

JAQUELINE NICOLINI

**DETECÇÃO DE ANALITOS NEUTROS E ANIÔNICOS ATRAVÉS DO USO DE
SENSORES CROMOGÊNICOS BASEADOS NA COMPETIÇÃO DE UMA
MEROCIANINA SOLVATOCRÔMICA E DO SUBSTRATO POR UMA UNIDADE
RECEPTORA**

Dissertação de Mestrado em Química
para obtenção do título de Mestre em
Química pela Universidade Regional de
Blumenau – FURB, Programa de Pós –
Graduação em Química – PPGQ.

Orientador: Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado

Co-orientador: Prof. Dr. Clodoaldo Machado

Blumenau

2006

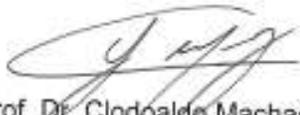
Folha de Aprovação

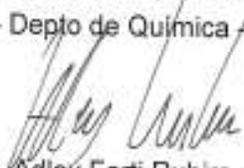
Jaqueline Nicolini

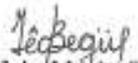
Detecção de Analitos Neutros e Aniônicos Através do Uso de Sensores Cromogênicos Baseados na Competição de uma Merocianina Solvatocrômica e do Substrato por uma Unidade Receptora

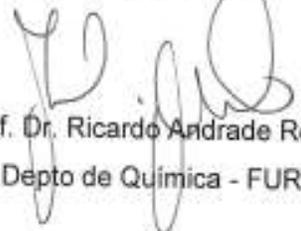
Dissertação aprovada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Físico-Química – Programa de Pós-Graduação em Química – PPGQ – Departamento de Química – Universidade Regional de Blumenau – FURB, pela banca:


Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Orientador – Depto de Química – FURB


Prof. Dr. Clodoaldo Machado
Co-Orientador – Depto de Química – FURB


Prof. Dr. Adley Forti Rubira
Depto de Química – Universidade Estadual de Maringá – UEM


Prof. Dra. Iêda Maria Begnini
Depto de Química – FURB


Prof. Dr. Ricardo Andrade Rebelo
Depto de Química - FURB

Blumenau, 2007

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho em especial a minha família – meus pais e irmão – que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando, confortando e incentivando, com palavras ou não. Porque muito mais que palavras, são gestos e atitudes Um sorriso amigo que conforta e fortalece permite que qualquer criatura encontre força e alegria. Sei que se não fosse minha família, eu não estaria hoje aqui, não estaria escrevendo estas linhas e não seria quem hoje sou.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que de uma forma ou de outra colaboraram para que esta dissertação pudesse ser concluída. É preciso agradecer a todos aqueles que souberam dizer um Bom Dia, ou um simples Olá sincero. É a sinceridade e a humildade que permitem que o som do agradecer seja ouvido, senão, se tornará apenas mais uma palavra, dita, ouvida e esquecida. Assim:

Agradeço primeiramente, e antes de tudo, a Deus, porque sei que é dele que nasce toda a força que nos dá a vida dia após dia, desde o nascer até o pôr-do-sol.

À FURB, à CAPES e ao CNPq pelo auxílio.

Aos meus colegas do laboratório G-004. Aos que lá trabalharam e aos que ainda trabalham, jamais esquecerei do sorriso amigo e sincero de todas as pessoas com quem lá convivi. Em especial a Fabíola e a Samya, pela amizade e pela colaboração em uma parte deste trabalho. Aos colegas de mestrado, que me ensinaram a ver o mundo de uma maneira um pouco diferente. Enfim, aos amigos que fiz, e que jamais esquecerei. Não preciso dizer quem são, pode ser que alguns nem saibam que eu os assim considero, mas, o dia em que preciso for, minha mão sempre estará estendida para os ajudar.

A minha família, meu pai Deonilo e minha amada mãe Elaine que sempre me apoiaram, e antes de tudo, tiveram e têm paciência, confiança e um grande amor por mim.

A todos os professores, que sempre de uma maneira ou de outra colaboraram para meu crescimento pessoal e profissional. Ao professor Jurgen pela colaboração com material para a pesquisa. E em especial:

Ao meu co-orientador, professor Clodoaldo Machado, pela prestimosa ajuda, por seu conhecimento e amizade.

E ao meu orientador, professor Vanderlei Gageiro Machado, que em nenhum momento me deixou desamparada durante a pesquisa. Pela sua humildade e amizade, pelas demonstrações de bom senso e discernimento. Obrigada.

E por fim, mas por ser a pessoa a quem mais tenho a agradecer, meu irmão Keller. Ele que por muitas vezes teve paciência para conversar comigo, para me ouvir, me fazendo discutir e encontrar as palavras certas, a decidir sobre as atitudes certas nos momentos certos. Ao meu querido irmão, pelo carinho, amizade, acolhida, amor, confiança e, principalmente, pela sua sinceridade, meu Muito Obrigada.

“Não sei o que possa parecer diante do mundo, mas tenho a impressão de haver sido um menino, jogando na praia e divertindo-me, de vez em quando encontrando uma pedra mais suave ou uma concha mais bonita que o normal, enquanto o grande oceano da verdade encontrava-se diante de mim por descobrir”.

Isaac Newton

"Em um gelado dia de inverno, um grupo de porcos-espinhos aglomerou-se o mais estreitamente que pôde a fim de se resguardar do enregelamento por seu calor recíproco. Mas logo começaram a sentir os mútuos espinhos e voltaram a apartar-se. Quando a necessidade de se aquecerem tornou a aproximá-los, repetiu-se de novo o incômodo, de tal modo que viram atirados para cá e para lá entre estes dois tipos de sofrimento, até que descobriram uma distância moderada que lhes era suportável".

Assim, a necessidade de convívio, nascida do vazio e da monotonia em seu âmbito, impele os homens a estarem juntos; mas as suas numerosas qualidades revoltantes e seus numerosos defeitos insuportáveis voltam a separá-los. A distância média que acabam descobrindo e que torna a coexistência possível são a polidez e os bons costumes. Na verdade, isso permite apenas uma satisfação imperfeita da necessidade de nos acalantar-mos uns aos outros, mas também livra a pessoa de sentir o agulhão dos espinhos. Porém, aquele que possui muito calor próprio interno, preferirá evitar convívio social, a fim de não produzir nem sofrer incômodo.

O nascimento da tragédia ou Helenismo e Pessimismo – Friedrich Nietzsche

(Parábola encontrada em: Parerga e Pralipomena – Schopenhauer, vol. II, parágrafo

396)

RESUMO

Este trabalho apresenta o desenvolvimento de sensores cromogênicos para espécies neutras e aniônicas, através da interação uma merocianina solvatocrômica (merocianina de Brooker, MB) com diferentes receptores (α -, β -, γ -, hidroxipropil- β , metil- β -ciclodextrina e ácido fenil borônico). A interação não covalente de ciclodextrinas (CDs) com a MB permite o desenvolvimento de sensores cromogênicos fundamentados na competição da MB e do analito pelo sítio receptor da CD. Uma outra estratégia estudada faz uso do fato de que ácidos borônicos podem interagir covalentemente com diferentes nucleófilos para a montagem de um sensor cromogênico aniônico. A pesquisa foi desenvolvida em três etapas, sendo que na primeira etapa foi realizado um estudo sobre a interação de diferentes CDs em solução tamponada (pH 10,55) com a MB, onde foi possível observar deslocamento batocrômico da banda solvatocrômica e formação de complexos de associação entre a MB e as CDs testadas, com exceção da γ -CD. Na segunda etapa do trabalho estudou-se o sistema CD:MB para o desenvolvimento de um sensor cromogênico para analitos neutros em β - e metil- β -CD, verificando-se que em meio tamponado (pH 10,55) a associação entre as espécies não apresentou resultados satisfatórios, pela alta polaridade do meio, o que dificulta a substituição da MB, no interior lipofílico da CD, pelos substratos neutros. No entanto, em solução não tamponada os resultados obtidos apresentam nas constantes de associação valores satisfatórios, o que implica na substituição do indicador pelos substratos testados: fenol, tolueno, benzeno e álcool benzílico. Por fim, na última etapa deste trabalho, foi estudada a interação de um ácido borônico com a MB em solução, e o seu uso no desenvolvimento de sensor cromogênico aniônico. Os resultados demonstraram que o método é seletivo e sensível para fluoreto. Todos os resultados foram obtidos através do método analítico espectrofotométrico e tratados matematicamente por meio de ajuste não linear.

Palavras-chave:

merocianina de Brooker, complexo de associação, ciclodextrinas, ácidos borônicos, sensores cromogênicos, detecção visual.

ABSTRACT

This work presents the development of chromogenic sensors for neutral and anionic species, which through of the interaction of a solvatochromic merocyanine (Brooker's merocyanine, MB) with different receptors (α -, β -, γ -, hydroxypropyl- β -, methyl- β -cyclodextrins and phenylboronic acid). The non-covalent interaction of cyclodextrins (CDs) with MB allows the development of chromogenic sensors based on the competition of MB and the analyte by the receptor site of the CD. Another strategy studied makes use of the fact that boronic acids can covalently interact with different nucleophiles for the assembly of an anion chromogenic sensor. The research was developed in three stages, and in the first stage a study was accomplished about the interaction among different CDs in buffered solution (pH 10.55) with MB, where bathochromic shifts of the solvatochromic band of MB and formation of association complexes between MB and the CDs were verified, except for the γ -CD. In the second stage of the work the system CD:MB was studied for the development of a chromogenic sensor for neutral analytes in β - and methyl- β -CD, being verified that in buffered solution (pH 10.55) the association among the species didn't present satisfactory results, because of the high polarity of the medium, that hinders the substitution of MB, in the hydrophobic cavity of the CD, for the neutral species. However, in unbuffered solution the replacement of MB by the other substrate in the cavity of the CD has occurred and constants of association were obtained with satisfactory values, implicating in the substitution of the indicator for the analytes tested: phenol, toluene, benzene and benzyl alcohol. Finally, in the last stage of this work, the interaction of a boronic acid with MB in solution, was studied, as well as its use in the development of an anion chromogenic sensor. The results demonstrated that the method is selective and sensitive for fluoride. All data were obtained through the spectrophotometric analytical method and fitted by means of nonlinear regression.

Key-words:

Brooker's merocyanine, association complexes, cyclodextrins, boronic acids, solvatochromic probes, chromogenic sensors, naked eye detection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Influência do aumento da polaridade do meio sobre a excitação eletrônica em uma molécula apresentando solvatocromismo negativo	19
Figura 2: Resumo dos níveis eletrônicos de energia	20
Figura 3: (a) Corante de Reichardt; (b) Merocianina de Brooker; (c) Corante de Kosower.....	21
Figura 4: Forma genérica de um corante solvatocrômico.....	21
Figura 5: Alguns receptores químicos	24
Figura 6: Ligação glicosídica α -1,4 em CDs.....	25
Figura 7: Formato e dimensões das CDs	26
Figura 8: Representação de sensor colorimétrico baseado na competição de um corante e um analito por um receptor.....	35
Figura 9. Procedimento dos testes experimentais envolvendo a interação da MB com as CDs ou com AB.....	44
Figura 10. Procedimento dos testes experimentais envolvendo os estudos dos ensaios de competição	44
Figura 11: Variações do λ_{\max} da banda solvatocrômica da merocianina de Brooker ($1,0 \times 10^{-5}$ mol dm ⁻³) em solução aquosa contendo adições crescentes das concentrações α -CD (♦), β -CD (▼), γ -CD (▲), metil- β -CD (•), e HP- β -CD (■) a 25°C.	50
Figura 12: Espectros de UV-vis a 25°C para MB (1×10^{-5} mol.dm ⁻³) em solução aquosa (pH 10,55) contendo α -CD em concentrações de: (a) zero, (b) $1,04 \times 10^{-3}$ mol.dm ⁻³ , (c) $1,90 \times 10^{-3}$ mol.dm ⁻³ , (d) $3,80 \times 10^{-3}$ mol.dm ⁻³ e (e) $8,80 \times 10^{-3}$ mol.dm ⁻³	52
Figura 13: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante em solução aquosa com adições crescentes de α -CD. A concentração do corante foi de	

$1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ e as absorvâncias foram coletadas em 443,6nm. (–) Curva ajustada com a equação 1. 53

Figura 14: Espectros de UV-vis a 25°C para MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,55) contendo β -CD em concentrações de: (a) zero, (b) $1,45 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $2,85 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $1,71 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $3,29 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (f) $4,55 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (g) $5,72 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$ 54

Figura 15: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante em solução aquosa com adições crescentes de β -CD. A concentração do corante foi de $1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ e as absorvâncias foram coletadas em 443,6 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1. 55

Figura 16: Espectros de UV-vis a 25°C para MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,55) contendo γ -CD em concentrações de: (a) zero, (b) $7,4 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $9,2 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $2,1 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $2,7 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (f) $3,1 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$ 56

Figura 17: Espectros de UV-vis a 25°C para MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,55) contendo HP- β -CD em concentrações de : (a) zero, (b) $3,92 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $1,13 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $2,76 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $5,71 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (f) $1,28 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$ 57

Figura 18: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante em solução aquosa com adições crescentes de HP- β -CD. A concentração do corante foi de $1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ e as absorvâncias foram coletadas em 444, 0 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1. 58

Figura 19: Espectros de UV-vis a 25°C para MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,55) contendo metil- β -CD em concentrações de: (a) zero; (b) $5,94 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $1,17 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $3,72 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $9,26 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (f) $1,51 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, (g) $1,77 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (h) $2,34 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$ 59

Figura 20: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante em solução aquosa com adições crescentes de Me- β -CD. A concentração do corante foi de $1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ e as absorvâncias foram coletadas em 443,6 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1. 59

Figura 21: Espectro de UV-vis a 25°C de solução de MB ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,0; meio não tamponado) contendo metil- β -CD em concentrações de (a) zero, (b) $1,15 \times 10^{-3}$, (c) $2,22 \times 10^{-3}$, (d) $7,10 \times 10^{-3}$ e (e) $1,80 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ 60

Figura 22: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica da MB em solução aquosa (pH=10,0; sem tampão) com a adição de quantidades crescentes metil- β -CD. A concentração do corante foi de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ e as absorvâncias foram coletadas em 443,9 nm. (–) Curva ajustada com a Equação 1. 61

Figura 23: Uso da interação CD:MB para montar um sensor colorimétrico para analitos neutros. 63

Figura 24: Espectros de UV-vis para a MB a 25 °C (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em β -CD ($7,05 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³) com adições de fenol em solução aquosa (pH 10,55) em concentrações: (a) zero, (b) $1,06 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³, (c) $2,08 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³, (d) $4,91 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³, (e) $9,00 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³, (f) 0,253 mol.dm⁻³, (g) 0,332 mol.dm⁻³ e (h) 0,369 mol.dm⁻³..... 65

Figura 25: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica da MB complexada à β -CD em solução aquosa (pH 10,55) com adições crescentes de fenol. A concentração do corante foi de 1×10^{-5} mol.dm⁻³ e as absorvâncias foram coletadas em 455, 0 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1..... 66

Figura 26: Espectros de UV-vis para a MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) a 25°C em solução de Me- β -CD ($3,00 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³) com adições de fenol em solução aquosa (pH 10,55) em concentrações: (a) zero, (b) $9,62 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³, (c) $5,47 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³, (d) $8,85 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³, (e) $1,25 \times 10^{-1}$ mol.dm⁻³, (f) $1,72 \times 10^{-1}$ mol.dm⁻³ e (g) $1,87 \times 10^{-1}$ mol.dm⁻³..... 67

Figura 27: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica da MB complexada à Me- β -CD em solução aquosa (pH 10,55) com adições crescentes de fenol. A concentração do corante foi de 1×10^{-5} mol.dm⁻³ e as absorvâncias foram coletadas em 456, 0 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1..... 67

Figura 28: Espectros de UV-vis da MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em água em presença de Me- β -CD com adições sucessivas de fenol em água em concentrações de (a) zero, (b) $4,7 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³, (c) $1,4 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³, (d) $2,4 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³, (e) $2,8 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³ e (f) $4,7 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³..... 69

Figura 29: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em solução aquosa contendo Me- β -CD (3×10^{-2} mol.dm⁻³) com adições crescentes de fenol. As absorvâncias foram coletadas em 469,3 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1..... 70

Figura 30: Espectros de UV-vis da MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em água na presença de β -CD com adições sucessivas de fenol em água em concentrações de (a) zero, (b) $5,0 \times 10^{-6}$ mol.dm⁻³, (c) $1,5 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³, (d) $2,4 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³, (e) $2,9 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³, (f) $4,3 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³, (g) $4,8 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³ e (h) $8,3 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³..... 71

Figura 31: Variação das absorvâncias para a banda solvatocrômica do corante MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em solução aquosa com adições crescentes de fenol. As absorvâncias foram coletadas em 455,9 nm e os dados experimentais foram ajustados com a equação 1..... 71

Figura 32: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em solução aquosa com adições crescentes de benzeno. As absorvâncias foram coletadas em 456, nm..... 75

Figura 33: Espectro UV-vis da (a) MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em água em presença de β -CD com adições sucessivas de tolueno em água em concentrações de (b) zero; (c) $9,9 \times 10^{-6}$ mol.dm⁻³; (d) $2,4 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³; (e) $5,7 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³; (f) $6,1 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³; (g) $7,8 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³; (h) $8,3 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³; (i) $8,1 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³..... 76

Figura 34: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa com adições crescentes de tolueno. As absorvâncias foram coletadas em 455,9 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1. 76

Figura 35: Espectro UV-vis da MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em água em presença de β -CD com adições sucessivas de álcool benzílico em água em concentrações de (a) zero; (b) $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$; (c) $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (d) $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (e) $4,3 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (f) $6,5 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (g) $1,1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ 77

Figura 36: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa com adições crescentes de álcool benzílico. As absorvâncias foram coletadas em 455,9 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1..... 78

Figura 37: Espectro UV-vis da MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em água em presença de Me- β -CD com adições sucessivas de tolueno em água em concentrações de (a) zero; (b) $3,4 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$; (c) $2,7 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (d) $3,8 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (e) $4,9 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (f) $6,4 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (g) $7,41 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (h) $8,42 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ 79

Figura 38: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa com adições crescentes de tolueno. As absorvâncias foram coletadas em 469,3 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1. 79

Figura 39: Espectro UV-vis da MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em água em presença de Me- β -CD com adições sucessivas de benzeno em água em concentrações de (a) zero; (b) $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$; (c) $1,2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (d) $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (e) $2,3 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (f) $3,1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (g) $4,2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (h) $5,7 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (i) $7,4 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ 80

Figura 40: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa com adições crescentes de benzeno. As absorvâncias foram coletadas em 469,3 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1. 80

Figura 41: Colorações de soluções aquosas apresentando: (a) tampão (pH 10,55; $I=0,216 \text{ mol/dm}^3$); (b) tampão com MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$); (c) tampão com MB e Me- β -CD (igual coloração para MB em meio não tamponado com Me- β -CD); (d) MB em meio não tamponado com Me- β -CD e fenol adicionado; (e) MB+ solução tampão+ Me- β -CD+fenol. 82

Figura 42: Montagem de um sensor cromogênico para fluoreto baseado em um intermediário AB-MB formado a partir da interação de AB com MB em acetonitrila. 84

Figura 43: Espectros de UV-vis a 25°C para a MB ($2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em acetonitrila contendo AB à 25 °C em concentrações de: (a) zero; (b) $1,2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $6,2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $1,1 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $1,5 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (f) $1,7 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (g) $2,4 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ 86

- Figura 44:** Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica de MB em acetonitrila com adições crescentes de AB. A concentração do corante foi de 2×10^{-5} mol.dm⁻³ e as absorvâncias foram coletadas em 571, 0 nm. 86
- Figura 45:** Razão entre as concentrações de MB adicionada (de zero a $1,21 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³) pela concentração de AB mantida constante (1×10^{-5} mol.dm⁻³). 88
- Figura 46:** Espectros de UV-vis em solução de acetonitrila de (a) MB, (b) AB-MB em presença de (c) F⁻, (d) Cl⁻, (e) Br⁻, (f) I⁻, (g) H₂PO₄⁻, (h) HSO₄⁻, e (i) NO₃⁻ como sais de tetrabutílamônio em concentrações de $1,0 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³. As concentrações de MB e AB foram $1,0 \times 10^{-5}$ e $2,78 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³, respectivamente. 89
- Figura 47:** Teste de detecção visual para ânions em acetonitrila (da esquerda para a direita): MB, MB-AB (1×10^{-5} mol.dm⁻³ : $2,78 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³, respectivamente), MB-AB+F⁻, MB-AB+Cl⁻, MB-AB+Br⁻, MB-AB+I⁻, MB-AB+HPO₄⁻, MB-AB+HSO₄⁻ e MB-AB+NO₃⁻. A concentração de todos os sais de tetrabutílamônio adicionados foi igual a 1×10^{-4} mol.dm⁻³. 90
- Figura 48:** Espectros de UV-vis a 25°C para MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em acetonitrila inicialmente contendo ácido fenil borônico com adição de fluoreto em concentrações de : (a) zero; (b) $1,5 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³, (c) $2,90 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³; (d) $5,2 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³; (e) $8,2 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³. 91
- Figura 49:** Variação da absorvância em 571,0 nm pelo aparecimento da MB em acetonitrila originado da solução contendo AB-MB com adições crescentes de fluoreto de tetrabutílamônio. O experimento foi realizado a 25 °C e as concentrações de MB e AB foram de 1×10^{-5} e $2,78 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³. 92
- Figura 50:** Soluções de acetonitrila apresentando: (1) (a) acetonitrila; (b) acetonitrila+MB; (c) acetonitrila+MB+AB; (d) acetonitrila+MB+AB+F⁻ (concentração do F⁻ = 1×10^{-4} mol.dm⁻³); (2) (a) acetonitrila; (b) acetonitrila+MB; (c) acetonitrila+MB+CO₂; (d) acetonitrila+MB+CO₂+F⁻ (concentração do F⁻ = 3×10^{-4} mol.dm⁻³). Em ambos os testes, as concentrações de MB e AB utilizadas foram, respectivamente, de 1×10^{-5} e $2,78 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³. 93
- Figura 51:** Teste de protonação de MB em solução aquosa ($1,0 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³) em atmosfera de N₂ na presença de metil-β-CD. Adições máximas das concentrações de: (a) metil-β-CD (3×10^{-2} mol.dm⁻³); (b) benzeno ($7,4 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³); (c) álcool benzílico ($2,2 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³); (d) fenol ($9,4 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³); (e) tolueno ($1,0 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³). 109
- Figura 52:** Teste de protonação de MB em solução aquosa ($1,0 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³) em atmosfera de N₂ na presença de β-CD. Adições máximas das concentrações de: (a) β-CD ($7,05 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³); (b) fenol ($8,7 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³); (c) tolueno ($1,2 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³); (d) benzeno ($8,3 \times 10^{-5}$ mol.dm⁻³); (e) álcool benzílico ($1,1 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³). 110

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Constantes de associação para os complexos de inclusão da merocianina de Brooker com CDs a 25°C em solução aquosa 51
- Tabela 2:** Constantes de associação para os complexos de inclusão de fenol em β -CDs a 25°C em solução aquosa..... 72
- Tabela 3:** Constantes de associação para os complexos de inclusão de tolueno e álcool benzílico em β -CD a 25°C em solução aquosa 74
- Tabela 4:** Constantes de associação para os complexos de inclusão de tolueno e benzeno em metil- β -CD a 25°C em solução aquosa 74

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

α -CD = alfa-ciclodextrina

β -CD = beta-ciclodextrina

γ -CD = gama-ciclodextrina

Me- β -CD = metil-beta-ciclodextrina

HP- β -CD = hidroxipropil-beta-ciclodextrina

sd = desvio padrão

r^2 = coeficiente de correlação

χ^2 = chi-square (xis quadrado)

UV-vis = região do ultravioleta visível (400 a 800 nm)

UV = região do ultravioleta não visível (200 a 400 nm)

nm = nanômetros (1×10^{-9} m)

MB = merocianina de Brooker

Abs = absorbância

ΔA = variação da absorbância

AB = ácido fenil borônico

TEF = transferência eletrônica fotoinduzida

TEE = transferência eletrônica de energia

DC = dicroísmo circular

HOMO = orbital molecular ocupado de maior energia (highest occupied molecular orbital)

LUMO = orbital molecular desocupado de menor energia (lowest unoccupied molecular orbital)

$\Delta E_{T(1)}$ = variação da energia de transição 1

$\Delta E_{T(2)}$ = variação da energia de transição 2

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	17
1.1 SENSORES SOLVATOCRÔMICOS	18
1.2 RECEPTORES QUÍMICOS	22
1.2.1 Ciclodextrinas	24
1.2.2.1 Propriedades das CDs	25
1.2.2.2 Detecção de Compostos Orgânicos Neutros Utilizando CDs Como Unidade Receptora	28
1.2.2 Ácidos Borônicos	29
1.3 SENSORES CROMOGÊNICOS E FLUOROGÊNICOS	30
1.3.1 Sensores Fluorogênicos e Fluorescentes	30
1.3.2 Sensores Cromogênicos	33
1.3.3 Sensores Fundamentados em Ensaio de Competição	35
1.4 OBJETIVOS	37
1.4.1 Objetivo Geral	37
1.4.2 Objetivos Específicos	37
1.5 JUSTIFICATIVA	38
2 PARTE EXPERIMENTAL	42
2.1 REAGENTES	42
2.2 MÉTODOS	43
2.2.1 Estudo da interação da MB com diferentes CDs em solução aquosa	45
2.2.1 Determinação de sensor colorimétrico para analitos neutros utilizando β- e metil-β-CDs em solução aquosa	45
2.2.3 Desenvolvimento de sensor cromogênico aniônico através de ensaios de competição da MB e do ânion pelo receptor ácido fenil borônico	46
2.3 MEDIDAS DAS CONSTANTES DE ASSOCIAÇÃO	46
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
3.1 INTERAÇÕES DA MEROCIANINA DE BROOKER COM DIFERENTES CDS EM SOLUÇÃO AQUOSA	49
3.1.1 Interação da MB com α-CD em Solução Aquosa Tamponada	51
3.1.2 Interação da Merocianina de Brooker com β-CD	53
3.1.3 Interação da Merocianina de Brooker com γ-CD	55
3.1.4 Interação da merocianina de Brooker com HP-β-CD	56
3.1.5 Interação da MB com metil-β-CD	58

3.1.6 Interações entre metil- β -CD em meio não tamponado	60
3.1.7 Considerações sobre a interação da MB com as CDs analisadas	61
3.2 UM SENSOR CROMOGÊNICO PARA ANALITOS FUNDAMENTADO EM ENSAIOS DE COMPETIÇÃO DA MEROCIANINA DE BROOKER E DO ANALITO PELA CAVIDADE DE β - E METIL- β -CICLODEXTRINAS	62
3.2.1 Estudos do Efeito da Adição de Fenol ao Complexo Formado pela Merocianina de Brooker e a CD (β -CD e Metil- β -CD) em Solução Tamponada (pH 10,55)	64
3.2.2 Estudos do efeito da adição de tolueno, benzeno e álcool benzílico ao complexo formado pela merocianina de Brooker e a CD (β -CD e Metil- β -CD) em solução não tamponada (pH 10,0).....	73
3.2.3 Sobre a utilização do sistema MB:CD para a determinação de constantes de associação de CDs com substratos neutros voláteis e para a montagem de sensores cromogênicos para analitos neutros	81
3.3 UM SENSOR CROMOGÊNICO ANIÔNICO SELETIVO PARA FLUORETO BASEADO NA INTERAÇÃO DO ÁCIDO FENIL BORÔNICO COM A MEROCIANINA DE BROOKER.....	79
3.3.1 Interação da Merocianina de Brooker com o Ácido Fenil Borônico	85
3.3.2 Desenvolvimento de Sensor Cromogênico Aniônico	88
4 CONCLUSÃO	94
5 REFERÊNCIAS	97
APÊNDICES.....	106

1 INTRODUÇÃO

Com o avanço da química supramolecular, o reconhecimento de espécies químicas e o estudo de certos grupos que são capazes de permitir a detecção visual de ânions e de espécies neutras em diferentes processos tornaram-se de grande interesse. Neste caso, o processo de ligação é sinalizado por uma resposta óptica, isto é, por uma mudança de coloração do meio. Os receptores planejados especificamente com a função de fornecer uma resposta visual são geralmente chamados de quimiossensores, ou sensores químicos (MARTÍNEZ-MÁÑEZ, 2003; SUKSAI, 2003; MOHR, 2004). Os receptores químicos são desenvolvidos para reconhecer e identificar através de ligações de hidrogênio, interações íon-íon, efeitos hidrofóbicos, interações entre metal e ligante, ligações covalentes ou ainda combinações entre estes tipos de interações (PLANTE, 2006).

Os ânions representam um papel fundamental na grande cadeia de processos químicos e biológicos. Assim, numerosos esforços têm sido dedicados para o desenvolvimento de receptores e sensores para espécies aniônicas (MARTÍNEZ-MÁÑEZ, 2003; SUKSAI, 2003), bem como para espécies catiônicas (ATAMAN, 2002; KAUR, 2006), neutras (MOHR, 2004; BUDAG, 2006; WHITE, 2006) e solventes misturados (BASTOS, 2006; CAVALLI, 2006).

Muitos sensores químicos apresentam mudanças de coloração (sensores cromogênicos) ou de fluorescência (sensores fluorogênicos) (LEE, 2006). Os sensores cromogênicos geralmente consistem de duas partes: um grupo receptor e um grupo cromóforo. O grupo receptor consiste na unidade de reconhecimento molecular. O grupo cromóforo é o responsável pelo fenômeno do reconhecimento por meio de sinal óptico (SUKSAI, 2003).

Com isso, mudanças nas propriedades ópticas devidas à deslocalização eletrônica no interior da molécula do corante ou à transferência eletrônica podem

levar à detecção de diferentes substratos. A partir disso, reações químicas reversíveis, como método de detecção de analitos, vêm sendo investigadas e também desenvolvidas, e os resultados destas investigações ajustam-se às práticas de sensibilidade e seletividade requeridas (SUKSAI, 2003; MOHR, 2004).

Neste trabalho, serão abordadas duas estratégias de reconhecimento e monitoramento de espécies químicas (analitos neutros e aniônicos), que envolvem (1) o uso de ciclodextrinas (CDs) como receptores versáteis capazes de identificar espécies eletricamente neutras em solução aquosa em meio tamponado e sem o controle de pH e (2) o uso de um ácido borônico como espécie capaz de realizar ligação covalente reversível, permitindo assim a detecção visual de ânions, bem como a identificação seletiva de fluoreto. A fim de que se possam compreender melhor estes processos de reconhecimento dos analitos, faz-se conveniente uma breve visita às subseções que vêm a seguir, tratando do fenômeno de solvatocromismo, da formação de complexos de inclusão com o uso de CDs como moléculas receptoras e de complexos de associação entre ácido borônico e ânions e de metodologias para a determinação das constantes de equilíbrio obtidas.

1.1 SENSORES SOLVATOCRÔMICOS

Um dos métodos mais extensivamente utilizados na química de soluções consiste na utilização de compostos ou sensores solvatocrômicos para o estudo do efeito do solvente em nível microscópico-molecular. Estes compostos apresentam mudanças pronunciadas na posição (e algumas vezes na intensidade) de uma banda de absorção no UV-vis quando a polaridade do meio é alterada e este fenômeno recebe a denominação de *solvatocromismo* (MACHADO, 1996, SILVA, 2002).

As mudanças na posição da banda de absorção podem ser classificadas em dois tipos: mudança hipsocrômica, que ocorre com a diminuição da polaridade do solvente, sendo relacionada ao *solvatocromismo negativo*, e a mudança batocrômica, que ocorre com o aumento da polaridade do solvente e recebe a denominação de *solvatocromismo positivo* (REICHARDT, 1988; RUNSER, 1995; MACHADO, 1996; MACHADO, 2001).

Assim, o solvatocromismo é causado por diferenças de solvatação dos estados fundamental e excitado da luz absorvida pela molécula (isto é, pela presença de um grupo cromóforo): se, com o aumento da polaridade do solvente, a molécula apresentar maior estabilidade pela solvatação do estado fundamental do que pela solvatação do estado excitado, é observado o solvatocromismo negativo (Figura 1). No caso da melhor estabilização da molécula ocorrer no estado excitado do que no estado fundamental, devido ao aumento da polaridade do solvente, ocorrerá o chamado solvatocromismo positivo (REICHARDT, 1994).

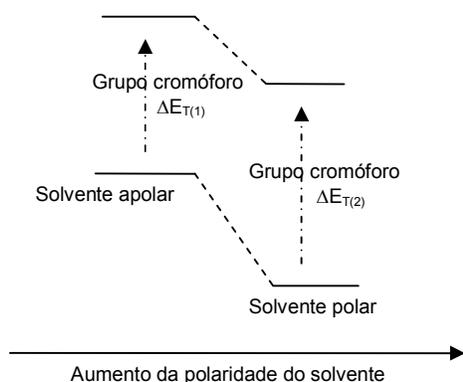


Figura 1: Influência do aumento da polaridade do meio sobre a excitação eletrônica em uma molécula apresentando solvatocromismo negativo

Os efeitos observados nas bandas de absorção são dependentes primeiramente dos grupos cromóforos e da natureza da transição (absorção de transferência de carga, $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$), o que pode ser representado pela Figura 2. Os grupos *cromóforos* são grupos insaturados covalentemente, sendo responsáveis pela absorção eletrônica (por exemplo, C=C, C=O ou NO₂) (REICHARDT, 1988; SILVERSTEIN, 1997).

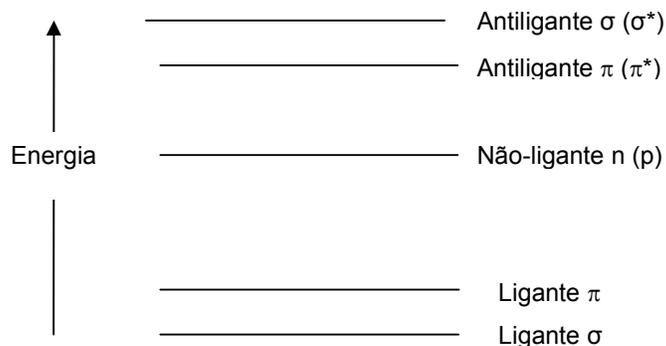


Figura 2: Resumo dos níveis eletrônicos de energia

Os corantes cianínicos apresentam grande interesse e na sua maioria apresentam dois átomos de nitrogênio, sendo um deles carregado positivamente e se encontrando ligado a uma cadeia conjugada. Geralmente estes corantes apresentam geometria trans na sua forma mais estável e ocasionalmente podem sofrer fotoisomerização (MISHRA, 2000).

As cianinas são substâncias com uma grande variedade de cores dependendo do meio em que se encontram, sendo descoloridas pelo efeito da luz (fotólise) ou em meio ácido. Estes corantes apresentam uma grande mudança no momento dipolar devido à excitação eletrônica tanto nas formas zwitteriônica quanto quinoidal (MISHRA, 2000).

O comportamento solvatocrômico das merocianinas foi observado em pesquisas independentes por Brooker (BROOKER, 1951) e Kiprianov (KIPRIANOV, 1947). Entre as merocianinas, a betaína 4-[(1-metil-4(1H)-piridinilideno)etilideno]-2,5-cicloexadien-1-ona, conhecida como *merocianina de Brooker*, apresenta (a) grande solvatocromismo negativo com mudanças maiores de 6500 cm^{-1} ($\lambda_{\text{max}} = 620\text{ nm}$ em clorofórmio, 442 nm em água e 605 nm em piridina); (b) grande hiperpolarizabilidade de segunda ordem, que é útil em propriedades não lineares; (c) reação fotoquímica e/ou fotolítica cíclica, que pode ser usada como um modelo químico para armazenamento e conseqüente regeneração de informações presentes em sistemas biológicos e sua conseqüente caracterização; (d) uso em diagnósticos e em agentes terapêuticos (MISHRA, 2000).

As investigações físico-químicas da polaridade do meio podem ser realizadas com o uso de sondas solvatocrômicas (REICHARDT, 1994). Como

exemplo de sondas solvatocrômicas relevantes merecem ser citadas o corante de Reichardt (2,6-difenil-4-(2,4,6-trifenil-1-piridínio)fenolato), a merocianina de Brooker e o corante de Kosower (iodeto de 1-metil-etoxicarbonilpiridínio). A Figura 3 apresenta a estrutura destes corantes apontando os grupos doadores e aceptores de elétrons em cada um deles.

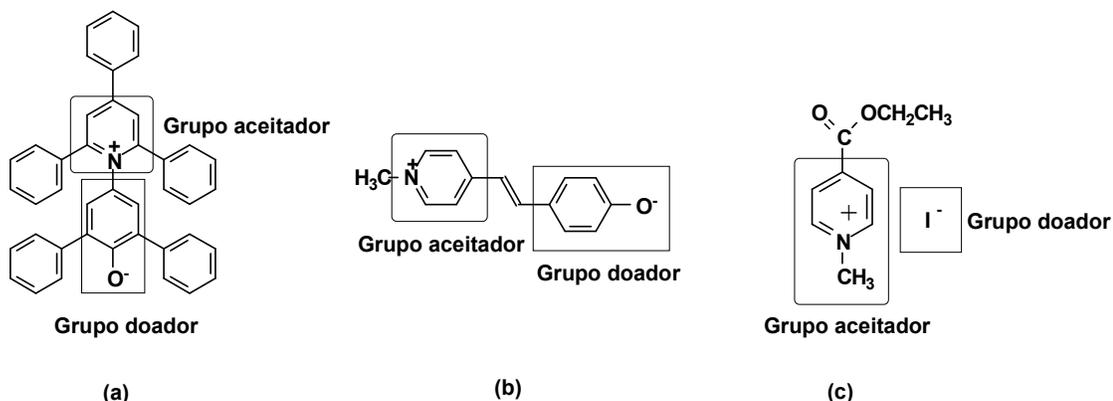


Figura 3: (a) Corante de Reichardt; (b) Merocianina de Brooker; (c) Corante de Kosower

Assim, os corantes são caracterizados pela presença de um grupo doador de elétrons que se liga a um grupo aceitador de elétrons, separados por uma ponte que pode ou não ser conjugada, como apresentado na Figura 4.

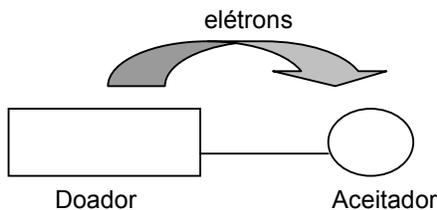


Figura 4: Forma genérica de um corante solvatocrômico

Estudos recentes têm sugerido fortemente que um dos principais fatores que contribuem para a grande mudança solvatocrômica observada com os corantes citados acima são as interações do tipo ligações de hidrogênio entre o átomo de

oxigênio da merocianina e o solvente, que estabilizam a forma zwitteriônica. (MORLEY, 1997, LEVINE, 1978).

As merocianinas podem ser usadas como unidades cromofóricas para o reconhecimento cromogênico e fluorogênico de espécies químicas, bem como para a identificação de espécies catiônicas (AMENDOLA, 2001; MALVAL, 2001), aniônicas (GOKEL, 2004) e neutras (MOHR, 2004). As merocianinas têm sido usadas no estudo de soluções salinas (MACHADO, 1999), misturas de solventes (SILVA, 2002; BUDAG, 2006; CAVALLI, 2006) e soluções contendo CDs (VENTURINI, 2005).

A construção de sensores e receptores moleculares seletivos tem atraído cada vez mais atenção devido às inúmeras possibilidades de aplicação, dentre as quais se encontra a identificação de espécies químicas (ATAMAN, 2002).

1.2 RECEPTORES QUÍMICOS

A química presente nos sistemas vivos ocorre principalmente em meio aquoso, desde espécies simples e pequenas como alguns sais inorgânicos até moléculas complexas e com alta massa molecular. A química supramolecular, que surgiu em 1967 com os trabalhos pioneiros de Pedersen envolvendo os éteres-coroa, permite atualmente uma porção de explicações para os fenômenos que ocorrem na natureza, sendo que um dos aspectos centrais de sua investigação tem sido o desenvolvimento de novos compostos para inclusão e a síntese de receptores (KUBIK, 2005).

Os poliéteres obtidos por Pedersen, na década de 1960, representaram uma nova classe de agentes complexantes capazes de ligar-se a cátions de metais alcalinos. O desafio era o desenvolvimento de um agente complexante neutro, e compostos semelhantes eram altamente desejáveis (GOKEL, 2004). Nascia assim a química supramolecular, um termo cunhado por Lehn para inicialmente descrever a química das interações do tipo receptor-substrato por meio de ligações não covalentes (LEHN, 1988).

Pouco depois, ainda na década de 1960, Simmons nos Estados Unidos e Lehn na França reconheceram a capacidade complexante dos heteromacrociclos.

Simmons usou dois átomos de nitrogênio como pontos de ligação para três cadeias carbônicas. Já os compostos planejados por Lehn e Sauvage usavam dois átomos de nitrogênio como âncora ou átomos pivôs, mas a conexão era através de unidades de óxidos de etileno (LEHN, 1988; GOKEL, 2004). Esta nova abordagem levou ao desenvolvimento da química dos agentes criptantes, os quais apresentam habilidade complexante muito superior à dos éteres-coroa (LEHN, 1995).

A formação de complexos de inclusão entre pequenos compostos orgânicos e CDs tem provado ser um excelente modelo para o estudo da natureza das ligações não covalentes em solução aquosa (EFTINK, 1989). Estas macromoléculas podem encapsular uma grande variedade de compostos devido ao efeito hidrofóbico proporcionado por sua cavidade interna (SZEJTLI, 1998; PONCHEL, 2004). Esta excelente propriedade tem sido utilizada na indústria farmacêutica (TAKAHASHI, 1998), alimentícia, cosmética e têxtil (HASHIMOTO, 2002) e tem encontrado aplicações nos campos da catálise (PONCHEL, 2004), da química ambiental (VILLAVARDE, 2004), dos sensores químicos e da separação enantiomérica (ALI, 2006).

A construção de sensores moleculares seletivos tem atraído cada vez mais atenção dos grupos de pesquisa no desenvolvimento de sensores cromogênicos e/ou fluorogênicos nos últimos tempos. As moléculas de interesse, tais como CDs e éteres-coroa, geralmente possuem a característica de formar complexos com substratos carregados ou eletricamente neutros (ATAMAN, 2002). As macromoléculas orgânicas normalmente apresentam capacidade de realizar fortes ligações com espécies químicas através de ligações de hidrogênio (JI, 2005).

A fim de se ter uma visão geral sobre os receptores químicos, merecem ser listadas algumas espécies, tais como o poliéter cíclico 18-coroa-6, que foi obtido por Pedersen em 1967 (GOKEL, 2004), o agente criptante poliamina macrotríciclo esférico, conhecido como ligante “bola de futebol” (LEHN, 1988), as CDs naturais (α -, β -, γ -CD), descobertas por Villiers em 1891 (LI, 1992), os quais podem ser observados na Figura 5.

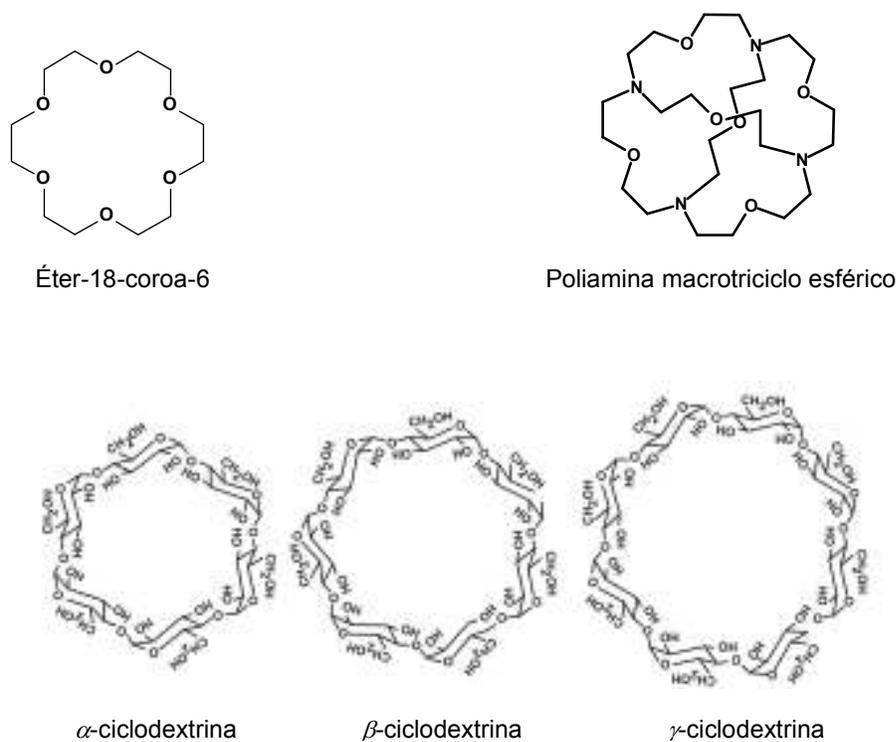


Figura 5: Alguns receptores químicos

1.2.1 Ciclodextrinas

As CDs são oligossacarídeos cíclicos, que consistem de unidades de α -D-glicopiranosose ligadas nas posições (α -1,4), com uma região interna que apresenta um microambiente lipofílico e uma região externa que apresenta hidroxilas ligadas, caracterizando uma superfície hidrofílica (CONNORS, 1997; LOFTSSON, 2001), formando uma espécie de cadeira (MARCH, 1992; LOFTSSON, 2001) e esta representação pode ser vista na Figura 6. As CDs podem formar complexos de inclusão em solução aquosa com uma grande variedade de compostos, sendo conhecidas pela capacidade em aumentar a solubilidade de fármacos lipofílicos em solução, sua estabilidade e sua biodisponibilidade (EL-BARGHOUTHI, 2005).

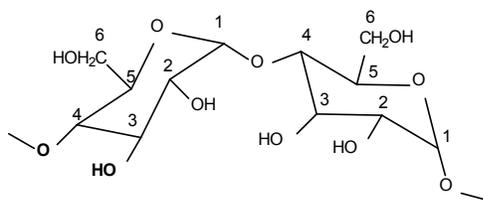


Figura 6: Ligação glicosídica α -1,4 em CDs.

As hidroxilas orientadas no exterior do cone das CDs representam hidroxilas primárias dos resíduos de glicose, sendo que na extremidade menor encontram-se hidroxilas primárias, enquanto na extremidade maior encontram-se hidroxilas secundárias. A cavidade central possui esqueleto de carbonos e oxigênios etéreos que dão um caráter lipofílico interno (LOFTSSON, 2001).

As CDs foram descobertas por Villiers em 1891, a partir da digestão do amido com *Bacillus amylobacter*, o qual denominou “celulosina”, por suas características semelhantes à celulose no que diz respeito à resistência à hidrólise ácida e porque não apresentavam propriedades de redução. Villiers determinou que a composição desta substância devesse ser $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$ e na forma cristalina ainda pôde observar que havia duas “celulosinas” distintas formadas provavelmente de α e β -CDs. Apesar do trabalho pioneiro de Villiers, as CDs foram primeiramente detalhadas por Schardinger em 1903, que descreveu o processo de preparação e isolamento das mesmas (LI, 1992).

1.2.2.1 Propriedades das CDs

As CDs de ocorrência natural α -, β - e γ -CDs e seus homólogos são moléculas semelhantes a um cone truncado com uma cavidade de aproximadamente 7,9 Å de profundidade. Os diâmetros das cavidades das CDs naturais mais comumente usadas são de 4,7 a 5,3 Å para a α -CD; 6,0 a 6,5 Å para a β -CD e 7,5 a 8,3 Å para a γ -CD, respectivamente (MARCH, 1992; CONNORS, 1997; HEDGES, 1998; REKHARSKY, 1998; LOFTSSON, 2001). A Figura 7 representa o diâmetro das cavidades das CDs naturais.

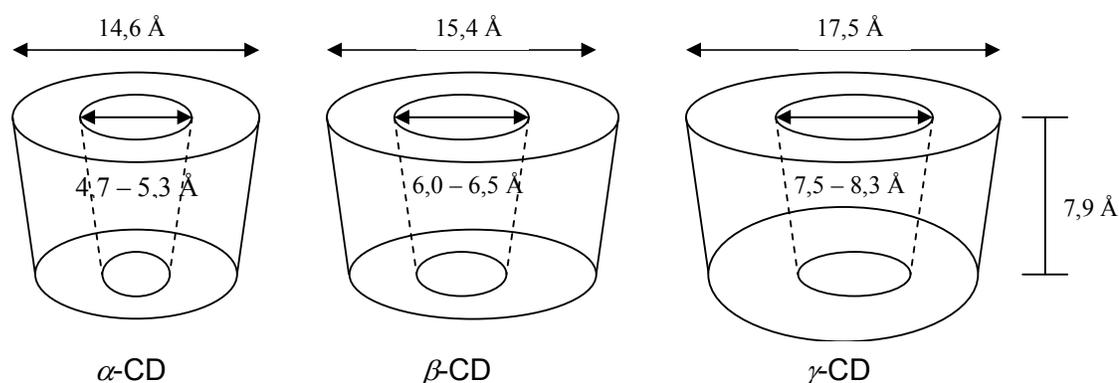


Figura 7: Formato e dimensões das CDs

As CDs naturais, em particular a β -CD, têm limitada solubilidade em água, e seus complexos com compostos lipofílicos frequentemente resultam em precipitados. Além disso, a β -CD realiza ligação de hidrogênio intramolecular entre os grupos hidroxila secundários, reduzindo assim o número de grupos hidroxilados capazes de formar ligação de hidrogênio com as moléculas de água vizinhas (SZEJTLI, 1998, LOFTSSON, 2001). A partir da tentativa de alterar ou melhorar a estrutura das CDs para a obtenção de complexos de inclusão com aplicações em diferentes áreas, tais como industrial, alimentícia e farmacêutica, surgiram as CDs modificadas.

As substituições das ligações de hidrogênio em função da posição e do ligante permitem ao produto obtido apresentar a característica de uma estrutura amorfa, o que contribui para o aumento da solubilidade em água quando comparada às CDs originais, isso devido a modificações nas propriedades físico-químicas (REKHARSKY, 1998). A solubilidade em água das CDs modificadas é aumentada pelas interações por ligações de hidrogênio que são realizadas com as moléculas vizinhas, podendo ser citadas as β -CDs metilada denominada metil- β -CD (Me- β -CD), e hidroxipropilada, denominada hidroxipropil- β -CD (HP- β -CD) (SZEJTLI, 1998, LOFTSSON, 2001).

As CDs naturais ou modificadas são quimicamente estáveis em soluções alcalinas aquosas, mas suscetíveis à hidrólise em ácidos fortes. No entanto, as CDs

são mais resistentes à hidrólise catalisada por ácidos em comparação com as dextrinas lineares e a hidrólise diminui com o decréscimo do tamanho da cavidade. (IRIE, 1997).

A complexação de moléculas incluídas por CDs, em solução aquosa, resulta em um rearranjo e remoção das moléculas de água originalmente solvatadas na CD e nos substratos incluídos. Este processo inclui a liberação de moléculas de água da cavidade da CD à solução. Os principais tipos de ligações intermoleculares envolvidas são interações de van der Waals, efeito hidrofóbico e efeitos estéreo (REKHARSKY, 1998).

A contribuição mais importante para a termodinâmica da complexação das CDs é para originar: (a) a inclusão da parte lipofílica da molécula incluída à cavidade da CD e (b) a desidratação destas moléculas (HALLÉN, 1992; ROSS, 1996; REKHARSKY, 1997). Isto implica que a CD possui uma cavidade altamente lipofílica, e a interação entre a parte lipofílica da molécula inclusa e a cavidade interna da CD em meio aquoso pode ser comparada a um efeito hidrofóbico típico (REKHARSKY, 1998).

Verifica-se então, que as CDs apresentam capacidade em formar complexos relativamente não específicos com uma grande variedade de substratos e a única condição fundamental é de que o substrato possa adaptar-se à cavidade da CD ainda que parcialmente. Devido a esta habilidade, estas macromoléculas vêm sendo utilizadas para investigação de interações não covalentes envolvendo diferentes compostos (TAKAHASHI, 1998).

De forma geral, o diâmetro das CDs, o qual prediz a alta estabilidade do complexo para o melhor ajuste geométrico e estéreo do substrato e do receptor, pode explicar a tendência geral da termodinâmica da complexação das CDs naturais. Devido aos fatos do diâmetro da cavidade da α -CD ser muito menor que o da β -CD e das forças de van der Waals serem criticamente dependentes da distância entre as moléculas, pode-se esperar que as forças induzidas pela complexação da cadeia estendida seja maior ($-\Delta H$) para a α -CD do que para a β -CD. Certamente, as interações de van der Waals são dependentes tanto do tamanho quanto da forma do substrato incluso (REKHARSKY, 1998).

As contribuições mais relevantes para a termodinâmica da complexação são originárias da entrada da parte hidrofóbica do substrato na cavidade da CD e da

quebra da estrutura da água em torno do substrato orgânico. Uma vez que a cavidade da CD é pronunciadamente lipofílica, a transferência da parte hidrofóbica do substrato, da água para a cavidade da CD, pode ser considerada como um processo típico de efeito hidrofóbico (REKHARSKY, 1997).

1.2.2.2 Detecção de Compostos Orgânicos Neutros Utilizando CDs Como Unidade Receptora

O interesse e o desenvolvimento de técnicas que utilizam CDs vem aumentando nos últimos anos. As razões para esse grande interesse em relação as CDs estão relacionadas com suas propriedades físico-químicas por serem moléculas orgânicas simples, capazes de formar complexos de inclusão com outras moléculas, servindo como excelentes modelos enzimáticos e por serem de fácil obtenção (LI, 1992).

O reconhecimento de espécies químicas envolvendo CDs naturais e/ou modificadas é de grande interesse na química supramolecular. A formação de complexos de inclusão é geralmente capaz de promover variações nas propriedades fotofísicas e fotoquímicas das moléculas inclusas. Várias forças intermoleculares fracas que ocorrem entre o receptor e o substrato, tais como dipolo-dipolo, van der Waals, efeito hidrofóbico, eletrostático e ligações de hidrogênio contribuem para o processo de reconhecimento molecular (FAN, 2005).

No campo da química ambiental, o desenvolvimento de técnicas envolvendo o uso de CDs têm atraído a atenção dos pesquisadores pela capacidade que apresentam em estabilizar e aumentar a solubilidade de diferentes analitos, que muitas vezes são os responsáveis por problemas ambientais graves (DUPUY, 2005).

Desde 1970, quando as propriedades e as características das CDs começaram a ser estudadas, vários métodos eletroanalíticos e sensores baseados na diferença de seletividade das CDs por substratos foram desenvolvidos, como, por exemplo, o mecanismo de transferência eletrônica e decomposição química dos intermediários redox a partir da voltametria cíclica e da eletroquímica (HROMADOVÁ, 2002).

A interpretação do mecanismo de decomposição dos pesticidas é um dos problemas ambientais mais importantes que buscam ser resolvidos. A interação de pesticidas com moléculas que apresentam nanocavidades pode contribuir para diminuir a contaminação do meio ambiente, sendo que o receptor pode assemelhar-se a moléculas bioativas, podendo modificar assim, o caminho da reação. Estudos eletroquímicos, espectrofotométricos e cromatográficos são capazes de interpretar os resultados obtidos (POSPÍSIL, 2002).

As CDs naturais (α -, β - e γ -CDs) são capazes de promover a inclusão catalítica que tem efeito sobre a degradação em pesticidas organofosforados solúveis em meio neutro. Dependendo do tamanho do sítio lipofílico das CDs a degradação dos pesticidas pode acontecer de forma mais ou menos acelerada (ISHIWATA, 1999).

Os pesticidas organofosforados quando lançados ao meio ambiente ficam expostos à luz solar. Essa exposição leva à fotólise, clivando a molécula do agroquímico, que em seguida libera os produtos da reação no ambiente. Os métodos espectroscópicos de dicroísmo circular, UV-vis e de cromatografia, como a cromatografia gasosa de massa (CG-MS) são capazes de identificar as substâncias resultantes da fotólise (KAMIYA, 1995).

Os compostos fenólicos são importantes poluentes das águas, merecendo atenção dos órgãos responsáveis pelo monitoramento e da legislação, devido a sua toxicidade mesmo à baixas concentrações. Estes compostos são geralmente determinados através de técnicas analíticas que identificam traços fenólicos por meio de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) ou cromatografia gasosa (CG). Dessa maneira, as CDs podem ser usadas como fase estacionária junto à sílica identificando os traços fenólicos da matriz aquosa utilizada (FARAJI, 2005).

1.2.2 Ácidos Borônicos

Compostos que apresentam o grupo funcional ácido borônico ($-B(OH)_2$) são conhecidos por formarem complexos com compostos que contenham dois grupos nucleofílicos adjacentes, sendo assim largamente usados no reconhecimento molecular de açúcares. Os ácidos borônicos têm sido explorados ainda no

desenvolvimento de sensores químicos por interagirem fortemente com os ânions fluoreto e cianeto. No desenvolvimento de sensores para vários analitos, o alvo de interesse encontra-se na disponibilidade em identificar espécies químicas, especialmente quando solúveis em água, capazes de alterar suas propriedades espectroscópicas dependendo do analito presente (WANG, 2005).

No desenvolvimento de compostos para o reconhecimento de carboidratos, os ácidos borônicos alcançam um lugar especial pela sua habilidade em formar complexos reversíveis com dióis, que geralmente são encontrados em carboidratos. Muitos pesquisadores têm desenvolvido técnicas na identificação por fluorescência de carboidratos com o uso destas espécies químicas (YANG, 2005).

Podemos citar como exemplo, a utilização dos ácidos borônicos baseados no sensor antracenofenilborato que foram sintetizados e imobilizados em fase sólida, permitindo o desenvolvimento de um sensor para glicose. O planejamento do sensor deve permitir o monitoramento da taxa de açúcar no sangue, auxiliando principalmente aquelas pessoas que apresentam diabetes (KAWANISHI, 2004).

1.3 SENSORES CROMOGÊNICOS E FLUOROGÊNICOS

A detecção de analitos eletricamente neutros através de sensores químicos e bioquímicos (MOHR, 2004), bem como a de espécies iônicas (SUKSAI, 2003) pode ser obtida pela associação de uma subunidade receptora, com função de reconhecer de forma seletiva o analito, a uma subunidade de sinalização que leva à detecção das espécies químicas reconhecidas devido à mudança de coloração do meio. Serão consideradas aqui subunidades capazes de causar variações espectroscópicas, o que traduz a coordenação ocorrida em nível molecular, por meio de mudanças ou na coloração ou na fluorescência (HE, 2005).

1.3.1 Sensores Fluorogênicos e Fluorescentes

A luminescência pode ser definida como uma emissão espontânea de radiação do estado excitado. Este fenômeno pode ser classificado como fluorescência quando a multiplicidade de spins é conservada e fosforescência quando envolve luminescência com mudança na multiplicidade dos spins. O que é observado em uma molécula fluorescente é que a absorção da luz em um dado comprimento de onda resulta em uma emissão de luz quase instantânea em um comprimento de onda maior (KUKHTA, 2006).

Sensores luminescentes e eletroluminescentes têm sido empregados no desenvolvimento de diodos orgânicos emissores de luz (OLEDs), que são dispositivos utilizados em múltiplas aplicações pela sua rápida resposta, alto brilho e eficiência. Assim, corantes luminescentes são usados como aditivos em matrizes poliméricas utilizadas para aumentar a condutividade e causar mudanças espectrais. A matriz polimérica permite, assim, aumento na fluorescência do material (KUKHTA, 2006).

A detecção visual da fluorescência, bem como sua extinção, pode ser explicada a partir dos conceitos da transferência de elétrons fotoinduzida (TEF) e da transferência eletrônica de energia (TEE). (MARTÍNEZ-MÁÑEZ, 2003). Na TEF, a espécie química a ser detectada pode induzir a extinção ou o aumento da emissão de fluorescência. O interesse sobre a TEF tem promovido o desenvolvimento de maneira a sintetizar sistemas doadores e aceitadores eletrônicos onde os centros redox são principalmente moléculas orgânicas ligadas a um suporte de polimetileno flexível ou suportes rígidos/semi-rígidos, baixando o custo de produção e aumentando a durabilidade (PAL, 2005).

A TEE pode ser observada quando um grupo molecular externo tem algum nível de energia vazio ou semi-preenchido, com possibilidade de ocorrência de troca simultânea de um par eletrônico nos orbitais HOMO e LUMO do fluoróforo (MARTÍNEZ-MÁÑEZ, 2003). A TEE como técnica da fluorescência atua como uma ferramenta poderosa para investigar a interação do receptor com o substrato apresentando alta sensibilidade e seletividade, que dependem das mudanças eletrônicas e estéricas do cromóforo e são responsáveis pela propriedade fluorescente (SCHÖNEFELD, 2006).

As diferentes interações moleculares podem resultar na extinção da fluorescência, incluindo reações no estado excitado, rearranjo molecular,

transferência de energia e formação de complexos no estado fundamental (ZHANG, 2006).

Também se verifica que uma grande quantidade de espécies cromofóricas e luminescentes derivadas do ácido borônico têm sido descritas para a detecção de dióis. Esta interação do ácido borônico com diferentes analitos pode ser utilizada para o desenvolvimento da TEF em sistemas sensoriais, ocorrendo entre o ácido borônico (ácido de Lewis) e o grupamento vizinho que atua como base de Lewis, fortalecendo a ligação com o analito. Observa-se que a molécula do indicador apresenta aumento da fluorescência através da supressão da TEF, do grupo ligante doador de elétrons para o fluoróforo ligado ao analito (MOHR, 2004).

A partir disso, observa-se um enorme interesse no desenvolvimento de um sensor para glicose, especialmente para o controle da diabete, baseado no uso do ácido borônico como unidade receptora. Kawanishi *et al.* têm desenvolvido pesquisas baseadas no monitoramento contínuo da taxa de glicose no sangue, usando um ácido borônico ligado a um corante fluorescente, sendo o sensor baseado no princípio da TEF (KAWANISHI, 2004).

Estudos acerca da fluorescência têm revelado a importância da detecção seletiva para cátions importantes em processos biológicos, tais como Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , principalmente em sistemas que contenham além de Na^+ e K^+ também o íon Ca^{2+} , que é capaz de regular, ativar ou influenciar processos biológicos (ARUNKUMAR, 2005).

A pesquisa de ânions que apresentam papel relevante em sistemas químicos e biológicos é uma área de grande interesse. Muitos quimiossensores sintéticos envolvem a ligação covalente entre um fragmento cromofórico, responsável pelo sinal óptico, e um receptor aniônico neutro contendo subunidades de uréia, tio-uréia, amida, fenol ou pirrol, que são capazes de estabelecer um ou mais sítios de ligação de hidrogênio. Essa associação implica no desenvolvimento de sensores seletivos e específicos (HE, 2005).

A partir do desenvolvimento de quimiossensores, a discriminação de diferentes tipos de biomoléculas através do simples monitoramento molecular, permite a distinção entre grupos tais como aminas, aminoácidos, ou proteínas, sendo que esta identificação pode ser útil no monitoramento ambiental. Merece destaque a discriminação entre aminas primárias, secundárias e terciárias, através de um receptor altamente seletivo. Um exemplo de receptor que merece ser citado é

uma α -CD-azo-coroadada, seletiva na complexação e identificação de aminas (JUNG, 2006).

1.3.2 Sensores Cromogênicos

A mudança de coloração como forma de sinalização para a identificação de espécies químicas tem sido muito utilizada pelo fato de elas poderem ser detectadas visualmente. Os reagentes cromogênicos têm o mesmo princípio de detecção dos reagentes fluorogênicos (KOCA, 2000, KAUR, 2006).

Os sensores colorimétricos mais comuns são baseados na ligação do grupo cromóforo com uma unidade receptora a partir de uma ligação covalente. Como alternativas para esses quimiossensores, duas idéias têm sido utilizadas. Uma é baseada na competição entre o corante ligado ao receptor com diferentes analitos (ANSLYN, 1999; MARTINÉZ-MAÑEZ, 2003). A outra é o uso de um novo sistema molecular que faça com que o substrato ligue-se, por ligação química induzida, ao sensor colorimétrico de maneira adequada (ROS-LIS, 2006).

Os compostos orgânicos tornam-se coloridos pela absorção da radiação eletromagnética na região visível (aproximadamente entre 400 e 800 nm). Observa-se que muitos sistemas conjugados têm diferentes energias de HOMO e LUMO, as quais correspondem à luz visível. Quanto maior a estabilidade do sistema conjugado menor será a diferença entre os estados fundamental e excitado, resultando em uma maior mudança batocrômica na banda de absorção.

É importante mencionar que a interação da espécie a ser reconhecida com o grupo doador ou aceitador de elétrons em determinado sistema pode resultar em mudança de cor. Assim, as interações do analito com o grupo doador de elétrons farão deste um doador com eficiência alterada, levando à incidência de maior ou menor densidade eletrônica sobre o sistema conjugado, aumentando a conjugação e a indução à mudança batocrômica ou hipsocrômica (REICHARDT, 1988). Dessa forma, os corantes solvatocrômicos podem ser usados, por exemplo, como sonda na determinação qualitativa e quantitativa de aditivos não desejáveis na gasolina ou álcool. Qualitativamente, a presença de um aditivo em particular pode ser detectada pela mudança de coloração da sonda em solução, devido à alteração da polaridade

do meio, e quantitativamente, mudanças solvatocrômicas podem ser observadas e identificadas através de análises de amostras de combustíveis (BUDAG, 2006).

O desenvolvimento de sensores ópticos para analitos eletricamente neutros, como as aminas, tais como 1-butilamina (BA), 1,4-diaminobutano (DB) e tris-(2-aminoetil)amina (TA), geralmente ocorre por meio de interações não específicas com o indicador, gerando sinal óptico. A formação de ligação covalente leva à mudança no máximo de absorvância do corante e permite a quantificação do analito eletricamente neutro, tanto em solução quanto em membrana polimérica. Para a imobilização do corante geralmente metacrilatos são usados como matriz monomérica por serem comercialmente viáveis, de fácil obtenção e baixo custo. Sensores ópticos desse tipo são de grande interesse pelo fato de aminas serem empregadas na preparação de fertilizantes, na indústria farmacêutica, em surfactantes e em tampões biológicos, podendo também ser encontrados como poluentes em áreas industriais (MOHR, 2006). Enfim, apresentamos, a seguir, alguns exemplos de aplicações recentes de sensores cromogênicos.

Sensores ópticos seletivos estão atraindo grande interesse no que se refere ao uso da técnica analítica de espectroscopia, a fim de detectar espécies em processos biológicos e ambientais. No que se refere ao meio ambiente, o monitoramento para a detecção dos níveis de metais pesados em solução aquosa, é alvo de grande interesse. É o caso do mercúrio, em particular, pela sua alta toxicidade. A contaminação por mercúrio em sistemas ambientais se deve ao uso em agroquímicos e em minas de ouro. Assim, recentemente, várias pesquisas baseadas na identificação de traços de mercúrio através da detecção visual têm sido realizadas, tais como a síntese de uma sonda orgânica molecular, como a hemicianina tio-azo-benzolina, apresentando características cromóforas e fluorescentes (TATAY, 2006).

Observa-se que o desenvolvimento de sensores e receptores alcança interesse em várias áreas. Um exemplo de ânion, que participa de uma grande variedade de processos metabólicos e bioenergéticos, é o pirofostato (PPi). O desenvolvimento de um novo sensor para o pirofosfato, baseado no azofenol-Dpa (bis(2-piridilmetil)amina), tem apresentando alta seletividade e sensibilidade em sistema aquoso (LEE, 2006).

1.3.3 Sensores Fundamentados em Ensaio de Competição

As tentativas em alcançar um sensor seletivo para alguma espécie química têm levado pesquisadores a estabelecer não um, mas dois sítios no sensor montado, que competem entre si, um como doador e outro como aceitador eletrônico (ATAMAN, 2002).

O desenvolvimento de sensores baseados na formação de complexos de associação entre receptor:corante e receptor:analito pode ser observado na Figura 8.

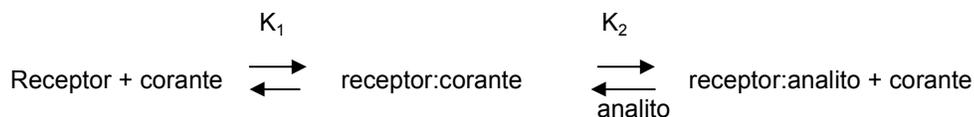


Figura 8: Representação de sensor colorimétrico baseado na competição de um corante e um analito por um receptor

Com isso, observa-se a existência da formação de duas constantes de ligação, uma do corante com o receptor (K_1), e outra do analito substituindo o corante no sítio do receptor (K_2), sendo que o valor de K_2 obtido deve ser muito maior que K_1 . Assim, as técnicas de detecção de analitos, baseadas em ensaios de competição, normalmente envolvem a existência de mais de uma constante de associação, o que remete ao conceito de espectrofotometria competitiva (EL-BARGAHOUI, 2005).

De acordo com Esteban-Gómez (2005), receptores que apresentam em sua estrutura uréia são capazes de doar para o ânion uma ou mais ligações de hidrogênio, em muitos casos usando os fragmentos NH. Se o grupo NH é integrado junto à unidade cromogênica, é possível que a carga negativa trazida modifique o dipolo associado à transferência de carga, isto é, estabilize o estado excitado do cromóforo. Contudo, a desprotonação sugere a formação de uma constante de associação (K_1). Se a molécula apresentar dois hidrogênios ionizáveis, então, a remoção do segundo hidrogênio sugere a formação de uma segunda constante de associação (K_2). Isso pode ser observado através da técnica de UV-vis, causando intensas alterações na coloração das soluções. Há dupla desprotonação observada

na presença de hidróxido e fluoreto, enquanto que a adição de ânions menos básicos, como o acetato e hidrogenossulfato, induzem a desprotonação de apenas um grupo NH (ESTEBAN-GÓMEZ, 2005).

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo Geral

- Desenvolver sensores cromogênicos para espécies neutras e aniônicas, através da competição entre uma merocianina solvatocrômica (merocianina de Brooker) e o analito por diferentes receptores (CDs e ácido borônico).

1.4.2 Objetivos Específicos

- Estudar a interação de CDs com a merocianina de Brooker em meio aquoso;
- Desenvolver uma metodologia para a obtenção de constantes de inclusão de CDs com substratos neutros fundamentada em ensaios de competição entre o corante e o analito neutro pela cavidade da CD;
- Elaborar um sensor colorimétrico para moléculas neutras através do uso de ensaios de competição entre um corante solvatocrômico e o analito pelo sítio receptor de CDs;
- Estudar a interação de um ácido borônico com a merocianina de Brooker em solução;
- Desenvolver um sensor cromogênico seletivo para fluoreto baseado na interação entre um ácido borônico e a merocianina de Brooker;
- Utilizar tratamentos matemáticos adequados para a obtenção de constantes de associação dos receptores com os analitos.

1.5 JUSTIFICATIVA

As CDs têm sido alvo de inúmeros estudos, sendo utilizadas com sucesso como moléculas receptoras eficientes na remoção de poluentes lançados ao solo. Elas podem transferir continuamente os contaminantes insolúveis da superfície do solo para a fase aquosa pela formação de complexos solúveis em água. O monitoramento de ambientes que apresentam contaminação por moléculas como indol, tolueno, benzeno, xileno e etilbenzeno, é alvo de grande interesse para a comunidade científica, por serem compostos que geram a necessidade de biorremediação por serem agentes tóxicos e carcinogênicos (SZANISZLÓ, 2005). As aplicações potenciais das CDs nesta área atendem ainda a outras questões importantes, tais como a liberação controlada dos substratos, biodegradabilidade da molécula receptora, possibilidade de efeitos catalíticos sobre a degradação de pesticidas e mesmo a solubilidade dos complexos formados em água, o que deve permitir a fácil remoção dos agroquímicos.

Estudos sistemáticos têm conduzido à conclusão de que as CDs são capazes de imobilizar os contaminantes. Na literatura, as constantes de associação normalmente são determinadas através de técnicas como cromatografia gasosa, dicroísmo circular e estudos de RMN. No entanto, quando se utilizam como corantes o alaranjado de metila e a fenolftaleína o método utilizado é a espectrofotometria competitiva (ANSLYN, 1999; MEIER, 2001). Neste trabalho será utilizado um corante solvatocrômico como sonda para a detecção da presença de analitos neutros voláteis, como fenol, tolueno, benzeno e álcool benzílico em solução aquosa, e conseqüente determinação das constantes de inclusão através de método espectrofotométrico. Cabe ressaltar que a literatura não descreve trabalhos que utilizem corantes solvatocrômicos como técnica de monitoramento na determinação e caracterização desse tipo de espécies químicas por meio de ensaios de competição do corante e do segundo substrato com o sítio receptor da CD. Quando se fala em determinação de constantes de inclusão por UV-vis em solução aquosa, usam-se os métodos da competição das CDs por dois indicadores de pH, α -CD com alaranjado de metila e β -CD com fenolftaleína (ANSLYN, 1999; MEIER, 2001; TUTAJ, 2003). É de interesse, portanto, o estudo de outros sistemas conjugados como unidades sinalizadoras, tais como o uso de corantes como a merocianina de

Brooker, corante de Kosower, piridiniofenolato de Reichardt (corante de Reichardt), corantes derivados do ácido barbitúrico, enfim, sistemas conjugados, capazes de estabelecer ligações efetivas entre o receptor e o substrato, gerando sinal óptico.

Assim, em princípio, uma diferença de coloração envolvendo a MB incluída na CD e livre em solução poderia ser empregada no desenvolvimento de um sensor colorimétrico para moléculas neutras em água. Este sensor se basearia em um método de substituição do indicador, que envolveria a troca do corante na cavidade da CD por um substrato que tenha uma maior afinidade por ela. Esta substituição levaria à mudança da cor da solução, a qual poderia ser detectada.

Os ânions, como qualquer outra espécie química, apresentam forças atrativas com as espécies presentes no meio em que se encontram solvatadas. Assim, a associação dos ânions com outra espécie estruturalmente definida na chamada relação receptor:substrato, aparece como uma consequência natural (CALLAN, 2005).

Em relação às forças de interação das espécies envolvidas, a intensidade da interação de um par de ligantes deve ser considerada, isto é, a constante de associação K_s reflete e inclui todas as interações mútuas diretas, bem como as mudanças do meio, como o solvente. De maneira geral, todos os compostos capazes de se ligar a outra espécie molecular com a qual apresentem maior afinidade são caracterizados como receptores.

Na química presente nos seres vivos os processos de ligação aniônica representam papel central, como evidencia o fato de que os substratos em sua maioria nos sistemas biológicos são aniônicos. A produção e a síntese de receptores aniônicos tem tido um desenvolvimento relativamente lento, ao contrário dos análogos químicos catiônicos. Esta diferença se deve às dificuldades relacionadas com a complexidade das espécies aniônicas. De acordo com Bianchi (1997), merece ser destacado que:

a) Espécies aniônicas têm um raio iônico relativamente grande, requerendo receptores com tamanho consideravelmente maior do que os requeridos por cátions. Por exemplo, o raio iônico do $F^- = 1,36\text{Å}$, enquanto que o raio iônico do $K^+ = 1,33\text{Å}$;

b) Todos os ânions inorgânicos simples apresentam grande diâmetro, como é o caso dos haletos, que se apresentam em formato esférico, enquanto o fosfato e sulfato (PO_4^{3-} , SO_4^{2-}) são tetraédricos;

c) Em comparação a cátions de raio iônico similar, ânions têm altas energias de solvatação, e conseqüentemente, receptores catiônicos devem competir mais efetivamente com a solução que se encontram. Por exemplo: $\Delta G_{F^-} = -434,3 \text{ kJ.mol}^{-1}$ e $\Delta G_{K^+} = -337,2 \text{ kJ.mol}^{-1}$;

d) Muitos ânions somente existem em uma estreita faixa de pH, o que pode causar problemas, especialmente no caso de receptores baseados em sais de polihidroxiamônio, onde o receptor pode não ser completamente protonado naquela faixa de pH necessária;

e) Finalmente, os ânions são geralmente coordenantes saturados que se ligam somente por forças intermoleculares fracas, tais como ligação de hidrogênio e interações de van der Waals, sendo que outros coordenantes, que apresentam intensidade das forças eletrostáticas intensificadas por receptores carregados positivamente são capazes de realizar a interação de maneira mais efetiva.

Estas dificuldades têm remetido ao desenvolvimento de um grande número de técnicas que têm permitindo o progresso na complexação de ânions de maneira rápida e eficiente nos últimos anos.

Dessa forma, algumas técnicas analíticas para a detecção de ânions que merecem destaque são baseadas em métodos eletroquímicos, sendo estes relatados, por exemplo, no desenvolvimento de sensores químicos. Também as técnicas de raios X apresentam grande destaque na detecção e determinação de espécies aniônicas (MARTINÉZ-MÁÑEZ, 2003).

Através da detecção eletroquímica uma grande variedade de amostras têm sido analisadas, o que pode ser observado na determinação de ânions em matrizes ambientais, bebidas, banhos para eletrodeposição e sistemas biológicos (SILVA, 2003).

Os ânions apresentam um importante papel em várias áreas incluindo fenômenos que ocorrem na natureza, indústria e medicina. Dessa forma, as interações dos ânions com proteínas são de grande relevância. Além disso, os ânions apresentam papel fundamental na atividade enzimática, transporte de hormônios, síntese de proteínas e regulação do DNA (BIANCHI, 1997).

O desenvolvimento da química de coordenação dos ânions e moléculas receptoras aniônicas tem permitido o desenvolvimento de catálise molecular em substratos aniônicos de interesse bioquímico, podendo ser citada a molécula de trifosfato de adenosina (ATP), responsável por uma gama de processos biológicos.

Basicamente, um sensor cromogênico para ânions consiste de duas partes: um receptor e uma unidade sinalizadora, funcionando basicamente por interação do tipo ligação de hidrogênio (SUKSAI, 2003).

Assim, torna-se importante o desenvolvimento de sensores cromogênicos para a detecção visual e quantitativa destas espécies químicas.

A literatura descreve técnicas como difração de raios X, fluorescência (TEF e TEE) e espectroscopia de UV-vis para a identificação de ânions. Os ácidos borônicos são peças receptoras muito importantes para o desenvolvimento de sensores para carboidratos e fluoreto/cianeto. Embora muitos tipos de sensores venham sendo desenvolvidos, e que muitos utilizem ácidos borônicos como sensores fluorescentes e eletroquímicos, a literatura não indica reação reversível com ácidos borônicos e que utilize corantes solvatocrômicos para montar sensores fluorescentes ou cromogênicos, objetivo este desta pesquisa.

Dessa forma, a proposta fundamenta-se na seletividade do corante associando ao ácido fenil borônico, e pela capacidade do ânion em formar complexos por meio de ligações de hidrogênio como o ácido fenil borônico, liberando o corante à solução gerando uma solução colorida.

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 REAGENTES

Todos os reagentes utilizados apresentaram alto grau de pureza e foram usados sem purificação prévia. Os solventes metanol e acetonitrila (Vetec, grau HPLC) foram purificados seguindo a metodologia descrita por Furniss (1989). Foi utilizada água deionizada no preparo de todas as soluções aquosas. Este solvente foi fervido e borbulhado com nitrogênio e mantido em atmosfera de nitrogênio para evitar a presença de dióxido de carbono. As CDs α -CD [Cavitron 80000, lote G8071, contendo 8,6% de água], β -CD [Cavitron® 82000 lote 1Q0011: contendo 10,7% de água] e hidroxipropil- β -CD (Pharma) [Cavitron® 82005 lote H3M288P: grau de substituição por unidade de glicose anidra igual a 5,4 (RMN), 0,03% de CD não substituída, contendo 0,3% propilenoglicol e 3,0% de água (titulação por Karl-Fischer)] foram gentilmente cedidas pela Cerestar/Cargill e utilizadas conforme recebidas. A metil- β -CD [Cavasol® W7M lote 71T023: grau de substituição por unidade de glicose anidra igual a 1,8 (RMN), 0,20% de CD não substituída, orgânicos voláteis < 0,20% (GC), contendo cloreto (0,60% por titulação) e 10% (em massa) de água (titulação por Karl-Fischer)] e a γ -CD (Pharma) [Cavamax® W8 PHARMA lote 80P200, orgânicos voláteis < 0,20% (GC) e 5,1% (em massa) de água (titulação por Karl-Fischer)] foram gentilmente cedidas pela Wacker Chemie GesmbH (Germany) e utilizadas conforme recebidas. Foram utilizados ainda os seguintes compostos: fenol, tolueno, benzeno, álcool benzílico (Aldrich), fluoreto de tetrabutilamônio triidratado (FLUKA: >99%), cloreto de tetrabutilamônio hidratado (FLUKA: >99%), dihidrogenofosfato de tetrabutilamônio (FLUKA: >99%), nitrato de tetrabutilamônio (FLUKA: >99%), iodeto de tetrabutilamônio (VETEC, >99%), hidrogenossulfato de tetrabutilamônio (VETEC, >99%), brometo de tetrabutilamônio (C₁₆H₃₆BrN) (VETEC, >99%) e o ácido fenil borônico (Aldrich). O corante solvatocrômico merocianina de Brooker (MB) foi sintetizado de acordo com o método descrito por MINCH (1977), recristalizado três vezes em água quente e seco em sistema a vácuo. O rendimento apresentado foi de 89,6% (86,3% na descrição feita

por Minch em 1977); p.f. 220 °C. ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): 3,90 (3H, s), 6,08 (2H, d, J=8,7 Hz), 6,45 (1H, d, J=15,1 Hz), 7,29 (2H, d, J=8,7 Hz), 7,49 (2H, d, J=6,7 Hz), 7,65 (1H, d, J=15,1 Hz), 8,11 (2H, d, J=6,9 Hz). Foi utilizada nos experimentos solução tampão pH 10,55 (Na₂CO₃/HCl; força iônica, I=0,216 mol dm⁻³) para evitar a protonação do corante, a qual foi preparada de acordo com o MORITA (1972).

2.2 MÉTODOS

Todas as medidas de UV-vis foram obtidas em um espectrofotômetro Varian Cary Bio 50, termostaticado em 25 °C e com uso de cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

A parte experimental desenvolveu-se em três etapas distintas:

1) determinação das constantes de inclusão da MB em diferentes CDs em meio tamponado;

2) desenvolvimento de sensor colorimétrico para analitos neutros utilizando β- e metil-β-CDs em meio aquoso e uma merocianina solvatocrômica como unidade sinalizadora;

3) desenvolvimento de um sensor cromogênico aniônico seletivo através de ensaios de competição da MB e do ânion pelo receptor ácido fenil borônico.

Na Figura 9 encontra-se esquematizado o procedimento para o estudo da interação da MB com as CDs e com AB.

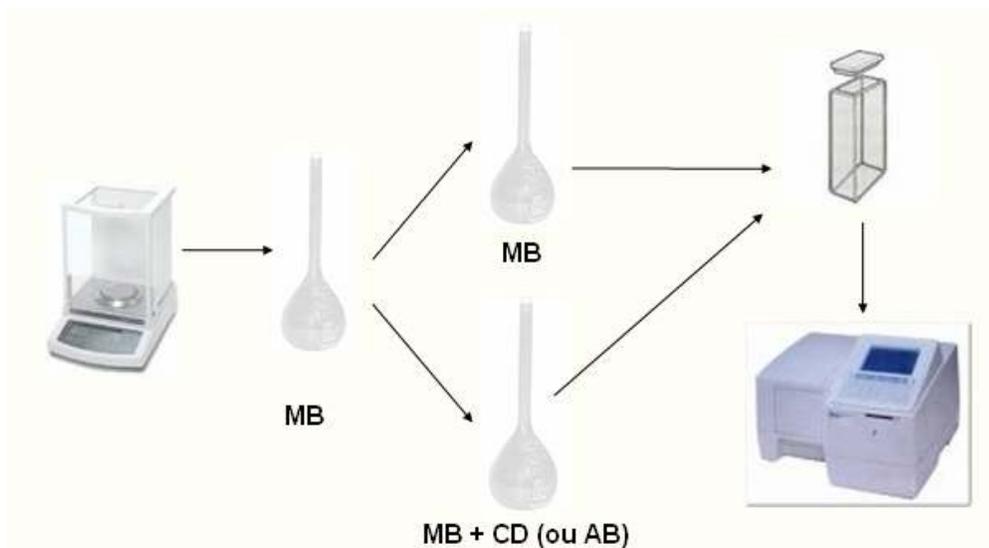


Figura 9. Procedimento dos testes experimentais envolvendo a interação da MB com as CDs ou com AB

Os procedimentos dos testes realizados para os ensaios de competição encontram-se também representados na Figura 10.

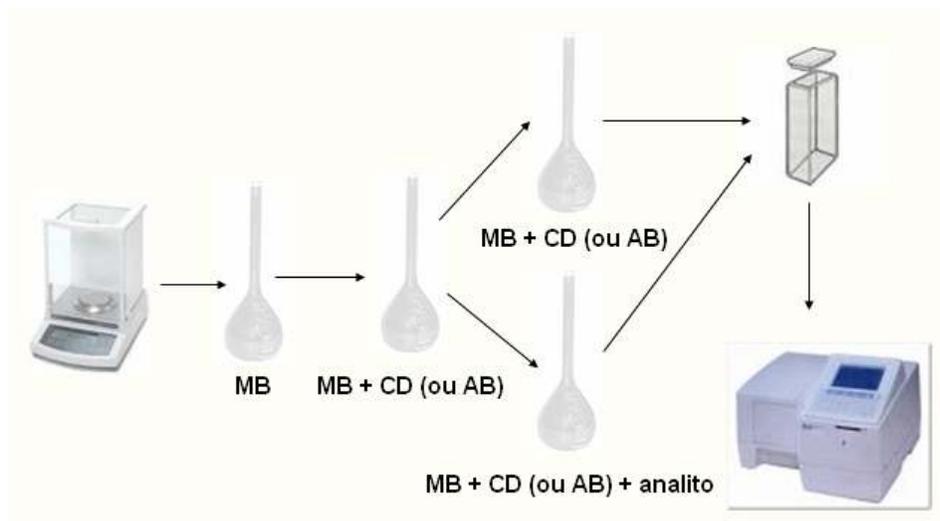


Figura 10. Procedimento dos testes experimentais envolvendo os estudos dos ensaios de competição

2.2.1 Estudo da interação da MB com diferentes CDs em solução aquosa

Foram preparados 50 cm³ de solução contendo MB em concentração igual a 1x10⁻⁵ mol.dm⁻³ em água deionizada, em sistema tamponado para evitar a protonação do corante, sendo o pH final igual a 10,55. Desta solução foram separados 25 cm³ para o preparo das soluções de α -, β -, γ -, metil- β - e HP- β -CD em concentrações iguais a 1,14x10⁻² mol.dm⁻³, 7,05x10⁻³ mol.dm⁻³, 3,98x10⁻² mol.dm⁻³, 3,00x10⁻² mol.dm⁻³ e 2,00x10⁻² mol.dm⁻³ respectivamente, a fim de que a concentração do corante permanecesse constante. A seguir, foi adicionada à cubeta, hermeticamente fechada com septo de borracha, solução de MB. Em seguida, pequenas adições de CD foram feitas com uma microsseringa e leituras espectrais foram então realizadas.

2.2.2 Determinação de sensor colorimétrico para analitos neutros utilizando β e metil- β -CDs em solução aquosa

Foram preparados 25 cm³ de solução contendo MB em concentração igual a 1x10⁻⁵ mol.dm⁻³ em água deionizada. Parte desta solução foi utilizada para o preparo de 10 cm³ de solução de β -CD com concentração de 7,05x10⁻³ mol.dm⁻³ e 10 cm³ de solução contendo metil- β -CD em concentração igual a 3,00x10⁻² mol.dm⁻³. Foi adicionada à cubeta, hermeticamente fechada com rolha de borracha, solução contendo MB, onde titularam-se diferentes analitos, com o uso de uma microsseringa, sendo realizadas, então, leituras espectrais até não haver mais deslocamento da banda solvatocrômica. Os substratos neutros testados foram fenol, tolueno, benzeno e álcool benzílico, sob concentração de 1x10⁻³ mol.dm⁻³, com exceção do fenol, que por ser bastante solúvel em água, foi preparada solução aquosa em concentração igual a 0,95 mol.dm⁻³. Sendo os substratos apolares, utilizou-se metanol para preparar estas soluções. Nas condições experimentais, o metanol adicionado não traz mudanças espectrais ao complexo CD:MB. Os

espectros foram coletados a fim de se determinar as suas constantes de inclusão a partir do método espectrofotométrico.

Das soluções de CDs preparadas, ambas foram divididas para o preparo de 5 cm³ de solução contendo fenol em concentração igual a 0,54 mol.dm⁻³ em β -CD e em metil- β -CD e 5 cm³ de solução contendo fenol em concentração igual 0,25 mol.dm⁻³, para evitar diluição tanto do corante quanto das CDs utilizadas. Foi então adicionada à cubeta hermeticamente fechada com septo de borracha, a solução da CD com a MB, à qual foram feitas adições da solução estoque do fenol com o auxílio de uma microseringa. Após cada adição foram realizadas as leituras espectrais.

2.2.3 Desenvolvimento de sensor cromogênico aniônico através de ensaios de competição da MB e do ânion pelo receptor ácido fenil borônico

Foram preparados 25 cm³ de solução contendo MB em acetonitrila, com concentração igual a 2×10^{-5} mol.dm⁻³. Parte desta solução foi utilizada para o preparo de 2 cm³ de cada solução de diferentes sais de tetrabutilamônio, sendo sais de fluoreto, cloreto, brometo, iodeto, dihidrogenofosfato e hidrogenossulfato, sob concentração igual a $7,9 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³. Também foi preparada, a partir da solução de MB em acetonitrila, 5 cm³ de solução contendo ácido fenil borônico sob concentração de 5×10^{-3} mol.dm⁻³. Foi adicionada à cubeta, hermeticamente fechada com septo de borracha, solução de MB em acetonitrila. Com o auxílio de uma microseringa foram feitas adições da solução contendo ácido fenil borônico. A associação covalente entre o AB e a MB provoca a descoloração da solução. Após a adição de AB suficiente para descolorir completamente a solução foram adicionadas, com o auxílio de microseringa, quantidades crescentes das soluções de cada ânion, sendo feitas leituras espectrais durante as titulações.

2.3 MEDIDAS DAS CONSTANTES DE ASSOCIAÇÃO

A constante de estabilidade é de fundamental importância para a compreensão das interações que ocorrem entre o substrato e o receptor (ou agente complexante). Ela tem sido determinada usando-se métodos físicos incluindo calorimetria, espectroscopia de absorção, espectroscopia de fluorescência e ressonância magnética nuclear (RMN). Cada método tem suas vantagens bem como suas limitações (MISAWA, 2005).

Vários procedimentos espectrofotométricos têm sido descritos para determinar o número de espécies em solução. Assumindo que sejam formados apenas complexos do tipo 1:1, pode-se dizer que a solução contém duas espécies denominadas como substrato (S) e o complexo receptor:substrato (RS). No entanto, é mais apropriado falar no número de estados estequiométricos do sistema, podendo, certamente, existir espécies adicionais ao sistema (por exemplo, R, que representa o receptor). Assim, a espectrofotometria pode nos dar a informação sobre a estequiometria dos complexos formados (CONNORS, 1987).

Os dados espectrais foram coletados em solução aquosa e em acetonitrila com o corante MB, e em seguida foram analisados de acordo com o tratamento descrito por CONNORS (1987), Equação (1),

$$\Delta A/b = [\text{corante}] K_{11} \Delta \varepsilon_{11} [\text{receptor}] / (1 + K_{11} [\text{receptor}]) \quad (1)$$

onde b é o caminho óptico, $\Delta \varepsilon_{11}$ é a diferença das absorvidades molares do corante no complexo e do corante livre em solução e K_{11} é a constante de associação para a formação de complexo do tipo 1:1. ΔA é a variação da absorvância para o comprimento de onda fixo para a solução contendo o corante quando a concentração do receptor varia de zero até o máximo de sua concentração (Apêndice I).

Se a concentração do substrato (S) livre em solução for muito maior que a da espécie complexada, os dados de absorvância podem, então, ser analisados pelo uso do método quadrático não linear para sucessivos valores de n . O valor correto de n corresponde ao valor do coeficiente de correlação. A análise também gera o valor da constante de estabilidade, representada por K_n (CONNORS, 1987).

Se a eficiência da complexação for elevada, assume-se que o grande excesso de analitos livre com respectiva força de ligação não é estritamente válida

na primeira parte da curva de titulação. Nós podemos então considerar que toda a concentração do analito é igual a $C_S = [S] + [SR]$.

Para $n = 1$, pode-se derivar a mais geral relação, representada como Equação 2 (VALEUR, 1992).

$$A = A_o + (A_{lim} - A_o / 2c_o) [c_o + c_S + 1/K_S - [(c_o + c_S + 1/K_S)^2 - 4c_o c_S]^{1/2}] \quad (2)$$

Onde A é a absorbância, A_o é a absorbância inicial, A_{lim} é a absorbância máxima obtida, c_o é a concentração inicial do substrato e c_S é a concentração máxima do substrato e K_S é a constante de estabilidade obtida (Apêndice I).

As constantes de associação foram calculadas utilizando o programa ORIGIN 6.1[®].

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho foi desenvolvido em três etapas:

- 1) Na primeira etapa, foram realizados testes da MB em meio tamponado a fim de se verificar a formação de complexos de associação entre MB e α -, β -, γ -, HP- β - e metil- β -CD.
- 2) Em uma segunda etapa, utilizaram-se complexos da MB com CDs (β - ou metil- β -CD) em solução aquosa a fim de se verificar a ocorrência da formação de complexos de associação entre as CDs e substratos neutros voláteis de baixa (fenol, tolueno, benzeno e álcool benzílico).
- 3) Na última etapa, foram testados sais de tetrabutilamônio (fluoreto, cloreto, brometo, iodeto, hidrogenossulfato, di-hidrogenofosfato e nitrato) para o desenvolvimento de um sensor cromogênico aniônico, baseado na interação entre MB e um ácido borônico.

Em todas as etapas os dados experimentais coletados através de método espectrofotométrico foram tratados a partir de regressão não linear. Foram observadas as variações do $\lambda_{\text{máx}}$ para a banda solvatocrômica da MB, os valores de absorbância e formação de pontos isobésticos nos espectros analisados.

3.1 INTERAÇÕES DA MEROCIANINA DE BROOKER COM DIFERENTES CDS EM SOLUÇÃO AQUOSA

Foi estudado o comportamento da MB em solução aquosa tamponada (pH 10,55) em presença da α -, β -, γ -, HP- β - e Me- β -CD, a fim de se verificar a associação entre o corante e as CDs.

O corante MB apresenta solvatocromismo negativo com aumento da polaridade do meio. Isto ocorre pela grande estabilidade do estado fundamental da estrutura do corante em relação ao estado excitado (REICHARDT, 1988; REICHARDT, 1994). Outro fato que merece ser considerado é o valor do pK_a do corante protonado ser igual a 8,6, valor estimado por Davidson e Jencks (1969),

considerando que este valor foi obtido em solução aquosa pH 7,0. Este estudo foi realizado em pH 10,55, a fim de se observar o efeito das CDs sobre o corante desprotonado. A Figura 11 apresenta o gráfico das variações máximas da banda solvatocrômica do corante em função da concentração da CD adicionada em solução aquosa com pH 10,55. Deslocamentos batocrômicos foram observados em todas as bandas solvatocrômicas obtidas pelo aumento da concentração das CDs, o que significa que o corante foi transferido para o microambiente com menor polaridade, a partir de adição das CDs. Isto sugere a inclusão do corante no sítio lipofílico das CDs.

Pode ser também verificado que as CDs modificadas apresentaram as maiores mudanças batocrômicas, sendo 20,0 e 24,3 nm para a HP- β -CD e Me- β -CD, respectivamente. Mudanças substanciais também foram observadas para a α -CD (11,2 nm) e para a β -CD (11,0 nm até o limite de solubilidade da CD em solução aquosa) em comparação com uma pequena mudança para a γ -CD (3,6 nm). A análise dos dados sugere que as CDs modificadas apresentam menor polaridade em suas cavidades quando comparadas com as CDs naturais utilizadas neste trabalho.

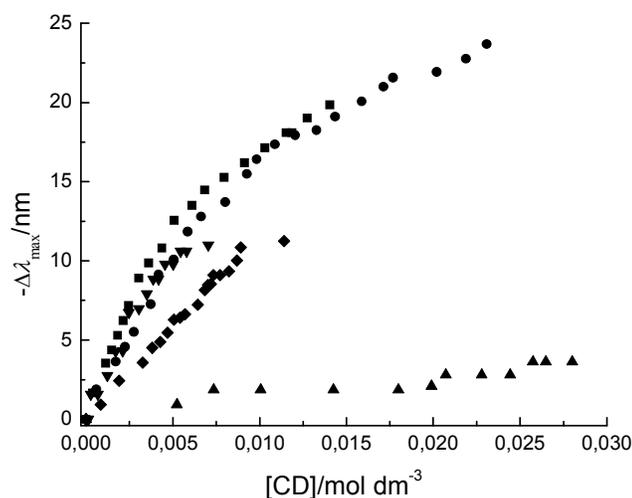


Figura 11: Variações do λ_{\max} da banda solvatocrômica da merocianina de Brooker ($1,0 \times 10^{-5}$ mol dm⁻³) em solução aquosa contendo adições crescentes das concentrações α -CD (◆), β -CD (▼), γ -CD (▲), metil- β -CD (●), e HP- β -CD (■) a 25°C.

Os resultados experimentais apresentados na Figura 9 demonstram a evidência de formação de complexos de inclusão entre a MB e as CDs. Assim, o trabalho foi realizado a fim de se obter maiores detalhes sobre a influência do aumento da concentração de cada CD sobre o espectro de UV-vis do corante. Os valores de absorvância do corante foram obtidos em 443,6 nm e foram graficados em função da concentração das CDs, sendo os dados experimentais tratados através de regressão não linear de acordo com a Equação 1. Verificou-se que foi possível o tratamento apenas dos espectros que apresentaram presença de ponto isobéstico. Os dados experimentais coletados geraram os resultados apresentados na Tabela 1, com formação de complexos de inclusão, apresentando baixos valores no erro calculado ($\chi^2 < 1,65 \times 10^{-6}$).

Tabela 1

Constantes de associação para os complexos de inclusão da merocianina de Brooker com CDs a 25°C em solução aquosa

CD	Ponto isobéstico (nm)	K_{11}^b ($\text{dm}^3\text{mol}^{-1}$)	χ^2
α -CD	458,1	133,6 \pm 6,8	1,29 \times 10 ⁻⁷
β -CD	457,0	424,2 \pm 32,8	2,27 \times 10 ⁻⁷
metil- β -CD	457,1	108,2 \pm 2,9	1,08 \times 10 ⁻⁶
metil- β -CD ^c	456,2	68,4 \pm 3,3	9,97 \times 10 ⁻⁶
HP- β -CD	457,0	205,8 \pm 7,4	1,65 \times 10 ⁻⁶
γ -CD	-	-	-

^a pH 10,55 e I=0,216 mol dm⁻³. ^b Calculado de acordo com a equação (1). ^c pH 10,0 - meio não tamponado.

3.1.1 Interação da MB com α -CD em Solução Aquosa Tamponada

Na Figura 12 é possível observar os espectros de UV-vis da MB a partir da titulação de α -CD em solução aquosa (pH 10,55). Observa-se que a banda solvatocrômica da MB em solução localiza-se em 443,6 nm. Com a ocorrência de deslocamento batocrômico da banda solvatocrômica e diminuição da absorvância com a adição da CD, com concentração igual a $1,44 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³ a banda

solvatocrômica passa para 456,0 nm, com presença de ponto isobéstico em 458,1 nm, sugerindo a formação de complexo de inclusão entre a MB e a α -CD, na proporção de 1:1 (1 MB:1CD). Para este espectro e todos os demais apresentados no decorrer deste trabalho, foram selecionadas algumas linhas espectrais a fim de facilitar a visualização do efeito obtido.

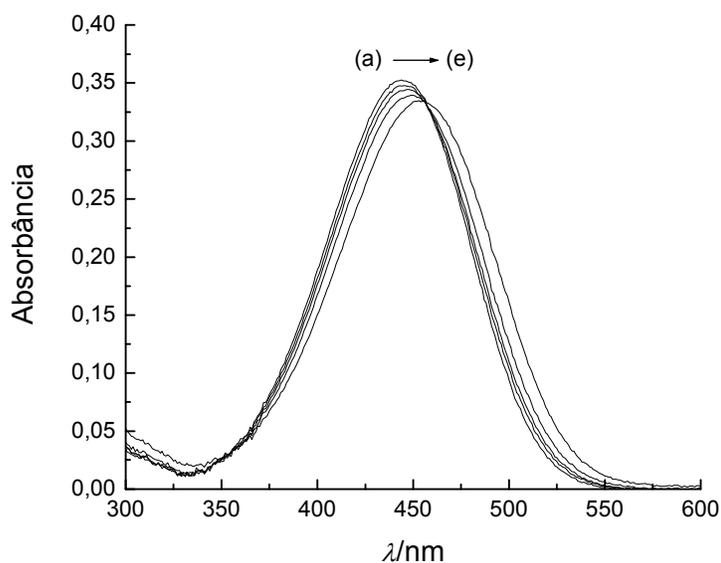


Figura 12: Espectros de UV-vis a 25°C para MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,55) contendo α -CD em concentrações de: (a) zero, (b) $1,04 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $1,90 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $3,80 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (e) $8,80 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$.

Os dados de absorbância foram coletados em 443,6 nm, os quais geraram o gráfico apresentado na Figura 13. A constante de inclusão foi calculada de acordo com o ajuste não linear descrito pela equação 1, gerando um valor de $K_{11} = 133,6 \pm 6,8 \text{ dm}^{-3} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\chi^2 = 1,65 \times 10^{-6}$).

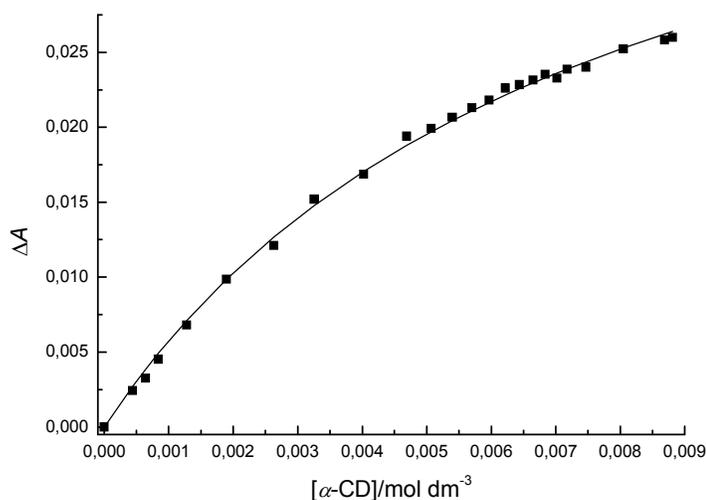


Figura 13: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante em solução aquosa com adições crescentes de α -CD. A concentração do corante foi de 1×10^{-5} mol.dm⁻³ e as absorvâncias foram coletadas em 443,6nm. (–) Curva ajustada com a equação 1.

3.1.2 Interação da Merocianina de Brooker com β -CD

Os espectros de UV-vis observados na Figura 14 descrevem o efeito obtido a partir da titulação de β -CD em solução aquosa de MB (pH 10,55). A banda solvatocrômica da MB em solução aquosa apresenta um máximo em 443,6 nm e após a titulação da β -CD, a banda passa para 459,9 nm, ocorrendo deslocamento batocrômico, bem como presença de ponto isobéptico em 455,0 nm. Estes resultados evidenciam a formação de complexo de inclusão do tipo 1:1, isto é, uma molécula de corante para cada molécula de CD.

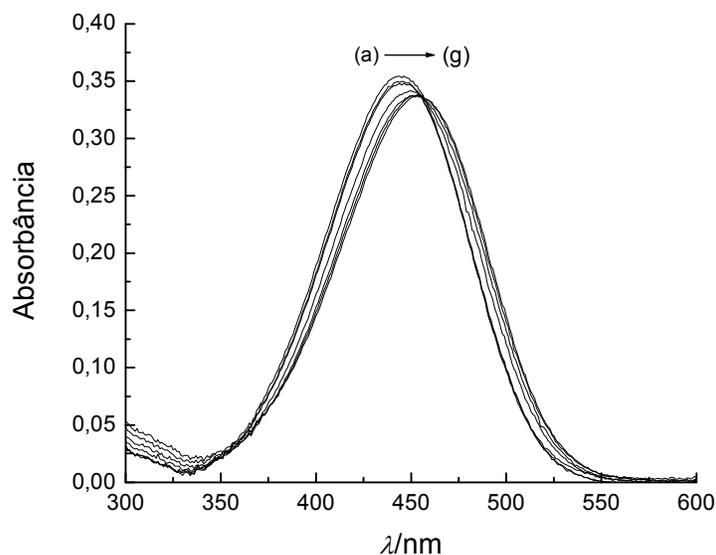


Figura 14: Espectros de UV-vis a 25°C para MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,55) contendo β -CD em concentrações de: (a) zero, (b) $1,45 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $2,85 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $1,71 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $3,29 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (f) $4,55 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (g) $5,72 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$.

A presença de ponto isobéptico sugere a formação de complexo de inclusão. Dessa maneira, os dados de absorvância foram coletados em 443,6 nm, os quais geraram o gráfico apresentado na Figura 15. A constante de inclusão foi calculada a partir do ajuste não linear descrito pela equação 1, gerando um valor de $K_{11} = 424,2 \pm 32,8 \text{ dm}^{-3} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\chi^2 = 2,27 \times 10^{-7}$).

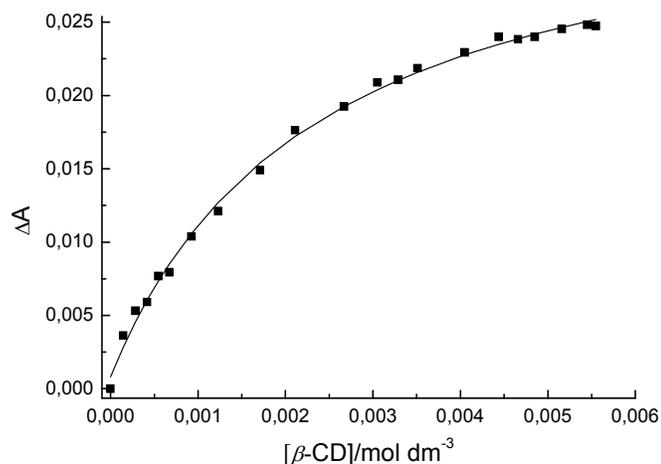


Figura 15: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante em solução aquosa com adições crescentes de β -CD. A concentração do corante foi de 1×10^{-5} mol.dm⁻³ e as absorvâncias foram coletadas em 443,6 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1.

3.1.3 Interação da Merocianina de Brooker com γ -CD

A Figura 16 apresenta os espectros de UV-vis para a titulação de γ -CD em solução aquosa de MB (pH 10,55), sendo obtida em 443,6 nm. A concentração da CD utilizada foi igual a $3,80 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³, passando a banda solvatocrômica para 447,2 nm, no entanto, sem presença de ponto isobéstico. A ausência deste ponto indica que não há formação de complexo de inclusão apresentando estequiometria não definida entre a MB e a γ -CD.

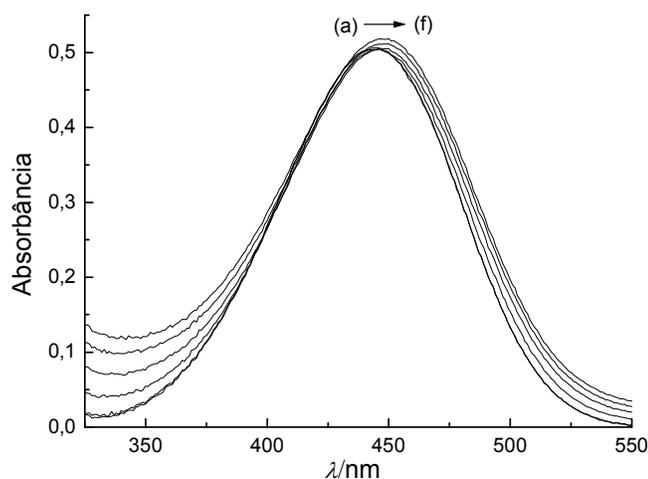


Figura 16: Espectros de UV-vis a 25°C para MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,55) contendo γ -CD em concentrações de: (a) zero, (b) $7,4 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $9,2 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $2,1 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $2,7 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (f) $3,1 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$.

Este fato pode ser justificado a partir da análise dos diâmetros internos das CDs naturais, sendo entre 4,5-6,0 Å, 6,0-8,0 Å e 8,0-10,0 Å para a α , β e γ -CDs respectivamente. O maior diâmetro interno da γ -CD em relação às outras CDs leva a conclusão de que ocorre um ajuste imperfeito do substrato em questão (no caso, a MB), o que não favorece a formação de complexo de inclusão. Provavelmente, seria necessário um grande gasto energético para que a inclusão ocorresse, não sendo isto favorável para a estabilidade do sistema.

3.1.4 Interação da merocianina de Brooker com HP- β -CD

A Figura 17 apresenta o comportamento da MB em solução aquosa (pH 10,55) com adição de quantidades crescentes de HP- β -CD. Pode ser observado que a banda solvatocrômica em solução aquosa é obtida em 443,6 nm, e que após adição de HP- β -CD ocorre grande deslocamento batocrômico e diminuição da absorbância com a adição da CD. Considerando a concentração da CD igual a $2,00 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, a banda solvatocrômica passa para 463,9 nm. A Figura 15

também aponta para a presença de ponto isobéstico em 454,1 nm, sugerindo um complexo de inclusão entre MB e HP- β -CD na proporção de 1:1.

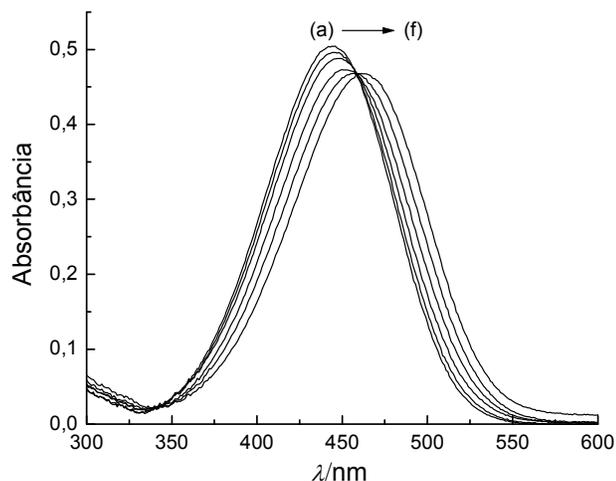


Figura 17: Espectros de UV-vis a 25°C para MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em solução aquosa (pH 10,55) contendo HP- β -CD em concentrações de : (a) zero, (b) $3,92 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³, (c) $1,13 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³, (d) $2,76 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³, (e) $5,71 \times 10^{-3}$ mol.dm⁻³ e (f) $1,28 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³.

Os dados de absorbância foram coletados em 443,6 nm gerando a Figura 18. A constante de inclusão foi então calculada, e os dados foram tratados a partir do ajuste não linear descrito pela equação 1, um valor de $K_{11} = 205,8 \pm 7,4$ dm⁻³.mol⁻¹ ($\chi^2 = 1,65 \times 10^{-6}$).

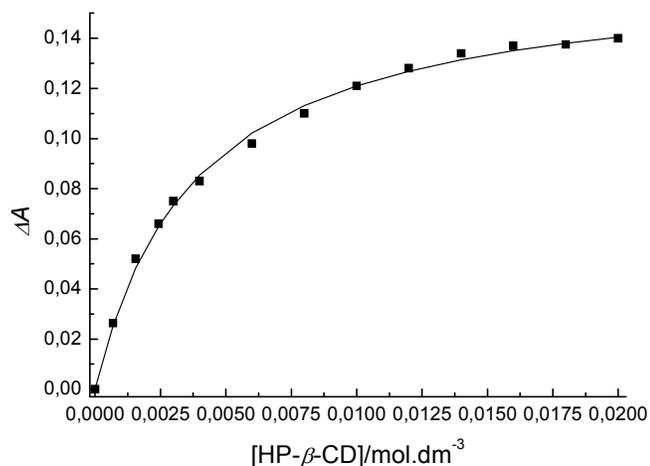


Figura 18: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante em solução aquosa com adições crescentes de HP-β-CD. A concentração do corante foi de 1×10^{-5} mol.dm⁻³ e as absorvâncias foram coletadas em 444,0 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1.

3.1.5 Interação da MB com metil-β-CD

A Figura 19 apresenta o comportamento da MB em solução aquosa (pH 10,55) com adições crescentes de Me-β-CD. A banda solvatocrômica da MB em solução aquosa é obtida em 443,6 nm, ocorrendo grande deslocamento batocrômico após adição de Me-β-CD, e diminuição da absorvância. Sendo a concentração da CD igual a $3,00 \times 10^{-2}$ mol.dm⁻³, a banda solvatocrômica passa para 469,0 nm. A Figura 17 também apresenta presença de ponto isobéstico em 457,1 nm, sugerindo a presença de complexo de inclusão entre MB e Me-β-CD na proporção de 1:1 (1MB:1 Me-β-CD).

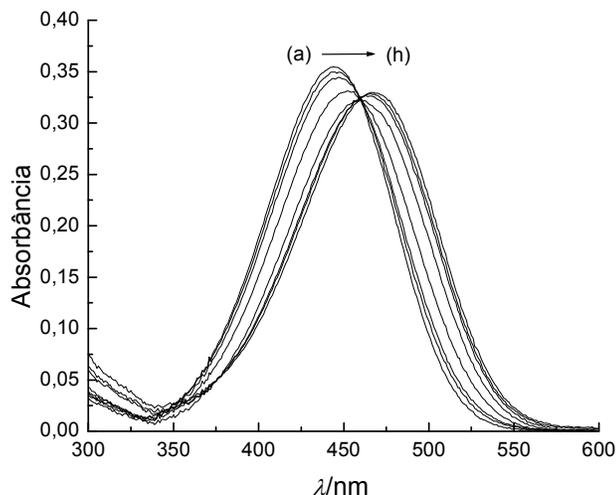


Figura 19: Espectros de UV-vis a 25°C para MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,55) contendo metil- β -CD em concentrações de: (a) zero; (b) $5,94 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $1,17 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $3,72 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $9,26 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (f) $1,51 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, (g) $1,77 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (h) $2,34 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$.

Os parâmetros estatísticos de análise foram calculados a partir dos dados de absorbância coletados em 443,6 nm apresentados na Figura 20. Os dados experimentais foram então calculados a partir do ajuste não linear descrito pela equação 1, gerando um valor de $K_{11} = 108,2 \pm 2,9 \text{ dm}^{-3} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\chi^2 = 1,08 \times 10^{-6}$).

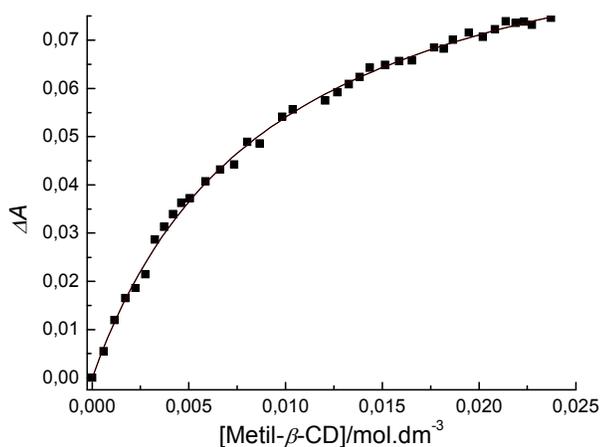


Figura 20: Variação das absorbâncias da banda solvatocrômica do corante em solução aquosa com adições crescentes de Me- β -CD. A concentração do corante foi de $1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ e as absorbâncias foram coletadas em 443,6 nm. (—) Curva ajustada com a equação 1.

3.1.6 Interações entre metil- β -CD em meio não tamponado

A fim de verificar a influência da força iônica sobre a afinidade do corante pela cavidade da CD, um estudo foi realizado utilizando metil- β -CD em meio não tamponado. O pH 10,0 do meio foi obtido pela adição de poucas gotas de solução aquosa de hidróxido de tetrabutilamônio à solução contendo o corante. Este pH foi suficiente para desprotonar completamente o corante. Foi verificado que a adição da CD junto à solução do corante provocava mudança batocrômica da banda solvatocrômica do corante e ocorrência de ponto isobéstico em 456,2 nm (Figura 21). O tratamento dos dados gerou um valor de $K_{11}=68,4\pm 3,3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ (Figura 22). Dessa forma, os dados mostram que o aumento da força iônica do meio provoca um aumento na estabilidade do complexo, em consonância com outros estudos descritos pela literatura (REKHARSKY, 1995).

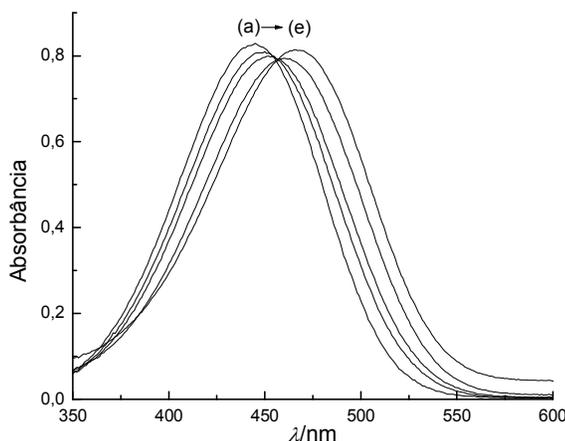


Figura 21: Espectro de UV-vis a 25°C de solução de MB ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) em solução aquosa (pH 10,0; meio não tamponado) contendo metil- β -CD em concentrações de (a) zero, (b) $1,15 \times 10^{-3}$, (c) $2,22 \times 10^{-3}$, (d) $7,10 \times 10^{-3}$ e (e) $1,80 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$.

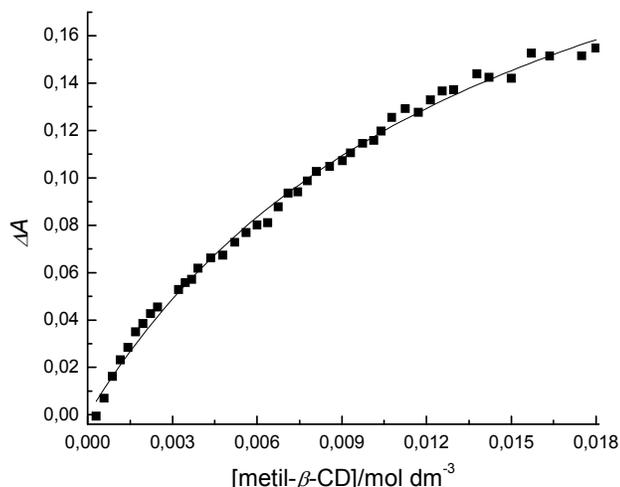


Figura 22: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica da MB em solução aquosa (pH=10,0; sem tampão) com a adição de quantidades crescentes metil-β-CD. A concentração do corante foi de $1,0 \times 10^{-5}$ mol dm⁻³ e as absorvâncias foram coletadas em 443,9 nm. (–) Curva ajustada com a Equação 1.

3.1.7 Considerações sobre a interação da MB com as CDs analisadas

A comparação entre as CDs naturais demonstra que elas apresentam diferentes comportamentos quando em solução aquosa com MB. Enquanto a α-CD e a β-CD formam complexos de inclusão do tipo 1:1, a γ-CD não demonstra evidência da formação de complexo de inclusão. Isso pode ser explicado pelos diâmetros internos das cavidades das CDs. Tendo a γ-CD um diâmetro superior quando comparada às outras CDs, isso impede que o corante se ajuste de maneira adequada. Os resultados evidenciam que a CD que apresenta melhor ajuste com a MB é a β-CD.

A formação de complexo de inclusão envolvendo CDs modificadas a partir da substituição dos grupos hidroxilas, na CD, pelos grupos metila e hidroxipropila tornam as CDs mais flexíveis. Esta substituição também é responsável pelo aumento da solubilidade das CDs modificadas e pela formação de ligações de hidrogênio intramoleculares. Sendo verificado que os valores das constantes de inclusão foram menores para as CDs modificadas, podemos justificar isso pelo aumento da flexibilidade, ocorrendo, assim, diminuição da pré-organização das CDs, o que torna

a interação entre corante e CD menos efetiva, e também pelo menor favorecimento entrópico do sistema (REKHARSKY, 1998).

O uso de corantes solvatocrômicos apresenta um aspecto relevante, que é a possibilidade de detecção visual das CDs a partir de reconhecimento seletivo com o uso de um indicador colorido adequado. Este trabalho tem demonstrado que as CDs que interagem mais fortemente com o corante apresentam acentuada mudança de coloração (cor laranja) quando comparada à solução aquosa de MB (cor amarela). Embora tenhamos observado pouca mudança de coloração e pequena seletividade do corante em relação às CDs, o estudo de outras famílias de corantes merocianínicos deve levar a novos compostos capazes de reconhecerem seletivamente determinadas CDs, permitindo assim, o desenvolvimento de sondas hábeis para o reconhecimento visual de diferentes CDs e para a montagem de diferentes sensores cromogênicos e fluorogênicos para substratos neutros.

3.2 UM SENSOR CROMOGÊNICO PARA ANALITOS FUNDAMENTADO EM ENSAIOS DE COMPETIÇÃO DA MEROCIANINA DE BROOKER E DO ANALITO PELA CAVIDADE DE β - E METIL- β -CICLODEXTRINAS

A detecção de analitos neutros e aniônicos através do desenvolvimento de sensores cromogênicos baseados em experimentos de competição representa um alvo de interesse bastante atual, muito especialmente no que se refere à detecção de espécies neutras (MOHR, 2004). Os analitos neutros, tais como álcoois, aminas, aldeídos e hidrocarbonetos, correspondem a um grupo de espécies químicas presentes em uma miríade de processos de interesse bioquímico, biológico e ambiental. O reconhecimento destas espécies baseia-se em interações do tipo ligação de hidrogênio, de van der Waals ou efeito hidrofóbico com o interior da cavidade do ligante. Estas interações podem causar mudança na massa, condutividade ou no caso dos sensores ópticos, a indução na fluorescência ou modificação na capacidade de absorção de radiação visível do corante (MOHR, 2006), gerando assim uma resposta visual.

A formação de complexos de inclusão entre o receptor e muitos analitos é dificultada se eles apresentam alta volatilidade, dificultando a determinação das

constantes de associação, em espécies que apresentam estrutura com seis ou mais carbonos (C_6 ou $>C_{10}$), podendo acentuar o desvio padrão em mais de 10% (SZANILSZLÓ, 2005).

Pode-se verificar que um número muito grande de pesticidas tem sido constantemente lançado ao meio ambiente. A literatura reforça que muitos pesticidas sintéticos, bem como moléculas orgânicas apolares, são capazes de formar complexos de inclusão com as CDs, o que geralmente resulta no melhoramento de suas propriedades físico-químicas e solubilidade e instabilidade dos pesticidas, efeitos catalíticos sobre a degradação dos pesticidas, solucionando o desagradável gosto e aroma residuais em solos, água e ar influenciando sobre a adsorção dos pesticidas e lixiviação dos solos (VILLAVERDE, 2004; VRIELYNCK, 2004; CAI, 2005; SZANISZLÓ, 2005). Muitas pesquisas predizem o rápido desenvolvimento e a utilização das CDs para identificação de pesticidas, bem como outras moléculas orgânicas neutras (VILLAVERDE, 2004). O desenvolvimento de um sensor cromogênico, utilizando um corante solvatocrômico, capaz de gerar uma resposta visual na detecção de espécies neutras é o desafio desta parte do trabalho, bem como, auxiliar na determinação quantitativa de espécies aromáticas orgânicas aniônicas e compostos aromáticos neutros voláteis que apresentam impacto ambiental.

A Figura 23 representa esquematicamente a substituição do indicador, na cavidade da CD, por um substrato que tenha uma maior afinidade por ela.



Figura 23: Uso da interação CD:MB para montar um sensor colorimétrico para analitos neutros.

Esta mudança na coloração pode ser detectada visualmente ou por meio da técnica de UV-vis. Assim, pensa-se que uma diferença de coloração envolvendo a MB incluída na CD e livre em solução poderia ser empregada na elaboração de um sensor para moléculas em água. Este sensor está fundamentado em um método de substituição do indicador, que envolveria a troca do corante na cavidade da CD por um substrato que tenha uma maior afinidade por ela. Esta substituição levaria à mudança da cor da solução, a qual poderia ser detectada visualmente.

Os resultados obtidos a partir dos testes realizados com β -CD e Me- β -CD serão apresentados, discutidos e comparados entre si e com valores anteriormente determinados por Rekharsky (1998) e Szaniszló (2005).

Foram realizados estudos para a detecção de analitos orgânicos em solução aquosa (pH 10,55), em condições em que o complexo entre a merocianina de Brooker e as CDs se formou, a fim de se verificar se havia a substituição da merocianina no sítio de complexação pelo substrato orgânico. Foram utilizados como substratos o benzeno, o tolueno, o álcool benzílico e o fenol. Vale aqui ressaltar que nas condições usadas nos experimentos, em pH 10,55, uma fração considerável do fenol encontra-se presente na forma de fenolato (o pKa do fenol é igual a 9,9 (HADJU, 1981)). Foi observado que em meio tamponado não ocorria qualquer variação espectral quando os substratos empregados foram o benzeno, o tolueno e o álcool benzílico, mesmo após a sua adição para concentrações superiores a cinco equivalentes em relação à merocianina. Experimentos preliminares, no entanto, mostraram que o fenol, ao ser adicionado às soluções tamponadas contendo o complexo merocianina:CD, induzia importantes modificações no espectro da merocianina incluída à CD. Assim, inicialmente, experimentos foram realizados com o objetivo de se tentar determinar as constantes de associação do fenol com as CDs usando ensaios de competição. Foram preparadas soluções de fenol em Me- β -CD, em concentração igual a $0,25 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ e em β -CD, em concentração igual a $0,50 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Foi observado que na CD modificada ocorria diminuição da solubilidade do fenol, o que justifica as diferentes concentrações do analito utilizadas.

3.2.1 Estudos do Efeito da Adição de Fenol ao Complexo Formado pela Merocianina de Brooker e a CD (β -CD e Metil- β -CD) em Solução Tamponada (pH 10,55)

A Figura 24 ilustra, por uma seqüência de espectros de UV-vis, o efeito da adição de concentrações crescentes de fenol à solução aquosa contendo a MB inicialmente complexada com a β -CD em pH 10,55. Pode ser observado que a

adição do substrato leva a um deslocamento hipsocrômico da banda solvatocrômica do corante, o que significa que ele é transferido de um ambiente menos polar (a cavidade da CD) para outro mais polar (a fase aquosa). Quando a concentração de fenol adicionado é igual a $0,50 \text{ mol.dm}^{-3}$, a banda solvatocrômica é deslocada hipsocromicamente do valor original de $455,0 \text{ nm}$ para 446 nm . Observou-se também a presença de um ponto isobéstico em $412,0 \text{ nm}$, o que sugere a formação de complexo de associação entre a β -CD e o fenol, na proporção de 1:1. Os dados foram coletados em $455,0 \text{ nm}$ (região solvatocrômica referente à MB e β -CD), sendo observado deslocamento hipsocrômico da banda solvatocrômica e diminuição da absorvância, após as adições de fenol.

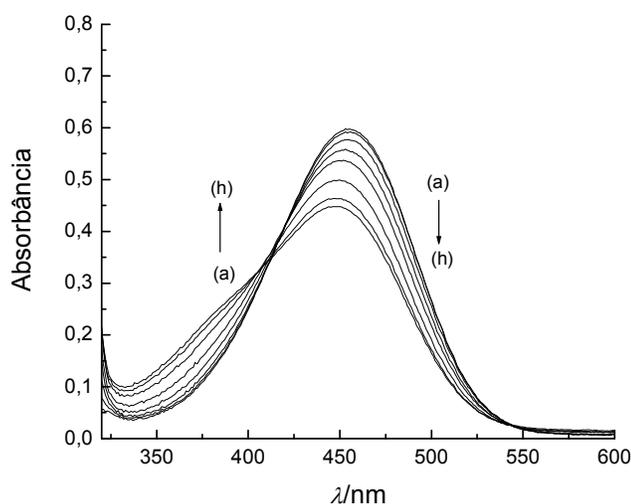


Figura 24: Espectros de UV-vis para a MB a $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em β -CD ($7,05 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$) com adições de fenol em solução aquosa (pH 10,55) em concentrações: (a) zero, (b) $1,06 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $2,08 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $4,91 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $9,00 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, (f) $0,253 \text{ mol.dm}^{-3}$, (g) $0,332 \text{ mol.dm}^{-3}$ e (h) $0,369 \text{ mol.dm}^{-3}$.

Os parâmetros estatísticos de análise foram calculados a partir dos dados de absorvância coletados em $456,0 \text{ nm}$ gerando a Figura 25. A constante de associação foi então calculada a partir do ajuste não linear descrito pela equação 1, gerando um valor de $K_{11} = 9,00 (\pm 8,00) \times 10^{-2} \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\chi^2 = 6,06 \times 10^{-6}$).

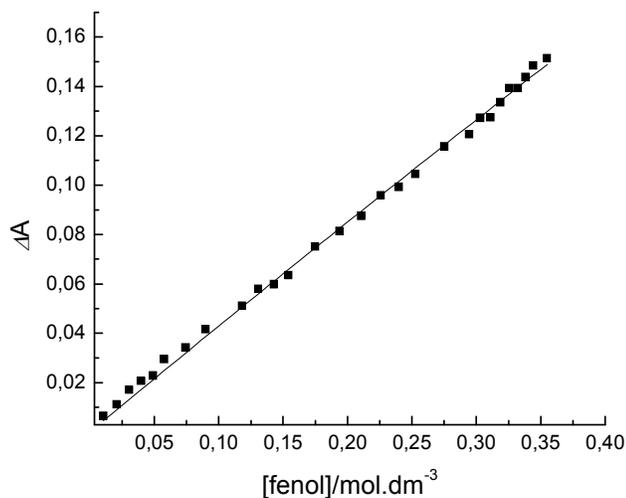


Figura 25: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica da MB complexada à β -CD em solução aquosa (pH 10,55) com adições crescentes de fenol. A concentração do corante foi de 1×10^{-5} mol.dm⁻³ e as absorvâncias foram coletadas em 455,0 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1.

Na Figura 26 são apresentados os espectros de UV-vis da MB a partir de adições crescentes de fenol em solução aquosa de Me- β -CD (pH 10,55). De maneira semelhante ao que foi observado para os experimentos em β -CD, ocorreu deslocamento hipsocrômico da banda solvatocrômica da MB após as adições de fenol. Com a concentração de fenol adicionada igual a 0,25 mol.dm⁻³, a banda solvatocrômica da MB em solução contendo a Me- β -CD passa de 469,0 nm para 456 nm. Observou-se também presença de ponto isosbéstico em 452,0 nm, o que sugere a ocorrência de complexo de associação entre a Me- β -CD e o fenol, na proporção de 1:1.

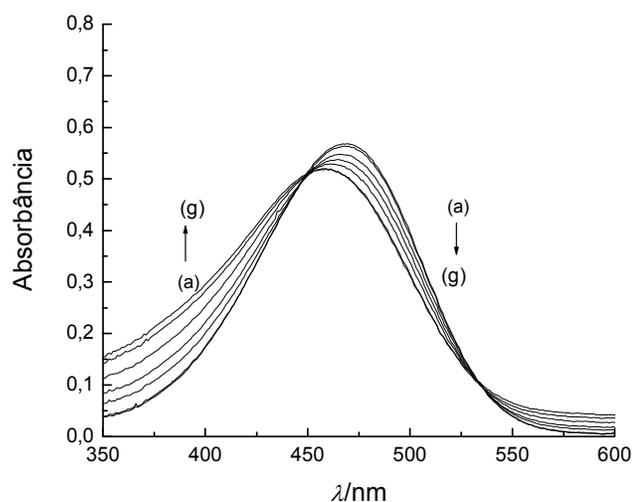


Figura 26: Espectros de UV-vis para a MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) a 25°C em solução de Me- β -CD ($3,00 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) com adições de fenol em solução aquosa (pH 10,55) em concentrações: (a) zero, (b) $9,62 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $5,47 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $8,85 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $1,25 \times 10^{-1} \text{ mol.dm}^{-3}$, (f) $1,72 \times 10^{-1} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (g) $1,87 \times 10^{-1} \text{ mol.dm}^{-3}$.

Os valores das absorvâncias em 469 nm como uma função da concentração do fenol adicionado geraram a Figura 27, e a partir destes dados foi calculada a constante de associação, por meio da equação 1, gerando um valor de $K_{11} = 1,41 \pm 0,16 \text{ dm}^{-3} \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\chi^2 = 9,58 \times 10^{-7}$).

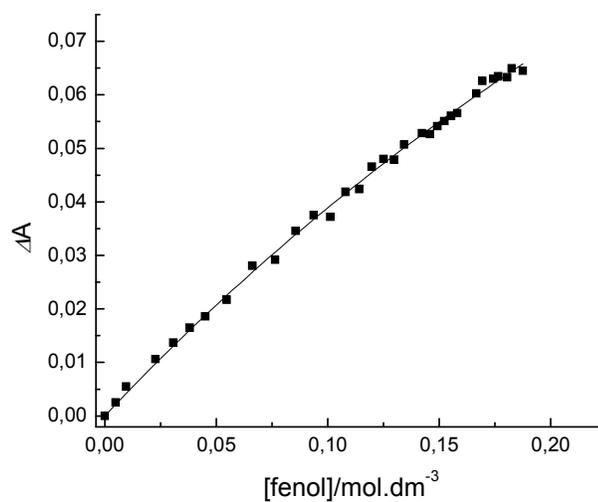


Figura 27: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica da MB complexada à Me- β -CD em solução aquosa (pH 10,55) com adições crescentes de fenol. A concentração do corante foi de $1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ e as absorvâncias foram coletadas em 456, 0 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1.

Embora importantes mudanças espectrais tenham sido detectadas nos experimentos executados em meio tamponado, os valores das constantes de associação do fenol com as CDs estudadas foram bastante baixos. Assim, foram realizados testes em meio não tamponado a fim de se verificar possíveis aumentos nas constantes de associação fenol:CD por uma provável maior facilidade de troca da merocianina pelo fenol no sítio receptor da CD. Neste experimento, a MB desprotonada em água (pH 10,0 com adição de hidróxido) era complexada com a CD e a esta solução eram adicionadas concentrações crescentes de uma solução aquosa do fenol.

A Figura 28 apresenta o efeito do fenol adicionado a uma solução aquosa contendo o complexo da MB com a Me- β -CD. Pode ser observado que a adição de fenol, em concentrações iguais a $0,95 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, leva à mudanças hipsocrômicas na banda solvatocrômica do corante de 469,3 nm para 372,6 nm, observando-se presença de ponto isobéstico em 414,6 nm. Estes dados indicam a inclusão do fenol na cavidade da CD, e sugerem formação de complexo de inclusão do tipo 1:1.

Os resultados são intrigantes, considerando-se que se o corante é removido do sítio de complexação e retorna à solução, a coloração do meio deveria retomar o estado inicial e voltar a ficar amarela, e não ficar incolor, como foi verificado nos testes efetuados. A perda da cor verificada nas soluções somente poderia ser devido à protonação da merocianina após a sua saída da cavidade da CD. No entanto, qual seria a fonte de prótons que tornaria incolor a solução? Testes então foram realizados a fim de determinar-se a fonte de prótons do meio. Foram feitos testes em atmosfera de N_2 , com a cubeta fechada com septo de borracha e selada com parafilme. A água deionizada utilizada foi fervida para remoção do CO_2 do meio e mantida em atmosfera de N_2 , também fechada com septo de borracha e selada com parafilme. As amostras de solução foram transferidas à cubeta por meio de microsseringas, ficando sempre em atmosfera de N_2 . Estes testes revelaram que o CO_2 era o agente responsável pela protonação do corante e, conseqüentemente, por tornar incolores as suas soluções. Os resultados destes testes podem ser observados no Apêndice II deste trabalho. Uma outra questão que surgiu estaria relacionada à possibilidade de que a descoloração das soluções pudesse ter ocorrido simplesmente pela ação do CO_2 , sem qualquer participação do fenol

adicionado. Assim, soluções aquosas não tamponadas contendo o complexo da merocianina com as CDs foram deixadas em cubeta aberta e espectros de UV-vis foram realizados em um intervalo de 30 min, o que correspondeu à duração média dos ensaios efetuados de adição do fenol. Não foi verificada qualquer alteração espectral, confirmando que o fenol complexa-se à CD e desloca a merocianina da cavidade da CD.

A partir das evidências para formação do complexo de associação, os dados experimentais foram tratados matematicamente, sendo obtido um valor de $K_{11} = (2,32 \pm 0,38) \times 10^3 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\chi^2 = 8,00 \times 10^{-5}$), conforme mostrado na Figura 29.

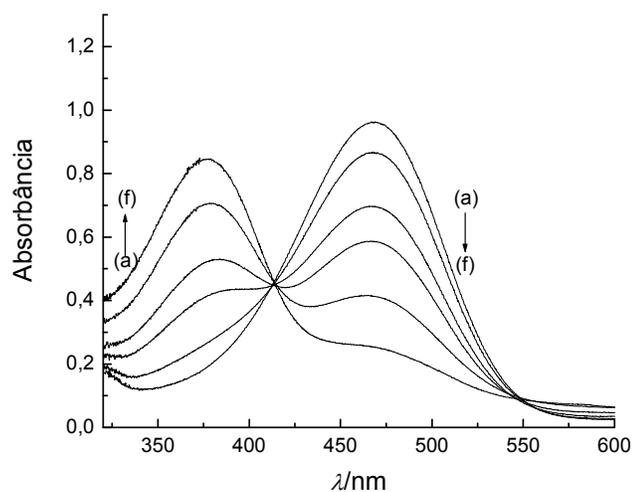


Figura 28: Espectros de UV-vis da MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$) em água em presença de Me- β -CD com adições sucessivas de fenol em água em concentrações de (a) zero, (b) $4,7 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, (c) $1,4 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, (d) $2,4 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, (e) $2,8 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ e (f) $4,7 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

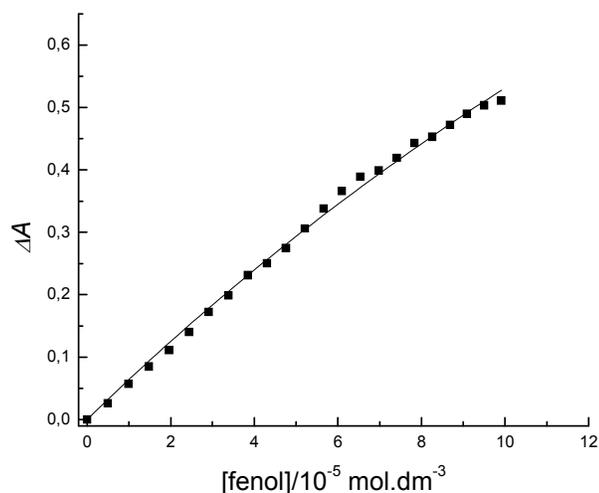


Figura 29: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa contendo Me- β -CD ($3 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$) com adições crescentes de fenol. As absorvâncias foram coletadas em 469,3 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1.

Os mesmos experimentos em meio não tamponado foram efetuados usando-se a β -CD e conduziram a resultados similares. A Figura 30 representa os espectros de UV-vis da MB em solução aquosa, em presença da β -CD, após adições de fenol. A banda solvatocrômica de MB em β -CD é verificada em 455,9 nm. Após titulação de fenol em concentração igual a $0,95 \text{ mol.dm}^{-3}$ a absorvância diminui ocorrendo deslocamento hipsocrômico da banda solvatocrômica para de 455,9 nm para 375,5 nm. Também é possível observar a presença de ponto isobéptico em 401,3 nm, o que evidencia a inclusão do fenol na cavidade da β -CD, sugerindo a formação de complexo de associação do tipo 1:1.

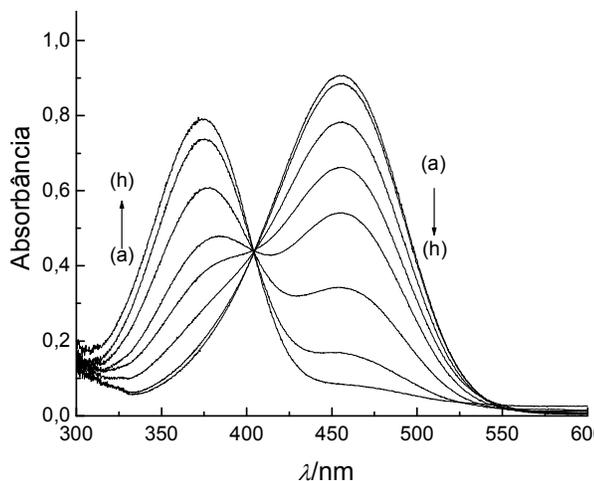


Figura 30: Espectros de UV-vis da MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em água na presença de β -CD com adições sucessivas de fenol em água em concentrações de (a) zero, (b) $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $2,9 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, (f) $4,3 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, (g) $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (h) $8,3 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$.

Após a obtenção dos gráficos de UV-vis, as absorbâncias foram coletadas em 455,9 nm e os dados foram tratados com a equação 1. A partir do ajuste não linear foi obtido um $K_{11} = (3,53 \pm 0,52) \times 10^3 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\chi^2 = 2,00 \times 10^{-4}$). Os dados obtidos confirmam a formação de complexo de associação do tipo 1:1 entre a CD e o fenol, respectivamente (Figura 31).

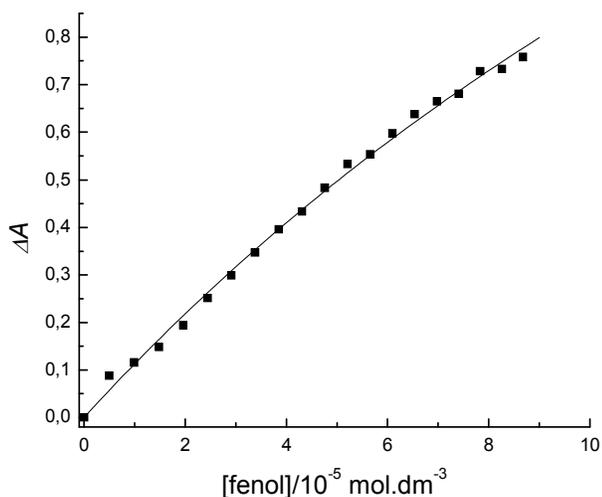


Figura 31: Variação das absorbâncias para a banda solvatocrômica do corante MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa com adições crescentes de fenol. As absorbâncias foram coletadas em 455,9 nm e os dados experimentais foram ajustados com a equação 1.

Os dados experimentais obtidos foram, então, comparados com os obtidos na literatura, os quais geraram valores satisfatórios, de mesma magnitude, conforme apresentado na Tabela 2. As diferenças obtidas ao se compararem os valores das constantes devem-se, sobretudo às diferentes condições experimentais dos estudos efetuados.

Tabela 2

Constantes de associação para os complexos de inclusão de fenol em β -CDs a 25°C em solução aquosa

CD	Fenol			
	Ponto isobéptico (nm)	K_{11}^a (dm ³ mol ⁻¹)	χ^2	K_{11}^b (dm ³ mol ⁻¹)
β -CD	401,3	(3,53±0,52)×10 ³	2,00×10 ⁻⁴	2,51×10 ³
metil- β -CD	414,6	(2,32±0,38)×10 ³	8,00×10 ⁻⁸	-

^a Calculado a partir da equação 1. ^b Rekharsky (1998).

Em suma, os experimentos feitos com fenol como substrato demonstraram que embora ele tenha provocado alterações espectrais no sistema MB:CD tanto em meio tamponado como em meio não tamponado, os efeitos mais importantes ocorreram em meio não tamponado. Foi verificado que a solubilidade do fenol é muito maior em meio não tamponado, o que pode ser facilmente explicado pelo fato de que a polaridade aumentada pelo meio tamponado torna mais difícil a solubilização do substrato. Também, verificou-se que com a força iônica elevada pela presença do sistema tampão ficou muito dificultada a substituição da merocianina pelo fenol na cavidade da CD, o que foi traduzido por valores muito baixos de constantes de associação. Foi ainda mostrado no capítulo 3 (seções 3.1.5 e 3.1.6) que a constante de associação da merocianina com a metil- β -CD apresenta valor mais alto em meio tamponado, que apresenta força iônica mais alta, que em meio não tamponado, o que constitui uma evidência importante para a dificuldade de se trocar o corante pelo fenol em meio tamponado. Para finalizar, foi interessante constatar ainda que em meio não tamponado, o fenol facilmente expulsou a

merocianina da cavidade da CD e a mesma, exposta ao meio foi protonada, o que se traduziu em uma mudança de coloração do meio que pôde ser detectada visualmente.

3.2.2 Estudos do efeito da adição de tolueno, benzeno e álcool benzílico ao complexo formado pela merocianina de Brooker e a CD (β -CD e Metil- β -CD) em solução não tamponada (pH 10,0)

Pelo fato que os substratos utilizados nos testes possuem baixa polaridade, foi utilizado como solvente o metanol. Para comprovar que os resultados deste trabalho não foram obtidos através de efeito de diluição, testes foram realizados onde foi verificado que a adição máxima de metanol referente à adição dos analitos neutros não provoca alteração significativa na banda solvatocrômica, demonstrando assim que os efeitos observados pela adição dos analitos não são devidos a efeitos de diluição das soluções da MB. Os erros relativos médios obtidos foram de 3,2% para o fenol, 4,2% para o tolueno e 4,7% para o álcool benzílico e benzeno, em consonância com a literatura (SZANISZLÓ, 2005) onde o erro relativo médio, utilizando-se o método analítico de cromatografia gasosa, descrito para substratos neutros chega a ultrapassar 10%. A seguir, na Tabela 3 e na Tabela 4, são apresentados os valores das constantes de associação obtidas para tolueno, benzeno e álcool benzílico em β - e metil- β -CD, sendo também comparados com valores obtidos da literatura (REKHARSKY, 1998; SZANISZLO, 2005). Os dados experimentais coletados verificou-se formação de complexos de inclusão com estequiometria do tipo 1:1, apresentando baixos valores no erro calculado ($\chi^2 < 1,20 \times 10^{-4}$).

Tabela 3

Constantes de associação para os complexos de inclusão de tolueno e álcool benzílico em β -CD a 25°C em solução aquosa

Analitos neutros	β -CD			
	Ponto isobéptico (nm)	K_{11}^a (dm ³ mol ⁻¹)	χ^2	K_{11} (dm ³ mol ⁻¹)
Tolueno	405,7	(1,45±0,06)×10 ³	6,00×10 ⁻⁵	2,14×10 ² ^b
Álcool benzílico	404,3	(1,12±0,40)×10 ³	8,00×10 ⁻⁵	2,09×10 ¹ ^c

^a Calculado a partir da equação 1. ^b Szaniszló (2005). ^c Rekharsky (1998).

Tabela 4

Constantes de associação para os complexos de inclusão de tolueno e benzeno em metil- β -CD a 25°C em solução aquosa

Analitos neutros	metil- β -CD			
	Ponto isobéptico (nm)	K_{11}^a (dm ³ mol ⁻¹)	χ^2	K_{11}^b (dm ³ mol ⁻¹)
Tolueno	407,4	(7,97±0,38)×10 ³	1,20×10 ⁻⁴	2,14×10 ² ^c
Benzeno	408,4	(1,55±0,10)×10 ⁴	6,00×10 ⁻⁵	1,70×10 ³

^a Calculado a partir da equação 1. ^b Valores para inclusão em β -CD (Rekharsky, 1998). ^c Valores para inclusão em β -CD (Szaniszló, 2005)

No que se refere aos testes realizados com benzeno em β -CD e com álcool benzílico em metil- β -CD, eles não estão representados por ocorrer um ajuste imperfeito entre os resultados obtidos e as equações testadas – equação descrita por Valeur (1992) e a equação descrita por Connors (1989) que se refere à estequiometria competitiva. A seguir, na Figura 32, é apresentado um gráfico que ilustra a variação das absorvâncias do benzeno em β -CD, onde é possível observar uma seqüência de pontos que é característica em complexos onde ocorre competição entre o corante incluído na CD e substrato adicionado.

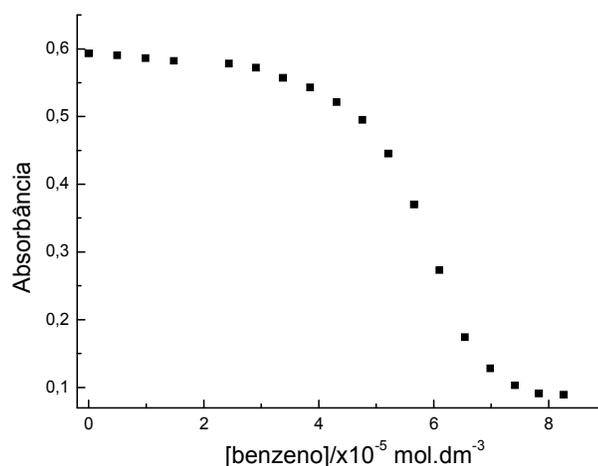


Figura 32: Variação das absorbâncias da banda solvatocrômica do corante MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em solução aquosa com adições crescentes de benzeno. As absorbâncias foram coletadas em 456 nm.

a) Adições em β -CD

Tolueno

A fim de verificar a força de interação entre outros substratos neutros apolares (tolueno e álcool benzílico) em relação à afinidade do corante pela cavidade da CD, um estudo foi realizado utilizando β -CD em meio não tamponado. O pH 10,0 do meio foi obtido pela adição de poucas gotas de solução aquosa de hidróxido de tetrabutilamônio à solução contendo o corante. Este pH foi suficiente para desprotonar completamente o corante. Foi verificado que a adição da CD junto à solução do corante apresenta banda solvatocrômica em 455,9 nm e que após a adição de tolueno ocorre deslocamento hipsocrômico da banda solvatocrômica para 376,5 nm (Figura 33), com presença de ponto isosbético em 405,7 nm. O tratamento dos dados obtidos gerou bons resultados, com um valor de $K_{11} = (1,45 \pm 0,057) \times 10^3$ dm³ mol⁻¹ ($\chi^2 = 6,00 \times 10^{-5}$) (Figura 34). Em consonância com outros estudos descritos pela literatura (SZANISZLÓ, 2005). Dessa forma, os dados apresentam que o aumento da concentração de tolueno adicionado provoca um aumento na estabilidade do complexo entre CD e tolueno, permitindo a troca do corante do interior da cavidade da CD.

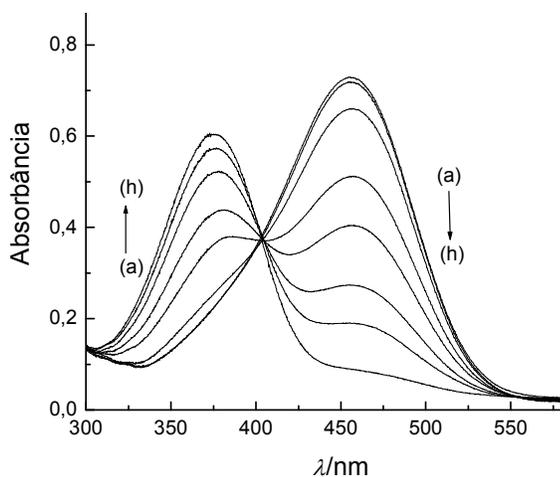


Figura 33: Espectro UV-vis da (a) MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em água em presença de β -CD com adições sucessivas de tolueno em água em concentrações de (b) zero; (c) $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$; (d) $2,4 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (e) $5,7 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (f) $6,1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (g) $7,8 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (h) $8,3 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (i) $8,1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$.

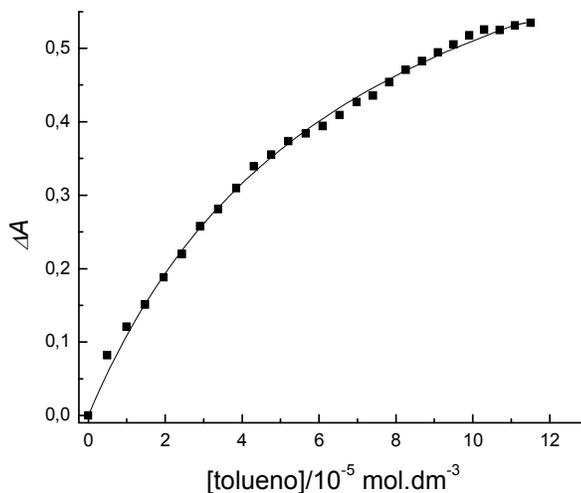


Figura 34: Variação das absorbâncias da banda solvatocrômica do corante MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa com adições crescentes de tolueno. As absorbâncias foram coletadas em 455,9 nm. (—) Curva ajustada com a equação 1.

Álcool benzílico

A adição de álcool benzílico junto à solução de corante e CD apresenta deslocamento hipsocrômico da banda solvatocrômica de 455,9 nm para 378,6 nm, com presença de ponto isobéstico em 404,3 nm (Figura 35). O tratamento dos

dados obtidos gerou um valor de $K_{11}=(1,12\pm 0,40)\times 10^3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ ($\chi^2=8,00\times 10^{-5}$) (Figura 36). Os valores obtidos para a inclusão do álcool benzílico em β -CD, apresentam certa disparidade com outros estudos descritos pela literatura (REKHARSKY, 1998), o que pode ser justificado pela diferença dos métodos utilizados: o deste trabalho é espectrofotométrico, enquanto que o proposto por Rekharsky é calorimétrico. No entanto, os dados obtidos demonstram a inclusão do álcool benzílico na cavidade da CD e apontam para a formação de complexo de inclusão do tipo 1:1.

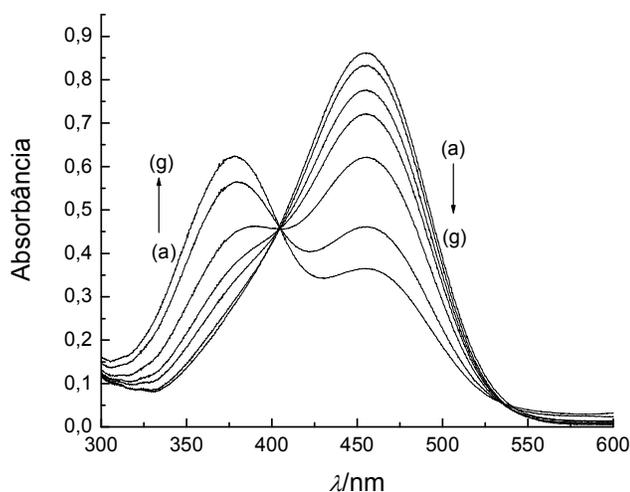


Figura 35: Espectro UV-vis da MB ($1\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em água em presença de β -CD com adições sucessivas de álcool benzílico em água em concentrações de (a) zero; (b) $5,0\times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$; (c) $1,5\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (d) $2,4\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (e) $4,3\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (f) $6,5\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (g) $1,1\times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$.

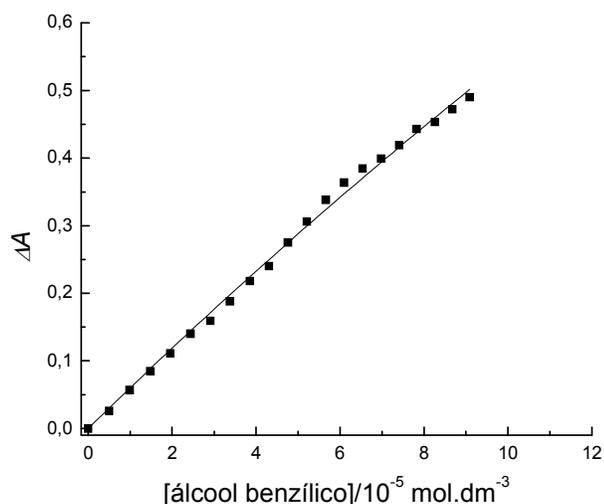


Figura 36: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante MB (1×10^{-5} mol.dm⁻³) em solução aquosa com adições crescentes de álcool benzílico. As absorvâncias foram coletadas em 455,9 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1.

b) Me- β -CD

Tolueno

Testes em meio não tamponado também foram realizados em metil- β -CD a fim de verificar a força de interação entre outros substratos neutros apolares (tolueno e benzeno) em relação à afinidade do corante pela cavidade da CD. O pH 10,0 do meio foi obtido pela adição de poucas gotas de solução aquosa de hidróxido de tetrabutilamônio à solução contendo o corante. Este pH foi suficiente para desprotonar completamente o corante. A solução contendo corante e metil- β -CD apresenta banda solvatocrômica em 469,3 nm, e a adição de tolueno provoca deslocamento hipsocrômico da banda solvatocrômica para 376,4 nm, com presença de ponto isobéstico em 407,4 nm (Figura 37). O tratamento dos dados obtidos gerou um valor de $K_{11} = (7,97 \pm 3,28) \times 10^2$ dm³ mol⁻¹ ($\chi^2 = 1,20 \times 10^{-4}$) (Figura 38), de acordo com outros estudos descritos pela literatura (SZANISZLÓ, 2005). Os dados representam que o aumento da concentração de tolueno adicionado provoca a substituição do corante, do interior da cavidade da CD, pela molécula de tolueno. Os dados sustentam estequiometria do tipo 1:1.

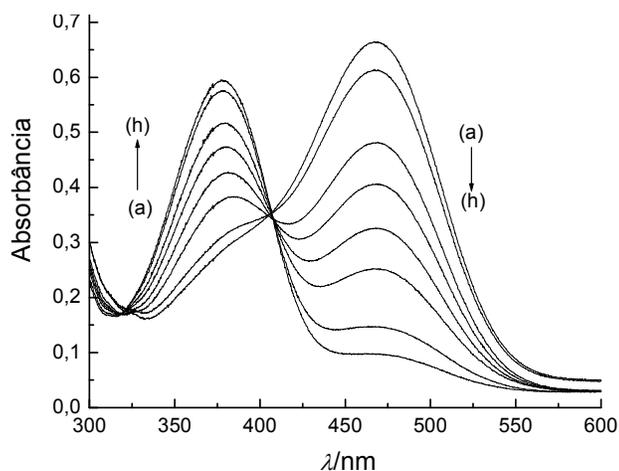


Figura 37: Espectro UV-vis da MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em água em presença de Me- β -CD com adições sucessivas de tolueno em água em concentrações de (a) zero; (b) $3,4 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$; (c) $2,7 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (d) $3,8 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (e) $4,9 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (f) $6,4 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (g) $7,41 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (h) $8,42 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$.

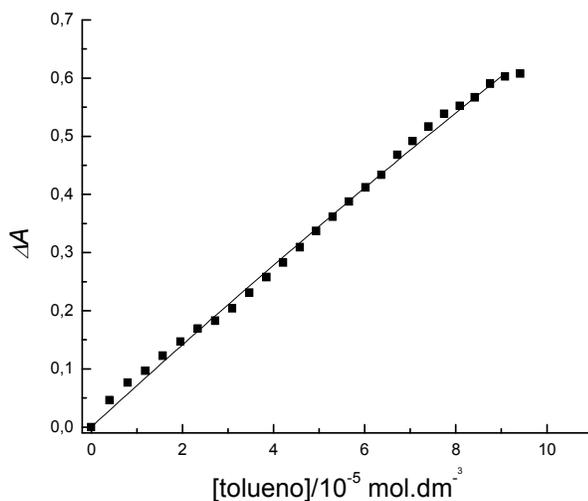


Figura 38: Variação das absorvâncias da banda solvatocrômica do corante MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa com adições crescentes de tolueno. As absorvâncias foram coletadas em 469,3 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1.

Benzeno

A adição de benzeno à solução de corante e CD apresenta deslocamento hipsocrômico da banda solvatocrômica de 469,3 nm para 377,2 nm, com presença de ponto isobéptico em 408,4 nm (Figura 39). O tratamento dos dados obtidos

gerou um valor de $K_{11}=(1,55\pm 0,10)\times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$ ($\chi^2= 6,00\times 10^{-5}$) (Figura 40). Os valores obtidos para a inclusão do benzeno em Me- β -CD, apresentam semelhança com outros estudos descritos pela literatura (REKHARSKY, 1998). Os dados obtidos demonstram a inclusão do benzeno na cavidade da CD e apontam para a formação de inclusão do tipo 1:1.

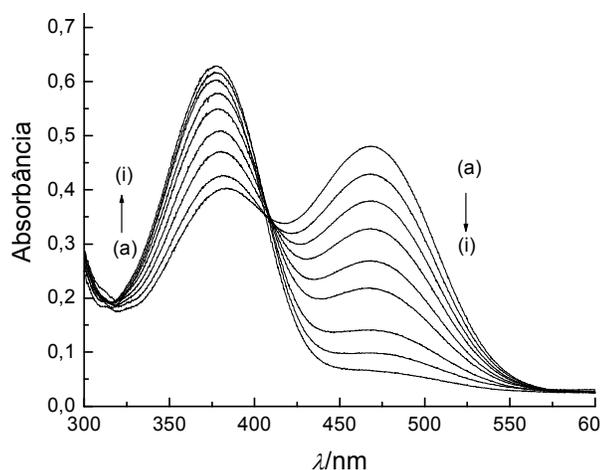


Figura 39: Espectro UV-vis da MB ($1\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em água em presença de Me- β -CD com adições sucessivas de benzeno em água em concentrações de (a) zero; (b) $4,0\times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$; (c) $1,2\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (d) $2,0\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (e) $2,3\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (f) $3,1\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (g) $4,2\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (h) $5,7\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (i) $7,4\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$.

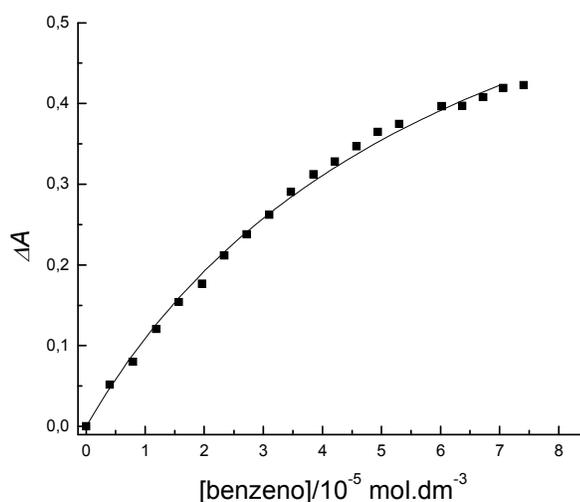


Figura 40: Variação das absorbâncias da banda solvatocrômica do corante MB ($1\times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em solução aquosa com adições crescentes de benzeno. As absorbâncias foram coletadas em 469,3 nm. (–) Curva ajustada com a equação 1.

3.2.3 Sobre a utilização do sistema MB:CD para a determinação de constantes de associação de CDs com substratos neutros voláteis e para a montagem de sensores cromogênicos para analitos neutros

A adição de cada um dos substratos ao complexo MB:CD em água mostrou a presença de ponto isobéptico, caracterizando um equilíbrio entre duas espécies em solução, isto é, o corante livre e o complexo CD:MB. Isto se deve ao fato de que ao ser substituído o corante no complexo, ele é transferido de um meio de polaridade mais baixa (interior da CD) para outro de polaridade alta (água), levando ao deslocamento hipsocrômico observado. O deslocamento de equilíbrio do sistema é favorável para que ocorra a substituição da MB inclusa no interior da cavidade da CD, que apresenta um microambiente apolar, pelos analitos testados, neutros e apolares.

Verificaram-se mudanças na coloração do meio para os experimentos realizados em sistema aquoso não tamponado, permitindo assim a detecção visual. A MB em solução aquosa apresenta coloração amarela, após a adição de β -CD a solução torna-se amarela mais intensa e a adição de Me- β -CD à solução aquosa de MB altera a cor da solução para alaranjada. Após a adição dos analitos, tanto em β -CD quanto em Me- β -CD, a coloração torna-se quase incolor, deslocando a banda solvatocrômica para a região do UV.

Várias equações foram testadas a fim de determinar as constantes de inclusão dos analitos em questão. Após vários tratamentos e ajustes estatísticos realizados, foi possível determinar, a partir do ajuste não linear descrito por CONNORS (1987), as constantes de associação e a estequiometria dos complexos formados, sendo do tipo 1:1. Isto significa que em cada molécula de CD que apresentava inclusa uma molécula de corante, os analitos testados removiam o corante e eram incluídos na cavidade da CD testada (β e Me- β -CD) na proporção de um analito para cada CD.

A Figura 41 apresenta alguns testes de detecção visual realizados para amostras contendo fenol em solução tampão. Podemos observar, na amostra (a) apenas solução tampão, a qual apresenta a mesma coloração se o meio não fosse tamponado, isto é, incolor. Em (b), a solução tamponada passa para amarela após a

adição de $1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ de MB. Dessa solução, parte foi dividida para preparar solução contendo metil- β -CD, em concentração igual a $3 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$, onde verifica-se que a amostra passa para cor alaranjada (c), devido à diminuição da polaridade do meio pela inclusão da MB na cavidade da CD. Testes realizados demonstraram que este mesmo resultado é obtido em solução aquosa em meio não tamponado. A partir da solução obtida em (c), foi adicionada solução de fenol, em concentração igual a $9,41 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$, obtendo-se a solução da amostra (e), onde observa-se que praticamente não ocorre alteração na coloração da amostra. Nas mesmas condições e concentrações, foi adicionado fenol à solução alaranjada referente ao complexo MB:CD, preparada em meio não tamponado, onde foi possível observar diferença significativa na coloração obtida (amostra (d)), o que sugere e evidencia a formação de complexo de associação entre CD e fenol.

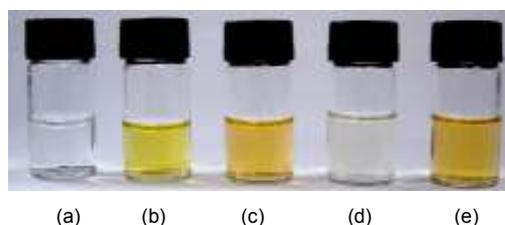


Figura 41: Colorações de soluções aquosas apresentando: (a) tampão (pH 10,55; $I=0,216 \text{ mol dm}^{-3}$); (b) tampão com MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$); (c) tampão com MB e Me- β -CD (igual coloração para MB em meio não tamponado com Me- β -CD); (d) MB em meio não tamponado com Me- β -CD e fenol adicionado; (e) MB+ solução tampão+ Me- β -CD+fenol.

As mudanças de coloração obtidas, aliadas ao uso de corantes solvatocrômicos, apresentam aspecto relevante, porque pode ser vislumbrado o seu uso para o desenvolvimento de sensores cromogênicos para a detecção visual e quantitativa de substratos orgânicos aromáticos neutros e voláteis, o que representa uma área multidisciplinar de grande interesse na atualidade. Um exemplo interessante nesta linha envolve o uso da fenolftaleína associada à β -CD para a determinação de ácidos graxos (SKOULIKA, 1999).

Embora as CDs estudadas sofram de uma limitação importante, que é o fato de serem pouco seletivas para determinados substratos, podem ser trabalhadas modificações sintéticas no seu arcabouço visando à obtenção de receptores mais eficientes. Por outro lado, a facilidade de planejamento sintético de corantes

cianínicos e merocianínicos deve levar a unidades sinalizadoras cromogênicas e fluorescentes apresentando alta eficiência de resposta espectral. Com relação a este último aspecto, vale ressaltar que a MB é fluorescente (CAVALLI, 2006), o que permitiria em princípio a utilização do sistema aqui apresentado como um sensor fluorogênico.

3.3 UM SENSOR CROMOGÊNICO ANIÔNICO SELETIVO PARA FLUORETO BASEADO NA INTERAÇÃO DO ÁCIDO FENIL BORÔNICO COM A MEROCIANINA DE BROOKER

Numerosos ensaios têm sido desenvolvidos para a detecção de ânions em solução, bem como para a detecção de uma grande quantidade de cátions e analitos neutros. O desenvolvimento de sensores químicos para estes analitos representa uma importante linha de pesquisa na atualidade. Uma das razões para este interesse encontra-se na detecção e quantificação de diferentes espécies para possíveis aplicações nas áreas ambiental e bioquímica (LAKOWICZ, 2005). No, entanto, o desenvolvimento de sensores colorimétricos para espécies aniônicas é ainda limitado quando em comparação com os sensores fluorescentes aniônicos geralmente utilizados. Entre os sensores aniônicos desenvolvidos, aqueles que usam alterações de sinal óptico são de interesse especial. Durante os últimos anos, sensores para a detecção de cianeto e haletos utilizando ácido borônico como fluoróforo têm sido desenvolvidos, utilizando diferentes técnicas (BADUGU, 2005). Estas técnicas envolvem cromatografia, potenciometria e espectrofotometria de UV-vis, entre outras.

Entre os estudos que se referem ao uso e ao desenvolvimento de novos sensores, uma interessante estratégia envolve a de competição entre o indicador e um substrato aniônico pelo sítio receptor (ANSLYN, 1999). Esta substituição trabalha com sensores aniônicos se diferenças espectrais puderem ser detectadas para o indicador livre e complexado e também se o sítio receptor for capaz de reconhecer principalmente uma espécie química entre muitos substratos.

Os ácidos borônicos são moléculas que têm atraído a atenção pela sua capacidade em se ligar seletivamente com ânions e monossacarídeos. Essa

aplicação em unidades receptoras permite a identificação de diferentes espécies químicas, merecendo ser citadas espécies como o cianeto, ânion que em quantidades-traço pode causar a morte (GEDDES, 2005) e a glicose, molécula neutra que em níveis excessivos no sangue é responsável pelo diabetes (KAWANISHI, 2004).

Dessa forma, em uma terceira etapa deste trabalho, pretende-se montar um sensor cromogênico para ânions através do uso de MB em acetonitrila, como sonda solvatocrômica, que é colorida. O trabalho consiste na interação do ácido fenil borônico (AB) com a MB em acetonitrila, capaz de descolorir a solução. Em seqüência, um forte ânion nucleofílico como o fluoreto pode reagir com as espécies AB-MB, deslocando a MB. Sendo a MB colorida em acetonitrila, e a ligação covalente AB-MB incolor, a cor da solução pode a princípio retornar pela adição dos ânions fluoreto, como representado na Figura 42.

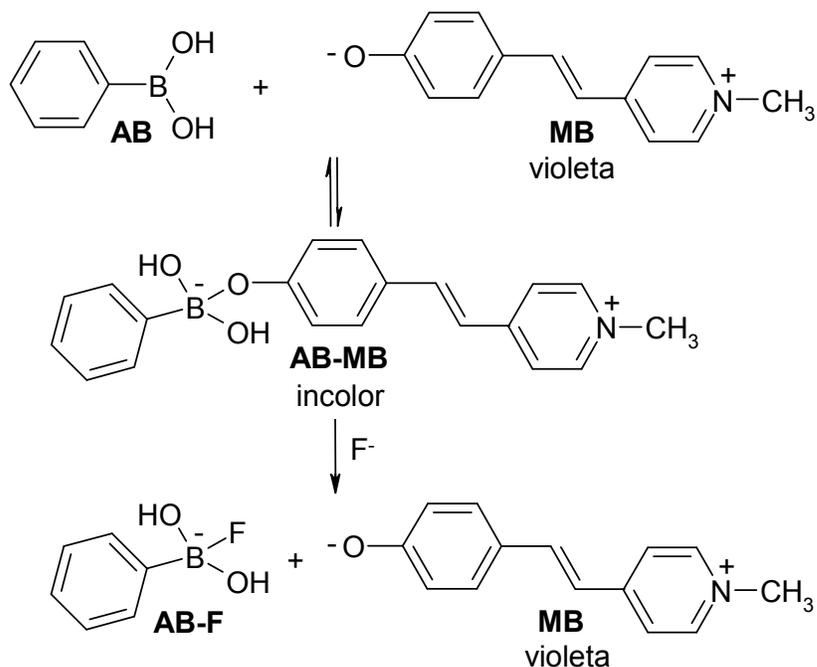


Figura 42: Montagem de um sensor cromogênico para fluoreto baseado em um intermediário AB-MB formado a partir da interação de AB com MB em acetonitrila.

3.3.1 Interação da Merocianina de Brooker com o Ácido Fenil Borônico

Pesquisas acerca da utilização de ácidos borônicos para o monitoramento de glicose (GEDDES, 2005), fluoreto (COOPER, 1998) e cianeto (BADUGU, 2005) despertaram o interesse. Assim, fizemos conjecturas de que se os ácidos borônicos reagem com ânions como fluoreto, cianeto e hidróxido, além de hidroxilas de açúcares, talvez pudessem também reagir com fenolatos. Dessa forma, propôs-se o desenvolvimento de uma sonda solvatocrômica baseada na associação covalente entre a MB e o AB.

Com isso, a partir de solução contendo MB em concentração igual a 1×10^{-5} mol.dm³, sendo a solução resultante violeta, foi separado volume suficiente para o preparo de solução contendo AB em concentração igual a 5×10^{-3} mol.dm⁻³. Assim, realizou-se a titulação de MB com solução contendo AB, sendo que a cada adição foram realizadas leituras no espectrofotômetro de UV-vis, as quais geraram a Figura 43. Com isso, os dados foram coletados em 571,0 nm sendo que após a adição de AB a banda solvatocrômica passa para 385,9 nm. Também foi possível identificar claramente a presença de ponto isobéstico em 470,1 nm, o que sugere associação entre as espécies envolvidas. Estes efeitos não podem ser explicados pela formação de ligação de hidrogênio entre o AB e a MB em acetonitrila. Embora se saiba que a adição de um solvente doador de ligação de hidrogênio (DLH) à MB causa deslocamento hipsocrômico da banda solvatocrômica do corante devido à interação específica através de ligação de hidrogênio do grupo OH do solvente DLH com o grupo fenolato da MB, os efeitos observados não são tão dramáticos quanto os observados neste caso. Faz-se necessária a adição de volumes bastante significativos do solvente DLH para provocar uma mudança hipsocrômica acentuada, mas este deslocamento jamais ocorre com supressão da banda solvatocrômica na região visível do espectro e tampouco é observada a presença de ponto isobéstico (SILVA, 2002; BEVILAQUA, 2004). Dessa forma, pode-se dizer que o efeito observado se deve à reação de MB com AB com formação de ligação B-O.

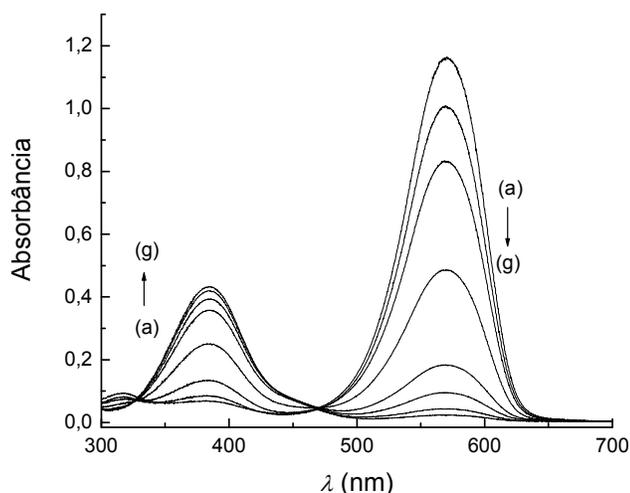


Figura 43: Espectros de UV-vis a 25°C para a MB ($2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em acetonitrila contendo AB à 25 °C em concentrações de: (a) zero; (b) $1,2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $6,2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, (d) $1,1 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (e) $1,5 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, (f) $1,7 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ e (g) $2,4 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$.

A Figura 44 apresenta um perfil obtido pela adição de AB à solução de MB em acetonitrila, o qual sugere uma estequiometria não definida para o complexo AB:MB.

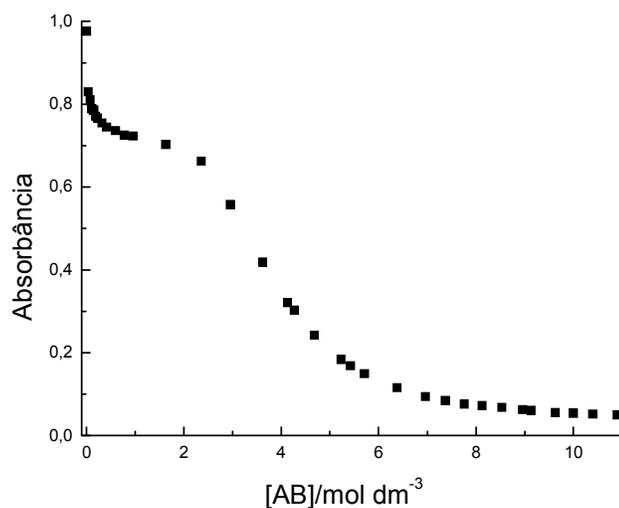


Figura 44: Variação das absorbâncias da banda solvatocrômica de MB em acetonitrila com adições crescentes de AB. A concentração do corante foi de $2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$ e as absorbâncias foram coletadas em 571, 0 nm.

Nas condições experimentais a cubeta continha solução de MB igual a $2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, a partir de uma solução estoque de AB com concentração igual a $2,46 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$ foi adicionado um máximo de $1,09 \times 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$ para se obter o efeito observado. Com isso, verifica-se que a primeira parte do perfil obtido na Figura 42 sugere que em condições em que a concentração de MB é bastante alta em comparação com a concentração de ácido fenil borônico poderia estar predominando uma estequiometria MB-AB do tipo 3:1. Assim, foi realizado experimento para verificar essa questão, que seria o inverso do que está representado na Figura 42. A Figura 43 foi obtida através da titulação de AB ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) usando-se uma solução de MB. A concentração da MB contida na solução estoque era de $5 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, sendo que a adição máxima foi de $1,21 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ de MB, para a obtenção do efeito verificado. As absorvâncias foram coletadas em 571,0 nm, verificando-se que a adição de até dois equivalentes de MB não acarretam nenhuma mudança espectral. A partir disso, é possível perceber duas inflexões, uma mais suave até quatro equivalentes de MB adicionada e outra bastante inclinada a partir dos quatro equivalentes de MB adicionada. Está claro na figura que é fácil adicionar dois equivalentes de MB à AB e que a adição do terceiro equivalente é um pouco mais difícil (possivelmente por razões estéricas), o que permite que verifiquemos as duas inflexões. A Figura 45 ilustra um método descrito por Connors (1987) para a obtenção de estequiometrias. A obtenção da figura foi através da razão entre a concentração de MB adicionada pela concentração de AB mantida constante. Pode ser observado que o gráfico sugere a formação de complexo do tipo 3:1 (3MB:1AB).

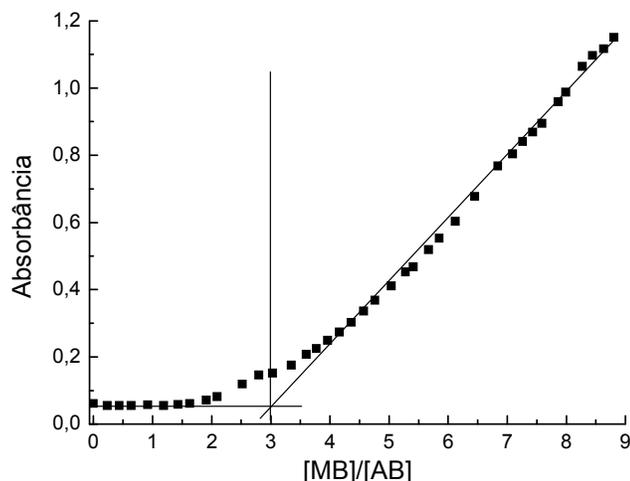


Figura 45: Razão entre as concentrações de MB adicionada (de zero a $1,21 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$) pela concentração de AB mantida constante ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$).

Embora possa ser observado que o complexo 3:1 (3MB:1AB) predomine quando a concentração de MB está em excesso, os estudos para a montagem de um possível sensor cromogênico foram realizados com um excesso de AB sobre MB de 27,8 vezes, em condições experimentais que favorecem o complexo MB-AB do tipo 1:1.

3.3.2 Desenvolvimento de Sensor Cromogênico Aniônico

A partir de pesquisas realizadas por Geddes e colaboradores (2005) e Badugu e colaboradores (2005) que utilizaram derivados de ácidos borônicos para o monitoramento de glicose e cianeto, surgiu a idéia do desenvolvimento de um sensor cromogênico para ânions. A literatura não apresenta nenhum trabalho que envolva o uso de um ácido borônico como receptor associado a um indicador, como os corantes solvatocrômicos, para o monitoramento aniônico.

Dessa forma, foi preparada solução de MB em acetonitrila, com concentração igual $1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, e a partir desta, preparou-se solução contendo AB. Após adição à cubeta da solução contendo corante a quantidade de ácido borônico adicionada foi equivalente a $2,78 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$. Foi então verificado, nestas condições, o possível efeito de diferentes ânions (fluoreto, cloreto, brometo,

iodeto, hidrogenossulfato, hidrogeno fosfato e nitrato de tetrabutílamônio), em concentração igual a $1 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, sobre este sistema.

A interação de AB-MB e AB com o fluoreto é apresentada nesta seção. A MB foi inicialmente solubilizada em acetonitrila a qual, a partir dos testes realizados, apresenta ligação covalente com o AB, isso provocou alteração na coloração do meio, de violeta para incolor. A seguir, os ânions (F^- , Cl^- , Br^- , I^- , H_2PO_4^- , HSO_4^- , e NO_3^-) foram adicionados à solução incolor, que continha o AB-MB. Foi observado que somente a adição do íon F^- provocou o reaparecimento da cor violeta original, restabelecendo a banda solvatocrômica em 571,0 nm (Figura 46). Em outras palavras, a solução incolor proveniente da interação covalente entre AB-MB retornou à coloração violeta pela adição de fluoreto (Figura 47). Isto faz do sistema estudado aqui uma outra estratégia eficiente, em comparação com outras descritas na literatura (LEE, 2001; ZHANG, 2003; ZHOU, 2005; REIS, 2006) para detectar fluoreto visualmente e quantitativamente.

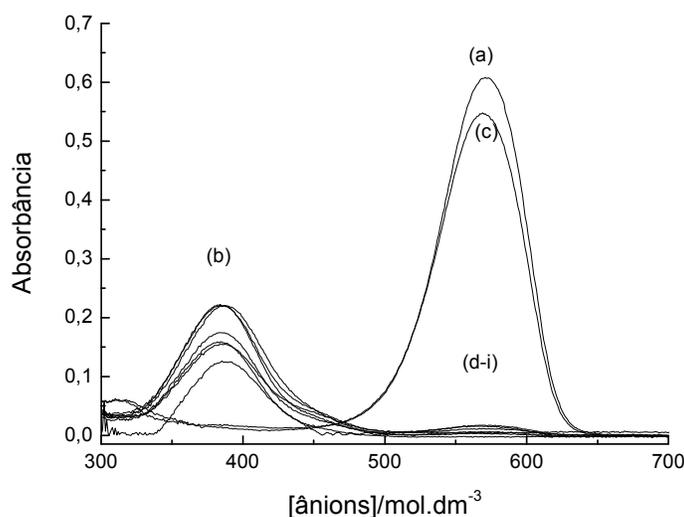


Figura 46: Espectros de UV-vis em solução de acetonitrila de (a) MB, (b) AB-MB em presença de (c) F^- , (d) Cl^- , (e) Br^- , (f) I^- , (g) H_2PO_4^- , (h) HSO_4^- , e (i) NO_3^- como sais de tetrabutílamônio em concentrações de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$. As concentrações de MB e AB foram $1,0 \times 10^{-5}$ e $2,78 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, respectivamente.



Figura 47: Teste de detecção visual para ânions em acetonitrila (da esquerda para a direita): MB, MB-AB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$: $2,78 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$, respectivamente), MB-AB+F⁻, MB-AB+Cl⁻, MB-AB+Br⁻, MB-AB+I⁻, MB-AB+HPO₄⁻, MB-AB+HSO₄⁻ e MB-AB+NO₃⁻. A concentração de todos os sais de tetrabutilamônio adicionados foi igual a $1 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$.

Verificando-se que o sistema é muito seletivo para fluoreto, foram realizados estudos para quantificar a influência do aumento da concentração do fluoreto em solução contendo AB-MB, e a seqüência de espectros da Figura 48 apresenta os espectros de UV-vis da MB em presença de AB, onde inicialmente foi preparado o complexo MB-AB com estequiometria 1:1 usando-se um excesso de 27,8 vezes de AB à cubeta contendo MB em acetonitrila. A seguir, o complexo foi titulado com adições crescentes de fluoreto. Observa-se que a banda solvatocrômica, referente ao complexo MB-AB, que aparece em 385,9 nm sofre deslocamento batocrômico com a adição de fluoreto, recobrando a coloração original, referente à solução da MB na ausência de AB, com aparecimento da banda solvatocrômica em 571,0 nm. É clara a presença de ponto isobéptico em 483,1 nm. Os dados obtidos são uma importante evidência para o fato que o fluoreto age como nucleófilo, deslocando a MB e formando a espécie AB-F, através de um mecanismo de substituição nucleofílica bimolecular.

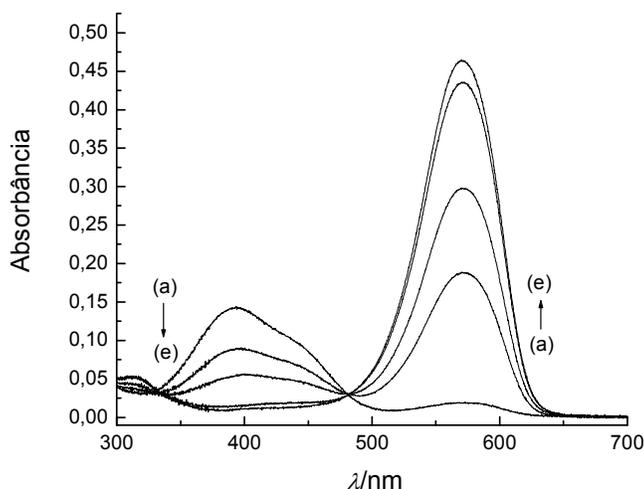


Figura 48: Espectros de UV-vis a 25°C para MB ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em acetonitrila inicialmente contendo ácido fenil borônico com adição de fluoreto em concentrações de : (a) zero; (b) $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$, (c) $2,90 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (d) $5,2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$; (e) $8,2 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$.

Os dados de absorvâncias em 571,0 nm para cada adição de fluoreto foram coletados e usados para a montagem da Figura 49. O gráfico aponta para a formação de complexo de associação do tipo 1:1 e um ajuste não linear descrito por Valeur gerou um valor de $K_{11} = (1,93 \pm 0,53) \times 10^5 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ($\chi^2 = 4,00 \times 10^{-5}$). Um importante aspecto que merece ser considerado é o excesso de AB utilizado (27,8 vezes mais AB que MB). Então, a princípio, quando o fluoreto é adicionado, ele pode reagir com o AB ou com AB-MB e, se o excesso de AB é considerado, a preferência inicialmente seria pelo AB. Se isso acontecesse, seria esperado na Figura 49 que os dados tivessem um perfil sigmoidal. No entanto, isso não foi observado, o que significa que o fluoreto tem preferência pela espécie AB-MB e reage com ela mesmo quando a concentração de AB-MB, no decorrer da titulação, diminui mais ainda em comparação com a de AB. Estes dados sugerem que, nas espécies AB-MB, a MB apresenta um duplo papel, tornando o átomo de boro mais eletrofílico que o boro no AB e agindo como um excelente grupo de saída. Além disso, também é possível que a acetonitrila possa apresentar um importante papel, solvatando o átomo de boro do AB e dificultando o acesso do fluoreto.

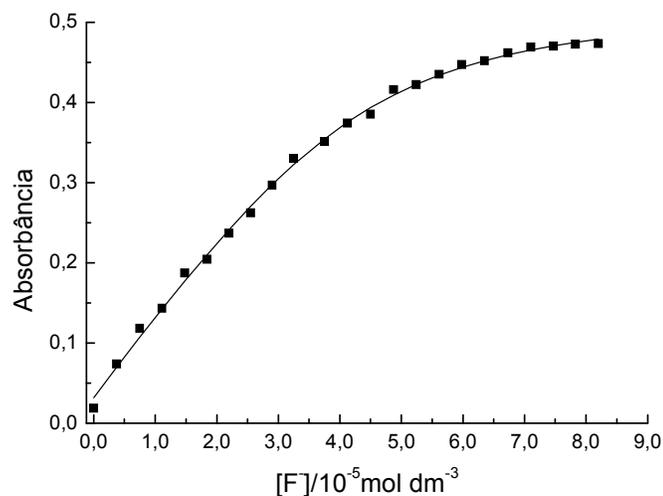


Figura 49: Variação da absorvância em 571,0 nm pelo aparecimento da MB em acetonitrila originado da solução contendo AB-MB com adições crescentes de fluoreto de tetrabutilamônio. O experimento foi realizado a 25 °C e as concentrações de MB e AB foram de $1,00 \times 10^{-5}$ e $2,78 \times 10^{-4}$ mol.dm⁻³.

É importante observar o importante efeito nucleofílico do fluoreto sobre o complexo AB:MB em comparação aos outros ânions, o que pode ser justificado pelo seu pequeno tamanho, alta densidade de carga e alta afinidade eletrônica, propriedades estas importantes que o tornam capaz de interagir fortemente com o átomo de boro.

Verifica-se a grande habilidade do fluoreto, frente aos outros ânions, para atuar como um nucleófilo em um solvente capaz de solvatar muito bem cátions, mas não ânions (MARCH, 1992; MORRISON, 1996). Sobre a formação de um possível complexo MB-AB formado, como representado na Figura 42, talvez o átomo de boro circundado pela ligação com o fenil, duas ligações com OH e a ligação com o oxigênio fenólico da MB confirmam ao boro uma carga negativa, mas que é fortemente dispersa pelas ligações com os oxigênios, altamente eletronegativos (BADUGU, 2005, GEDDES, 2005). Isto permite o ataque nucleofílico do fluoreto e a substituição nucleofílica com a eliminação de um grupo de saída muito bom que é a MB, sendo que os outros possíveis grupos de saída não são muito bons (MARCH, 1992; MORRISON, 1996). Uma outra questão importante é a peculiaridade do fluoreto em relação aos ânions estudados, por ser o mais básico, e o menor dentre os ânions (LEE, 2001; ZHANG, 2003; ZHOU, 2005). Isto facilita a aproximação do boro para ocorrer reação. Com os outros ânions, é mais difícil a aproximação, pois são de volume maior e os grupos ligados ao boro dificultam o acesso devido ao impedimento estérico (MARCH, 1992; BADUGU, 2005.)

Uma questão adicional a ser feita sobre o estudo apresentado aqui está concentrada na possibilidade de que o efeito observado quando AB é adicionado à solução contendo MB seria devido à simples transferência de prótons do AB à MB. Nesta situação, o fluoreto agiria como base removendo o próton do corante protonado e regenerando a coloração da solução. Então, um experimento simples foi feito: a solução de MB em acetonitrila, que contém traços de água, foi protonada por H_2CO_3 formado em solução após borbulhar CO_2 . A protonação torna a solução do corante incolor. A adição de fluoreto a essa solução não provocou nenhuma mudança na coloração da solução, mesmo com adição de fluoreto em concentração 3 vezes maior ($3 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$) do que a usada nos outros experimentos (Figura 50). Dessa forma, este experimento descarta a possibilidade de ocorrência de simples transferência de prótons e fornece outra evidência para o modelo proposto na Figura 42.

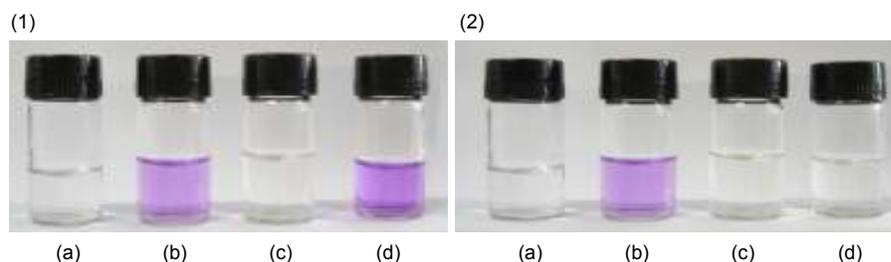


Figura 50: Soluções de acetonitrila apresentando: (1) (a) acetonitrila; (b) acetonitrila+MB; (c) acetonitrila+MB+AB; (d) acetonitrila+MB+AB+F⁻ (concentração do F⁻ = $1 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$); (2) (a) acetonitrila; (b) acetonitrila+MB; (c) acetonitrila+MB+CO₂; (d) acetonitrila+MB+CO₂+F⁻ (concentração do F⁻ = $3 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$). Em ambos os testes, as concentrações de MB e AB utilizadas foram, respectivamente, de 1×10^{-5} e $2,78 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$.

A estratégia empregada aqui para a determinação quantitativa e qualitativa de fluoreto demonstrou seletividade e sensibilidade. Verificou-se que a reação de AB com MB, torna a solução incolor pela formação de ligação covalente, e que a adição de um forte agente nucleofílico como o íon fluoreto, é capaz de quebrar essa ligação, e deixar a MB novamente livre em solução, o que é observado pelo retorno da coloração original (violeta).

4 CONCLUSÃO

Os estudos realizados ao longo deste trabalho tinham como estratégia a investigação do uso de um corante solvatocrômico para (1) detecção de moléculas neutras capazes de gerar problemas ambientais, através do monitoramento da alteração da coloração do meio em que se encontram solvatadas. O monitoramento é baseado na substituição da molécula sinalizadora encontrada no interior do receptor (CDs), pelo substrato neutro (fenol, tolueno, benzeno e álcool benzílico), que por apresentarem baixa polaridade, são capazes de interagir com a cavidade lipofílica das CDs. E (2) o desenvolvimento de um sensor colorimétrico para espécies iônicas (F^- , Cl^- , Br^- , I^- , $H_2PO_4^-$, HSO_4^- , e NO_3^-), presentes em processos biológicos, químicos e ambientais, baseado na associação ocorrida entre o corante protonado pelo ácido fenil borônico e as espécies iônicas. Sendo o corante uma unidade sinalizadora que fornece resposta espectral, e, conseqüentemente, resposta visual para o reconhecimento de substratos, fez-se necessária a investigação e o desenvolvimento de um método analítico capaz de detectar as espécies químicas em estudo.

Assim, foi utilizado como unidade sinalizadora a merocianina de Brooker, um sensor solvatocrômico que demonstrou grande versatilidade durante o desenvolvimento deste trabalho. Desta maneira, foram estudadas em uma primeira etapa as interações da MB com diferentes CDs em solução aquosa, com pH controlado em 10,55. Pôde ser verificado que os deslocamentos batocrômicos máximos observados (λ_{max}) são maiores para as CDs modificadas do que para as CDs naturais. Podendo ser observadas as maiores variações para a HP- β -CD e para Me- β -CD. A análise dos dados coletados sugere que as CDs modificadas apresentam uma menor polaridade em sua cavidade lipofílica. Verificou-se também

que o aumento da força iônica do meio resulta no aumento da polaridade, levando conseqüentemente ao aumento no valor das constantes de associação obtidas.

A comparação entre as CDs naturais demonstra que elas apresentam diferentes comportamentos quando em solução aquosa com MB. Enquanto a α -CD e a β -CD formam complexos de inclusão do tipo 1:1, a γ -CD não demonstra evidência para a formação de complexo de inclusão. Isso pode ser explicado pelos diâmetros internos das cavidades das CDs. Tendo a γ -CD um diâmetro superior, quando comparada às outras CDs, isso impede que o corante se ajuste de maneira adequada. Os resultados evidenciam que a CD que apresenta melhor ajuste com a MB é a β -CD.

A formação de complexo de inclusão envolvendo CDs modificadas, como por exemplo, pela substituição das hidroxilas pelos grupos metila e hidroxipropila tornam as CDs substituídas mais flexíveis. Esta substituição também é responsável pelo aumento da solubilidade das CDs modificadas. Sendo verificado que os valores das constantes de inclusão foram menores para as CDs modificadas, podemos justificar isso pelo aumento da flexibilidade, ocorrendo, assim, diminuição da pré-organização das CDs, o que torna a interação entre corante e CD menos efetiva, e também pelo menor favorecimento entrópico do sistema (REKHARSKY, 1998).

Na segunda etapa desta pesquisa, testes foram realizados em presença de fenol em solução tampão, baseados na substituição da molécula sinalizadora (MB) pelo substrato no interior da cavidade do receptor (β - e Me- β -CD), verificando-se que em meio tamponado, a substituição da MB pelo fenol não é favorecida. Os resultados obtidos reforçam a não obtenção de constantes de associação, em meio tamponado, para o fenol, tolueno, benzeno e álcool benzílico. Deste modo, a comparação entre a formação de complexos de inclusão em meio tamponado e não tamponado demonstra que em solução tamponada há aumento na força iônica, e conseqüente aumento da polaridade do meio, o que faz com que a substituição do indicador pela molécula neutra ocorra com menor intensidade pelo favorecimento das interações intermoleculares existentes entre o corante e a cavidade da CD.

Embora as CDs estudadas sofram de uma limitação importante, que é o fato de serem pouco seletivas para determinados substratos, podem ser trabalhadas modificações sintéticas no seu arcabouço visando à obtenção de receptores mais eficientes. Por outro lado, a facilidade de planejamento sintético de corantes

cianínicos e merocianínicos deve levar a unidades sinalizadoras cromogênicas e fluorescentes apresentando alta eficiência de resposta espectral. Com relação a este último aspecto, vale ressaltar que a merocianina de Brooker é fluorescente (CAVALLI, 2006), o que permitiria, em princípio, a utilização do sistema aqui apresentado como um sensor cromogênico.

Verificou-se, também, que a CD e MB podem ser utilizados no desenvolvimento de sensores fluorogênicos e cromogênicos para analitos neutros voláteis, o que hoje se apresenta como uma área de grande importância e aplicação nas áreas química, biológica e ambiental.

Como este trabalho fundamenta-se na detecção visual com conseqüente alteração da coloração do meio, o uso de substratos apolares, que interajam fortemente com a cavidade apolar das CDs, apresentou-se eficiente. As interações que podem ocorrer entre receptor e substrato, representando papel fundamental no processo de associação, podem ser descritas como interações do tipo forças de van der Waals e ligações de hidrogênio. Os resultados obtidos demonstram viabilidade do método estudado para obtenção indireta de constantes de inclusão entre substratos neutros apolares e CDs através do uso da MB como indicador.

Na terceira etapa deste trabalho, foi possível concluir, através dos resultados obtidos, que a reação da MB com o AB em excesso permite a formação de AB-MB, espécies incolores, que são capazes de atuar como um sensor cromogênico para fluoreto. A estratégia estudada aqui combinou o conceito de quimiossensores baseados na substituição de espécies com o desenvolvimento de sensores baseados na formação e na quebra de ligação covalente. Sendo que os ácidos borônicos são unidades receptoras muito importantes capazes de selecionar seletivamente cianetos e monossacarídeos, especialmente glicose, a técnica apresentada aqui pode ser facilmente modificada para desenvolver um sensor cromogênico para estes analitos. Finalmente, sendo a MB fluorescente, também é possível utilizar esta estratégia para o desenvolvimento de sensores fluorogênicos baseados em reações de substituição.

5 REFERÊNCIAS

- ALI, I.; KUMERER, K.; ABOUL-ENEIN, Y. **Mechanistic Principles in Chiral Separations Using Liquid Chromatography and Capillary Electrophoresis.** *J. Chromatogr.* **2006**, *63*, 295-307.
- AMENDOLA, V.; FABBRIZZI, L.; MANGANO, C.; PALLAVICINI, P.; POGGI, A.; TAGLIETTI, A. **Anion Recognition by Dimetallic Cryptates.** *Coord. Chem. Rev.* **2001**, *219-221*, 821-837.
- ANSLYN, E.V.; NIIKURA, K.; BISSON, A. **Optical Sensing of Inorganic Anions Employing a Synthetic Receptor and Ionic Colorimetric Dyes.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1999**, *2*, 1111-1114.
- ARUNKUMAR, E.; AJAYAGHOSH, A.; DAUB, J. **Selective Calcium Ion Sensing with a Bichromophoric Squaraine Foldamer.** *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3156-3164.
- ATAMAN, D.; AKKAYA, E. U. **Selective Chromogenic Response Via Regioselective Binding of Cations: A Novel Approach in Chemosensor Design.** *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3981-3983.
- LAKOWICZ, J.R.; BADUGU, R.; GEDDES, C.D. **Anion Sensing Using Quinolinium Based Boronic Acid Probes.** *Curr. Anal. Chem.* **2005**, *1*, 157-170.
- BADUGU, R.; LAKOWICZ, J.R.; GEDDES, C.D. **Enhanced Fluorescence Cyanide Detection at Physiologically Lethal Levels: Reduced ICT-Based Signal Transduction.** *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3635-3641.
- BASTOS, E.L.; SILVA, P.L.; EL-SEOUD, O.A. **Thermosolvatochromism of Betaine Dyes Revisited: Theoretical Calculations of the Concentrations of Alcohol – Water Hydrogen-bonded Species and Application to Solvation in Aqueous Alcohols.** *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 10287-10295.
- BEVILAQUA, T.; SILVA, D.C.; MACHADO, V.G. **Preferential Solvation of Brooker's Merocyanine in Binary Solvent Mixtures Composed of Formamides and Hydroxylic Solvents.** *Spectrochim. Acta, Part A* **2004**, *60*, 951-958.

BIANCHI, A.; BOWMAN-JAMES, K.; GARCIA-ESPAÑA, E. **Supramolecular Chemistry of Anions**. Wiley-VCH, 1997, cap. 3,4,5,10.

BROOKER, L.G.S.; KEYES, G.H.; SPRAGUE, R.H.; Van DYKE, R.H. Van LERE, E.; Van ZANDT, G. WHITE, F.L.; CRESSMAN, H.W.J.; DENT, Jr., S.G. **Color and Constitution x Absorption of the Merocyanines**. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 5332-5350.

BUDAG, R.; GIUSTI, L.A.; MACHADO, V.G.; MACHADO, C. **Quality Analysis of Automotive Fuel Using Solvatochromic Probes**. *Fuel* **2006**, 85, 1494-1497.

CAI, X.; LIU, W.; CHEN, S. **Environmental Effects of Inclusion Complexation between Methylated β -Cyclodextrin and Diclofop-Methyl**. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 6744-6749.

CALLAN, J.F.; SILVA, A.P.; MAGRI, D.C. **Luminescent Sensors and Switches in the Early 21st Century**. *Tetrahedron* **2005**, 61, 8551-8588.

CASTRONUOVO, G.; NICCOLI, M. **Complexation of Natural and Methylated β -Cyclodextrins with Long-Chain Carboxylic Acids in Aqueous Solutions. Calorimetric Studies at 298 K**. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2005**, 53, 69-76.

CAVALLI, V.; SILVA, D.C.; MACHADO, C.; MACHADO, V.G.; SOLDI, V. **The Fluorosolvatochromism of Brooker's Merocyanine in Pure and in Mixed Solvents**. *J. Fluoresc.* **2006**, 16, 77-86.

CONNORS, K. A. **The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solutions**. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1325-1357.

CONNORS, K.A. **Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability**. Wiley-Interscience, New York, 1987, cap. 4.

COOPER, C.R.; SPENCER, N.; JAMES, T.D. **Selective Fluorescence Detection of Fluoride Using Boronic Acids**. *Chem. Commun.* **1998**, 1365-1366.

DAVIDSON, S.J.; JENCKS, W.P. **Effect of Concentrated Salt Solutions on a Merocyanine Dye a Vinylogous Amide** *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 225-228.

DUPUY, N.; BARBRY, D.; BRIA, M.; MARQUIS, S.; VRIELYNCK, L.; KISTER, J. **^1H NMR Study of Inclusion Compounds of Phenylurea Derivatives in β -Cyclodextrin**. *Spectrochim. Acta Part A* **2005**, 61, 1051-1057.

EFTINK, M. R.; ANDY, M. L.; BYSTROM, K.; PERLMUTTER, H. D.; KRISTOL, D. S. **Cyclodextrin Inclusion Complexes: Studies of a Variation in the Size of Alicyclic Guests**. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 6765-6772.

EL-BARGHOUTHI, M.I.; MASOUD, N.A.; AL-KAFAWEIN, J.K.; ZUGHUL, M.B.; BADWAN, A.A. **Host-Guest Interactions of Risperidone with Natural an Modified**

Cyclodextrins: Phase Solubility, Thermodynamics and Molecular Modeling Studies. *J. Incl. Phenom. Macroc. Chem.* **2005**, *53*, 15-22.

ESTEBAN-GÓMEZ, D.; FABBRIZZI, L.; LICCHELLI, M. **Why, on Interaction of Urea-Based Receptors with Fluoride, Beautiful Colors Develop.** *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5717-5720.

FARAJI, H. **β -Cyclodextrin-Bonded Silica Particles as the Solid-Phase Extraction Medium for the Determination of Phenol Compounds in Water Samples Followed by Gas Chromatography with Flame Ionization and Mass Spectrometry Detection.** *J. Chromatogr. A* **2005**, *1087*, 283-288.

FURASTÉ, P.A. **Normas Técnicas para o Trabalho Científico: Elaboração e Formatação – Explicitações das Normas da ABNT.** 14 ed., **2006**, Porto Alegre.

FURNISS, B. S.; HANNAFORD, A. J.; SMITH, P. W. G.; TATCHELL, A. R. **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry**, 5 ed., **1989**, Longman, London.

GEDDES, C.D.; BADUGU, R.; LAKOWICZ, J.R. **Boronic Acid Fluorescent Sensors for Monosaccharide Signaling Based on the 6-Methoxyquinolinium Heterocyclic Nucleus: Progress Toward Noninvasive and Continuous Glucose Monitoring.** *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 113-119.

GOKEL, G. W.; LEEVY, M.; WEBER, M. E. **Crown Ethers: Sensors for Ions and Molecular Scaffolds for Material and Biological Models.** *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2723-2750.

HAJDU, J.; SMITH, G. M. **Catalytic Mechanisms of Acyl Transfer Reactions in Dipolar Aprotic Media. 2. Electrophilic Activation of the Carbonyl Group by Quaternary Alkylammonium and Imidazolium Functions.** *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 6192-6197.

HALLÉN, D.; SCHÖN, A.; SHEHATTA, I.; WADSÖ, I. **Microcalorimetric Titration of Alpha – Cyclodextrin with Some Straight-Chain Alkan-1-ols at 288.15K and 308.15K.** *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1992**, *88*, 2859-2853.

HASHIMOTO, H. **Present Status of Industrial Application of Cyclodextrins in Japan.** *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2002**, *44*, 57-62.

HE, X.; HU, S.; LIU, K.; GUO, Y.; XU, J.; SHAO, S. **Oxidized Bis (indolyl)methane: A Simple and Efficient Chromogenic-Sensing Molecule Based on the Proton Transfer Signaling Mode.** *Org. Lett.* **2006**, *8*, 333-336.

HEDGES, A. R. **Industrial Applications of Cyclodextrins.** *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2035-2044.

HROMADOVÁ, M.; POSPÍSIL, L.; ZÁLIS, S.; FANELLI, N. **Electrochemical Detection of Host-Guest Interactions of Dicarboximide Pesticides with Cyclodextrins.** *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2002**, *44*, 373-380.

IRIE, T.; UEKAMA, K. **Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. III. Toxicological Issues and Safety Evaluation.** *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86*, 147-162.

ISHIWATA, S.; KAMIYA, M. **Cyclodextrin Inclusion: Catalytic Effects on the Degradation of Organophosphorus Pesticides in Neutral Aqueous Solution.** *Chemosphere* **1999**, *39*, 1595-1600.

JI, X.K.; BLACK, D. S.; COLBRAN, S. B.; CRAIG, D. C.; EDBEY, K. M.; HARPER, J. B.; WILLET, G. D. **meso-Indanyl Calyx[4]pyrrole Receptors.** *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10705-10712.

JUNG, J.H.; LEE, S.J.; KIM, J.S.; LEE, W.S.; SAKATA, Y.; KANEDA, T. **α -CD/Crown-Appended Diazophenol for Selective Sensing of Amines.** *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3009-3012.

KAMIYA, M.; NAKAMURA, K. **Cyclodextrin Inclusion Effects on Photodegradation Rates of Organophosphorus Pesticides.** *Environ. Int.* **1995**, *21*, 299-304.

KAUR, N.; KUMAR, S. **A Diamide-Diamine Based Cu²⁺ Chromogenic Sensor for Highly Selective Visual and Spectrophotometric Detection.** *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 4109-4112.

KAWANISHI, T.; ROMEY, M.A.; ZHU, P.C.; HOLODY, M.Z.; SHINKAI, S. **A Study of Boronic Acid Based Fluorescent Glucose Sensors.** *J. Fluoresc.* **2004**, *14*, 499-512.

KIPRIANOV, A.I.; PETRUN'KIN, V.E. **Color of Cyanine Dyes and Polarizabilities of the Groupings Entering Into the Composition of the Heterocyclic Residues.** *J. Gen. Chem, USSR* **1947**, *27*, 147-157.

KOCA, J.; LUDIN, M.; PÉREZ, S.; IMBERTY, A. **Single-Coordinate-Driving Method for Molecular Docking: Application to Modeling of Guest Inclusion in Cyclodextrin.** *J. Mol. Graph. Model.* **2000**, *18*, 108-118.

KUBIK, S.; REYHELLER, C.; STÜWE, S. **Recognition of Anions by Synthetic Receptors in Aqueous Solution.** *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2005**, *52*, 137-187.

KUKHTA, A.; KOLESNIK, E.; GRABCHEV, I.; SALI, S. **Spectral and Luminescent Properties and Electroluminescence of Polyvinylcarbazole with 1,8-Naphthalimide in the Side Chain.** *J. Fluoresc.* **2006**, *16*, 375-378.

LEE, K.H.; LEE, H.-Y.; LEE, D.H.; HONG, J.-I. **Fluoride-Selective Chromogenic Sensors Based on Azophenol.** *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5447-5449.

LEE, S.J.; JUNG, J.H.; SEO, J.; YOON, I.; PARK, K.M.; LINDOY, L.F.; LEE, S.S. **A Chromogenic Macrocycle Exhibiting Cation-Selective and Anion-Controlled Color Change: An Approach to Understanding Structure-Color Relationships.** *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1641-1643.

LEHN, J.-M. **Supramolecular Chemistry – Scope and Perspectives Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices (Nobel Lecture)**. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 89-112.

LEHN, J.-M. **Supramolecular Chemistry**. VCH: Weinheim, **1995**.

LEVINE, B. F.; BETHE, C. G.; WASSERMAN, E.; LEENDER, L. **Solvent Dependent Hyperpolarizability of a Merocyanine Dye**. *J. Chem. Phys.* **1978**, *68*, 5042-5045.

LI, S.; PURDY, W.C. **Cyclodextrins and Their Applications in Analytical Chemistry**. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1457-1470.

LOFTSSON, T.; MASSON, M. **Cyclodextrins in Topical Drug Formulations: Theory and Practice**. *Int. J. Pharm.* **2001**, *225*, 15-30.

MACHADO, C.; MACHADO, V. G. **An Easy and Versatile Experiment to Demonstrate Solvent Polarity Using Solvatochromic Dyes**. *J. Chem. Ed.* **2001**, *78*, 649-651.

MACHADO, C.; NASCIMENTO, M.D.; REZENDE, M.C.; BEEZER, A.E. **Calorimetric Evidence of Aggregation of the E_T(30) Dye in Alcoholic Solutions**. *Thermochim. Acta* **1999**, *328*, 155-159.

MACHADO, V. G.; MACHADO, C. NASCIMENTO, M. da G.; REZENDE, M. C. **Compostos halocrômicos e cromoionóforos**. *Quím. Nova.* **1996**, *19*, 523-528.

MALVAL, J.P.; CHAIMBAULT, C.; FISCHER, B.; MORAND, J.P.; LAPOUYADE, R. **Optical and Electrochemical Cation Recognition and Release from N-Azacrown Carbazoles**. *Res. Chem. Intermediates* **2001**, *27*, 21-34.

MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. 4^a ed., New York: John Wiley and Sons, **1992**.

MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R.; SANCENÓN, F. **Fluorogenic and Chromogenic Chemosensors and Reagents for Anions**. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4419-4476.

MEIER, M.M.; LUIZ, M.T.B.; FARMER, P.J.; SZPOGANICZ, B. **The Influence of β - and γ -Cyclodextrin Cavity Size on the Association Constant with Decanoate and Octanoate Anions**. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, *40*, 291-295.

MINCH, M.J.; SHAH, S.S. **Merocyanin Dye Preparation for Introductory Organic Laboratory**. *J. Chem. Educ.* **1977**, *54*, 709-709.

MISAWA, K.; SAITO, Y.; HASHISAKI, K.; TAGUCHI, H.; OGAWA, N.; UEDA, H. **Stability Constants for 1:1 Complexes Formed Between 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin with an Average Substitution Degree of 4.4 and Benzene and Alkylbenzenes as Guests by Modified Static Head-Space Gas Chromatography Method**. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2005**, *53*, 237-240.

MISHRA, A.; BEHERA, R. K.; BEHERA, P. K.; MISHRA, B. K.; BEHERA, G. B. **Cyanines During the 1990s: A Review.** *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1873-2011.

MOHR, G. J. **Chromo – and Fluororeactands: Indicators for Detection of Neutral Analytes by Using Reversible Covalent-Bond Chemistry.** *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1082-1090.

MOHR, G.J.; GRAFE, A.; HAUPT, K. **Optical Sensor Material for the Detection of Amines in Organic Solvents.** *Anal. Chem. Acta* **2006**, *565*, 42-47.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, M.V. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparação, purificação.** Edgard Blucher: São Paulo, 1972, p.274.

MORLEY, J. O.; MORLEY R. M.; DOCHERTY, R.; CHARLTON, M. H. **Fundamental Studies on Brooker's Merocyanine.** *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10192-10202.

MORRISON, R.; BOYD, R. **Química Orgânica.** 13 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, **1996**.

PAL, S.K.; SAHU, T.; MISRA, T.; GANGULY, T.; PRADHAN, T.K.; DE, A. **Synthesis, Characterization and Laser Flash Photolysis Studies of Some Naphthothiophenes Bearing Electron Donor and Acceptor Functional Groups.** *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2005**, *174*, 138-148.

PLANTE, J.P.; GLASS, T.E. **Shape-Selective Fluorescent Sensing Ensemble Using a Tweezer-Type Metalloreceptor.** *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2163-2166.

PONCHEL, A.; ABRAMSON, S.; QUARTARARO, J.; BORMANN, D.; BARBAUX, Y.; MONFLIER, E. **Cyclodextrin Silica-Based Materials: Advanced Characterizations and Study of Their Complexing Behavior by Diffuse Reflectance UV-vis Spectroscopy.** *Micropor. Mesopor. Mat.* **2004**, *75*, 261-272.

POSPÍSIL, L.; HROMADOVÁ, M.; GIANNARELLI, S.; FUOCO, R.; COLOMBINI, M.P. **Electrochemical Evidence of Host-Guest Interactions. Changes in the Redox Mechanism of Fungicides Iprodione and Procymidone in the Nano-Cavity of Cyclodextrins.** *Microchem. J.* **2002**, *73*, 213-219.

REICHARDT, C. **Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry**, 2^a ed., VHC, Weinheim, 1988.

REICHARDT, C. **Solvatochromic Dyes as Solvent Polarity Indicators.** *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2319-2358.

REIS, D.C.; MACHADO, C.; MACHADO, V.G. **An Anionic Chromogenic Sensor Based on Protonated Reichardt's Pyridinophenolate.** *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 9339-9342.

REKHARSKY, M. V.; MAYHEW, M. P.; GOLDBERG, R. N.; ROSS, P. D.; YAMASHOJI, Y.; INOUE, Y. **Thermodynamic and Nuclear Magnetic Resonance**

Study of the Reactions of α - and - β - Cyclodextrin with Acids, Aliphatic Amines, and Cyclic Alcohols. *J. Phys. Chem.* **1997**, *101*, 87-100.

REKHARSKY, M.V.; GOLDBERG, R.N.; SCHWARZ, F.P.; TEWARI, Y.B.; ROSS, P.D.; YAMASHOJI, Y.; INOUE, Y. **Thermodynamic and Nuclear Magnetic Resonance Study of the Interactions of α - and β -Cyclodextrin with Model Substances: Phenethylamine, Ephedrine, and Related Substances.** *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8830-8840.

REKHARSKY, M.V.; INOUE, Y. **Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins.** *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1875-1917.

ROS-LIS, J.V.; MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R.; BENITO, A.; SOTO, J. **Naphthoquinone Derivatives as Receptors for the Chromogenic Sensing of Metal Cations and Anions.** *Polyhedron* **2006**, *25*, 1585-1591.

ROSS, P. D.; REKHARSKY, M. V. **Thermodynamics of Hydrogen Bond and Hydrophobic Interactions in Cyclodextrin Complexes.** *Biophys. J.* **1996**, *71*, 2144-2154.

RUNSER C.; FORT, A.; BARZOUKAS, M.; COMBELLAS, C.; SUBA, C.; THIÉBAULT, A.; GRAFF, R.; KINTZINGER, J. P. **Solvent Effect on the Intramolecular Charge Transfer of Zwitterions. Structures and Quadratic Hyperpolarizabilities.** *Chem. Phys.* **1995**, *193*, 309-319.

SCHÖNEFELD, K.; LUDWIG, R.; FELLER, K.-H. **Fluorescence Studies of Host-Guest Interaction of a Dansyl Amide Labelled Calix[6]arene.** *J. Fluoresc.* **2006**, *16*, 449-454.

SILVA, J.A.F. **Detecção eletroquímica em eletroforese capilar.** *Quim. Nova* **2003**, *26*, 56-64.

SILVA, M.A.R.; SILVA, D.C.; MACHADO, V.G.; LONGHINOTTI, E.; FRESCURA, V.L.A. **Preferential Solvation of a Hydrophobic Probe in Binary Mixtures Comprised of a Nonprotic and a Hydroxylic Solvent: A View of Solute-Solvent and Solvent-Solvent Interactions.** *J. Phys. Chem.A* **2002**, *106*, 8820-8826.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER F. X. **Spectrometric Identification of Organic Compounds.** 6^a. ed., New York: John Wiley & Sons, **1997**, cap.5.

SKOULIKA, S.G.; GEORGIU, C.A.; POLISSIOU, M.G. **Interaction of β -Cyclodextrin with Unsaturated and Saturated Straight Chain Fatty Anions Studied by Phenolphthalein Displacement.** *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **1999**, *34*, 85-96.

SUKSAI, C.; TUNTULANI, T. **Chromogenic Anion Sensors.** *Chem. Soc. Rev.*, **2003**, *32*, 192-202.

SZANISZLÓ, N.; FENYVESI, É.; BALLA, J. **Structure-Stability Study of Cyclodextrin Complexes with Selected Volatile Hydrocarbon Contaminants of Soils.** *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2005**, *53*, 241-248.

SZEJTLI, J. **Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry.** *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743-1753.

TAKAHASHI, K. **Organic Reactions Mediated by Cyclodextrins.** *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2013-2033.

TATAY, S.; GAVIÑA, P.; CORONADO, E.; PALOMARES, E. **Optical Mercury Sensing Using a Benzothiazolium Hemicyanine Dye.** *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3857-3860.

TUTAJ, B.; KASPRZYK, A.; CZAPKIEWICZ, J. **The Spectral Displacement Technique for Determining the Binding Constants of β -Cyclodextrin – Alkyltrimethylammonium Inclusion Complexes.** *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2003**, *47*, 133-136.

VALEUR, B.; POUGET, J.; BOURSON, J.; KASCHKE, M.; ERNSTING, N.P. **Tuning of Photoinduced Energy Transfer in a Bichromophoric Coumarin Supermolecule by Cation Binding.** *J. Phys. Chem.* **1992**, *96*, 6545-6549.

VENTURINI, C.G. **Estudos do comportamento de corantes solvatocrômicos em soluções de ciclodextrinas.** Dissertação de Mestrado, Universidade Regional de Blumenau – FURB, Blumenau, SC, **2005**, 36-47.

VENTURINI, C.G.; ANDREAUS, J.; MACHADO, V.G.; MACHADO, C. **Solvent Effects in the Interaction of Methyl- β -Cyclodextrin with Solvatochromic Merocyanine Dyes.** *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 1751-1756.

VILLAVERDE, J.; MORILLO, E.; PÉREZ-MARTÍNEZ, J. I.; GINÉS, J.M.; MAQUEDA, C. **Preparation and Characterization of Inclusion Complex of Norflurazon and β -Cyclodextrin To Improve Herbicide Formulations.** *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 864-869.

VRIELYNCK, L.; LAPOUGE, C.; MARQUIS, S.; KISTER, J.; DUPUY, N. **Theoretical and Experimental Vibrational Study of Phenylurea: Structure, Solvent Effect and Inclusion Process with the β -Cyclodextrin in the Solid State.** *Spectrochim. Acta Part A* **2004**, *60*, 2553-2559.

WANG, J.; JIN, S.; WANG, B. **A New Boronic Acid Fluorescent Reporter that Changes Emission Intensities at Three Wavelengths upon Sugar Binding.** *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7003-7006.

WHITE, S.S.; LI, H.; MARSH, R.J.; PIPER, J.D.; LEONCZEK, N.D.; NICOLAOU, N.; BAIN, A.J.; YING, L.; KLENERMAN, D. **Characterization of a Single Molecule DNA Switch in Free Solution.** *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11423-11432.

YANG, C.; LIU, L.; MU, T.-W.; GUO, Q.-X. **The Performance of the Benesi-Hildebrand Method in Measuring the Binding Constants of the Cyclodextrin Complexation.** *Anal.Sci.* **2000**, *16*, 537-539.

YANG, W.; LIN, L.; WANG, B. **A New Type of Boronic Acid Fluorescent Reporter Compound for Sugar Recognition.** *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7981-7984.

YUEXIAN, F.; YU, Y.; SHAOMIN, S.; CHUAN, D. **Molecular Recognition of α -Cyclodextrin (CD) to Chiral Amino Acids Based on Methyl Orange as a Molecular Probe.** *Spectrochim. Acta A* **2005**, *61*, 953-959.

ZHANG, H.-X.; HUANG, X.; MEI, P.; KI, K.-H.; YAN, C.N. **Studies on the Interaction of Tricyclazole with β -Cyclodextrin and Human Serum Albumin by Spectroscopy.** *J. Fluoresc.* **2006**, *16*, 287-294.

ZHANG, X.; GUO, L.; WU, F.-Y.; JIANG, Y.B. **Development of Fluorescent Sensing of Anions under Excited-State Intermolecular Proton Transfer Signaling Mechanism.** *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2667-2670.

ZHOU, G.; CHENG, Y.; WANG, L.; JING, X.; WANG, F. **Novel Polyphenylenes Containing Phenol-Substituted Oxadiazole Moieties as Fluorescent Chemosensors for Fluoride Ion.** *Macromolecules* **2005**, *38*, 2148-2153.

APÊNDICES

I – Determinação da estequiometria e constante de estabilidade dos complexos

Assumindo a formação de complexos do tipo 1:1 o processo de associação pode ser expresso da seguinte maneira a partir da equação 1:



Onde R indica a molécula receptora – ciclodextrina e/ou ácido fenil borônico – e S os substratos (analitos neutros ou aniônicos ou corante) (CASTRONUOVO, 2005).

Os resultados obtidos a partir das atividades experimentais podem ser analisados de acordo com a equação descrita por Connors (1987), assumindo complexos do tipo 1:1 analisados de acordo com ajuste linear, sendo expressa pela equação 2.

$$\Delta A/b = [\text{corante}] K_{11} \Delta \varepsilon_{11} [R] / (1 + K_{11} [R]) \quad (\text{eq. 2})$$

Onde b representa o caminho óptico, $[\text{corante}]$ é a concentração do corante, $\Delta \varepsilon_{11}$ é a diferença entre as absorvidades molares do corante livre e na forma de complexo e K_{11} é a constante de associação para a formação de complexos do tipo 1:1. ΔA é a mudança na absorbância que apresenta comprimento de onda fixo para a solução contendo o corante quando a concentração da R muda de zero para $[R]$. A

equação de Benesi-Hildebrand [eq. (3)] e a equação de Scott [eq. (4)] também podem ser usadas em ordem para estimar os valores inicial de $\Delta\varepsilon_{11}$ e K_{11} pode ser utilizada a partir da equação 2 (VENTURINI, 2005).

$$b/\Delta A = 1/[\text{corante}]K_{11}\Delta\varepsilon_{11}[R] + 1/[\text{corante}]\Delta\varepsilon_{11} \quad (\text{eq. 3})$$

$$b/[R]/\Delta A = [R]/[\text{corante}]\Delta\varepsilon_{11} + 1/[\text{corante}]K_{11}\Delta\varepsilon_{11} \quad (\text{eq. 4})$$

O erro relativo do método de Benesi-Hildebrand ao medir a constante de inclusão do complexo de R é usualmente alto. Este método é recomendado quando a complexação é modesta ($K \sim 1000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$) e a alteração na absorção é significativa. Em outras condições os métodos não-lineares são mais desejáveis (YANG, 2000).

Podemos determinar ainda a estequiometria e estabilidade dos complexos considerando o seguinte equilíbrio proposto por Valeur (1992): $R + nS = S_nR$, o qual é caracterizado pela constante de estabilidade K_n do complexo, definida como:

$$K_n = [S_nR]/[R][S]^n \quad (\text{eq. 5})$$

A absorbância da solução inicial do ligante livre é obtida a partir do comprimento de onda (λ):

$$A_o = \varepsilon_L(\lambda) / c_o \quad (\text{eq. 6})$$

Onde c_o expressa a concentração molar do ligante, ε_L é a diminuição do coeficiente molar e l representa o caminho óptico (cm). Após a adição de dado analito, a absorbância pode ser obtida a partir da equação 7:

$$A_o = \varepsilon_L(\lambda) / [R] + \varepsilon_{MnL}(l) / [S_nR] \quad (\text{eq. 7})$$

Supondo total complexação, temos:

$$A_{\text{lim}} = \varepsilon_{S_nR}(\lambda) / c_o \quad (\text{eq. 8})$$

Esta relação aliada a $c_o = [R] + [S_nR]$ pode ser ainda expressa como:

$$A = A_o + ((A_{lim}K_n[S]^n)/1) + K_n[S]^n \quad (\text{eq. 9})$$

Se a concentração do S livre em solução é muito maior do que a da espécie complexada, [S] pode ser reescrita por todas as concentrações, representada por C_{MB} :

$$A \approx A_o + A_{lim}K_n[C_S]^n/1 + K_n[C_S]^n \quad (\text{eq. 10})$$

Os dados de absorvância podem, então, ser analisados pelo uso do método quadrático não linear para sucessivos valores de n . O valor correto de n corresponde ao valor do coeficiente de correlação. A análise também gera o valor da constante de estabilidade, representada por K_n .

Se a eficiência da complexação for elevada, assume-se que o grande excesso de analitos livre com respectiva força de ligação não é estritamente válida na primeira parte da curva de titulação. Nós podemos então considerar que toda a concentração do analito é igual a:

$$C_S = [S] + [SR] \quad (\text{eq. 11})$$

Para $n = 1$, pode-se derivar a mais geral relação pela combinação das equações 5-8 e 11:

$$A = A_o + (A_{lim}-A_o/2c_o) [c_o + c_S + 1/K_s - [(c_o + c_S + 1/K_s)^2 - 4c_o c_S]^{1/2}] \quad (\text{eq. 12})$$

A precisão da descrição gráfica pode ser melhorada pelo uso desta relação ao invés da equação 10 reescrita (com $n = 1$) na relação matemática expressa como:

$$(A_o - A/A - A_{lim}) = K_1 c_S \quad (\text{eq. 13})$$

II.A – Teste de protonação da MB por CO₂ em atmosfera de N₂ em presença de metil- β -CD

A fim de se determinar a fonte de prótons do meio, responsável pela protonação do corante e conseqüentemente tornar a solução incolor, foram feitos testes com β - e metil- β -CD e atmosfera de N₂ em sistema fechado. A água deionizada utilizada foi fervida para remoção do CO₂ do meio e mantida em atmosfera de N₂. Em seguida foram adicionadas as concentrações máximas das soluções de fenol, tolueno, benzeno e álcool benzílico, sendo então realizadas as medidas no espectro de UV-vis. Estes testes revelaram que o CO₂ era o agente responsável pela protonação do corante e, conseqüentemente, por tornar incolores as suas soluções.

Os espectros obtidos podem ser observados nos itens II.A e II.B, para metil- β -CD (Figura 51) e β -CD (Figura 52), respectivamente.

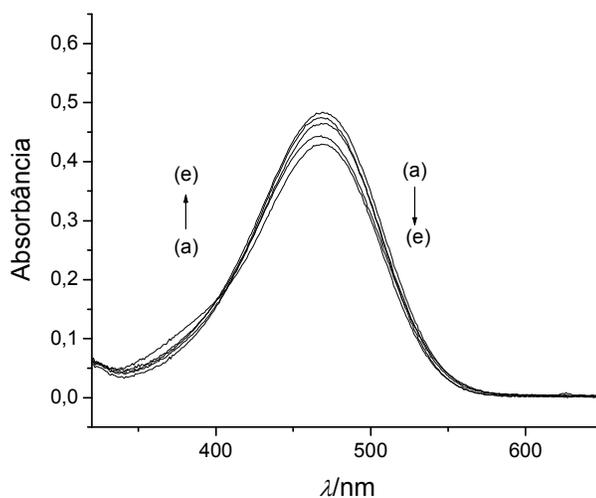


Figura 51: Teste de protonação de MB em solução aquosa ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em atmosfera de N₂ na presença de metil- β -CD. Adições máximas das concentrações de: (a) metil- β -CD ($3 \times 10^{-2} \text{ mol.dm}^{-3}$); (b) benzeno ($7,4 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$); (c) álcool benzílico ($2,2 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$); (d) fenol ($9,4 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$); (e) tolueno ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$).

II.A – Teste de protonação da MB por CO₂ em atmosfera de N₂ em presença de β -CD

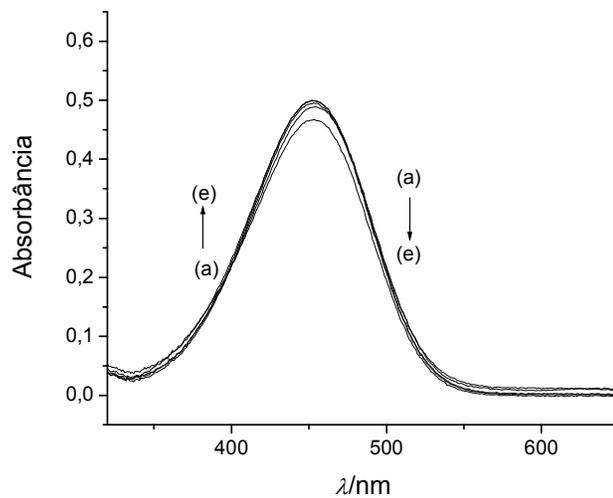


Figura 52: Teste de protonação de MB em solução aquosa ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$) em atmosfera de N₂ na presença de β -CD. Adições máximas das concentrações de: (a) β -CD ($7,05 \times 10^{-3} \text{ mol.dm}^{-3}$); (b) fenol ($8,7 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$); (c) tolueno ($1,2 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$); (d) benzeno ($8,3 \times 10^{-5} \text{ mol.dm}^{-3}$); (e) álcool benzílico ($1,1 \times 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$).