) o  $\text{NH}_3^+$  da amina protona, com valores de pH altos (9-14) o  $\text{NH}_2$  da amina desprotona, mas os iões metálicos sofrem hidrólise e precipitam. Este pH também é um valor modelo, pois numa situação prática de análises de efluentes para a determinação de iões metálicos, o pH será entre 6 e 8.

Por fim, estudou-se com o sistema heterocíclico a 2-aminopiridina, que mostra que nem todas as aminas formam base de Schiff com o salicilaldeído em solução aquosa. Mas neste caso, a própria amina na ausência de salicilaldeído complexa com o metal.

### 3.1. Formação de base de Schiff com Glicína

#### 3.1.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência

A partir dos dados da espectroscopia electrónica de absorção, analisámos a formação do composto entre salicilaldeído e glicína através do deslocamento dos máximos de absorção e alargamento dos picos. Os espectros foram obtidos em solução aquosa a pH 6-8.

A base de Schiff formada pelo salicilaldeído e glicína em solução aquosa é pouco fluorescente, mas quando complexado com o metal Zn (II), a sua intensidade de fluorescência aumenta com o aumento da concentração do metal em solução, até a estequiometria de complexação.

Para conhecer o efeito da concentração no comportamento da formação de base Schiff, foram recolhidos espectros de absorção UV/visível e de fluorescência com a adição de diferentes concentrações de glicína, a pH 8. A concentração de salicilaldeído é constante e igual a  $1 \times 10^{-5}$  M e a de glicína varia entre 0 e  $1 \times 10^{-2}$  M.

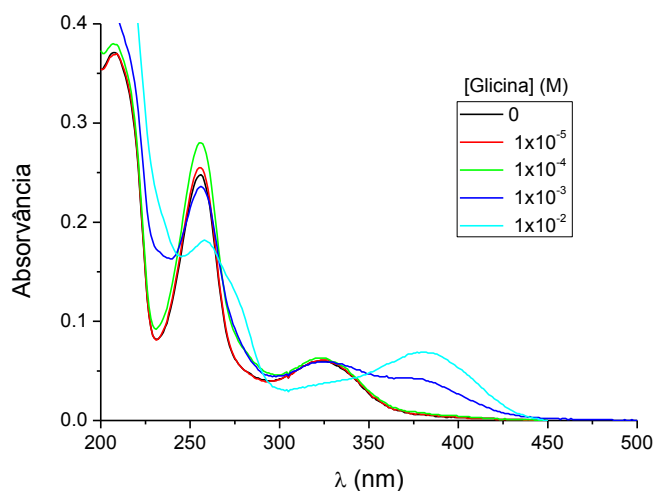
A formação da base de Schiff dá-se pela adição de pequenas concentrações de glicína à solução de salicilaldeído, sofrendo um aumento na intensidade de absorção, com um deslocamento no comprimento de onda para valores maiores (figura 3.1), e também um aumento de intensidade de emissão à medida que a concentração aumenta a intensidade, mas não é constante (figura 3.2).

Com as sucessivas adições de glicína (figura 3.1), observa-se um deslocamento no comprimento de onda dos 325 nm para os 380 nm. Há, portanto, indicações da formação de mais uma espécie.

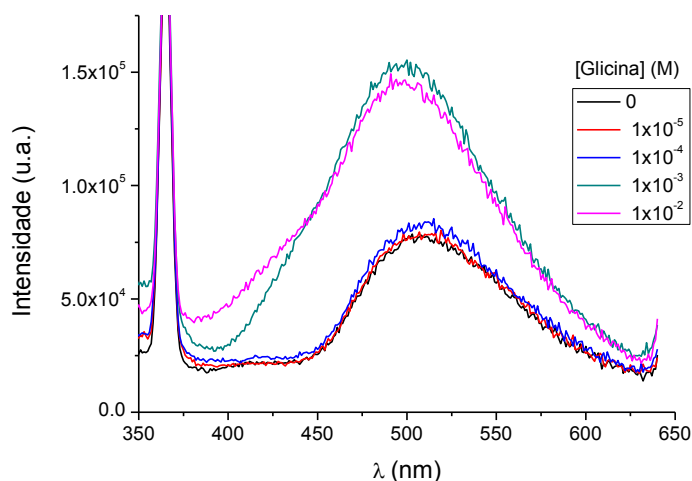
No espectro de emissão (figura 3.2), com a adição de glicína numa primeira fase há um aumento de intensidade (banda verde), mas com a concentração mais elevada, mantém o máximo da intensidade (banda cor-de rosa). Esses resultados sugerem a formação da base de Schiff entre glicína e salicilaldeído.



## Resultados



**Figura 3. 1** Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído ( $1 \times 10^{-5}$  M), com sucessivas adições de uma solução de glicina, a pH=8.

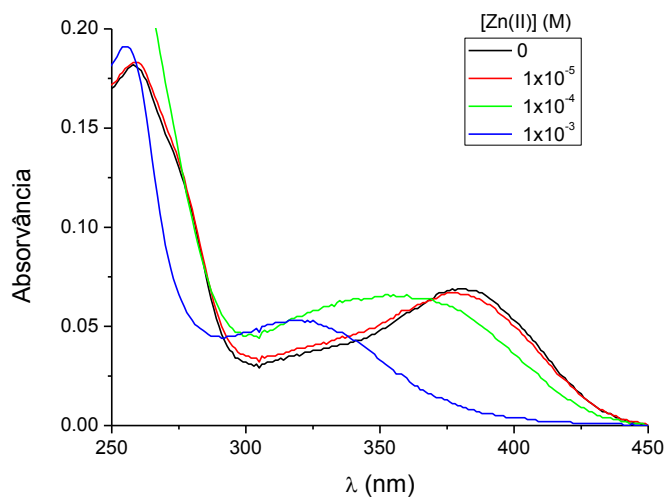


**Figura 3. 2** Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído ( $1 \times 10^{-5}$  M), com sucessivas adições de uma solução de glicina, a pH=8.

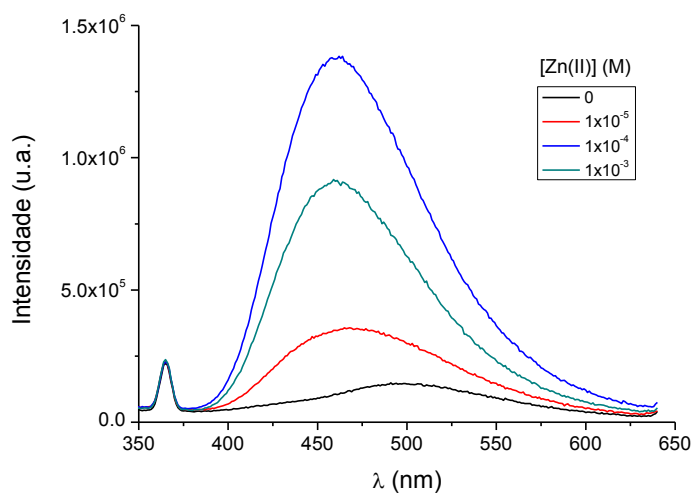
Para conhecer o comportamento da adição de metal à solução de base Schiff, observa-se no espectro de absorção com a adição de concentrações de zinco (figura 3.3), que na primeira adição de zinco não há qualquer alteração no comprimento de onda (banda vermelha), em relação à banda preta (salicilaldeído e glicina), mas com a adição das concentrações mais elevadas de zinco existe um deslocamento das bandas no comprimento de onda de excitação na zona dos 325 nm (bandas verde e azul).

## Resultados

No espectro de emissão (figura 3.4), verifica-se que à medida que aumenta a concentração de zinco, há um aumento nas intensidades nos máximos das bandas (bandas vermelha e azul), que não é constante existindo um deslocamento para valores mais baixos de comprimentos de onda. Quando se adiciona a concentração  $1 \times 10^{-3}$  M de zinco a intensidade inverte o sentido e tem tendência a descer (banda verde), o que pode ser justificado ou pela cinética da reacção ser lenta ou pela presença de outras reacções.



**Figura 3. 3** Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M,  $1 \times 10^{-2}$  M de glicina e com sucessivas adições de uma solução de nitrato de zinco.



**Figura 3. 4** Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M,  $1 \times 10^{-2}$  M de glicina e com sucessivas adições de uma solução de nitrato de zinco.

## Resultados

---

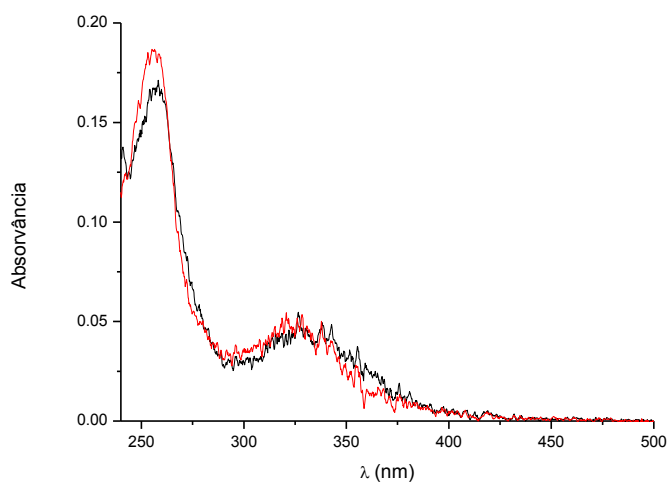
Para tentar perceber, o porquê da descida da intensidade com a concentração mais elevada do metal, fizemos um estudo com uma solução de  $1 \times 10^{-5}$  M salicilaldeído,  $5 \times 10^{-3}$  M de glicina e  $1 \times 10^{-4}$  M de zinco, traçando o espectro da solução preparada no próprio dia e da solução preparada no dia anterior.

No espectro de absorção (figura 3.5) percebemos que nas duas soluções não há qualquer variação, a solução preparada no dia anterior e a mesma preparada no próprio dia, absorvia no comprimento de onda de 325nm tendo uma absorvância baixa de 0.05.

Para avaliar a intensidade de emissão ao longo do tempo, realizámos de 6 em 6 minutos, numa fase inicial e posteriormente de 30 em 30 minutos, até perfazer 162 minutos (2 horas e 42 minutos), para comparar com a solução preparada no dia anterior (figura 3.6), e observou-se que à medida que o tempo passa, a solução preparada no próprio dia vai aumentando a intensidade, mas sem conseguir atingir a intensidade do espectro da solução preparada no dia anterior.

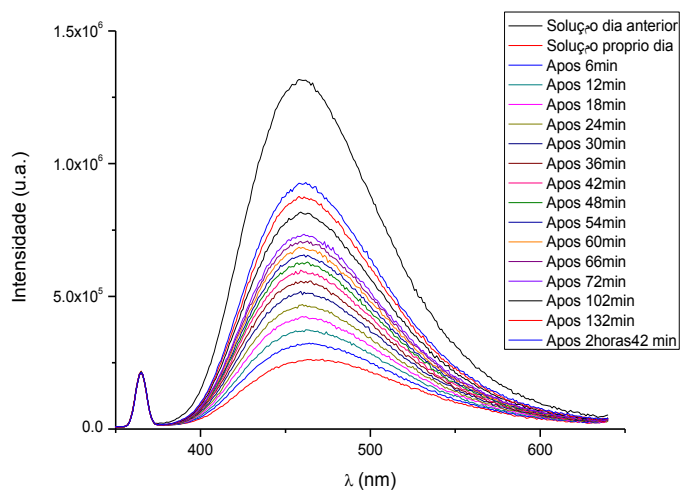
Decidimos então, variar a temperatura, para  $50^{\circ}\text{C}$ , tentando reduzir a tendência que ao longo do tempo a solução iria sempre aumentando, a intensidade de fluorescência em que o rendimento quântico da maioria das moléculas diminui, com o aumento da temperatura, porque aumentam as colisões. Os resultados obtidos a  $50^{\circ}\text{C}$  não são apresentados, porque não enriquecem em nada o nosso estudo, dando resultados praticamente análogos aos já obtidos.

Nos espectros de emissão da figura 3.7 fizemos duas repetições à concentração de  $3 \times 10^{-4}\text{M}$  de zinco, passados uns 5 e 10 minutos, verifica-se que há um aumento significativo da fluorescência o que confirma que a reacção ainda está a decorrer.

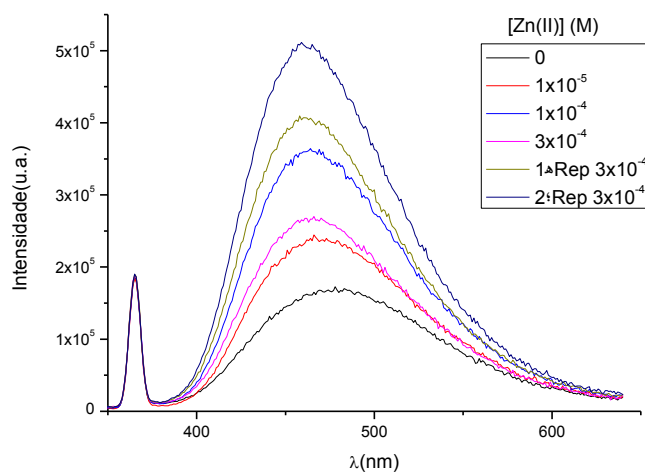


## Resultados

**Figura 3. 5** Espectros de absorção de uma solução de  $1 \times 10^{-5}$  M salicilaldeído,  $5 \times 10^{-3}$  M glicína e  $1 \times 10^{-4}$  M de nitrato de zinco, preparada no próprio dia (linha preta) e preparada no dia anterior (linha vermelha).



**Figura 3. 6** Espectros de emissão de uma solução de  $1 \times 10^{-5}$  M salicilaldeído,  $5 \times 10^{-3}$  M glicína e  $1 \times 10^{-4}$  M nitrato de zinco.

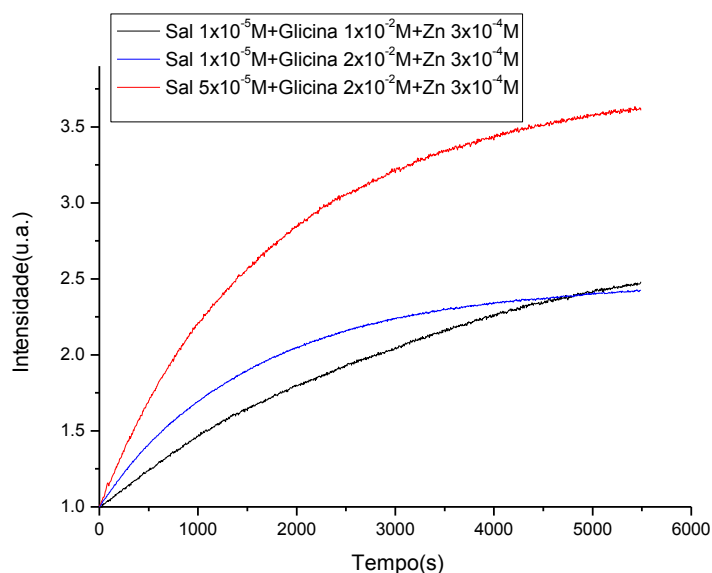


**Figura 3. 7** Espectros de emissão de uma solução de  $1 \times 10^{-5}$  M salicilaldeído e  $1 \times 10^{-2}$  M glicína variando a concentração de nitrato de zinco.

## Resultados

Estudou-se, assim, a cinética da reacção, para verificarmos como a velocidade varia em função das diferentes condições, quais são os mecanismos de desenvolvimento de uma reacção e qual é a concentração óptima de Zn (II) para a análise.

Existem diversos factores que podem afectar essa velocidade da reacção como: a concentração dos reagentes, geralmente quanto mais concentrado, mais rápida é a velocidade; a temperatura, normalmente a velocidade das reacções aumenta com o aumento da temperatura, um aumento de 10°C chega a dobrar a velocidade de uma reacção. Outro factor que pode influenciar a velocidade da reacção pode ser a presença de um catalisador ou inibidor, em que o catalisador aumenta e o inibidor diminui a velocidade da reacção química. Há indicações que o zinco pode ser um catalisador. A absorção de luz também pode acelerar certas reacções químicas, mas provavelmente não é o caso nestes sistemas. Assim, fizemos um estudo da cinética, mantendo a concentração do metal constante, e variando a concentração de salicilaldeído para o quintuplo, e a concentração de glicina para o dobro.



**Figura 3. 8** Cinética da reacção de três soluções com salicilaldeído, glicina e nitrato de zinco.

Com o resultado da cinética no gráfico da intensidade normalizada em função do tempo (figura 3.8), confirma-se que a cinética demora muito tempo a estabilizar, que ao fim dos 6000 segundos ainda não tem uma linha constante, logo a cinética é lenta.

Fomos determinar a constante de velocidade na formação de complexos em soluções aquosas, com o auxílio do método proposto por Guggenheim<sup>45, 46</sup> para sistemas em que o valor final da intensidade não é conhecida.

## Resultados

A cinética de complexação permite otimizar as condições para determinar o metal, tratando-se de um processo relativamente lento, com uma cinética morosa, que não é possível conhecer o valor exacto da intensidade final. A forma das curvas cinéticas sugere que pode ser tratada quantitativamente como uma reacção de primeira ordem. Para esta análise usaram-se as seguintes equações:

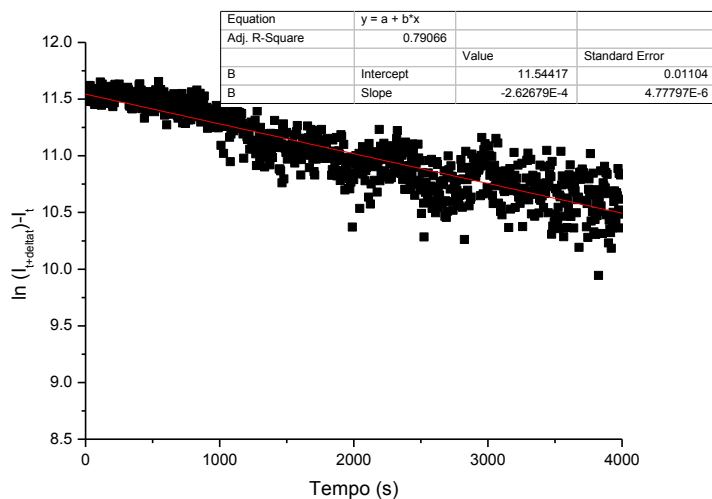
$$(\lambda_1 - \lambda_\infty) = (\lambda_0 - \lambda_\infty)e^{-kt_1} \quad (1)$$

$$(\lambda'_1 - \lambda_\infty) = (\lambda_0 - \lambda_\infty)e^{-k(t_1 + \Delta)} \quad (2)$$

Combinando estas duas equações (1 e 2) obtêm-se:

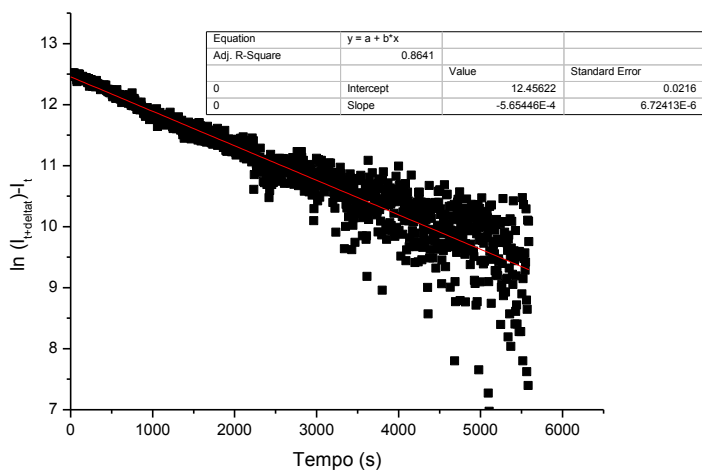
$$(\lambda_1 - \lambda'_1) = (\lambda_0 - \lambda_\infty)e^{-kt_1} (1 - e^{-k\Delta}) = \text{constante} \quad (3)$$

em que  $\lambda_1$  e  $\lambda'_1$  são propriedades físicas mensuráveis nos instantes  $t_1$  e  $t_1 + \Delta$  respectivamente, e  $\Delta$  é um incremento constante. De um modo prático, a constante de velocidade é obtida através do declive da recta que se obtêm na representação gráfica,  $\ln((I_{(t+\Delta)} - I_t))$  versus tempo.

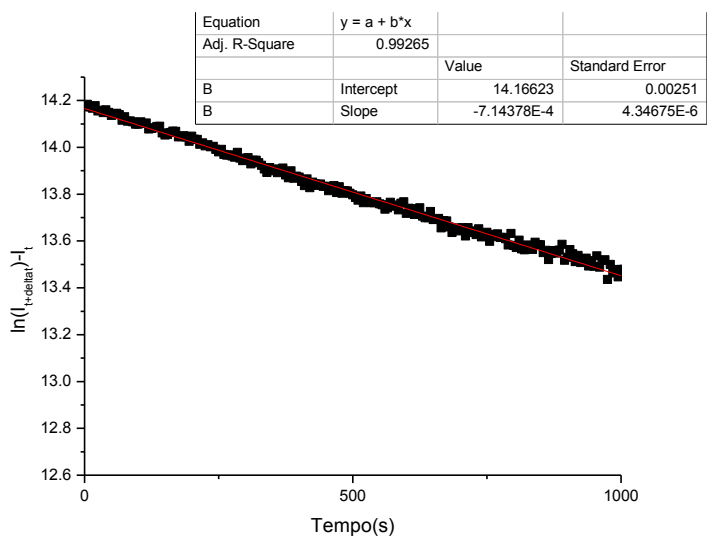


**Figura 3. 9** Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M; glicina  $1 \times 10^{-2}$  M e nitrato de zinco  $3 \times 10^{-4}$  M.

## Resultados



**Figura 3. 10** Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M; glicina  $2 \times 10^{-2}$  M e nitrato de zinco  $3 \times 10^{-4}$  M.



**Figura 3. 11** Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído  $5 \times 10^{-5}$  M; glicina  $2 \times 10^{-2}$  M e nitrato de zinco  $3 \times 10^{-4}$  M.

## Resultados

**Tabela 3.1** Tabela com as constantes de velocidade e o coeficiente de correlação das três soluções apresentadas na cinética, variando a concentração de salicilaldeído e glicína, e mantendo constante a concentração de nitrato de zinco.

[Salicilaldeído]	[Glicína]	[Zn(II)]	Constante da velocidade (k) /s <sup>-1</sup>	Coefficiente de correlação
1x10 <sup>-5</sup> M	1x10 <sup>-2</sup> M	3x10 <sup>-4</sup> M	2.63x10 <sup>-4</sup>	0.79066
1x10 <sup>-5</sup> M	2x10 <sup>-2</sup> M	3x10 <sup>-4</sup> M	5.65x10 <sup>-4</sup>	0.8641
5x10 <sup>-5</sup> M	2x10 <sup>-2</sup> M	3x10 <sup>-4</sup> M	7.14x10 <sup>-4</sup>	0.99265

Os resultados sugerem uma cinética de pseudo-primeira ordem em termos do Zn(II). Nas condições [glicína] >> [salicilaldeído], com a concentração constante e baixa de Zn(II), a constante de velocidade é aproximadamente o dobro com um aumento de duas vezes na concentração de glicína. Isto mostra uma dependência da primeira ordem também em termos de glicína. Com a variação de 5 vezes na concentração de salicilaldeído, há uma pequena variação da constante da velocidade, que pode sugerir uma lei cinética bastante complexa, mas nas condições de excesso de glicína, a concentração do aminoácido vai dominar a cinética. O tempo de meia vida estimado é de 1610 segundos (27 minutos).

Para a comparação dos resultados cinéticos com as outras aminas, decidiu-se utilizar as seguintes concentrações:

**Tabela 3. 2** Concentrações modelo para comparação de resultados na cinética.

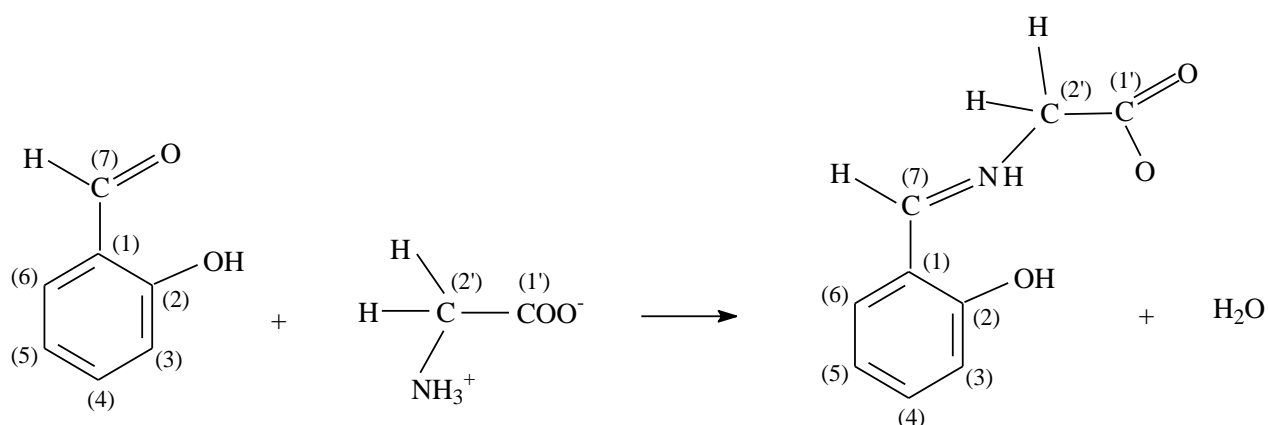
[salicilaldeído]	<b>1x10<sup>-5</sup>M</b>
[amina]	1x10 <sup>-2</sup> M
[Zn (II)]	3x10 <sup>-4</sup> M



### 3.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  em solução de  $\text{D}_2\text{O}$  foram obtidos com vista à detecção da base de Schiff entre o salicilaldeído e a glicína, e posterior complexação com o metal.

A atribuição dos átomos de carbono do salicilaldeído e da glicína, é feita com base na numeração apresentada na figura 3.12.



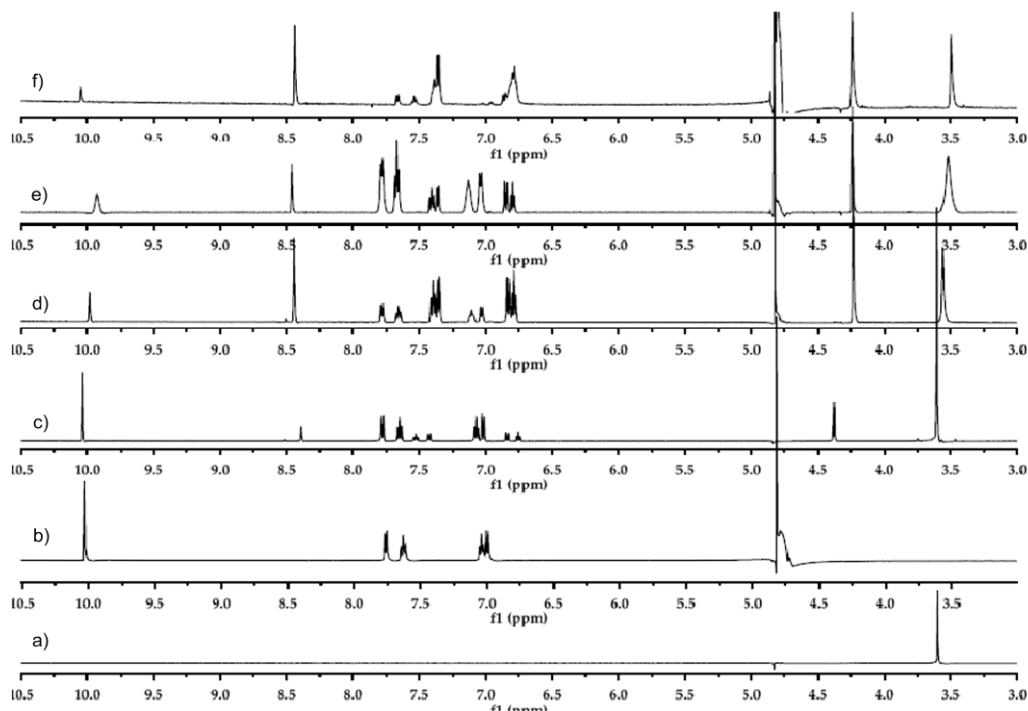
**Figura 3. 12** Reacção de condensação de salicilaldeído e glicína.

Como já referido, a variação do valor do pH da solução altera o estado de protonação da base de Schiff, afectando por conseguinte a posição dos sinais nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

O  $\text{NH}_3^+$  da amina a pH 8 está desprotonado (figura 3.12) combinando-se com o carbono 7 do salicilaldeído, libertando da reacção de condensação entre o salicilaldeído e a glicína uma molécula de água.

A partir da sequência de espectros RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , de uma solução de glicína 10 mM, salicilaldeído 10 mM, glicína com salicilaldeído 10:10 mM, glicína, salicilaldeído e zinco 10:10:5 mM e glicína, salicilaldeído e zinco 10:10:10 mM., procedeu-se a atribuição dos sinais, cujo os resultados estão presentes na tabela 3.3.

## Resultados



**Figura 3. 13** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  a) solução de glicina livre com uma concentração de 10 mM, b) solução de 10 mM salicilaldeído livre, c) mistura 10:10 mM salicilaldeído: glicina d) solução de salicilaldeído, glicina e zinco 10:10:5 mM f) solução de salicilaldeído, glicina e zinco 10:10:10 mM à temperatura 298K, pH 8.

## Resultados

**Tabela 3. 3** Valores para desvio químico<sup>e</sup>,  $\delta$ , e para o acoplamento químico<sup>e</sup>, J, no espectro de RMN <sup>1</sup>H para o salicilaldeído livre, glicína livre, a mistura do salicilaldeído com glicína, e o complexo Zn(II), salicilaldeído e glicína, a 298K.

pH=8	H-2'	H-3	H-4	H-5	H-6	H-7	J <sub>3,4</sub>	J <sub>4,5</sub>	J <sub>4,5</sub>	J <sub>4,6</sub>
$\delta$ Glicína <sup>a</sup>	3.60									
$\delta$ Salicilaldeído <sup>b</sup>		7.00	7.63	7.04	7.77	10.03	8.5	7.3	7.8	1.7
Glicína+Salicilaldeído <sup>c</sup>										
$\delta$	4.38	6.84	7.53	6.75	7.43	8.39	8.7	7.3	7.9	1.8
$\Delta\delta$	0.78	-0.16	-0.10	-0.29	-0.34	-1.64				
Zn (II) + Glicína+ Salicilaldeído <sup>d</sup>										
$\delta$	4.24	6.84	7.53	6.75	7.43	8.44	8.8	7.2	7.9	1.8
$\Delta\delta$		0.64	-0.16	-0.10	-0.29	-0.34	-1.59			

<sup>a</sup> Solução de glicína com concentração de 10 mmol dm<sup>-3</sup>

<sup>b</sup> Solução de salicilaldeído com concentração de 10 mmol dm<sup>-3</sup>

<sup>c</sup> Solução de salicilaldeído e glicína com concentração de 10:10 mmol dm<sup>-3</sup>, respectivamente

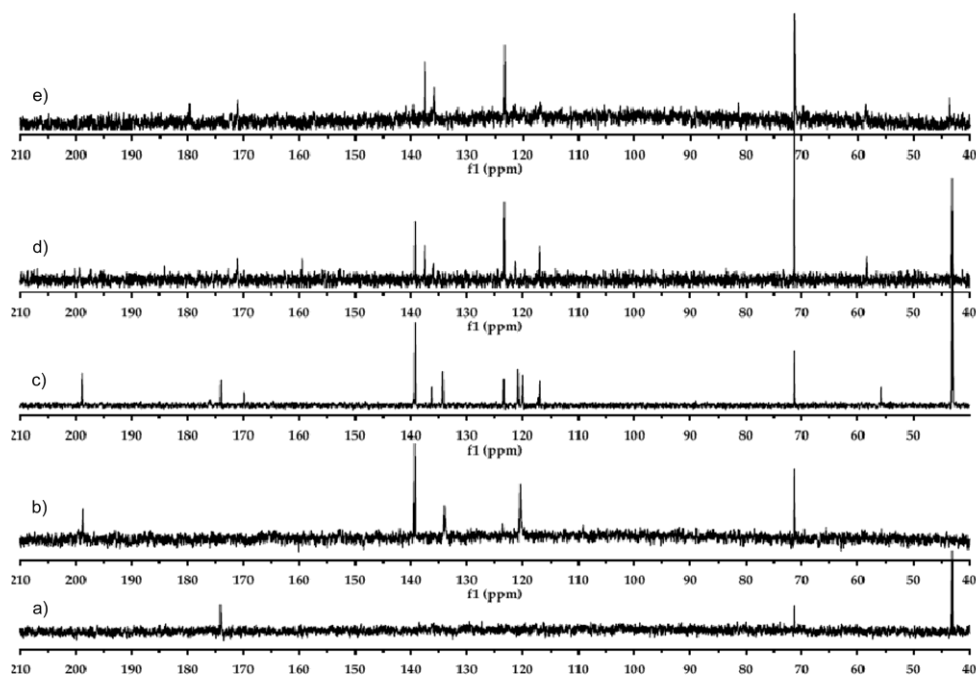
<sup>d</sup> Solução de Zn (II) glicína : salicilaldeído com concentração 5:10 :10 mmol dm<sup>-3</sup>, respectivamente

<sup>e</sup> valores, em ppm, relativamente ao Me<sub>4</sub>Si, usando como referência interna *tert*-butanol ( $\delta_H=1.3$ ) os valores de J em Hz.

Pela análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H, observados na figura 3.13, e dos valores dos desvios químicos  $\delta$ , em ppm, na tabela 3.3 verifica-se que a glicína livre apresenta um singlete a  $\delta=3.60$  que se refere a um grupo CH<sub>2</sub> isolado, adjacente a um centro electronegativo, o oxigénio(espectro a); o salicilaldeído livre (espectro b) apresenta dois doubletos na zona de absorção dos aromáticos entre os 7 a 7.77 ppm indicando a presença de grupos de compostos aromáticos, o singlete a 10.03 ppm situa-se na região correspondente aos prótons aldéidicos. Com a mistura do salicilaldeído com a glicína (espectro c)) formam-se dois novos sinais um singlete no  $\delta=4.38$  com uma diferença de desvio químico de 0.78. O singlete no  $\delta=8.39$  com uma diferença no desvio químico deslocando-se para a direita em relação ao sinal inicial em 1.64 ppm a condensação com eliminação de uma molécula de água. Adicionando 5 mM (espectro d) e 10 mM (espectro f) do metal, os sinais ficam mais intensos, em que o metal com uma concentração de 10 mM precipita.

Através dos espectros de RMN <sup>13</sup>C com as mesmas soluções, confirma-se a reacção de condensação entre a glicína e o salicilaldeído.

## Resultados



**Figura 3. 14** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  a) solução de glicina livre com uma concentração de 10 mM, b) solução de 10 mM salicilaldeído livre, c) mistura 10:10 mM salicilaldeído: glicina d) solução de salicilaldeído, glicina e zinco 10;10;5 f) solução de salicilaldeído, glicina e zinco 10;10;10, à temperatura 298K, pH 8

**Tabela 3. 4** Valores para desvio químico<sup>e</sup>,  $\delta$ , e para o acoplamento químico<sup>e</sup>, J, no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  para o salicilaldeído livre, glicina livre, a mistura do salicilaldeído com glicina, e o complexo Zn(II), salicilaldeído e glicina, a 298K.

$\text{pH}=8$	$C1'$	$C-2'$	$C-1$	$C-2$	$C-3$	$C-4$	$C-5$	$C-6$	$C-7$
$\delta$ Glicina <sup>a</sup>	174.11	43.07							
$\delta$ Salicilaldeído <sup>b</sup>			123.58	139.31	120.47	139.31	120.47	133.97	198.62
Glicina+Salicilaldeído <sup>c</sup>									
$\delta$	174.12	55.70	117.26	139.28	116.93	139.28	120.05	136.30	169.77
$\Delta\delta$	0.01	12.63	-6.32	-0.03	-3.54	-0.03	-0.42	2.33	-28.85
Zn (II) + Glicina+ Salicilaldeído <sup>d</sup>									
$\delta$	184.08	58.49	118.89	159.34	117.05	139.26	121.24	137.53	172.45
$\Delta\delta$	10.03	15.42	-4.69	20.03	-3.42	-0.05	-0.77	3.56	-26.17

<sup>a</sup> Solução de glicina com concentração de 10 mmol  $\text{dm}^{-3}$

<sup>b</sup> Solução de salicilaldeído com concentração de 10 mmol  $\text{dm}^{-3}$

<sup>c</sup> Solução de salicilaldeído e glicina com concentração de 10:10 mmol  $\text{dm}^{-3}$ , respectivamente

<sup>d</sup> Solução de Zn (II) glicina : salicilaldeído com concentração 5:10 :10 mmol  $\text{dm}^{-3}$ , respectivamente

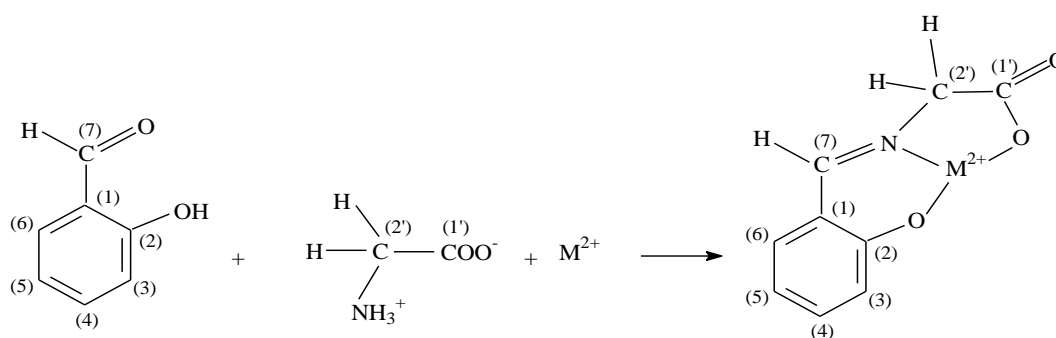
<sup>e</sup> valores, em ppm, relativamente ao  $\text{Me}_4\text{Si}$ , usando como referência interna *tert*-butanol ( $\delta_{\text{H}}=1.3$ ) os valores de J em Hz.

## Resultados

Pela análise do espectro de carbono  $^{13}\text{C}$  na figura 3.14, verifica-se que a glicína livre (espectro a) tem dois sinais: um singlete a  $\delta=43.07$  ( $\text{CH}_2$ ), e outro a  $\delta=174.11$ , característica do grupo carboxílico, analisando o espectro b) salicilaldeído apresenta dois dupletos ( $-\text{CH}$ ) simétricos a  $\delta=120.47$  e  $139.31$ , situam-se nas regiões aromáticas e sugerem a existência de grupos aromáticos monosubstituídos, com simetria em quatro dos seis carbonos, o que podemos confirmar na tabela 3.4; a  $\delta=123.58$  um doubleto ( $-\text{CH}_2-\text{C}$ ) e a  $\delta=133.97$  um doubleto ( $-\text{CH}_2$ ), a  $\delta=198.62$  situa-se na região do carbonilo, sendo o aldeído.

Com a mistura do salicilaldeído com a glicína, espectro c) confirma-se o aparecimento de dois novos sinais a  $\delta=55.70$  e  $\delta=169.77$ . Com a adição de zinco há um maior desvio no C-2 para valores mais baixos.

Na figura 3.15 está representada a interacção da base de Schiff com o metal, formando o complexo tridentado, com estequiometria 1:1 que é estável.



**Figura 3. 15** Misturas de nitrato de zinco, glicína e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  sinais adicionais devido à forma complexada, dependendo do pH.

Os resultados nesta secção confirmam a formação de um complexo fluorescente com estequiometria 1:1 entre zinco (II) e a base de Schiff de glicína e salicilaldeído em que o ligando é tridentado. A velocidade de formação do complexo é relativamente baixa ( $t_{1/2} = 27\text{min}$ )

A literatura consultada refere a complexação do tris quando utilizado como tampão.

No nosso trabalho procedemos ao estudo da interacção entre o tris e o salicilaldeído, verificando-se a formação da base de Schiff entre o tris e o salicilaldeído, e posterior complexação com o metal, zinco.

### 3.2. Formação de base de Schiff com Tris

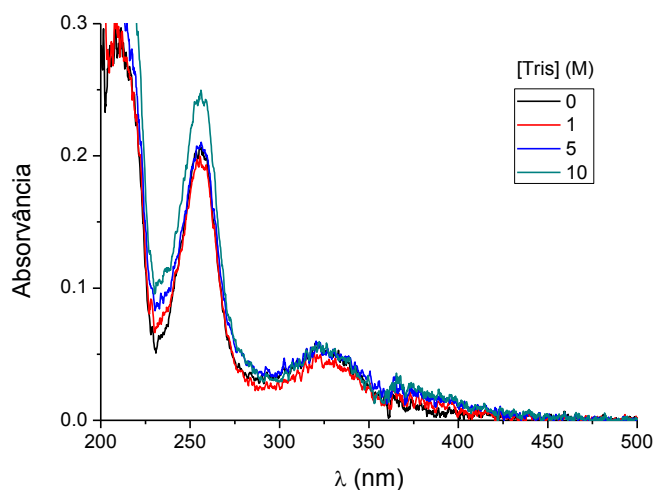
### 3.2.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência

Durante os estudos de complexação entre glicína, salicilaldeído e zinco (II), foi observado que o tampão tris também reage com o salicilaldeído. Para conhecer o comportamento da formação de base de Schiff entre o salicilaldeído e o tris foram recolhidos espectros de absorção UV/visível e de fluorescência com diferentes concentrações, a pH 8.

A base de Schiff entre o salicilaldeído e o tris é fluorescente, mas, como no caso da glicína, com a adição do metal, a intensidade de fluorescência aumenta.

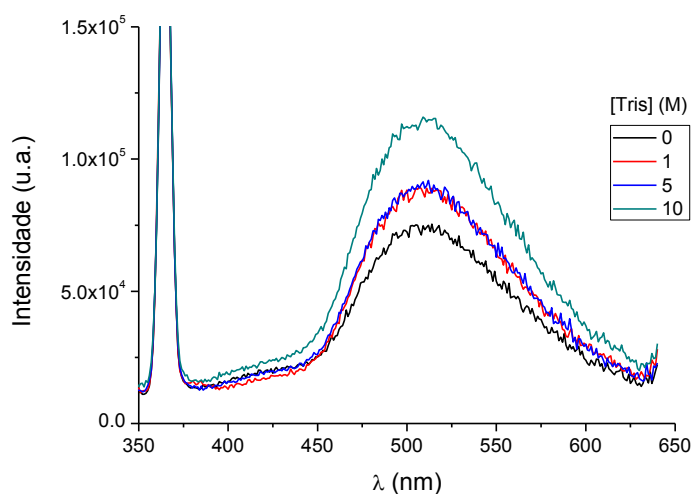
Nos espectros de absorção (figura 3.16), verifica-se que o aumento da concentração de tris, não altera significativamente a forma dos espectros e observa-se um máximo de absorção nos 325 nm.

No espectro de emissão (figura 3.17) observa-se que com a adição do tris há um aumento de intensidade, à medida que se adiciona concentrações mais elevadas de tris. Esses resultados sugerem a formação da base de Schiff entre o tris e o salicilaldeído.



**Figura 3. 16** Espectros de absorção de uma solução com  $1 \times 10^{-5}$  M salicilaldeído, com sucessivas adições de 1 a 10 mM de tris.

## Resultados

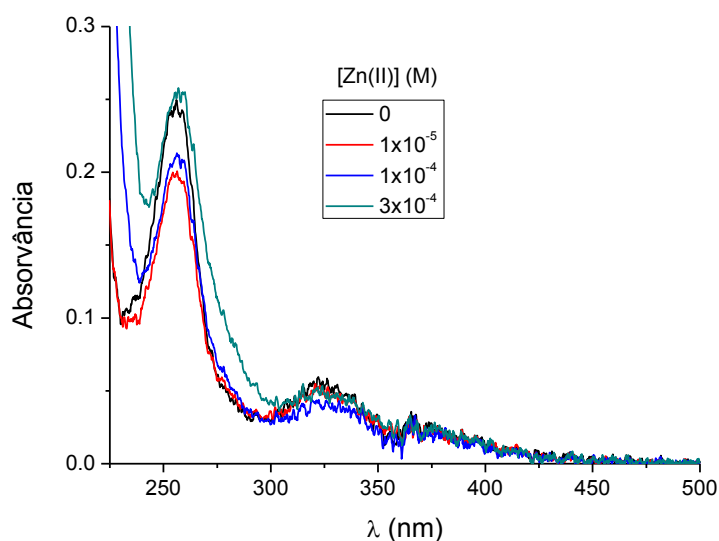


**Figura 3. 17** Espectros de emissão de uma solução com  $1 \times 10^{-5}$  M salicilaldeído, com sucessivas adições de 1 a 10 mM de tris.

A adição do metal permite-nos perceber que há formação de complexo com a base de Schiff.

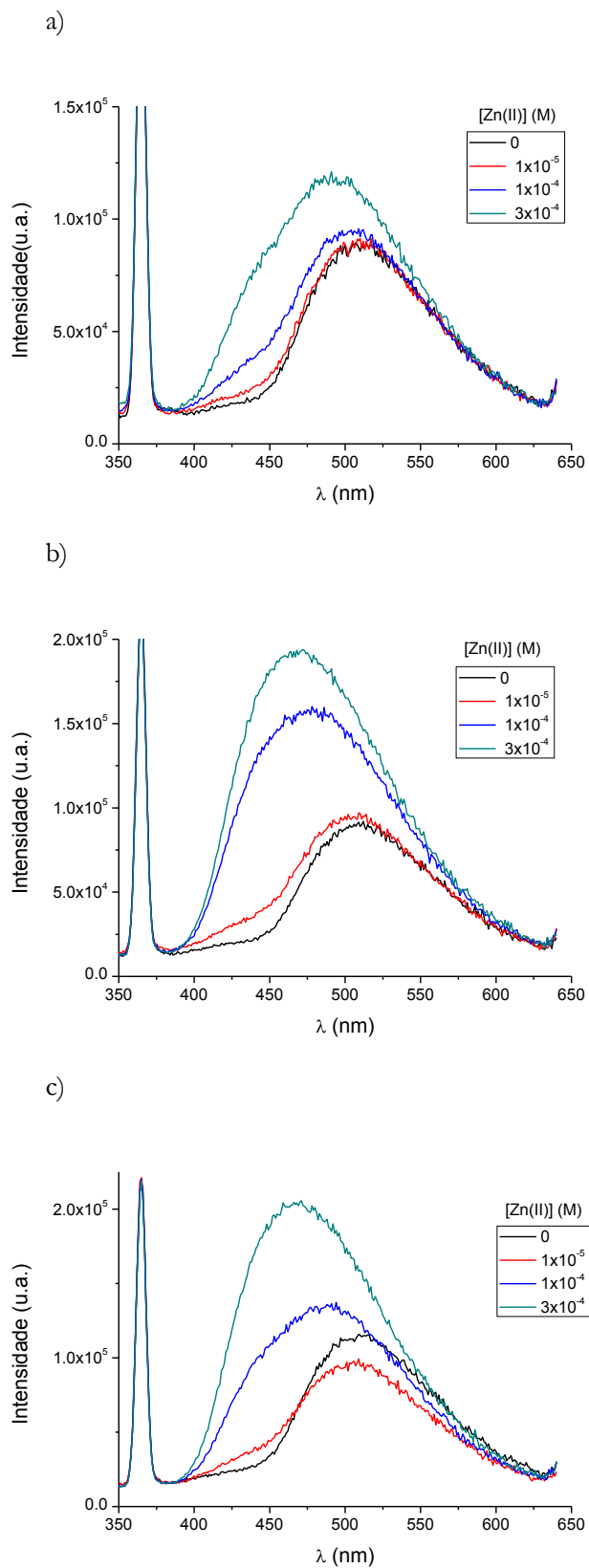
Foram traçados os espectros de absorção para as três concentrações de tris, mas só é apresentada uma figura 3.18, pois o comprimento de onda de excitação não varia para qualquer uma das concentrações absorvendo no máximo de comprimento de onda 325 nm.

Analisando as figuras 3.19 a), b) e c) verifica-se que com a adição do metal há um aumento de intensidade de fluorescência existindo um deslocamento das bandas para valores de comprimento de onda para valores mais baixos, o que nos indica que há formação do complexo.



**Figura 3. 18** Espectros de absorção de uma solução de  $1 \times 10^{-5}$  M de salicilaldeído 10 mM de tris com sucessivas adições de nitrato de zinco variando de  $1 \times 10^{-5}$  M a  $3 \times 10^{-4}$  M.

## Resultados



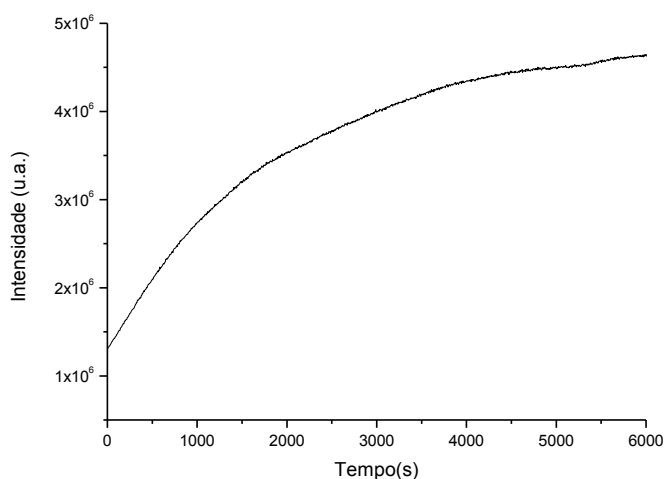
**Figura 3. 19** Espectros de emissão de uma solução de  $1 \times 10^{-5}$  M de salicilaldeído juntamente com **a)** solução de 1 mM de tris, **b)** solução de 5 mM de tris e **c)** solução contendo 10 mM de tris, adicionado as concentrações de zinco que variam entre  $1 \times 10^{-5}$  M a  $3 \times 10^{-4}$  M.



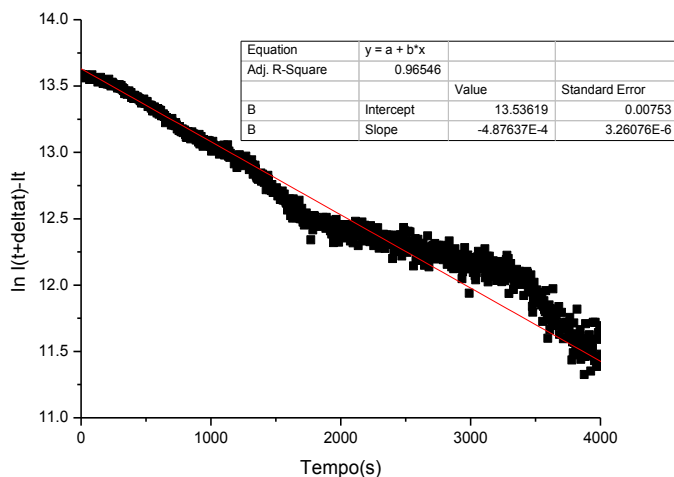
## Resultados

Com o resultado da cinética (figura 3.20), confirma-se que a cinética demora muito tempo a estabilizar, que ao fim dos 6000 segundos a reacção ainda não está completa, logo é lenta, assim como acontecia na glicína.

Com o auxílio do método proposto por Guggenheim<sup>45,46</sup> fomos determinar a constante de velocidade na formação do complexo em solução aquosa.



**Figura 3. 20** Cinética de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M, tris  $1 \times 10^{-2}$  M e nitrato de zinco  $3 \times 10^{-4}$  M.



**Figura 3. 21** Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M, tris  $1 \times 10^{-2}$  M e nitrato de zinco  $3 \times 10^{-4}$  M.  $\Delta t = 200$

## Resultados

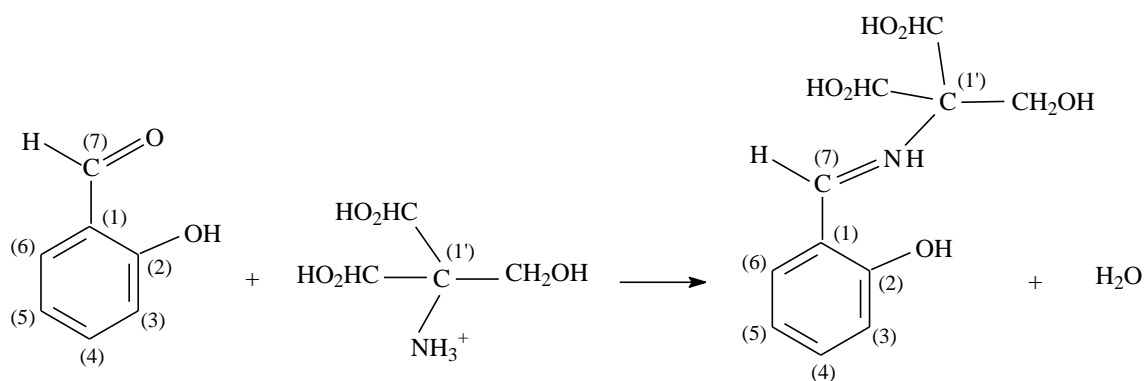
**Tabela 3. 5** Tabela com os valores da constante de velocidade e do coeficiente de correlação para a solução de salicilaldeído, tris e nitrato de zinco

[Salicilaldeído]	[Tris]	[Zinco(II)]	Constante da velocidade (k) / s <sup>-1</sup>	Coeficiente de correlação
1x10 <sup>-5</sup> M	1x10 <sup>-2</sup> M	3x10 <sup>-4</sup> M	4.89x10 <sup>-4</sup>	0.965

Os resultados sugerem uma cinética de primeira ordem em termos do Zn (II). Comparando o valor da constante de velocidade nas mesmas condições com a glicína na tabela 3.1, a constante de velocidade é aproximadamente o dobro, com tempo de meia vida de 1417 segundos (24 minutos).

### 3.2.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C em solução de D<sub>2</sub>O foram obtidos e confirmam a formação da base de Schiff entre o salicilaldeído e a tris, resultando uma reacção de condensação com eliminação de uma molécula de H<sub>2</sub>O, como mostra a figura 3.22, e posterior complexação com o metal.

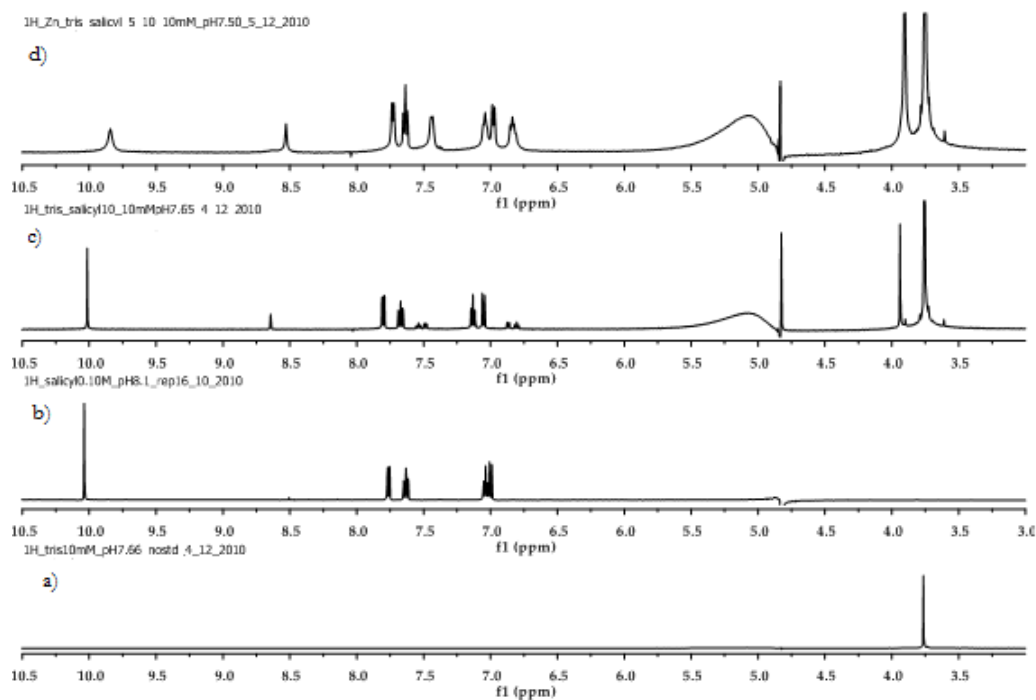


**Figura 3. 22** Reacção de condensação entre o salicilaldeído e tris.

## Resultados

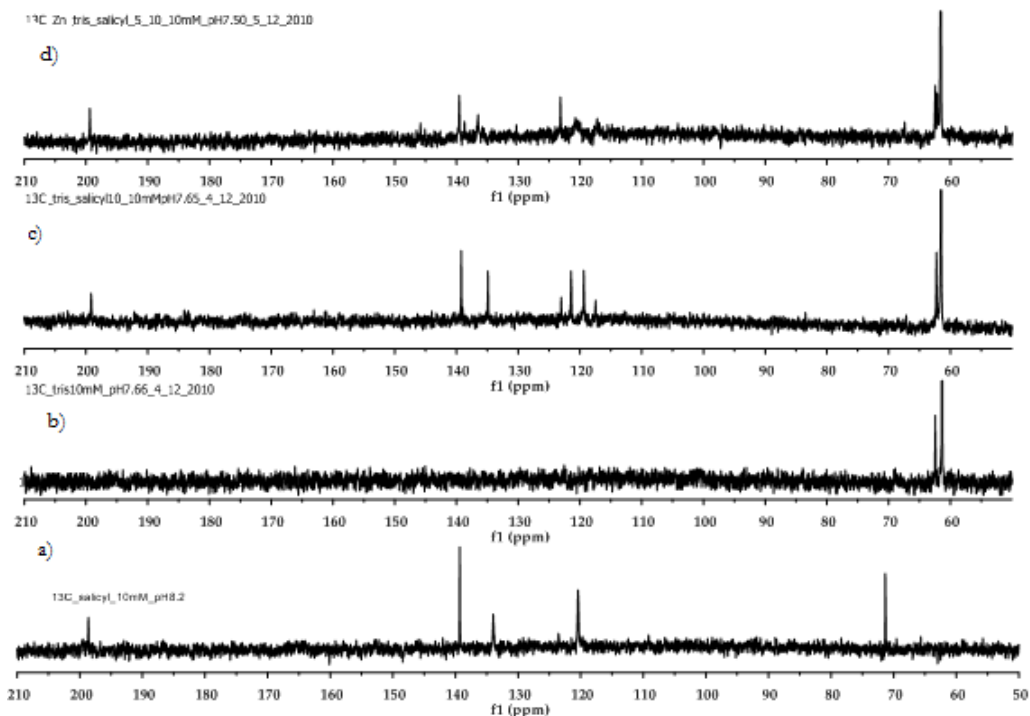
Com os espectros de RMN  $^1\text{H}$ , figura 3.23, verificamos que o tris no espectro a) tem um sinal com desvio químico 3.75 ppm, que na presença do salicilaldeído, com a mistura dos dois em c) há o aparecimento de novos sinais, formação de base de Schiff.

Quando é adicionado o metal há complexação com a base de Schiff, aparecendo os sinais mais intensos.

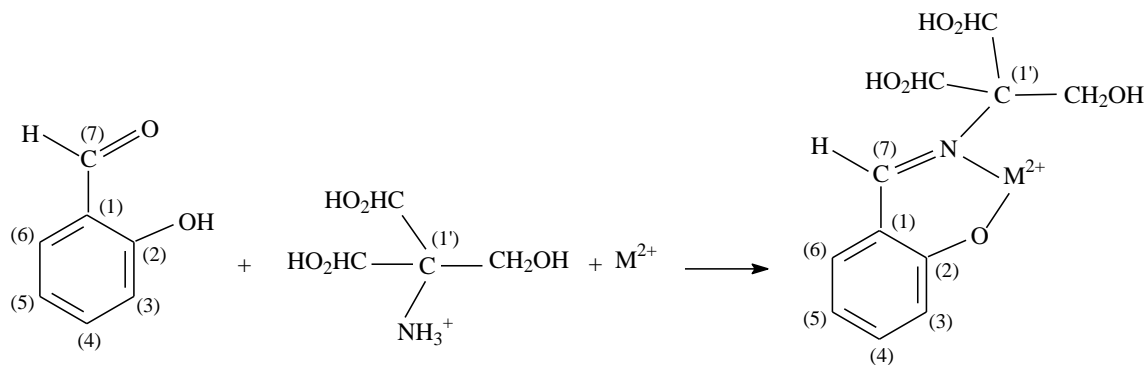


**Figura 3. 23** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a) solução de tris livre de concentração 10 mM, b) solução de 10 mM salicilaldeído livre, c) solução da mistura 10:10 mM salicilaldeído: tris d) solução de salicilaldeído, tris e zinco 10:10:5 mM, à temperatura 298K, pH 8.

## Resultados



**Figura 3. 24** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a) solução de tris livre de concentração 10 mM, b) solução de 10 mM salicilaldeído livre, c) solução da mistura 10:10 mM salicilaldeído:tris d) solução de salicilaldeído, tris e zinco 10:10:5 mM, à temperatura 298K, pH 8.



**Figura 3. 25** Misturas de nitrato de zinco, tris e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  sinais adicionais devido à forma complexada, dependendo do pH.

Destes dois estudos da glicina e do tris a interação da base de Schiff formada pela glicina e o salicilaldeído, e consequente complexação com o zinco são ligações tridentadas, de estequiometria 1:1.

A cinética de ambos os estudos é lenta, levando muito tempo a atingir a estabilidade, tendo um tempo de meia vida semelhante, de 25 min.

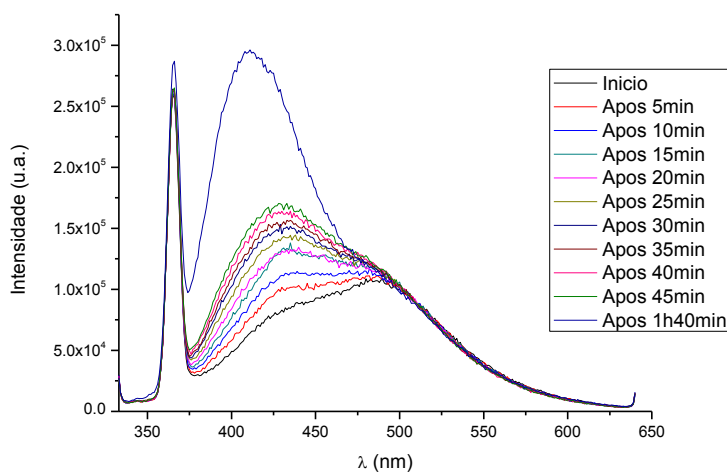
### 3.3. Formação de base de Schiff com Propilamina

#### 3.3.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência

Quando se adiciona um metal à base de Schiff formada entre o salicilaldeído e a propilamina, este só pode ligar ao nitrogénio da base e o oxigénio do anel aromático, formando um complexo bidentado. Desta forma, a propilamina funciona como uma referência para as outras aminas.

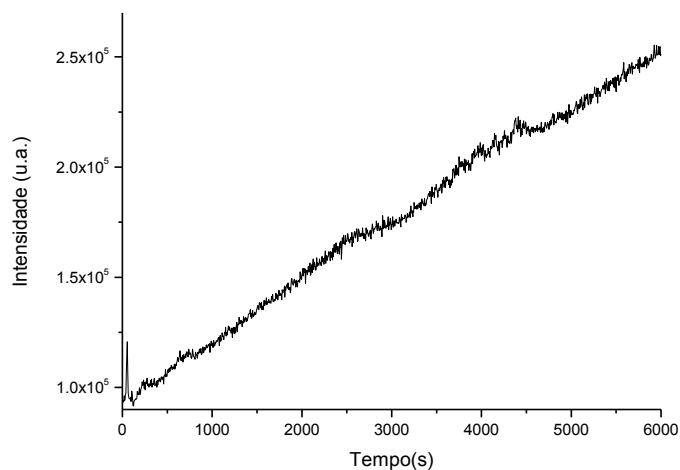
A figura 3.26 mostra a evolução temporal dos espectros de emissão de soluções de propilamina, salicilaldeído e zinco em que a intensidade aumenta e ocorre um deslocamento do máximo do comprimento de onda de emissão. Quando se prepara a solução o  $\lambda_{\text{max}}$  emissão é a 485 nm e no fim da reacção era 442 nm, o que significa que o equilíbrio não se desloca no sentido da base de Schiff, e a intensidade de emissão aumentou gradualmente durante todo o tempo de observação.

Como os estudos das cinéticas anteriores, tinham sido lentas, partimos logo ao estudo da cinética da propilamina (figura 3.27).



**Figura 3. 26** Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M, propilamina  $1 \times 10^{-2}$  M e zinco (II)  $3 \times 10^{-4}$  M.

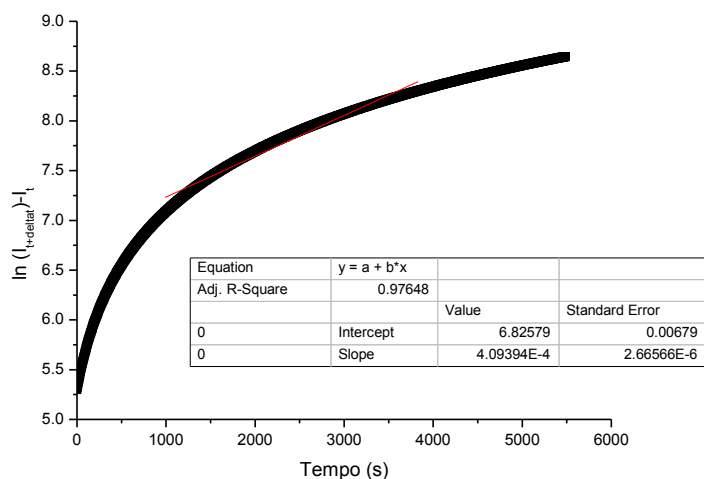
## Resultados



**Figura 3. 27** Cinética de uma solução com salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M; propilamina  $1 \times 10^{-2}$  M e zinco  $3 \times 10^{-4}$  M, a  $\lambda = 430$  nm

Com o resultado da evolução da intensidade de fluorescência em função do tempo, confirma-se que a cinética demora muito tempo a estabilizar, que ao fim dos 6000 segundos a reacção ainda não está completa, logo é lenta, assim como acontecia na glicina e no tris.

Com o auxílio do método proposto por Guggenheim<sup>45,46</sup> fomos determinar a constante de velocidade na formação do complexo em solução aquosa, para comparar com os resultados obtidos anteriormente, mas o ajuste não é linear e tem declive positivo, provavelmente devido à zona limitada de análise.



**Figura 3. 28** Análise da cinética pelo método de Guggenheim de uma solução de salicilaldeído, propilamina e zinco

## Resultados

---

Uma análise alternativa foi feita utilizando a velocidade inicial:

$$dI / dt = kI$$

Aplicando este método aos dados experimentais para os primeiros 5000 s da reacção, foi possível determinar o valor  $k = 2 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ .

**Tabela 3. 6** Tabela com os valores da constante de velocidade e do coeficiente de correlação para a solução de salicilaldeído, propilamina e zinco

[Salicilaldeído]	[Propilamina]	[Zinco(II)]	Constante da velocidade (k) / s <sup>-1</sup>	Coefficiente de correlação
1x10 <sup>-5</sup> M	1x10 <sup>-2</sup> M	3x10 <sup>-4</sup> M	2x10 <sup>-4</sup>	0.995

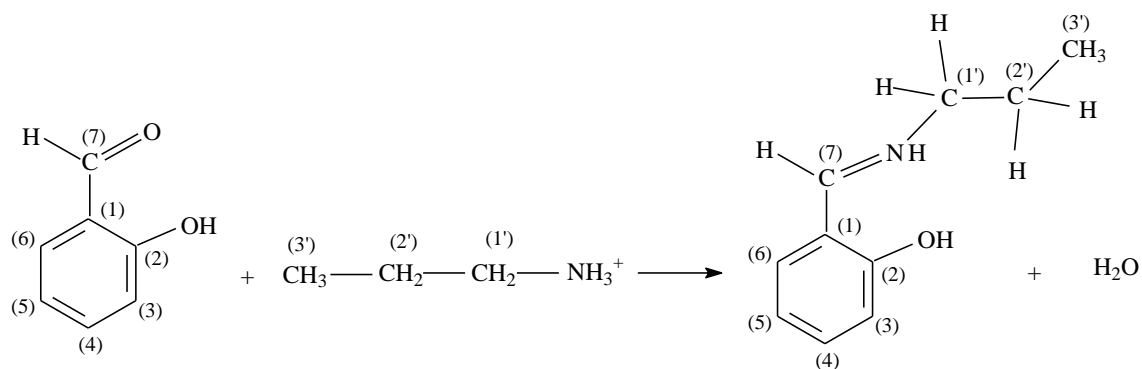
O coeficiente de correlação foi obtido pela regressão linear da figura 3.28, pois com o método de Stern Volmer os resultados não eram coerentes com as constantes de velocidade já calculadas para a glicina e o tris.

Os resultados sugerem uma cinética de primeira ordem em termos do Zn(II). Comparando o valor da constante de velocidade nas mesmas condições com a glicina na tabela 3.1 e o tris na tabela 3.5, a constante de velocidade é ligeiramente mais baixa do que com a Glicina e aproximadamente metade do valor do tris.

### 3.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C em solução de D<sub>2</sub>O foram obtidos confirmam a formação da base de Schiff entre o salicilaldeído e a propilamina, resultando uma reacção de condensação eliminando uma molécula de H<sub>2</sub>O, como mostra a figura 3.29, e posterior complexação com o metal.

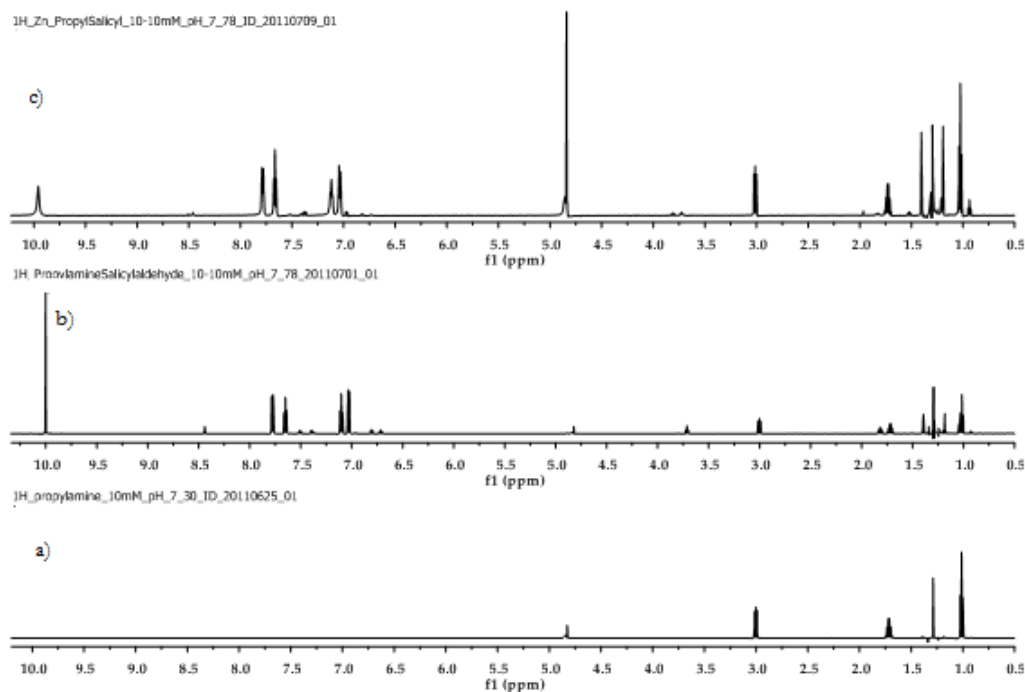
## Resultados



**Figura 3. 29** Reacção de condensação de salicilaldeído e propilamina.

A propilamina representada na figura 3.30, espectro a) apresenta 4 sinais: dois tercetos e um quarteto no desvio químico entre 1 e 2 ppm, sugerindo a existência de um acoplamento com CH<sub>2</sub> com CH<sub>3</sub>. O sinal mais desviado refere-se ao CH<sub>2</sub> ligado ao NH<sub>2</sub>.

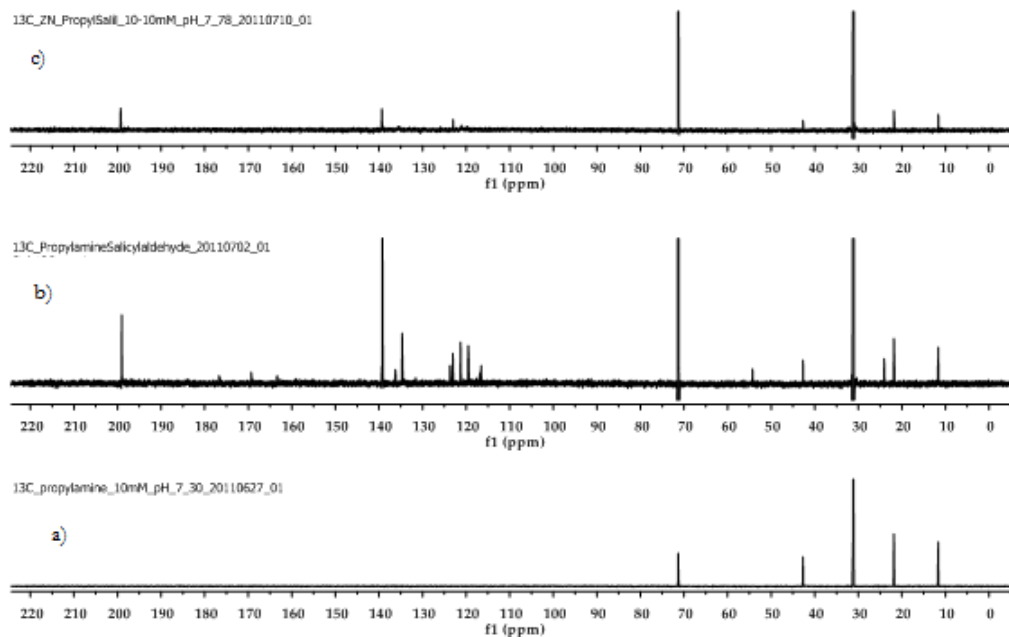
Com a mistura do salicilaldeído, espectro b), os sinais da propilamina geram multipletos, e aparecem os sinais relativos ao salicilaldeído. Com a adição do metal, espectro c), os sinais tornam-se mais intensos, mas não aparecem sinais novos.



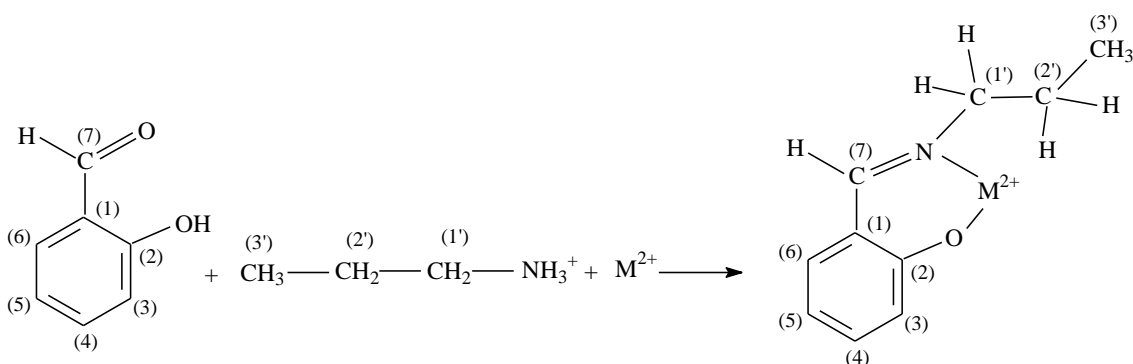
**Figura 3. 30** Espectros de RMN de <sup>1</sup>H a) solução de 10 mM propilamina b) solução da mistura de 10:10 mM propilamina com salicilaldeído e c) solução de 10:10:5 mM salicilaldeído, propilamina e zinco



## Resultados



**Figura 3. 31** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  a) solução de 10 mM propilamina, b) solução da mistura de 10:10 mM propilamina com salicilaldeído e c) solução de 10:10:5 mM salicilaldeído, propilamina e zinco.



**Figura 3. 32** Misturas de nitrato de zinco, propilamina e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  sinais adicionais devido à forma complexada, dependendo do pH

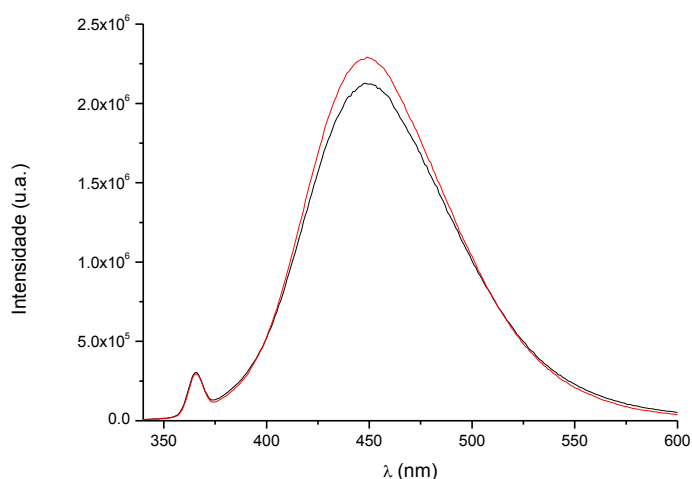
As aminas anteriormente estudadas, formavam complexos tridentados, esta é a única estudada que forma um complexo bidentado com o metal, de estequiometria 1:1. As únicas ligações possíveis ao metal são pelo  $\text{C}=\text{NH}$  e o oxigênio.

A cinética é relativamente lenta, e tem um tempo de vida de 85 minutos.

### 3.4. Formação de base de Schiff com Etanolamina

#### 3.4.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência

Com o intuito de pesquisar novas aminas que tivessem uma reação rápida estudamos a etanolamina. Tal como as aminas estudadas anteriormente, há formação de uma base de Schiff entre o salicilaldeído e a etanolamina, e na presença de Zn(II) ocorre complexação. Isso pode ser comprovado através do aumento da intensidade de fluorescência e desvio para o azul no espectro de emissão de uma solução de salicilaldeído, etanolamina e Zn(II) (figura 3.33) em relação ao espectro de emissão de uma solução só de salicilaldeído. A cinética resultante desta amina é bastante rápida, mas os resultados não são apresentados pois o traçado do gráfico é praticamente constante, o que é ótimo para o nosso estudo, porque podemos otimizar as condições. Como se pode observar na figura 3.33, o comprimento de onda de emissão máximo é constante durante a realização da experiência, ou seja, não se altera entre o início da experiência (linha preta) e o fim (linha vermelha), traçado passada 1 hora e 40 minutos, que foi o tempo durante o qual se monitorizou a cinética da reação.

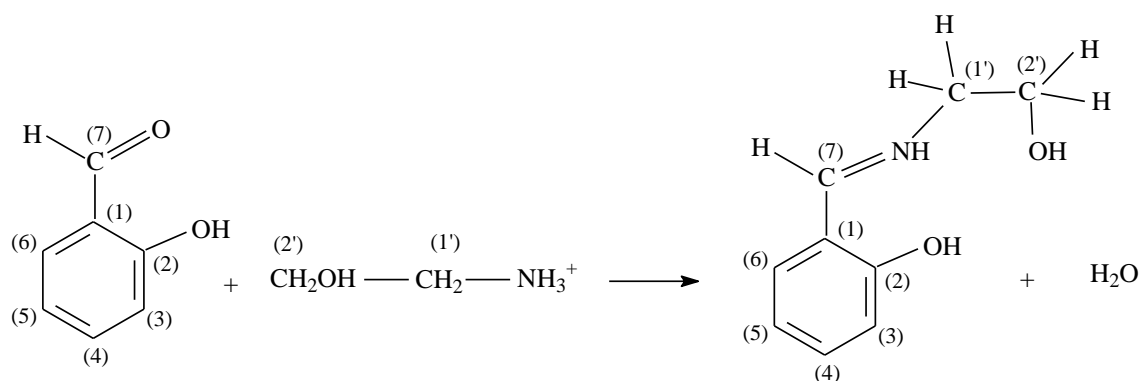


**Figura 3. 33** Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M, etanolamina  $1 \times 10^{-2}$  M e nitrato de zinco  $3 \times 10^{-4}$  M no início (linha preta) e no fim (linha vermelha) da experiência.

## Resultados

### 3.4.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$

Quando se forma a base de Schiff entre o salicilaldeído e a etanolamina, de estequiometria 1:1 dá-se uma reacção de condensação com eliminação de uma molécula de  $\text{H}_2\text{O}$ , como mostra a figura 3.34.



**Figura 3. 34** Reacção de condensação entre salicilaldeído e etanolamina

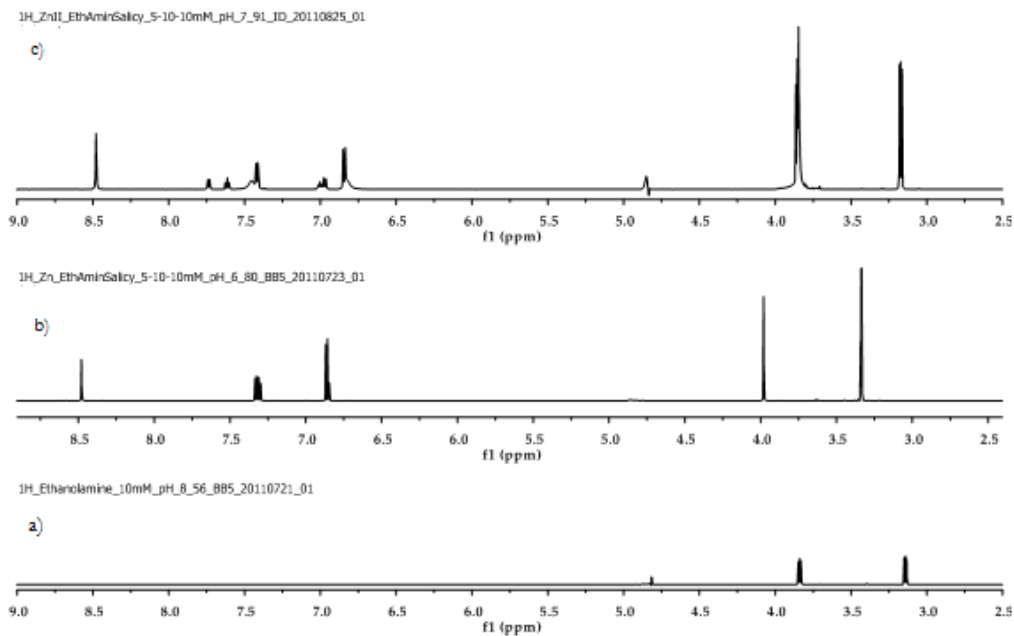
Os espectros da etanolamina representada na figura 3.35, espectro a) apresentam 2 sinais no desvio químico entre 3 e 4 ppm, sugere a existência de um acoplamento com  $\text{CH}_2$  com  $\text{CH}_2$ .

Com a mistura do salicilaldeído, espectro b), os sinais da etanolamina são desviados para valores mais altos de desvio químico e aparecem os sinais relativos ao salicilaldeído.

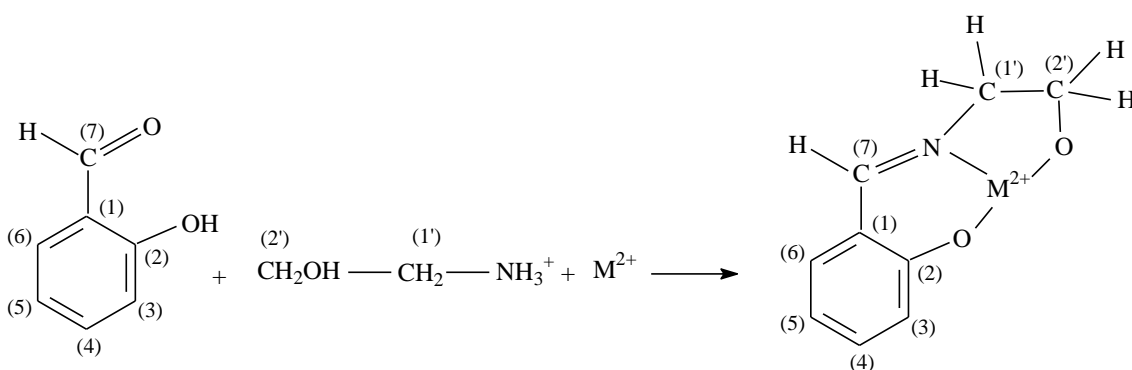
Com a adição do metal, espectro c), os sinais tornam-se mais intensos, aparecendo novos sinais que indica a complexação da base de Schiff com o zinco, resultando a reacção de condensação, com eliminação de uma molécula de água, representada na figura 3.36.

O espectro de RMN do  $^{13}\text{C}$  não é mostrado, porque os resultados não eram perceptíveis nos espectros.

## Resultados



**Figura 3. 35** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  a) solução de 10 mM etanolamina b) solução da mistura de 10:10 mM etanolamina com salicilaldeído e c) solução de 10:10:5 mM salicilaldeído, etanolamina e zinco.



**Figura 3. 36** Misturas de nitrato de zinco, etanolamina e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  sinais adicionais devido à forma complexada.

### 3.5. Formação de base de Schiff com Etilenodiamina

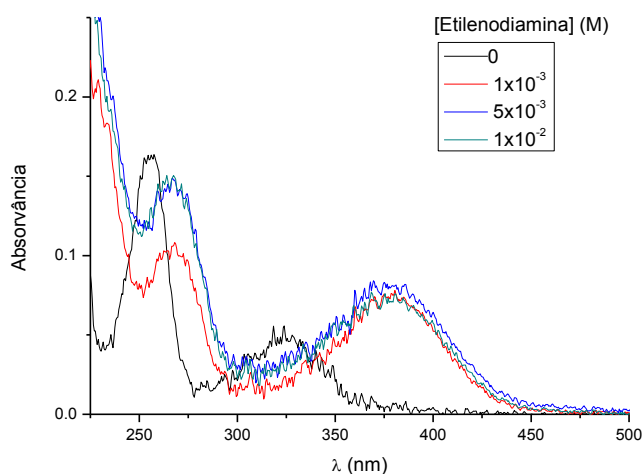
#### 3.5.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência

Seguindo o nosso objectivo, de pesquisar a formação de bases de Schiff e posterior complexação e detecção de metais, estudamos uma base de Schiff já mais conhecida a N-N (bis-salicilideno) etilenodiamina, obtida da reacção de condensação entre o salicilaldeído e a etilenodiamina.

No espectro de absorção (figura 3.37), verifica-se que a banda do salicilaldeído (banda preta) absorve a 325 nm, quando se adiciona a etilenodiamina há um deslocamento no comprimento de onda de absorção máximo para a zona dos 375 nm.

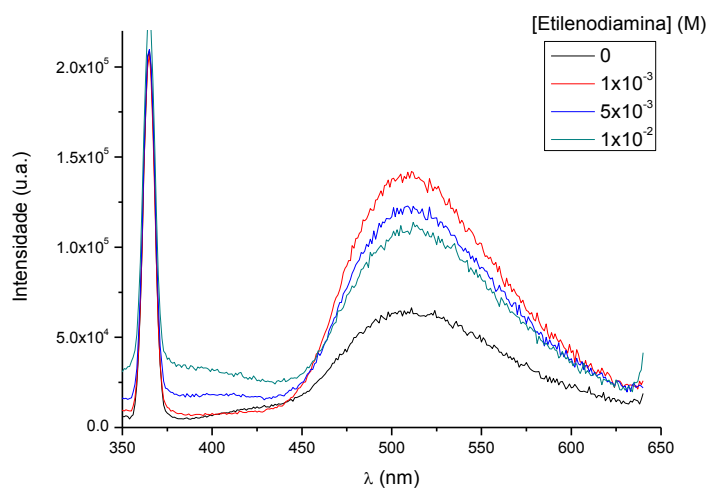
No espectro também é possível observar um ponto isosbético, a 337 nm. Neste ponto a absorção é a mesma para as espécies presentes no equilíbrio, ou seja o comprimento de onda da forma ácida e básica tem o mesmo coeficiente de extinção e índices de absorvância iguais.

Os espectros obtidos no espectrofluorímetro foram muito interessantes pois apresentaram variações marcantes. Na figura 3.38 o comprimento de onda 325 nm e na figura 3.39 é a 337 nm e pode observar que após a adição da primeira concentração de etilenodiamina há um aumento de fluorescência, mas com concentrações mais elevadas, ocorre redução da fluorescência sem deslocamento no comprimento de onda de emissão máximo.

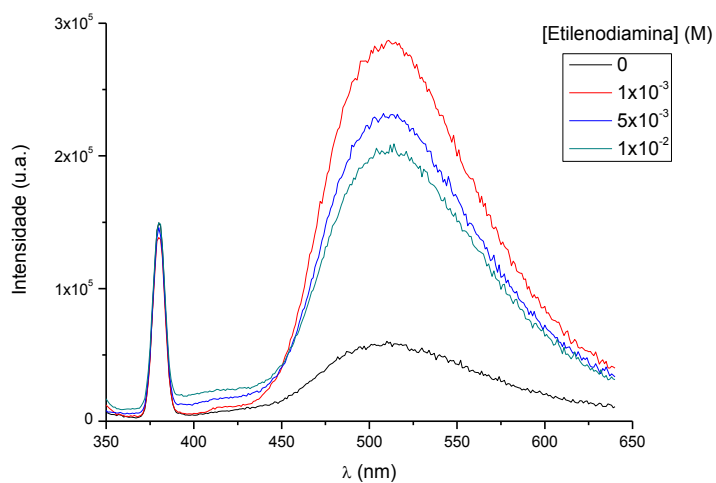


**Figura 3. 37** Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M com sucessivas adições de uma solução de etilenodiamina.

## Resultados



**Figura 3. 38** Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M com sucessivas adições de uma solução de etilenodiamina, a  $\lambda_{exc}$  325 nm.



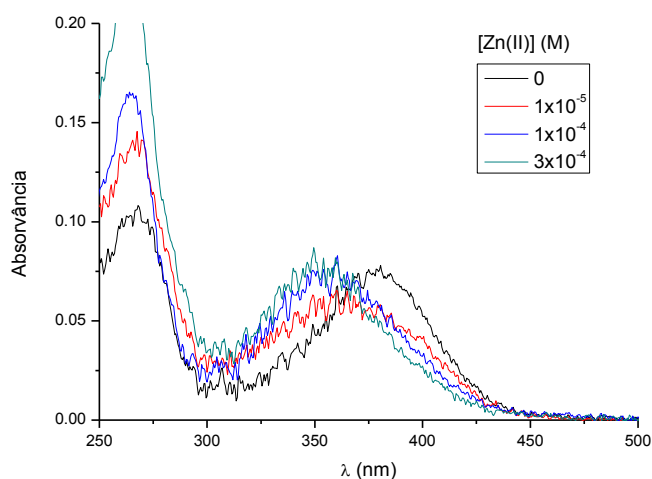
**Figura 3. 39** Espectro de emissão de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M; com sucessivas adições de uma solução de etilenodiamina, a  $\lambda_{exc}$  337 nm.

## Resultados

### 3.5.1.1. Adição de zinco

Com a adição de nitrato de zinco (figura 3.40) nota-se um deslocamento do máximo de absorção, com qualquer concentração de etilenodiamina, absorvendo na zona do comprimento de onda 337nm.

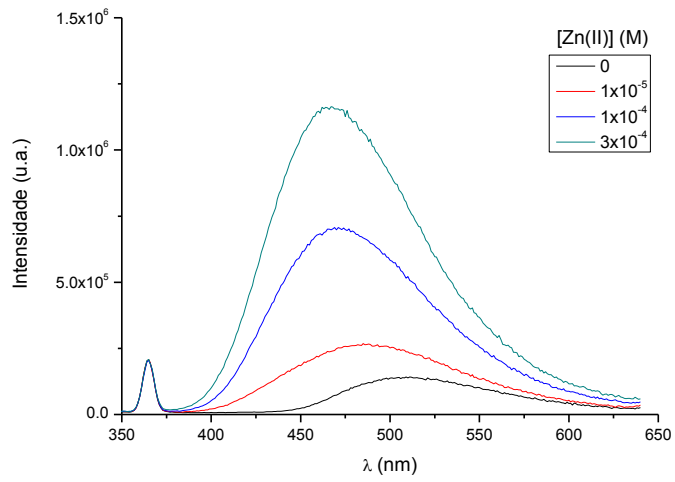
Excitando as soluções a este comprimento de onda, com as várias concentrações da formação da base de Schiff entre o salicilaldeído e a etilenodiamina constatamos que o valor da intensidade de emissão aumenta à medida que aumenta a concentração de zinco, deslocando o comprimento de onda de emissão máximo para valores mais baixos.



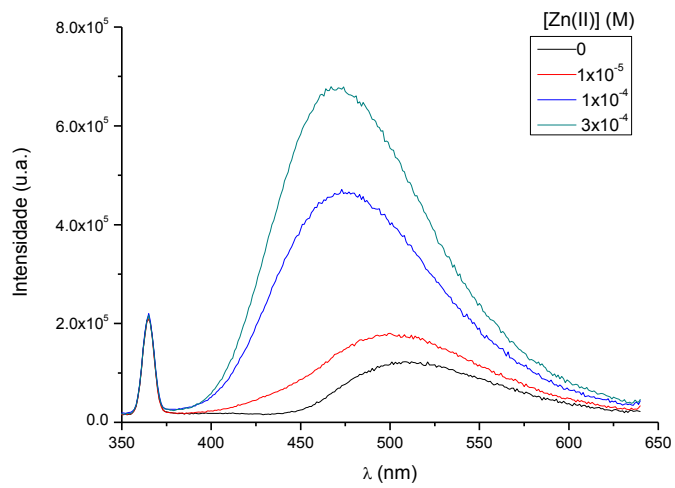
**Figura 3. 40** Espectros de absorção de uma solução com  $1 \times 10^{-5}$  M de salicilaldeído e  $1 \times 10^{-3}$  M de etilenodiamina, adicionando três concentrações de zinco.

## Resultados

a)



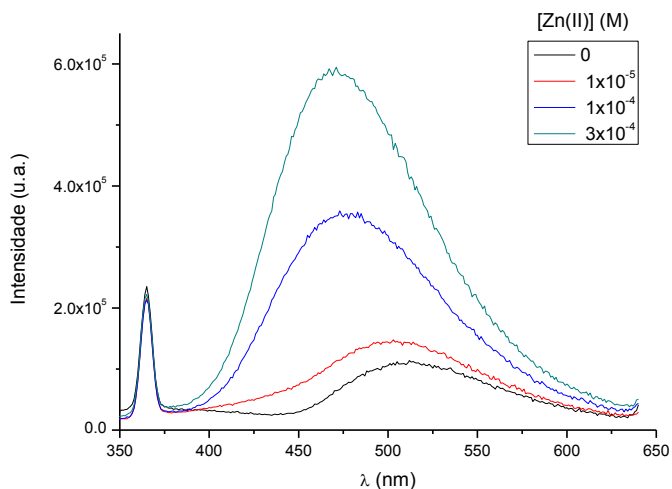
b)





## Resultados

c)



**Figura 3. 41** Espectro de emissão de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M com **a)** etilenodiamina  $1 \times 10^{-3}$  M **b)** etilenodiamina  $5 \times 10^{-3}$  M **e c)** etilenodiamina  $1 \times 10^{-2}$  M, com sucessivas adições de zinco,  $\lambda_{exc}$  337 nm.

Com estes resultados, podemos concluir que com esta formação de base de Schiff de estequiometria 1:1 ocorre complexação com o nitrato de zinco, logo podemos detectá-lo em solução aquosa, mostrando a figura 3.41 que qualquer que seja a concentração de etilenodiamina, a intensidade de fluorescência aumenta, à medida que aumenta a concentração de zinco.

Em relação aos sistemas estudados anteriormente, glicína, tris e propilamina, a velocidade de formação é mais rápida, semelhante à etanolamina.

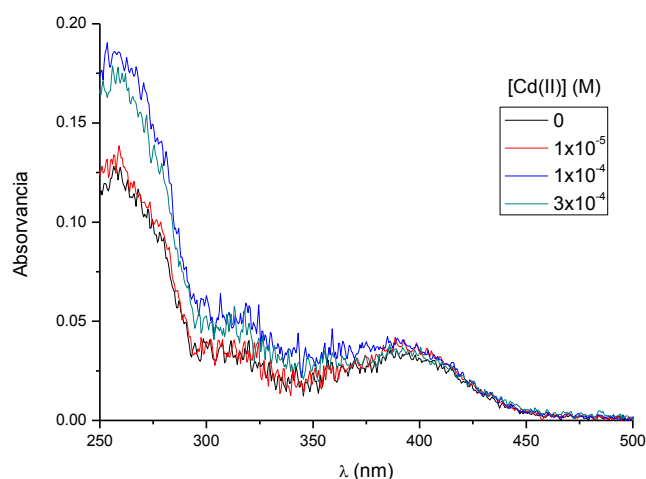
O RMN da complexação da base de Schiff entre salicilaldeído e etilenodiamina e o metal, zinco, não foi possível realizar porque o metal precipitava.

## Resultados

### 3.5.1.2. Adição de Cádmi

Como o objectivo deste trabalho é desenvolver métodos para a detecção e quantificação de metais pesados, na base dos resultados com o zinco, salicilaldeído e etilenodiamina, decidimos alargar o nosso trabalho ao cádmio que está situado no mesmo grupo do zinco. Nos espectros de absorção (figura 3.42), observa-se que com as sucessivas adições de nitrato de cádmio o comprimento de onda de absorção máximo não varia, absorvendo a 355 nm.

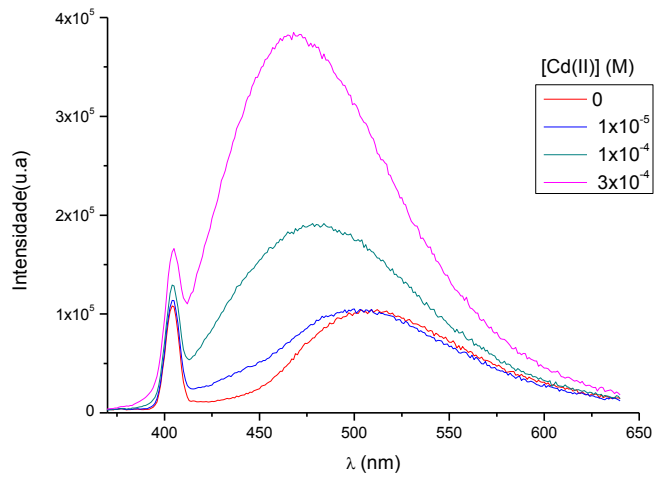
Excitando as soluções a este comprimento de onda, com as várias concentrações da formação da base de Schiff entre o salicilaldeído e a etilenodiamina constatamos na figura 3.43 que a intensidade da emissão aumenta à medida que aumenta a concentração de cádmio, deslocando o comprimento de onda de emissão máximo para valores mais baixos. Com estes resultados, podemos concluir que a base de Schiff formada complexa com o cádmio, logo podemos detectá-lo em solução aquosa.



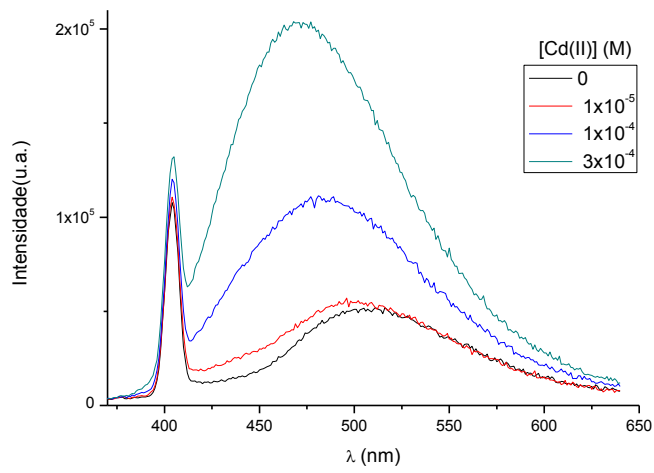
**Figura 3. 42** Espectros de absorção de uma solução de  $1 \times 10^{-5}$  M de salicilaldeído e  $1 \times 10^{-2}$  M de etilenodiamina, com sucessivas adições de nitrato de cádmio.

## Resultados

a)

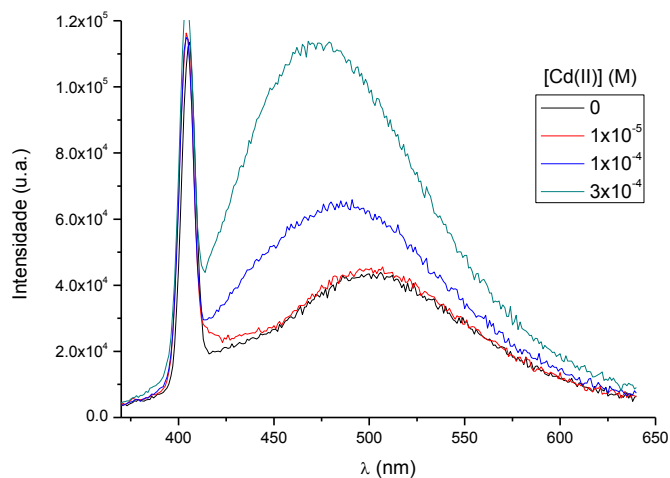


b)



## Resultados

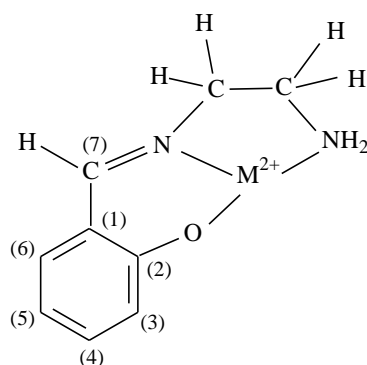
c)



**Figura 3. 43** Espectros de emissão de uma solução de  $1 \times 10^{-5}$  M salicilaldeído com **a)**  $1 \times 10^{-3}$  M etilenodiamina **b)**  $5 \times 10^{-3}$  M etilenodiamina e **c)**  $1 \times 10^{-2}$  M de etilenodiamina, com sucessivas adições de nitrato de cádmio,  $\lambda_{exc}$  355 nm

O estudo foi feito com 3 concentrações diferentes de etilenodiamina, mas com  $[etilenodiamina] \gg [salicilaldeído]$ , não havia diferenças significativas nos resultados, e em todos os casos a velocidade de formação do complexo foi bastante rápida.

Nesses sistemas, a base de Schiff formada entre salicilaldeído e etilenodiamina tem a estequiometria de 1:1 e na base dos resultados com etanolamina a estrutura provável do quelato é:



**Figura 3. 44** Estrutura do complexo entre salicilaldeído e etilenodiamina 1:1 e o metal.

Na próxima secção apresentamos resultados sobre a complexação de  $Zn(II)$ ,  $Cd(II)$  e  $Hg(II)$  pela base de Schiff de salicilaldeído e etilenodiamina previamente sintetizada em etanol, na estequiometria 2:1.

### 3.6. Base de Schiff (salicilaldeído e etilenodiamina) sintetizada- Ligando Salen

A estrutura do ligando Salen está representada na figura 3.45, com 2 grupos de salicilaldeído ligados à etilenodiamina. Na figura 3.46 está representada a formação da base de Schiff entre o salicilaldeído e a etilenodiamina a complexar com o zinco, na estequiometria 2:1, em que o tamanho do metal é ajustado à complexação.

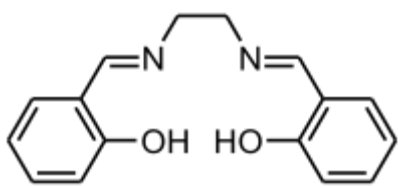


Figura 3. 45 Representação da estrutura do Salen.

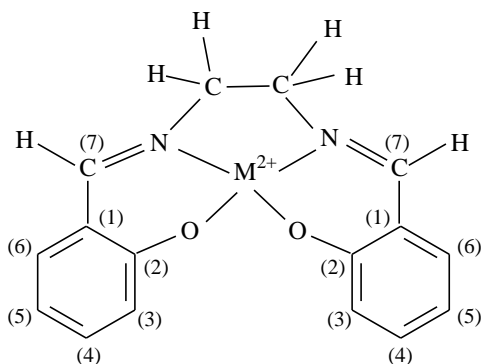


Figura 3. 46 Estrutura do complexo entre salicilaldeído e etilenodiamina 2:1 e o metal.

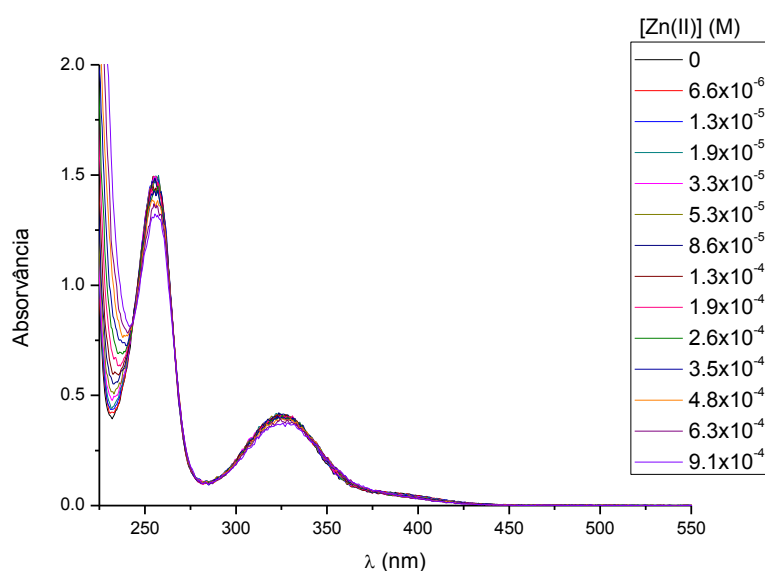
### 3.6.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência

Com a adição de zinco e cádmio a soluções aquosas de salicilaldeído e etilenodiamina, como já tínhamos visto anteriormente nas secções 3.5.1.1 e 3.5.1.2, respectivamente há formação de complexo, aumentando a intensidade de fluorescência.

Com a base de Schiff Salen previamente sintetizada foram preparadas três soluções para a adição de metais.

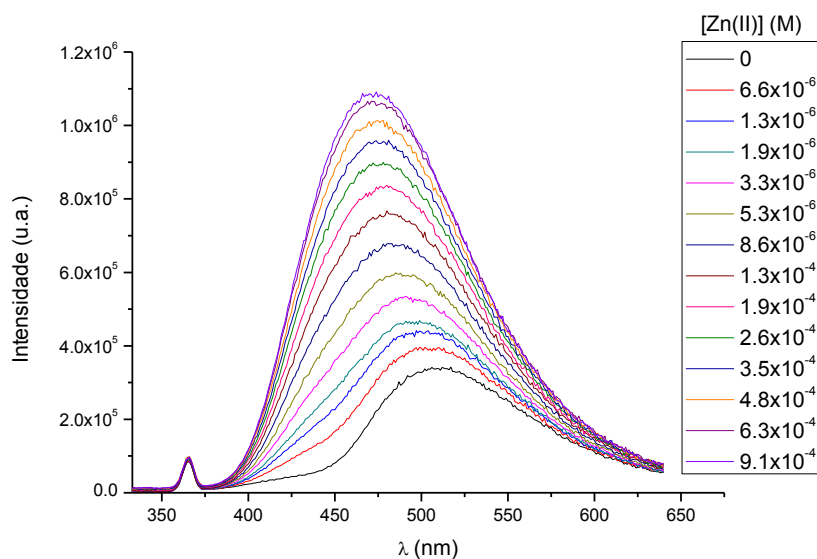
#### 3.6.1.1. Complexação da base de Schiff Salen (salicilaldeído+etilenodiamina) sintetizada e zinco

A adição do nitrato de zinco à base de Schiff não provoca nenhuma alteração na banda de absorção, mantendo-se o máximo de absorção nos 325 nm (figura 3.47). No espectro de emissão (figura 3.48) o zinco complexa com o Salen, aumentando a intensidade de fluorescência com um ligeiro deslocamento do máximo de emissão no sentido de valores mais baixos de comprimento de onda.



**Figura 3. 47** Espectros de absorção com a adição de nitrato de zinco à base de Schiff ( $4.47 \times 10^{-5}$  M) sintetizada.

## Resultados



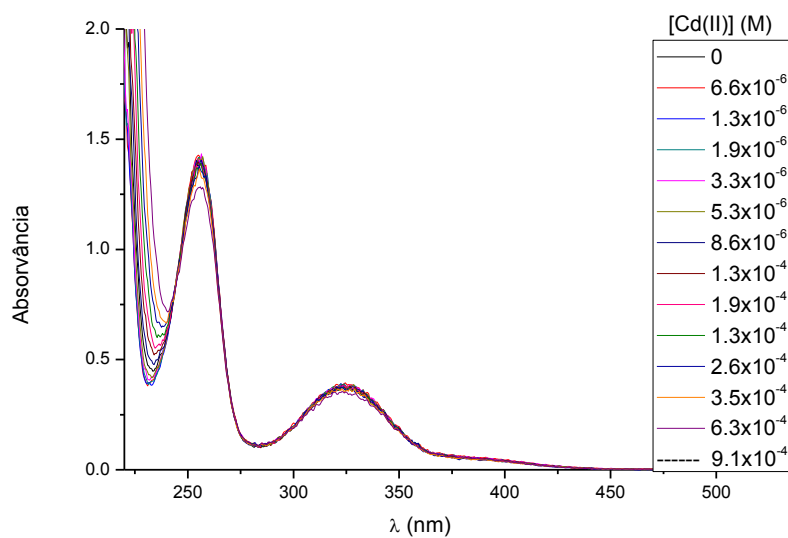
**Figura 3. 48** Espectro de emissão com a adição de nitrato de zinco à base de Schiff ( $4.47 \times 10^{-5}$  M) sintetizada,  $\lambda_{exc} = 325$  nm

### 3.6.1.2. Interação entre a base de Schiff (salicilaldeído+etilenodiamina) sintetizada e cádmio

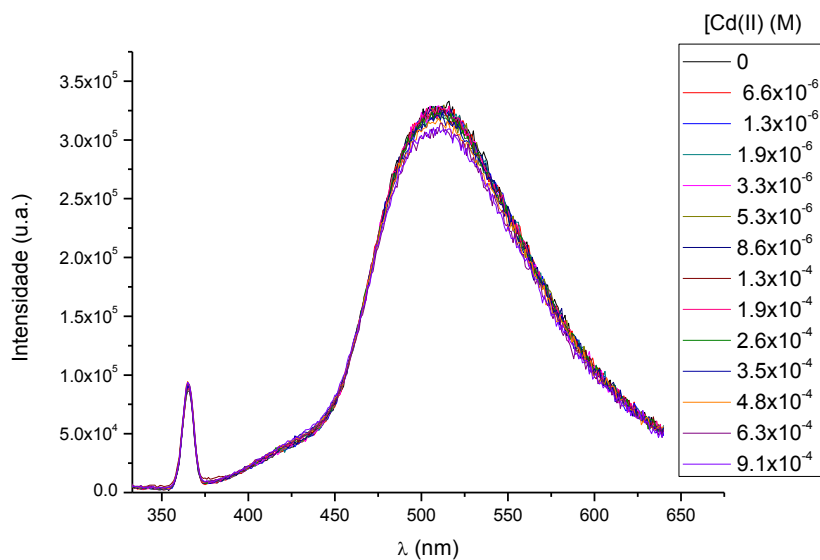
Com a adição de nitrato de cádmio, os resultados foram diferentes em relação ao estudo já efectuado com a base de Schiff entre salicilaldeído e etilenodiamina preparada em solução aquosa. No sistema com Salen, não houve alterações na intensidade de emissão, mantendo sempre o valor da intensidade constante. Esses resultados indicam que não há complexação, e isto pode ser devido a diferenças nos raios iônicos dos iões ( $0,74 \text{ \AA}$  para Zn(II) e  $0,92 \text{ \AA}$  para Cd(II) para um número de coordenação de 4) <sup>44</sup>.

A diferença no comportamento de Zn(II) e Cd(II) com a base de Schiff formada entre salicilaldeído e etilenodiamina em solução e com a base de Schiff Salen pode ser utilizada para distinguir entre esses iões.

## Resultados



**Figura 3. 49** Espectros de absorção com a adição de nitrato de cádmio à base de Schiff ( $4.58 \times 10^{-5}$  M) sintetizada.



**Figura 3. 50** Espectros de emissão com a adição de nitrato de cádmio à base de Schiff ( $4.58 \times 10^{-5}$  M) sintetizada,  $\lambda_{exc} = 325$  nm

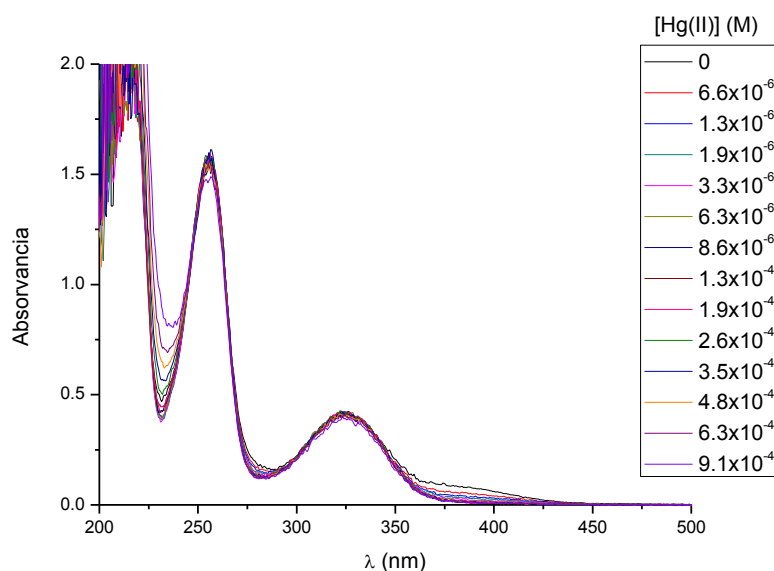


## Resultados

### 3.6.1.3. Interação entre a base de Schiff (salicilaldeído+etilenodiamina) sintetizada e o mercúrio

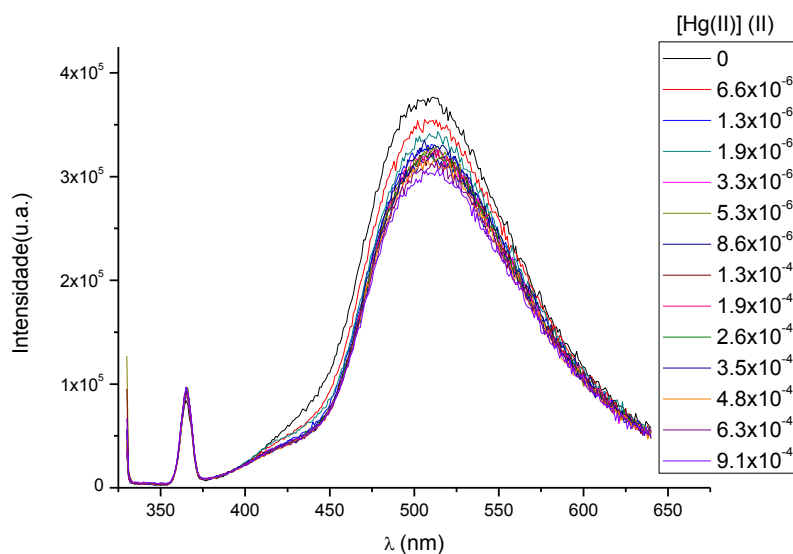
Analisando o estudo que foi feito com o cloreto de mercúrio, verifica-se que a banda máxima de absorção a 325 nm não sofre nenhuma alteração com a adição do metal, mas há uma diminuição na zona de 380 nm (figura 3.51).

No espectro de emissão (figura 3.52), a intensidade mais elevada é da solução sem a presença do cloreto de mercúrio, nas soluções seguintes com as primeiras três adições de cloreto de mercúrio, é notória uma diminuição de intensidade, sendo que à medida que a concentração de mercúrio aumenta, a intensidade mantém-se sempre constante.

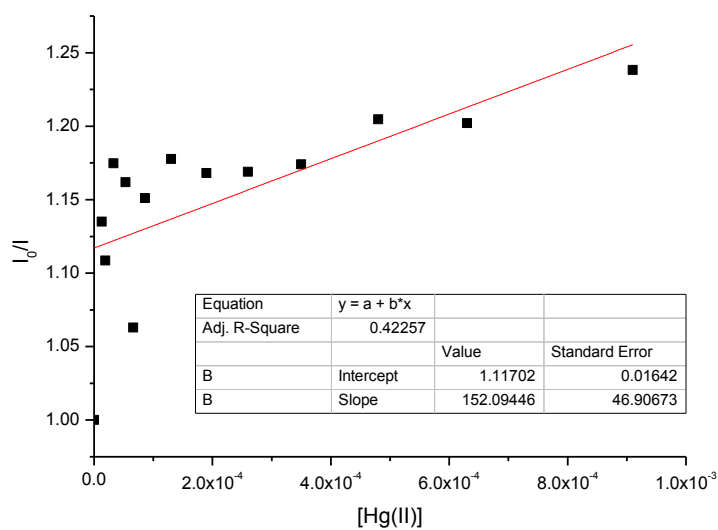


**Figura 3. 51** Espectros de absorção com a adição de cloreto de mercúrio à base de Schiff ( $4.55 \times 10^{-5} \text{M}$ ) sintetizada.

## Resultados



**Figura 3. 52** Espectros de emissão com a adição de cloreto de mercúrio à base de Schiff ( $4.55 \times 10^{-5}$  M) sintetizada,  $\lambda_{exc} = 325$  nm.



**Figura 3. 53** Gráfico de Stern -Volmer

Pelo gráfico de Stern-Volmer para o quenching verifica-se que nas primeiras adições de mercúrio a intensidade sobe, mas na adição consecutiva de concentrações de mercúrio, os pontos mantêm-se aproximadamente constantes.

## Resultados

### 3.6.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$

Aquando da formação da base de Schiff formada pelo salicilaldeído e a etilenodiamina (Salen) de estequiometria 2:1, dá-se uma reacção de condensação eliminando duas moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$ , como mostra a figura 3.53.

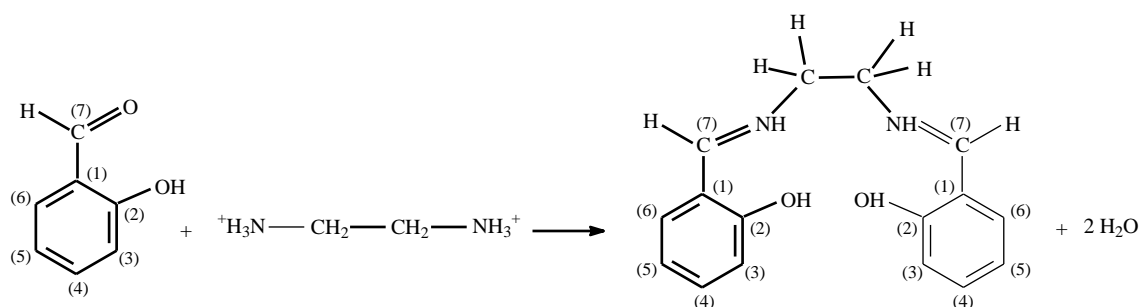


Figura 3. 54 Reacção de condensação entre salicilaldeído e etilenodiamina, estequiometria 2:1.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  mostra a estrutura da base de Schiff formada entre salicilaldeído e etilenodiamina em etanol, na estequiometria 1:1, em que na região do espectro entre 6.5 e 8.5 ppm mostra sinais correspondentes aos dois salicilaldeídos, nos desvios químicos entre 3.0 e 4.0 ppm são atribuídos à amina.

Pelo espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  obtivemos a confirmação da presença destes grupos, e na figura 3.57 está representado a reacção de condensação entre a base de Schiff e o metal, em que forma complexo tridentado.

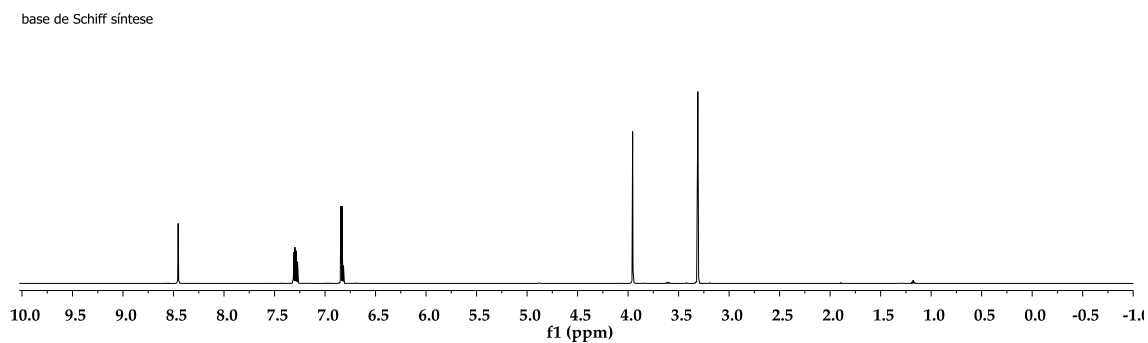


Figura 3. 55 Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da base de Schiff

## Resultados

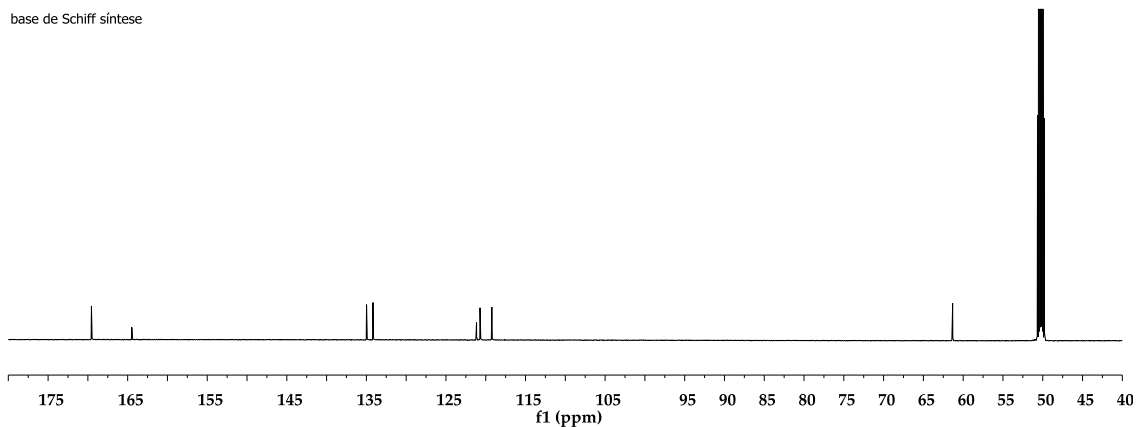


Figura 3. 56 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da base de Schiff

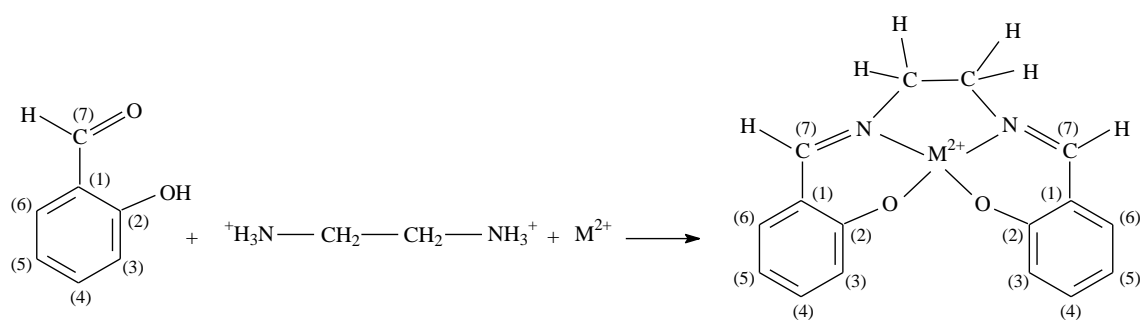


Figura 3. 57 Misturas de nitrato de zinco, etilenodiamina e salicilaldeído, em solução aquosa, mostram  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  sinais adicionais devido à forma complexada, depende pH

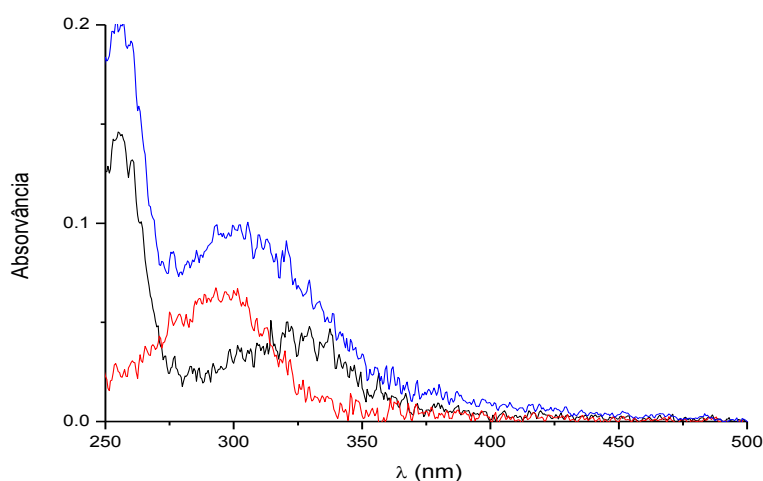
### 3.7. Tentativa de formação de base de Schiff com 2-aminopiridina em solução aquosa

#### 3.7.1. Espectroscopia de absorção no UV/visível e Fluorescência

Foi observado que a 2-aminopiridina não forma base de Schiff com o salicilaldeído em solução aquosa, mas que a 2-aminopiridina livre pode ser um sensor fluorescente para o zinco.

Nos espectros de absorção (figura 3.58), observa-se que 2-aminopiridina (banda vermelha) absorve na zona dos 300 nm, e o salicilaldeído (banda preta) absorve como já visto anteriormente aos 325 nm. Na mistura dos dois (banda azul) o espectro corresponde a soma dos dois espectros, sugerindo que não há formação da base de Schiff em água.

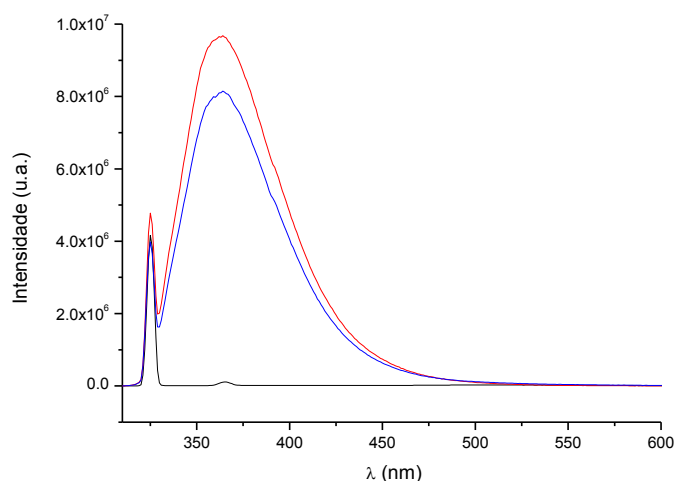
No espectro de emissão (figura 3.59) o procedimento é igual e a emissão do salicilaldeído (banda preta) é muito fraca quando comparada com a emissão da 2-aminopiridina (banda azul), na mistura há um pequeno aumento de intensidade (banda vermelha).



**Figura 3. 58** Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M (preto); de uma solução de 2-aminopiridina  $1 \times 10^{-5}$  M (vermelho) e uma solução com a mistura dos dois (azul); pH=8.

## Resultados

---



**Figura 3. 59** Espectro de emissão de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M (preta); de uma solução de 2 - aminopiridina  $1 \times 10^{-5}$  M (azul) e uma solução com a mistura dos dois (vermelha), pH=8,  $\lambda_{exc} = 325$  nm

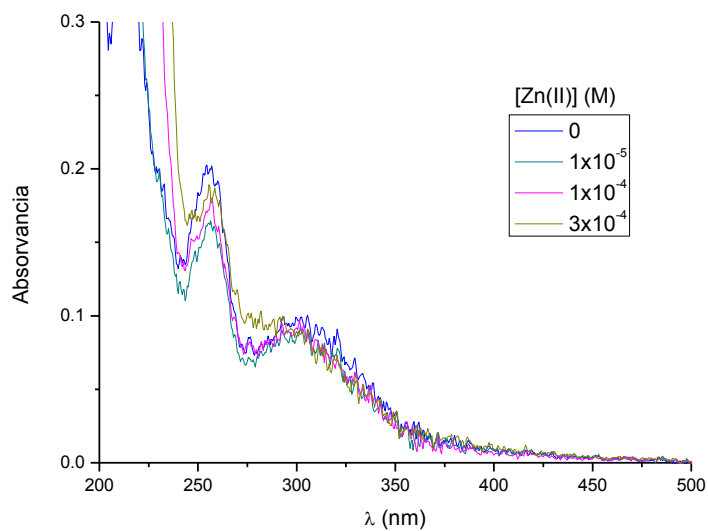
Com a adição do nitrato de zinco, mantém-se o mesmo espectro de absorção com máximo a 300 nm (figura 3.60), e na emissão (figura 3.61) há um decréscimo de intensidade à medida que é adicionado o metal.

O mesmo acontece, no espectro de absorção da 2-aminopiridina sem o salicilaldeído com a adição de zinco (figura 3.62) absorve na zona dos 300 nm, e na emissão (figura 3.62) nas duas primeiras concentrações há um aumento na intensidade, mas depois há um decréscimo constante na intensidade.

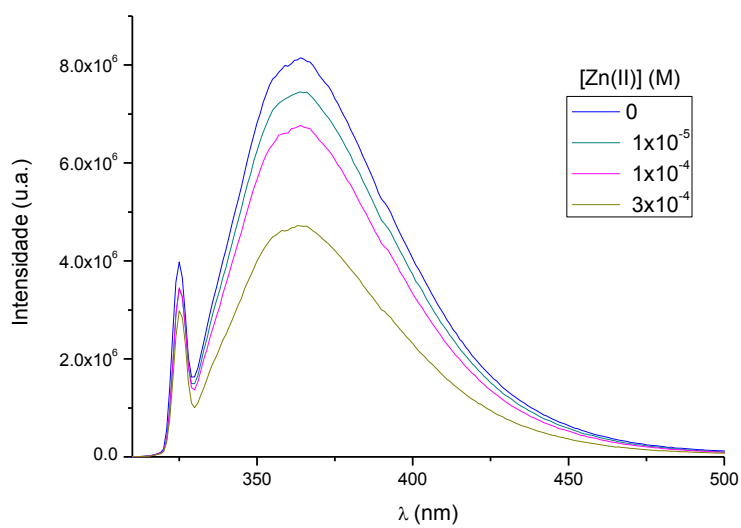
O facto das soluções da 2-aminopiridina na presença ou ausência do salicilaldeído darem resultados idênticos sugere que não há formação significativa da base de Schiff, e os resultados são dominados pela 2-aminopiridina, que tem uma emissão muito forte. Foram feitos estudos variando o pH de 6 para 8, mas não houve alterações nos resultados.

Na secção a seguir apresentamos resultados sobre a interacção entre Zn(II) e 2-aminopiridina.

## Resultados



**Figura 3. 60** Espectros de absorção de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M com 2-aminopiridina  $1 \times 10^{-2}$  M variando a concentração de nitrato de zinco



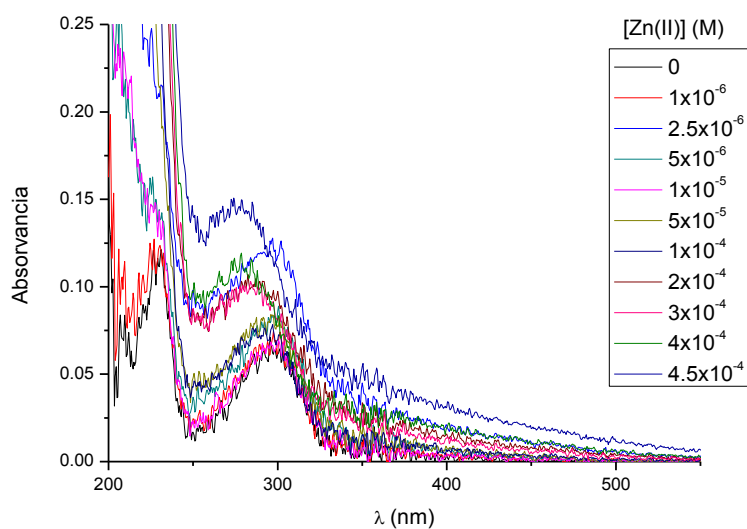
**Figura 3. 61** Espectros de emissão de uma solução de salicilaldeído  $1 \times 10^{-5}$  M, 2-aminopiridina  $1 \times 10^{-2}$  M variando a concentração de nitrato de zinco,  $\lambda_{exc} = 325$  nm

### 3.7.1.1. Interacção entre 2-Aminopiridina e Zn(II)

Para finalizar o nosso estudo com esta amina, que já observamos não haver formação significativa de base de Schiff, fomos estudar a interacção da amina com a adição do metal, sem a presença do aldeído.

Na observação do espectro de absorção (figura 3.62), verificamos que à medida que se adiciona maiores concentrações de zinco, há um deslocamento no comprimento de onda para valores inferiores, o que sugere o aparecimento de uma nova espécie.

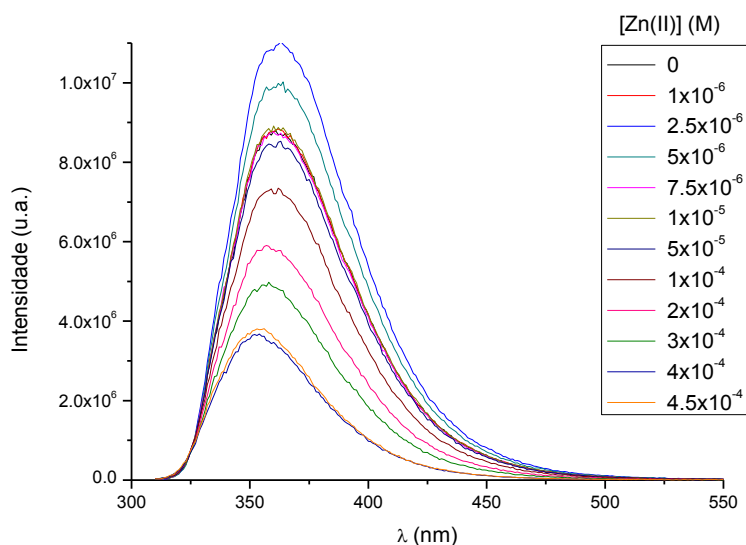
No espectro de emissão (figura 3.63), verificamos que na segunda adição da concentração do nitrato de zinco (banda azul) há um aumento de intensidade, que depois começa a descer até chegar ao ponto inicial, continuando depois a descer, não havendo deslocamento no comprimento de onda.



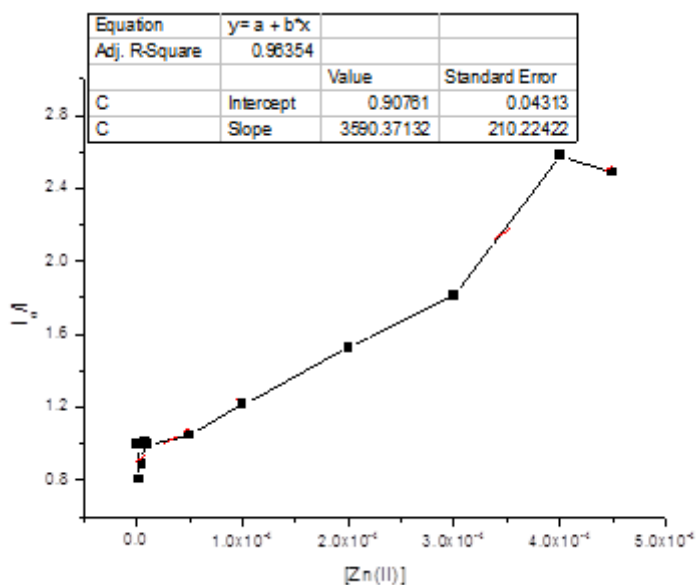
**Figura 3. 62** Espectros de absorção da 2-aminopiridina com a adição de concentrações de nitrato de zinco.



## Resultados



**Figura 3. 63** Espectro de emissão da 2-aminopiridina com a adição de concentrações de nitrato de zinco,  $\lambda_{exc}$  =300 nm.

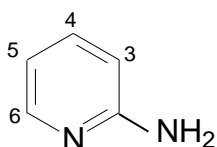


**Figura 3. 64** Gráfico de Stern- Volmer.

Pelo gráfico da fig. 3.64 verifica-se que para concentrações mais baixas de nitrato de zinco ocorre um aumento de intensidade, para concentrações mais elevadas de zinco a intensidade vai descendo, o que justifica a observação feita pelo espectro da figura 3.60, que a 2-aminopiridina não forma complexo com o nitrato de zinco.

### 3.7.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$

A 2-aminopiridina representada na figura 3.65 apresenta dois locais para ligação e coordenação com o zinco. Analisando a 2-aminopiridina pela técnica da espectroscopia de RMN, comprovamos o que já havia sido visto na fluorescência, não há formação de novos sinais, a indicar a formação de um complexo e as interações são fracas.



**Figura 3. 65** Estrutura da 2-aminopiridina.

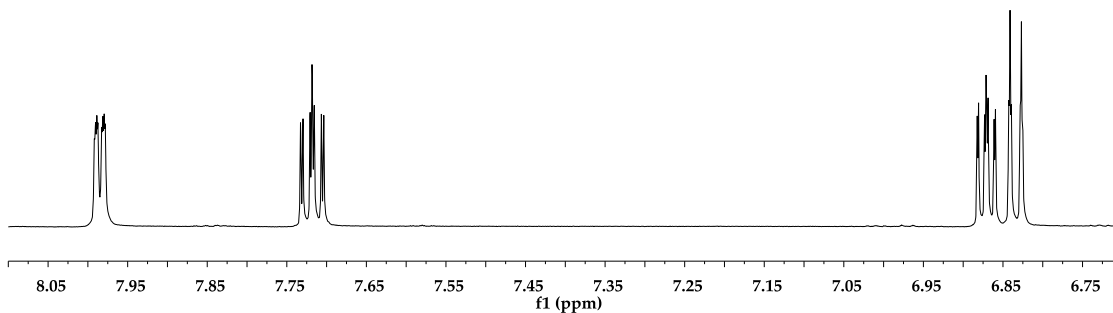
No espectro de RMN  $^1\text{H}$ , observamos quatro sinais. Os sinais com desvios químicos de 7.7 ppm e 8 ppm situam-se região característica dos prótons, sugerindo assim a presença de um composto aromático di-substituído. Os outros dois picos a desvio químico 6.8 ppm e 6.9 ppm apresentam um duplete e um terceto, respectivamente.

Com a adição de zinco, não há aparecimento de novos sinais, mas sim um alargamento dos sinais, passando, na zona dos 6.8, de um duplete e terceto a um multiplete. A interação entre a 2-aminopiridina e o zinco é fraca.

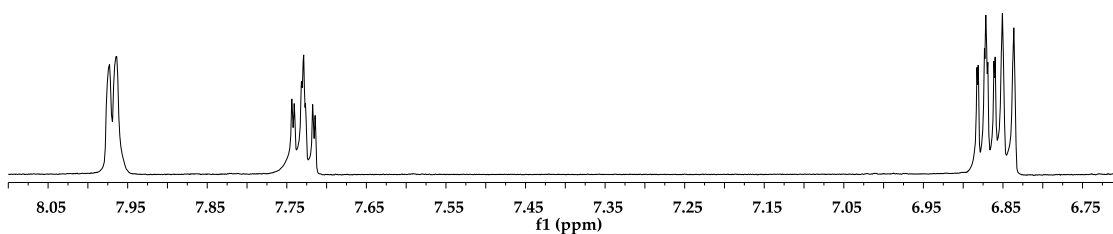
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  comprova-se o que já se tinha analisado, o aumento de intensidade dos sinais é relativamente pequena, tendo uma interação muito fraca.

## Resultados

1H\_2\_aminopiridina\_20mM\_pH\_7\_30\_ID\_20110611\_01  
Std proton

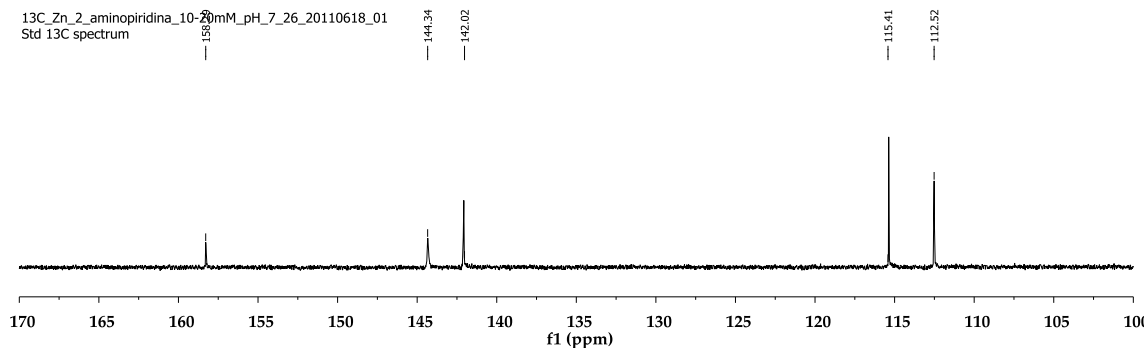


1H\_Zn\_2\_aminopiridina\_10-20mM\_pH\_7\_26\_20110617\_01  
Std proton

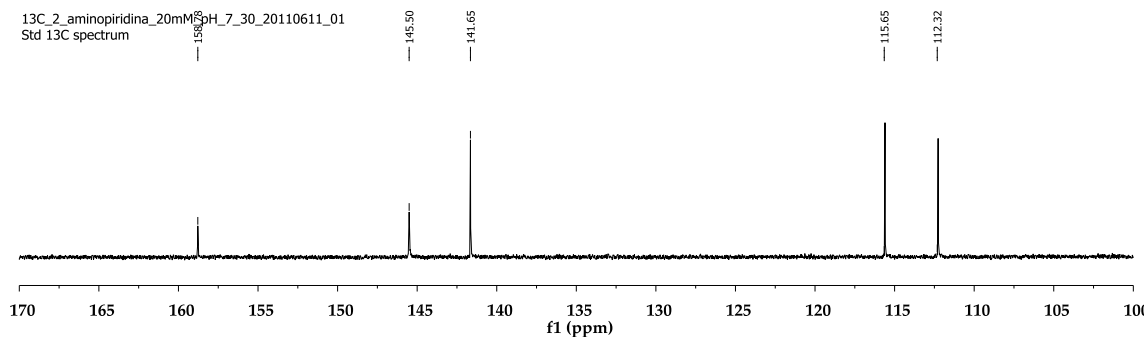


**Figura 3. 66** Espectros de RMN <sup>1</sup>H de uma solução de 2-aminopiridina livre e com a adição de nitrato de zinco.

13C\_Zn\_2\_aminopiridina\_10-20mM\_pH\_7\_26\_20110618\_01  
Std 13C spectrum



13C\_2\_aminopiridina\_20mM\_pH\_7\_30\_20110611\_01  
Std 13C spectrum

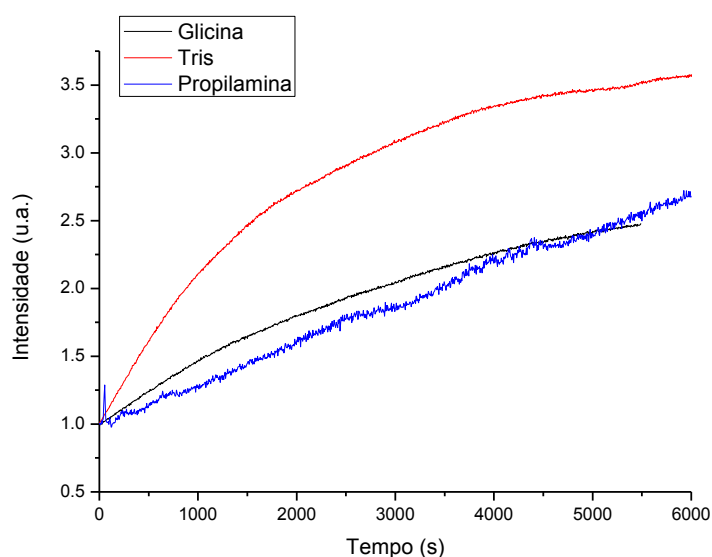


**Figura 3. 67** Espectros de RMN <sup>13</sup>C de uma solução de 2-aminopiridina livre e com a adição de nitrato de zinco.

## Resultados

### 3.8. Comparação das cinéticas de formação das bases de Schiff

As aminas glicína, tris e propilamina têm cinéticas idênticas como podemos observar na figura 3.68, ou seja, são muito morosas a atingir a estabilidade, o que não facilita o nosso estudo para a formação do complexo. As aminas com a cinética mais rápida, que atingem rapidamente a estabilidade, tendo uma cinética constante são a etanolamina e a etilenodiamina, que parecem ser os melhores sistemas de bases de Schiff para a detecção e quantificação de zinco e outros metais pesados em soluções aquosas



**Figura 3. 68** Comparação das cinéticas de formação de base de Schiff da glicína, tris e propilamina.

**Tabela 3. 7** Tabela com as constantes de velocidade da glicína, o tris e a propilamina.

Constante de velocidade (k) s <sup>-1</sup>	
Glicína	2.63x10 <sup>-4</sup>
Tris	4.89x10 <sup>-4</sup>
Propilamina	2x10 <sup>-4</sup>

### 4. Discussão

Neste trabalho tentamos desenvolver um método utilizando bases de Schiff fluorescentes para detectar e quantificar o zinco(II) e outros metais em solução aquosa. Baseado num artigo na literatura, <sup>25</sup> começamos com a base de Schiff formada pela reacção entre a glicína e salicilaldeído. O complexo com zinco é fluorescente, e foi caracterizado por RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, que indicam uma estrutura envolvendo o ligando coordenado numa forma tridentada. A formação do complexo resulta num aumento da fluorescência, indicando que o sistema pode ser utilizado na análise de zinco. Infelizmente, a cinética de formação do complexo foi relativamente lenta, que limita a aplicação prática. Para obter um melhor sistema, estudamos a série de aminas:

$\text{RNH}_2$  (R =  $-\text{O}_2\text{CCH}_2-$ ,  $(\text{HOCH}_2)_3\text{C}-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2-$ ,  $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2-$ )

para ver se existia um sistema que mostrasse as mesmas diferenças nos espectros de fluorescência na presença do zinco, mas com uma cinética de formação do complexo mais rápida.

Interligando o estudo da glicína, fomos percebendo que o tris usado como solução tampão também formava base de Schiff com o salicilaldeído. Tal como a glicína o complexo com zinco é fluorescente, e foi caracterizado por RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, que indicam uma estrutura envolvendo o ligando coordenado numa forma tridentada. A formação do complexo resulta num aumento da fluorescência, tal como acontecia na glicína, indicando que o sistema pode ser utilizado na análise de zinco, mas tem a desvantagem de ter uma cinética lenta, que demora muito tempo a tornar a reacção estável.

No seguimento do nosso estudo, ainda com sistemas com a limitação da cinética, tentámos a propilamina que funciona como referência à glicína e ao tris, pois o complexo que forma é bidentado. A propilamina forma base de Schiff com o salicilaldeído, e o complexo com zinco também é fluorescente, e foi caracterizado por RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, deslocando o comprimento de onda para valores mais baixos, apontando o sistema como possível para a análise de zinco. Mais uma vez, com o estudo da cinética percebemos que é relativamente lenta.

## Discussão

**Tabela 3. 8** Intensidades de fluorescência dos metais com as diferentes bases de Schiff, e respectivos comprimentos de onda de absorção e de emissão.

Salicilaldeído etanolamina 1:1	Metal	Intensidade			
		Zinco	23x10 <sup>5</sup>		
Salen 2:1	Metais	Intensidades			
	Zinco	11x10 <sup>5</sup>			
	Cádmio	3x10 <sup>5</sup>			
	Mercúrio	4x10 <sup>5</sup>			
λ Absorção	Metais	nm	Metais	Intensidades	
	Zinco	325	Salicilaldeído Etilenodiamina 1:1	Zinco	10x10 <sup>5</sup>
	Cádmio	325		Cádmio	3x10 <sup>5</sup>
	Mercúrio	325			

No estudo da etanolamina verificou-se que tem um máximo de intensidade de emissão em 23x10<sup>5</sup>, que é superior ao sistema com a etilenodiamina, como mostra a tabela 3.8. Com o espectro da cinética aferimos que ao contrário dos sistemas anteriores, tem uma cinética rápida. Foi caracterizado por RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e poderia ser uma boa amina para um estudo próximo.

A formação da base de Schiff em solução aquosa entre o salicilaldeído e a etilenodiamina, estequiometria 1:1 é interessante, pois quando é adicionado o metal há formação de um complexo, em que há um aumento de fluorescência na ordem de 10x10<sup>5</sup> para o zinco, e uma intensidade mais baixa cerca de 3x10<sup>5</sup> para o cádmio, sempre que é adicionada uma maior concentração de zinco, o que podemos concluir que este sistema será útil para a detecção do zinco e cádmio.

Quando estudamos a base de Schiff entre a etilenodiamina e o salicilaldeído previamente sintetizada em etanol, o Salen de estequiometria 1:2, respectivamente, e o comprimento de onda de emissão na zona dos 460 nm, verificamos que o nosso estudo é selectivo, ou seja, para o caso do zinco, os resultados são semelhantes ao estudado anteriormente, mas para o caso do cádmio e do mercúrio, verificamos que não há aumento de fluorescência, nem desvio no comprimento de onda, não havendo complexação. Este facto, pode ser explicado pela dependência do salen em relação ao tamanho dos metais.

A tentativa da formação da base de Schiff entre o salicilaldeído e a 2-aminopiridina foi ineficaz, pois a 2-aminopiridina é um sensor fluorescente e não forma base de Schiff com salicilaldeído em água.

## Discussão

---

Mas a 2-aminopiridina pode ser útil como sonda fluorescente dos metais pesados porque forma livre, um complexo com o zinco.

### 5. Conclusões

Estudos de bases de Schiff formadas em soluções aquosas entre salicilaldeído e várias aminas mostram o potencial a ser usado para detectar e quantificar zinco em soluções aquosas. Os estudos iniciais utilizaram a glicína, e há um aumento da intensidade de fluorescência e um desvio no máximo no espectro de emissão na formação da base de Schiff. Infelizmente a cinética da reacção é relativamente lenta, o que limita a aplicação em termos analíticos.

Foi estudada a reacção com uma série de aminas, que mostrou que é possível manter a sensibilidade do método e aumentar a velocidade da reacção, em particular nos casos da etanolamina e etilenodiamina, que parecem ser os melhores sistemas de bases de Schiff para a detecção e quantificação de zinco e outros metais pesados em soluções aquosas.

Em alguns casos, foi possível caracterizar as reacções e os complexos formados utilizando espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . O complexo da base de Schiff com propilamina tem o ligando ligado ao metal numa forma bidentada. Nos outros casos, o ligando é tridentado no complexo. Esta diferença pode influenciar a estabilidade.

O caso da etilenodiamina é interessante porque é possível sintetizar um complexo 2:1 (salicilaldeído:glicína, Salen) e comparar o comportamento da complexação com o metal com o complexo 1:1 formado em solução. Para os metais do Grupo 12, o complexo com Salen mostra uma selectividade para  $\text{Zn(II)}$ , mas a base de Schiff formada em solução também complexa  $\text{Cd(II)}$ . Os estudos de fluorescência desses complexos podem ser utilizados para distinguir esses iões em solução.

Este trabalho tem como objectivo mostrar o potencial de bases de Schiff como sondas fluorescentes para iões metálicos em solução. Trabalhos futuros devem concentrar-se na optimização das condições de formação dos complexos, em particular no caso de etanolamina, e podem envolver a síntese prévia da base de Schiff.

Além disso, pode-se aplicar o método a outros metais pesados de interesse forense e ambiental, em particular  $\text{Hg(II)}$  e  $\text{Pb(II)}$ .

O trabalho também mostrou que 2-aminopiridina pode ser um sensor fluorescente para iões metálicos. Seria interessante e importante estudar a fluorescência deste ligando com vários iões metálicos em solução.



# BIBLIOGRAFIA

1. Daktemieks, D., "Zinc and cadmium", *Coord. Chem. Rev.*, 78,125 (1987)
2. Weng, Ying, Chen, Zilin; Wang, Fang; Xue, Lin and Jiang, Hua, "High sensitive determination of zinc with novel water-soluble small molecular fluorescent sensor", *Anal. Chim.Acta*, **2009**, 647,215-218
3. Lin, S.H.; Juang,R.S. Heavy metal removal from water by sorption using surfactant-modified montmorillonite. *Journal of Hazardous Materials*,v.92, p.315-326, **2002**
4. Dunnick,J.K.;Elwell,M.R.; Radowsky,A.E.; Benson,J.M.; Hahn,F.F.; Barr,E.B.; Hobbs,C.H. Comparative carcinogenic effects of nickel subsulfide, nickel oxide, or nickel hexahydrate chronic exposures in the lug. *Cancer Research*, v55, p. 5251-5256, **1995**
5. Abo-Farha,S.A.; Abdel-Aal, A. Y.; Ashour I.A.; Garamon S. E. Removal of some heavy metal cations by synthetic resin purolite C100. *Journal of Hazardous Materials*, v169, p.190-194, **2009**
6. Sung, Y.H.; Huang, S.D. On-line preconcentration system coupled to electrothermal atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination o bismuth, cadmium and lead in urine. *Chimica Acta*, v 49, p.165-176, **2003**
7. Waalkes,M.P. Cadmium Carcinogenesis in review. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v.79, p. 241-244, **2000**
8. Inaba,T.; Kobayashi,E.; Suwazono,Y; Uetani,M; Oishi,M; Nakagawa, H.; Nogawa, K. Estimation of cumulative cadmium intake causing Itai-Itai disease. *Toxicology Letters*,v.159, p. 192-201, **2005**
9. Frausto da Silva, J.J.R. , Williams, R.P.J. ,*The Biological Chemistry of the elements*, Clarendon, **1991**
10. *Metalloproteins- Chemical Properties and Biological Effects*, S. Otsuka, T. Yamanaka, Eds., Elsevier, Cap 9, 1988
11. Jorge Manuel Torres Pereira; *Fundamentos de electronic*, cap.1 –Semicondutores, Texto Editora, **2010**
12. Underwood, E.J., *Trace Elements in Human and animal nutrition*. Academic Press, inc. 4<sup>a</sup> ed, New York, cap 3 e 8 , **1977**
13. Andrighetto *et al.*, *Nutrição Animal*. Vol 1. As bases e os fundamentos da nutrição animal- Os alimentos Livraria Nobel, **1981**
14. Murphy, L.S. and Walsh, L.M., *Correction of micronutrients deficiencies with fertilizers*, in *Micronutrientes in Agriculture*. Soil Science Society of America, Inc.Madison, Wisconsin,USA, **1972**

## Bibliografia

---

15. Bailar, J.C. e tal, *Comprehensive Inorganic Chemistry*, vol. 3, Pergamon Press Ltd., New York, p. 1-78 e 187-253, **1973**
16. Cotton, F.A. and Wilkinson, G, *Química Inorganica Avanzada*, Editorial Limusa, Mexico, p631-642 e 924-939, **1980**
17. IUPAC- International Union Pure and applied chemistry (online) disponível na internet via [WWW.URL:http://www.iupac.org/goldbook/102957.pdf](http://www.iupac.org/goldbook/102957.pdf). Atualização em **1999**
18. Collison, S.R. & Fenton, D.E., *Metal Complexes of biracchial Schiff base macrocycles*. *Coord. Chem. Rev.*, 148,19, **1996**
19. Cotton, F.A. & Wilkinson,G. *Advanced Inorganic Chemistry*. 5<sup>a</sup> ed. New York: John Wiley and Sons,**1988**
20. Patai, S., *The chemistry of the carbon-nitrogen double bond*. London: Interscience Plublishers, London **1970**
21. Ernst, R. R., Bodenhausen, G., Wokaun, A., *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One And Two Dimensions*, Clarendon, Oxford (**1987**)
22. Sakiyan,I.; Logoglu,E., Arslan, S., Sari,N., Sakiyan, N. *BioMetals*. **2004**, 17,115
23. MacDonald, L.G.; Brown, D.H. Morris, J.H.; Smitch, W. E. *Inorg. Chim, Acta*. **1982**, 67, 7
24. Chohan, Z. H.; Arif,M; Akhtar,M.A.; Supuran,C.T. *Bioinorg. Chem. Appl.*, **2006**,1
25. D. Hopgood and D. L. Leussing; *Kinetic and Equilibrium Studies of Formation of N-Salicylideneglycinato Complexes. The Promnasticl Effect of the Divalent Ions of Magnesium, Manganese, Zinc, Cadmium, and Lead*; *J. Am. Chem. Soc.* 1969, 91, 3740.
26. P.Faller and C.Hureau, “*Bionorganic chemistry of copper and zinx ions coordinated to amiloid  $\beta$  peptide*”, *Dalton Trans* **2009**, 1080-1094
27. Suada I. Ahmed , John Burgess , John Fawcett , Simon A. Parsons , David R. Russell, Stuart H. Laurie; *The structures of bis-maltolato-zinc(II) and of bis-3-hydroxy-1,2-dimethyl-4-pyridinonato–zinc(II) and –lead(II)*; Received 10 August 1999; accepted 28 October **1999**
28. Gil, Victor M.S. e Geraldles, Carlos F.G.C., *Ressonância Magnética Nuclear-Fundamentos, Métodos e Aplicações*, Fundação Calouste Gulbenkian, **1987**
29. Hornak, Joseph P., “*The Basis of NMR*”
30. Shoolery, James N., “*A Basic Guide to NMR*”, Stan ´s Library, **2008**
31. Gonçalves, M.L.S.S., *Métodos Instrumentais para Análise de soluções*, 3<sup>o</sup>Edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **1986**
32. Owen, T., *Fundamentals of UV-visible spectroscopy*, Hewlett-Packard, **1996**
33. Joseph R. Lakowicz; Springer; *Principles of fluorescence spectroscopy*; 2nd edition (June 30, **1999**).

## Bibliografia

---

34. Valeur, B. Molecular Fluorescence: Principles and Applications; Wiley- VCH Verlag GmbH, **2001**
35. Vogel, A.R., Mendham, J.; Denney, R.C.; Barnes, J.D., Thomas, M. Analise Química Quantitativa, 6ª edição, Editora LTC, **2002**
36. Burgess, J. Metal ions in solution, Ellis Horwood, New York, **1978**
37. Baes, C.F.; Mesmer, R.E. The Hydrolysis of Cations ,Wiley, New York, **1976**
38. Melissa S. Meaney, Victoria L. Mcguffin; Luminescence -based methods for sensing and detection of explosives; 11 Dezembro de **2007**
39. Rivera-Utrilla,J.; Sanchez-Polo, M. Adorption of Cr(III)on ozonised activated carbon. Importance of CII cation interactions, Water Research, v. 37, p. 3335-3340, **2003**
40. Eaton, D.C. Laboratory Investigations in Organic chemistry; Macgraw-Hill Book Company: New York, **1989**
41. Levy, G.C. Topics in <sup>13</sup>C Spectroscopy, ed; Wiley-Interscience: New York
42. Levy, G.C.; Lichter,R.L; Nelson, G.L. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy; Wiley, **1980**
43. F.A. Cotton, G. Wilkinson, C.A. Murillo, M.Bochmann, Advanced Inorganic Chemistry, John Wiley, New York, **1999**, p.1303
44. Burress, C.N., Bodine, M.I., Elbjeirami, O., Reibenspies, J.H., Omary, M.A., Gabbai, F.P. Inorg. Chem. **2007**, 46, 1388-1395
45. Guggenheim, E. A. Phil. Mag. **1926**, 2, 538-543
46. Frost, A. A.; Pearson R. G. Kinetics and Mechanism, Wiley International Student Edition, John Wiley, New York, second edition, **1961**, pp. 49-50