

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ESTUDO TEÓRICO-EXPERIMENTAL DE COMPLEXO METÁLICO
DE AMILOPECTINA**

Dissertação de Mestrado

DAIANI CANABARRO LEITE

Porto Alegre

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DAIANI CANABARRO LEITE

**ESTUDO TEÓRICO-EXPERIMENTAL DE COMPLEXO METÁLICO
DE AMILOPECTINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Prof. Dra. Nádyá Pesce da Silveira
Orientadora

Prof. Dr. Paulo Fernando Bruno Gonçalves
Co-orientador

Porto Alegre, julho de 2013.

A presente dissertação foi realizada inteiramente pela autora, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre agosto de 2011 e julho de 2013, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação da Professora Doutora Nádyá Pesce da Silveira e do Professor Doutor Co-orientador Paulo Fernando Bruno Gonçalves. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:



Prof. Dra. Marisa Tsao



Prof. Dr. Marco Flôres Ferrão



Prof. Dr. Paulo Augusto Netz

*"A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original."*

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

À professora Nádyá Silveira pela orientação, amizade e aprendizado durante a realização deste trabalho;

Ao professor Paulo Gonçalves pela co-orientação, apoio desde a graduação, paciência e disponibilidade sempre;

Aos professores da banca examinadora que gentilmente aceitaram o convite;

Ao professor Marco Ferrão, pelos ensinamentos em quimiometria;

À Gisele, autora da ideia principal deste trabalho e que gentilmente cedeu dados para a realização do mesmo. Grande incentivadora e amiga;

À Andresa, pela amizade, apoio e por todos os ensinamentos;

À Yasmine, no Brasil ou na França, pela amizade e apoio;

Aos demais amigos do grupo Bio&Macromoléculas, da iniciação científica ao pós-doutorado, pela amizade e auxílio sempre;

À equipe LAMAT pela realização das análises termogravimétricas;

À Gabriela Lando, pela ajuda nas análises de infravermelho;

Ao Felipe Kessler, pela ajuda na deconvolução dos espectros de infravermelho;

Ao meu amigo Marcelo, companheiro de aulas e café, pela amizade sincera e pela ajuda com o i-PCA;

À minha família (Canabarro, Leite e Lima) que sempre me apoiou, em especial aos meus pais;

Ao meu amigo e esposo Júlio, que teve coragem de casar comigo na metade do mestrado, por tudo...

Aos meus irmãos emprestados Geórgia, Thaís, Felipe, Hugo e Rodrigo, nada precisa ser dito;

Às minhas amigas de graduação Ana e Letícia pela amizade e apoio;

Aos demais amigos que conquistei nesses últimos dois anos como a Camila, o Tiago Charão, as Gabrielas...

À UFRGS e todos que de alguma maneira contribuíram para a concretização deste trabalho;

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

LISTA DE TRABALHOS GERADOS A PARTIR DOS RESULTADOS DESCRITOS NA DISSERTAÇÃO

- Trabalhos apresentados:

Leite, D. C. *Theoretical and Experimental Study of Metal Complexes of Amylopectin*. **2012**. Nanotechnology for the design of functional materials: Theory, experiments and Developments (NDFM12). UFSC, Florianópolis. Apresentação Oral.

Leite, D. C.; Peres, G. L.; Silveira, N. P. *Caracterização de complexos metálicos de amilopectina modificada por FT-IR e UV-Vis*. **2012**. X Workshop em Física Molecular e Espectroscopia (X-WFME). UFPE, Recife. Apresentação de Pôster. Recebimento de premiação como destaque do evento.

- Artigo Submetido:

Peres, G. L.; Leite, D. C.; Silveira, N. P. *Study of the formation of metal complexes with amylopectin*. Submetido para a revista Carbohydrate Polymers.

- Trabalhos a serem apresentados (Aprovados):

Leite, D. C.; Peres, G. L.; Zancani, R.; Silveira, N. P. *Otimização das reações de complexação de íons metálicos com amilopectina modificada*. **2013**. 12º Congresso Brasileiro de Polímeros (12º CBPOL). Florianópolis. Apresentação de Pôster.

Leite, D. C.; Peres, G. L.; Silveira, N. P. *Caracterização de complexos metálicos de amilopectina modificada por UV-VIS e FT-IR*. **2013**. 12º Congresso Brasileiro de Polímeros (12º CBPOL). Florianópolis. Apresentação Oral.

Peres, G. L.; Leite, D. C.; Schmitz, D.; Silveira, N. P. *Estudo da estabilidade térmica e das propriedades moleculares de complexos de chumbo e cobre com amilopectina*. **2013**. 12º Congresso Brasileiro de Polímeros (12º CBPOL). Florianópolis. Apresentação Oral.

Peres, G. L.; Leite, D. C.; Schmitz, D.; Silveira, N. P. *Efeito da complexação de íons metálicos à amilopectina modificada no pH e condutividade*. **2013**. 12° Congresso Brasileiro de Polímeros (12° CBPOL). Florianópolis. Apresentação de Pôster.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XII
RESUMO	XIV
ABSTRACT	XV
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS.....	4
2.1 OBJETIVOS GERAIS	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 AMIDO	5
3.2 COMPLEXOS BIOMOLECULARES	8
3.3 ESTUDO TEÓRICO DE CARBOIDRATOS	11
4 MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 MATERIAIS	19
4.2 PREPARAÇÃO DOS COMPLEXOS	20
4.3 TITULAÇÃO COMPLEXOMÉTRICA	21
4.4 PLANEJAMENTO FATORIAL.....	23
4.4.2 Identificação dos efeitos significativos	25
4.5 MÉTODOS INSTRUMENTAIS	26
4.5.1 pH.....	27
4.5.2 Condutividade	27
4.5.3 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	27
4.5.3.1 <i>Análise por Componentes Principais por Intervalo (i-PCA)</i>	28
4.5.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)	29
4.5.5 Análise Termogravimétrica (TGA).....	30
4.6 MÉTODOS COMPUTACIONAIS	30

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
5.1 PARTE EXPERIMENTAL.....	32
5.1.1 Planejamento Fatorial.....	32
5.1.2 Avaliação do pH.....	36
5.1.3 Avaliação da condutividade molar	37
5.1.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)	39
5.1.5 Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis	49
5.1.6 Análise Termogravimétrica (TGA).....	53
5.2 PARTE COMPUTACIONAL.....	54
6 CONCLUSÕES.....	70
7 REFERÊNCIAS	73
8 ANEXOS.....	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação das ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4) e α (1 \rightarrow 6) da amilopectina e a numeração usual de carboidratos (os átomos de H foram omitidos para melhor visualização da estrutura).....	6
Figura 2. Classificação das cadeias da amilopectina em A, B e C ⁴¹	7
Figura 3. Representação dos mínimos de energia local e global ⁷⁰	12
Figura 4. Configurações da D-glicose: (a) aldeído acíclico, (b) α -anel piranosídico, (c) β -anel piranosídico, (d) α -anel furanosídico, (e) β -anel furanosídico.....	14
Figura 5. Representação do sentido das ligações de hidrogênio intramoleculares <i>c</i> (a) e <i>cc</i> (b). O ângulo ω da glicose está representado na conformação <i>cc</i> (b) (em cinza os átomos de carbono, em vermelho os átomos de oxigênio e em branco os átomos de hidrogênio).	15
Figura 6. Rotâmeros gauche-gauche (<i>gg</i>), gauche-trans (<i>gt</i>) e trans-gauche (<i>tg</i>). ⁸¹	15
Figura 7. Representação dos ângulos diedros da maltose (em cinza os átomos de carbono, em vermelho os átomos de oxigênio e em branco os átomos de hidrogênio).....	17
Figura 8. Representação dos ângulos diedros para a isomaltose (em cinza os átomos de carbono, em vermelho os átomos de oxigênio e em branco os átomos de hidrogênio).	17
Figura 9. Esquema do procedimento reacional realizado.	21
Figura 10. Espectro de absorção na região do infravermelho da solução ApT.....	41
Figura 11. Espectro completo da solução ApT pura e complexada com os diversos sais	42
Figura 12. PC1 x PC2 do polímero e seus complexos em todo intervalo espectral (3995,99 – 399,84 cm ⁻¹)	43
Figura 13. Número de PC's x número de intervalos (i=16).....	44
Figura 14. PC1 x PC2 da solução ApT e seus complexos no intervalo 3 de 3546,99–3323,42 cm ⁻¹	45
Figura 15. PC1xPC2 da solução ApT e seus complexos no intervalo 14 de 1071,98–848,41 cm ⁻¹	46

Figura 16. PC1 x PC2 da solução ApT e seus complexos nos intervalos 15 de 846,98-623,41 cm^{-1} (a) e 16 de 621,98-399,84 cm^{-1} (b).....	47
Figura 17. Representação das mudanças ocorridas no espectro de absorção do infravermelho da solução ApT devido à sua complexação com Cr^{3+}	48
Figura 18. Sobreposição dos espectros eletrônicos envolvendo o íon Cr^{3+} (d^3).....	51
Figura 19. Representação das transições eletrônicas permitidas para os complexos de Cr^{3+} ..	52
Figura 20. TG/DTG da solução ApT pura.	53
Figura 21. TG/DTG do complexo amilopectina- Cr^{3+}	54
Figura 22. Conformação <i>cc-gg</i> , mais estável devido às ligações de hidrogênio entre os átomos $\text{H6}\cdots\text{O5}$ e $\text{H1}\cdots\text{O5}$	56
Figura 23. Gráfico da variação da energia relativa em função do aumento do conjunto de base.	57
Figura 24. Evidência da ligação de hidrogênio formada entre as unidades glicosídicas na maltose. Conformação <i>cc-cc'</i> , lig. H entre os átomos $\text{H2}\cdots\text{O3'}$ (a), conformação <i>c-c'</i> , lig. H entre os átomos $\text{O2}\cdots\text{H3'}$ (b) e conformação <i>cc-c'</i> , lig. H entre os átomos $\text{H2}\cdots\text{O3'}$ (c).	58
Figura 25. Conformação mais estável encontrada da isomaltose (<i>cc-c'</i>) e a representação das ligações de hidrogênio formadas ($\text{H2}\cdots\text{O1}= 2,23 \text{ \AA}$ e $\text{O5}\cdots\text{H4}'= 2,04 \text{ \AA}$).....	60
Figura 26. Representação do ponto de ramificação da amilopectina, no qual a ramificação posiciona-se paralelamente à porção linear.....	64
Figura 27. Legenda dos monômeros constituintes da amilopectina para estudo das cargas parciais dos átomos de oxigênio e nomenclatura usual de carboidratos	66
Figura 28. Deconvolução do espectro vibracional da amilopectina na região de absorção do grupo $-\text{OH}$	68

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Faixa de pH da titulação, forma de ajuste e indicador utilizado para cada íon metálico	22
Tabela II. Planejamento fatorial completo 2^3 com ponto central	24
Tabela III. Matriz de sinais para um planejamento fatorial 2^3 considerando todas as interações	25
Tabela IV. Rendimento das complexações (%) dos 12 sais com a solução ApT	32
Tabela V. Efeitos das variáveis no rendimento de complexação de cada sal*	33
Tabela VI. Medidas de pH das soluções salinas e dos complexos formados.....	36
Tabela VII. Condutividades das soluções salinas e dos complexos formados.....	38
Tabela VIII. Bandas características de absorção na região do infravermelho para carboidratos	40
Tabela IX. Análise UV-Vis: comprimento de onda (nm) e absorvidade molar ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$) máxima das soluções salinas puras e dos complexos ^a	50
Tabela X. Energias relativas das 18 conformações estudadas da α -D-glicose	55
Tabela XI. Energias relativas, ângulos diedros e comprimento das ligações de hidrogênio da maltose usando B3LYP/6-311++G(d,p)	59
Tabela XII. Energias relativas e valores dos ângulos diedros da isomaltose usando B3LYP/6-311++G(d,p).....	60
Tabela XIII. Energias e ângulos diedros dos dissacarídeos utilizando conjunto de base 6-311++G(d,p).....	61
Tabela XIV. Comprimento das ligações de hidrogênio formadas nos dissacarídeos	62
Tabela XV. Energias relativas e ângulos diedros da amilopectina utilizando funcional B3LYP (vácuo).....	63
Tabela XVI. Energias relativas e ângulos diedros da amilopectina utilizando funcional B3LYP.....	65

Tabela XVII. Valores das cargas parciais para os átomos de oxigênio da amilopectina..... 67

Tabela XVIII. Comparação das frequências vibracionais teóricas e experimentais 69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α : grau de ionização

α : nível de significância

α : posição axial do substituinte ligado ao carbono anomérico

β : posição equatorial do substituinte ligado ao carbono anomérico

ϵ : constante dielétrica

ϵ : absorvidade molar

Λ_m : condutividade molar

Φ : ângulo torsional phi

Ψ : ângulo torsional psi

Ω : ângulo torsional ômega

ω : ângulo torsional ômega

AcCr: acetato de cromo

AcCu: acetato de cobre

AcNi: acetato de níquel

ApT: Solução de amilopectina tratada

B3LYP: Funcional de Becke, Lee, Yang e Parr

c: *clockwise*

cc: *counterclockwise*

CAM-B3LYP: *Coulomb-attenuating Method*

ChelpG: *Charges from Electrostatic Potentials using a Grid*

ClFe: cloreto de ferro

ClCo: cloreto de cobalto

ClCu: cloreto de cobre

ClNi: cloreto de níquel

ClPb: cloreto de chumbo

DFT: Teoria do Funcional da Densidade

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNA: ácido desoxirribonucleico

DTG: derivada termogravimétrica

EDTA: Ácido Etilenodiaminotetracético

FT-IR: Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

g: *gerade*

gg: orientação *gauche-gauche* relativo ao ângulo ω

GG: orientação *gauche-gauche* relativo ao ângulo Ω

gt: orientação *gauche-trans* relativo ao ângulo ω

GT: orientação *gauche-trans* relativo ao ângulo Ω

HSAB: *Hard and Soft Acids and Bases*

i-PCA: Análise por Componentes Principais por Intervalo

LS: Espalhamento de Luz

M_w : Massa molecular ponderal média

NoCr: nitrato de cromo

NoCu: nitrato de cobre

NoFe: nitrato de ferro

NoPb: nitrato de chumbo

PC: Componente Principal

PCA: Análise por Componentes Principais

PCM: Modelo do Contínuo Polarizável

Poli: solução de amilopectina tratada

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

S: multiplicidade de spin

SLS: Espalhamento de Luz Estático

TCC: Teoria do Campo Cristalino

TCL: Teoria do Campo Ligante

tg: orientação *trans-gauche* relativo ao ângulo ω

TG: orientação *trans-gauche* relativo ao ângulo Ω

TG: termogravimetria

TGA: Análise Termogravimétrica

TOM: Teoria do Orbital Molecular

u: *ungerade*

UATR: Refletância Total Atenuada Universal

UV-Vis: Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Vísivel

RESUMO

Polímeros com funções quelantes têm sido amplamente encontrados no campo de separação e recuperação de íons metálicos de efluentes, sendo também utilizados na área de cosmetologia. O polímero utilizado neste trabalho foi obtido pela solubilização do Amidex 40003, amido geneticamente modificado contendo majoritariamente amilopectina, utilizando a mistura dimetilsulfóxido (DMSO)/H₂O 90/10% v/v como solvente. O objetivo foi a formação de complexos de amilopectina com os íons metálicos Cr³⁺, Fe³⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Co²⁺ e Pb²⁺ nas formas de sais de acetato, nitrato e cloreto. O estudo buscou a otimização de alguns fatores considerados importantes para a obtenção de melhores rendimentos de reação, realizados através de um planejamento fatorial completo 2³, nos quais as variáveis estudadas foram temperatura, tempo e massa do sal. Além disso, foram realizadas análises de pH, condutividade, infravermelho (FT-IR), UV-Visível (UV-Vis) e termogravimetria (TGA) para a comprovação dos complexos formados e para o estudo aprofundado das mudanças ocorridas nas características do polímero. O estudo também compreendeu a realização de cálculos *ab initio* utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) com o intuito de entender a conformação da amilopectina no vácuo e em solvente implícito, obter um espectro vibracional teórico da amilopectina a fim de comparação com aquele obtido experimentalmente e, através do cálculo de cargas parciais, verificar os potenciais sítios de coordenação da amilopectina na complexação com o metal. Na primeira etapa experimental do trabalho foi verificado através do cálculo do efeito das variáveis que os fatores tempo e massa do sal devem ser mantidas no nível superior (+) e o fator temperatura deve ser mantido no nível inferior (-). As análises de pH, condutividade, FT-IR, UV-Vis e TGA evidenciaram a formação dos complexos devido às mudanças observadas antes e após a complexação. O estudo conformacional teórico da amilopectina revelou a importância dos efeitos estereoeletrônicos e a influência do conjunto de base utilizado no cálculo. O cálculo das cargas parciais mostrou que os prováveis sítios de coordenação da amilopectina são os oxigênios ligados ao C2 e C3, corroborando com dados da literatura. O espectro vibracional teórico apresentou resultados correlacionáveis com aqueles encontrados experimentalmente.

Palavras-chave: *amilopectina, complexos metálicos, análise conformacional.*

ABSTRACT

Polymers with chelating functions have been widely found in the field of separation and recovery of metal ions from wastewater and are also used in the cosmetology area. The polymer used in this work was the Amidex 40003, a genetically modified starch containing mostly amylopectin, using the mixture dimethylsulfoxide (DMSO)/H₂O 90/10% v/v as solvent. The purpose was the formation of amylopectin complexes with Cr³⁺, Fe³⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Co²⁺ and Pb²⁺ metal ions in the form of acetate, nitrate and chloride salts. The study sought to optimize some factors considered important for obtaining better reaction yields, carried out through a 2³ full factorial design, which the variables studied were temperature, time and mass of salt. In addition, analysis of pH, conductivity, infrared (FT-IR), UV-Visible (UV-Vis) and thermogravimetry (TGA) were performed to prove the complexes formed and for detailed study of the changes in the polymer characteristics. The study also included the achievement of *ab initio* calculations using Density Functional Theory (DFT) in order to understand the amylopectin conformation in vacuum and implicit solvent, get a theoretical vibrational spectrum of amylopectin in order to compare with the one experimentally obtained and, through the partial charges calculation, check the potential amylopectin coordination sites in the complexation with the metal ion. In the first step of the experimental work was verified by variables effect calculations that time and mass of salt variables should be maintained at the higher level (+) and the temperature variable should be maintained at the lower level (-). Analysis of pH, conductivity, FT-IR, UV-Vis and TGA proved the complexes formation due to the changes observed before and after complexation. The theoretical conformational study of amylopectin showed the significance of stereo electronics effects and the influence of the basis set used in the calculation. Partial charges calculation showed that the probable amylopectin coordination sites are the oxygen atoms connected to C2 and C3, confirming literature data. The theoretical vibrational spectrum presented results comparable with those experimentally found.

Keywords: *amylopectin, metal complexes, conformational analysis.*

1 INTRODUÇÃO

Um composto de coordenação pode ser definido como um composto formado entre um ácido e uma base de Lewis, sendo o ácido um receptor de pares eletrônicos e a base um doador de pares eletrônicos.^{1,2} Um complexo polimérico é o resultado da interação entre funções ligantes ancoradas numa cadeia polimérica e íons metálicos.³ Esses compostos baseados na ligação coordenada entre metal-ligante têm atraído atenção devido à habilidade de combinar as propriedades orgânicas e inorgânicas dos componentes. A razão de tal interesse deve-se à obtenção de estruturas com flexibilidade e liberdade conformacional, com propriedades físico-químicas e funções diversas. Assim, estes compostos apresentam diferentes aplicações, tais como: adsorção,^{4,5} nanotecnologia,⁶ agregação de propriedades térmicas,⁷ condutoras,⁸ dentre outras.

Polímeros funcionais com habilidades quelantes têm sido amplamente encontrados no campo de separação e recuperação de íons metálicos.^{3,5,9} A remoção de íons metálicos de resíduos é uma questão de suma importância nos dias atuais, visto a não degradabilidade desses metais.¹⁰ Compostos contendo cromo, níquel, cobre e outros metais têm sido utilizados numa variedade de processos industriais, tais como galvanoplastia e curtimento de couro. Além disso, a utilização de metais também se mostra presente nas formulações de produtos cosméticos, principalmente em maquiagem, como agentes de fixação.^{11,12}

A utilização de polímeros com função quelante torna-se um campo atrativo de pesquisa, visto a eficácia na interação com íons metálicos. A capacidade de formação desses quelatos depende fortemente da natureza do átomo doador contido na matriz polimérica, como nitrogênio, oxigênio, enxofre e fósforo.^{3,5,13,14} Interessante também é a utilização de carboidratos como ligantes destes compostos de coordenação, como o amido e a celulose.^{15,16}

Carboidratos e seus derivados compõem a classe de biomoléculas mais abundante encontrada, conhecidos por apresentar uma variedade de funções químicas e biológicas.¹⁷ Por possuírem diversos grupos do tipo hidroxila em sua estrutura, tornam-se excelentes candidatos a interagirem com íons metálicos. Diversos estudos propõem a coordenação do amido de batata,¹⁵ mandioca,¹⁸ amaranto¹⁹ e milho²⁰ com metais de transição. Os sítios de ligação de íons metálicos com monossacarídeos também já foram estudados por cálculos teóricos, utilizando teoria do funcional de densidade (DFT).^{21,22} O interesse estrutural na área de carboidratos tem crescido visto que a compreensão dessas biomoléculas é importante para

o campo da glicobiologia, principalmente quando os estudos estão relacionados à conformação e atividade biológica. Em publicação recente, Cocinero e colaboradores²³ estudaram a conformação da frutose em diferentes condições, mostrando como a química computacional é útil na compreensão de carboidratos em nível molecular.

Em relação ao uso de carboidratos como ligantes em compostos de coordenação, a química computacional é útil no entendimento das propriedades estruturais e eletrônicas de sistemas coordenados caracterizados experimentalmente.^{24,25} Recentemente Mandal e colaboradores²⁶ utilizaram um carboidrato derivado da xilopiranosose como um novo ligante em complexos de Ru(II) e Os(II) estudados através de métodos quânticos. É crescente o número de publicações envolvendo mecânica quântica no estudo de metais de transição, no qual a maioria das ocorrências envolve a utilização da DFT.^{25,27-29}

O amido, por ser uma fonte de matéria-prima altamente renovável e economicamente viável, vem sendo utilizado em diversas áreas como agricultura,³⁰ biotecnologia,^{31,32} produtos alimentícios,³³ produção de nanopartículas³⁴ e como adsorvente na remoção de espécies metálicas.^{35,36} A amilopectina, carboidrato estudado neste trabalho e um dos componentes do amido, além de abundante e de baixo custo é um ótimo ligante de metais, pois possui capacidade de formar complexos com íons metálicos devido à presença de grupos hidroxilas presentes em sua estrutura ramificada.

Devido à alta ramificação a amilopectina possui baixa solubilidade em água, limitando sua aplicação em diversos processos industriais. Em contrapartida, sua utilização é favorecida vista a possibilidade do uso do polímero na precipitação de metais em soluções aquosas, como sugerido por Janegitz e colaboradores³⁷ em estudos com a quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias.

Recentemente, Liu e colaboradores¹² publicaram um estudo no qual mediram os níveis de chumbo, cobalto, cromo, cobre, níquel e outros metais em 32 tipos de batons e *gloss* labiais, encontrando níveis acima do permitido por agências reguladoras dos Estados Unidos. A utilização de um biopolímero como a amilopectina na produção de removedores de cosméticos torna-se uma excelente alternativa, devido a possibilidade de captação dos metais contidos nesses produtos pela complexação com a amilopectina.

A comprovação da formação de complexos biomoleculares é realizada por métodos experimentais^{20,38} e pode ser explicada com o auxílio de métodos teóricos.²² Neste trabalho, baseado em uma tese de doutoramento³⁹ desenvolvida em nosso grupo, buscou-se investigar a formação de complexos de amilopectina em solução com diversos metais a fim de entender

como essa interação é realizada e que fatores influenciam essa interação. Também foi explorada a mudança ocorrida na propriedade térmica da solução de amilopectina frente à introdução do metal na matriz polimérica, além das diferenças causadas nos espectros vibracional e eletrônico. A utilização de métodos computacionais teve como objetivo principal a explanação de uma conformação teórica da amilopectina e de seus potenciais sítios de coordenação com o metal.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Otimizar a reação de complexação da solução de amilopectina com diversos metais através de planejamento fatorial, caracterizando os complexos formados através das técnicas de Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR), Espectroscopia na região Ultravioleta-Visível (UV-Vis) e Análise Termogravimétrica (TGA);
- Realizar um estudo teórico da conformação da amilopectina e de seus potenciais sítios de coordenação com metais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar as condições reacionais de formação do complexo;
- Avaliar as mudanças de condutividade e pH antes e após as reações de complexação;
- Utilizar a ferramenta estatística i-PCA para interpretação de dados espectroscópicos;
- Produzir um espectro vibracional teórico da amilopectina e compará-lo com o experimental;
- Estudar os possíveis sítios de coordenação da amilopectina através da verificação de cargas parciais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 AMIDO

O amido é um polissacarídeo de reserva encontrado em diversas espécies vegetais sob a forma de grânulos, sendo abundante em grãos de cereais, leguminosas, tubérculos e frutas verdes, fornecendo de 70 a 80% das calorias consumidas pelo homem.^{40,41} Sendo formado nos plastídeos das plantas superiores, o amido é sintetizado nas folhas, onde serve como carboidrato de reserva temporário, acumulando-se nos cloroplastos durante o dia e servindo como fonte principal para a síntese de sacarose durante a noite. Essa sacarose é então transportada para os órgãos de armazenamento das plantas.^{42,43}

O amido é o principal responsável pelas propriedades tecnológicas que caracterizam grande parte dos produtos processados, uma vez que contribui para diversas propriedades de textura em alimentos, possuindo aplicações industriais como espessante, estabilizador de colóides, agente gelificante e adesivos, entre outros.⁴¹ O emprego industrial do amido se deve à sua característica única de poder ser usado diretamente na forma de grânulos, de grânulos intumescidos, na forma dispersa e como filme obtido da secagem de uma dispersão.⁴⁰ Também é um dos excipientes mais utilizados em formulações farmacêuticas, principalmente em formas de dosagem sólidas orais como material de enchimento.⁴⁴

Este polissacarídeo é constituído basicamente de amilose e amilopectina, que representam cerca de 98% - 99% da massa total do biopolímero, sendo ambos polissacarídeos formados de unidades α -D-glicose. As proporções em que essas estruturas aparecem diferem em relação às fontes botânicas, variedades de uma mesma espécie e, mesmo numa mesma variedade, de acordo com o grau de maturação da planta.^{41,43} A amilose consiste de cadeias lineares em que as unidades α -D-glicose são conectadas por ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$, possuindo massa molecular de aproximadamente $1 \times 10^5 - 1 \times 10^6 \text{ g.mol}^{-1}$. A amilopectina é uma macromolécula que possui estrutura ramificada com massa molecular aproximadamente 100 vezes maior que a amilose em que as unidades α -D-glicose são conectadas por ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ e cerca de 5% de ligações ramificadas $\alpha(1\rightarrow6)$.^{41-43,45} Dentre as propriedades físico-químicas do amido está a gelatinização, fenômeno em que ocorre perda da

organização estrutural devido ao rompimento das ligações de hidrogênio causada pelo inchamento irreversível dos grânulos do amido quando aquecidos em água.⁴⁶

A amilose e a amilopectina têm propriedades distintas. A amilose tem uma alta tendência a retrogradação e produz géis duros e filmes fortes. A retrogradação é um fenômeno que o amido gelatinizado pode sofrer quando armazenado e resfriado, no qual as ligações de hidrogênio tornam-se mais fortes devido ao rearranjo das cadeias ao se reassociarem em um estado mais ordenado, produzindo géis de viscosidade elevada.⁴¹ A amilopectina dispersa em água é mais estável e produz filmes fracos e géis moles (pouco viscosos).⁴² As ramificações da amilopectina impedem em parte a aproximação de suas cadeias, dificultando a formação de ligações de hidrogênio, tornando as características de retrogradação da amilose e da amilopectina cineticamente diferentes.⁴⁷ Fisicamente, a maioria dos amidos nativos são semi-cristalinos, tendo uma cristalinidade de cerca de 20-45%. A amilose e os pontos de ramificação da amilopectina formam as regiões amorfas. As cadeias ramificadas mais curtas da amilopectina são o principal componente cristalino no amido granular.⁴⁸ A amilopectina (Figura 1) é, estrutural e funcionalmente, a mais importante das duas frações, pois sozinha é suficiente para formar o grânulo do amido.⁴¹

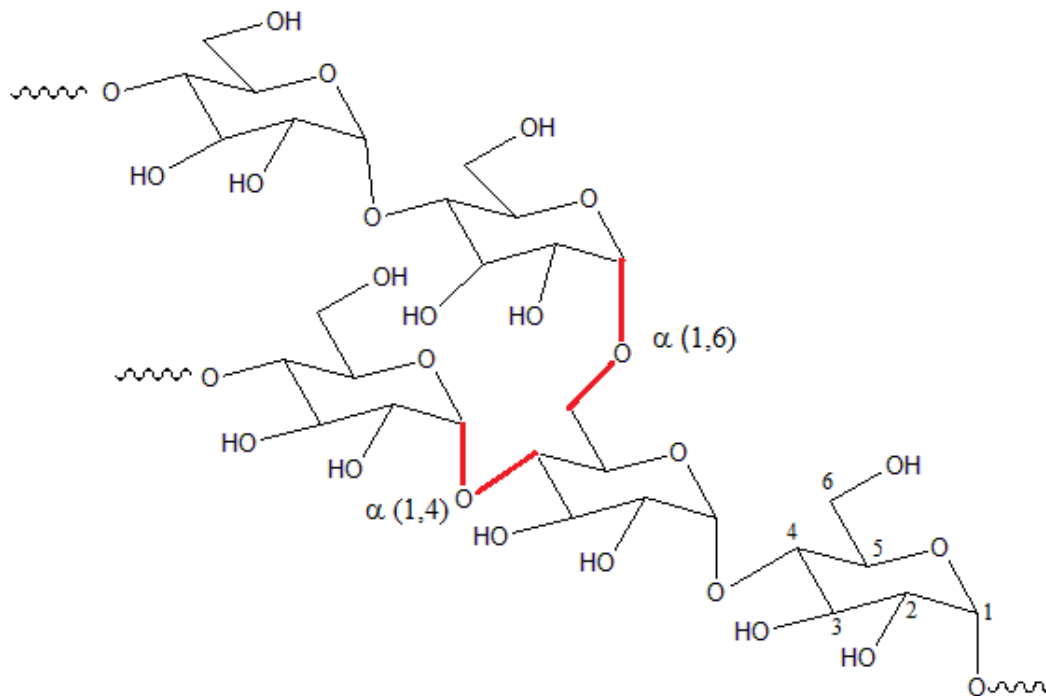


Figura 1. Representação das ligações glicosídicas $\alpha(1 \rightarrow 4)$ e $\alpha(1 \rightarrow 6)$ da amilopectina e a numeração usual de carboidratos (os átomos de H foram omitidos para melhor visualização da estrutura)

As cadeias de amilopectina estão organizadas de diferentes maneiras, sugerindo uma classificação de cadeias A, B e C (Figura 2).^{41-43,45} O tipo A é composto por uma cadeia de glicoses unidas por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ sem ramificações, sendo unida a uma cadeia tipo B por meio de ligações $\alpha(1\rightarrow6)$. As cadeias do tipo B são compostas por glicoses ligadas em $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$, contendo uma ou várias cadeias tipo A e podem conter cadeias tipo B unidas por meio de um grupo hidroxila primário. A cadeia C é única em uma molécula de amilopectina, sendo composta por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$, com grupamento terminal redutor. O alto peso molecular e a estrutura ramificada da amilopectina reduz a mobilidade da cadeia polimérica, e tende a orientar-se perto o suficiente para permitir níveis significativos de ligações de hidrogênio intramoleculares.⁴⁸

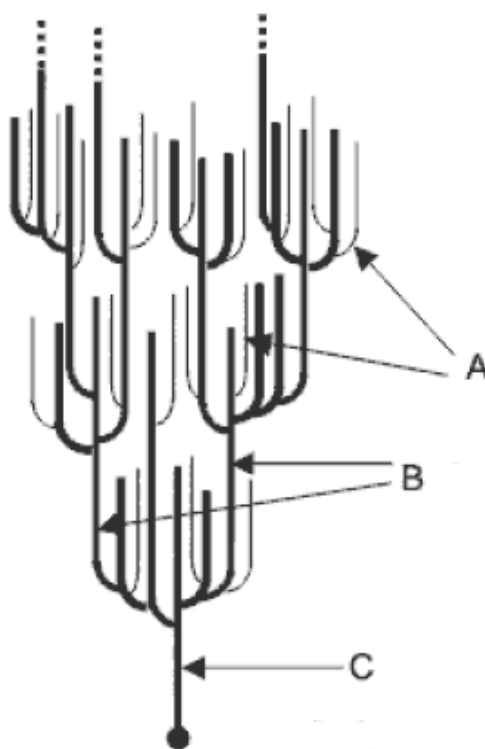


Figura 2. Classificação das cadeias da amilopectina em A, B e C⁴¹

A presença de grupos funcionais reativos ao longo da cadeia dos polímeros da amilopectina (Figura 1) favorece interações com outras espécies podendo ocorrer complexação, visto que cada unidade monomérica do biopolímero possui cinco potenciais sítios de coordenação.^{15,38} Cabe salientar que nem todos os centros de coordenação da

amilopectina estão envolvidos na coordenação, devido à pequenas diferenças na basicidade dos sítios,^{49,50} como sugerido por Damager e colaboradores em estudo teórico.⁵¹ Em relação à amilose, estudos mostram que a estrutura helicoidal deste polímero linear explica a formação de complexos de inclusão, como ocorre com alguns álcoois, ácidos orgânicos e lipídios.^{52,53} A ocorrência de compostos coordenados envolvendo biopolímeros ramificados como a amilopectina é encontrada de forma mais abundante na literatura. Complexos de Cu(II) com dextrano foram realizados por Nikolić e colaboradores,⁵⁴ enquanto Bergmann e colaboradores⁵⁵ estudaram a formação de complexos de xantana com íons metálicos bivalentes.

3.2 COMPLEXOS BIOMOLECULARES

Muitos metais têm um papel importante nos sistemas vivos, uma vez que se ligam e interagem com moléculas biológicas tais como as proteínas, a hemoglobina e o DNA.⁵⁶ Com o estudo aprofundado da química de coordenação descobriu-se, por exemplo, que alguns compostos coordenados apresentam propriedades magnéticas interessantes, atividade biológica, aplicações como medicamentos e catalisadores.^{16,57,58} Enquanto íons metálicos apresentam-se deficientes em elétrons, biomoléculas tais como a celulose e o amido são ricas em elétrons. Por esta razão, a maioria dos cátions metálicos tende a atrair moléculas polares e íons carregados negativamente, que contenham pares isolados de elétrons. A atração entre estas oposições de cargas conduz a uma tendência de íons metálicos interagirem com biomoléculas.⁵⁶

A teoria empregada para explicar a natureza desta interação é conhecida como Teoria do Campo Cristalino (TCC). A TCC é um modelo eletrostático que considera o efeito do campo elétrico devido à carga eletrônica dos ligantes nas energias dos elétrons dos vários orbitais *d* do íon metálico. Esse modelo foi ampliado para levar em consideração as contribuições covalentes às ligações metal-ligante, resultando na Teoria do Campo Ligante (TCL), que explica várias características básicas dos complexos, inclusive suas propriedades magnéticas e espectroscópicas.^{2,59}

A possibilidade de construção de complexos é devida principalmente às ligações coordenadas e atrações eletrostáticas, no qual há a doação de um par de elétrons do ligante

para o cátion metálico.¹⁴ Esta complexação é determinada por vários fatores: a natureza do metal, do ligante e do esqueleto polimérico e as características do meio complexante como pH, temperatura, entre outras.⁶⁰ A reação de complexação envolve a desolvatação do íon metálico e dos ligantes, o processo de complexação e a solvatação do complexo, ou seja, envolve várias etapas. Primeiramente, as moléculas de solvente coordenadas devem ser removidas da esfera de coordenação do íon metálico, criando um espaço vago para o ligante que entra, e a camada de solvatação ao redor do metal deve ser reorganizada para acomodar a nova estrutura. Todo esse processo envolve consumo de energia, contribuindo para a termodinâmica da reação de complexação. Além disso, outros processos devem ser considerados, como a reorganização do ligante em uma conformação adequada para a interação com o metal e a formação das ligações entre o metal e os átomos doadores dos ligantes. Esse processo de reorganização do ligante envolve absorção de energia conformacional, enquanto a formação das ligações entre o metal e o ligante deverá levar à liberação de energia. Assim, a energia livre da reação pode ser expressa como a soma destes vários componentes (energia solvente-metal, solvente-ligante, conformação do ligante e metal-ligante). Para as energias de desolvatação, espera-se que contenham contribuições de entalpia positivas, já que as ligações entre o íon metálico e as moléculas do solvente devem ser rompidas, junto com termos de entropia positivos, visto que a desordem do sistema aumenta quando as moléculas do solvente se separam do íon metálico e do ligante. Em relação à mudança conformacional que possa ocorrer no ligante, pode-se esperar uma contribuição positiva da entalpia caso seja necessário a rotação de ligações e mudanças de ângulos diedros, gerando uma estrutura menos favorável do ponto de vista estérico, porém mais adequada para a coordenação; em relação à entropia, espera-se que este termo seja negativo, já que a estrutura do ligante torna-se mais ordenada. Na formação do complexo metal-ligante a contribuição entálpica deve ser negativa devido à formação da ligação metal-ligante, assim como a contribuição entrópica deve ser negativa, pois a interação do íon metálico com o ligante resulta em uma maior ordem. O balanço das contribuições entálpicas e entrópicas é variável e depende do complexo estudado, podendo ter consequências importantes sobre a espontaneidade da reação de complexação.¹

A estabilidade termodinâmica de um complexo é definida pela constante de estabilidade ou constante de formação. Os complexos considerados estáveis são aqueles que possuem constante de estabilidade global maior que um, o que proporciona uma energia livre do sistema com valor negativo, ou seja, $\Delta G < 0$.⁵⁹ A determinação experimental destas

constantes constitui uma tarefa de grande importância, que frequentemente é muito difícil. Um dos problemas consiste em determinar quais são as espécies químicas que realmente existem na solução cujo equilíbrio se deseja medir.⁶¹ Devido a essa dificuldade, previsões de estabilidade podem ser realizadas. A estabilidade relativa de muitos complexos pode ser explicada com base em um simples modelo eletrostático, que permite prever o calor de reação produzido durante a formação de um complexo. Sabemos que as partículas eletricamente carregadas de diferentes sinais se atraem, e que estas atrações dependem da distância a qual as mesmas se encontram, sendo tanto mais intensas quanto menor for a distância. Tendo em vista estas considerações, cabe esperar que quanto maior a carga e menor o raio de um íon, maior deverá ser a estabilidade do complexo resultante.^{2,61} A utilização de ligantes não usuais (como os biopolímeros) também interferem na formação e estabilidade do complexo. Devido à elevada massa molecular e ao tamanho desses ligantes, a estabilidade desses complexos é afetada pela geometria do ligante e pela disponibilidade dos grupos funcionais contidos no biopolímero.^{14,16}

Em relação à cinética de formação dos complexos, sabe-se que a substituição de um ligante por outro, junto ao átomo metálico central, pode ocorrer em diferentes velocidades, o que permite classificar os complexos em lábeis, quando a substituição de ligantes ocorre rapidamente, ou inertes, quando a substituição é lenta.^{1,2,59} Um dos poucos aspectos convergentes entre a estabilidade (dependente do ΔG) e a labilidade (dependente da constante de velocidade) dos complexos ocorre em relação às cargas e aos raios do átomo central. De fato, a estabilidade sempre aumenta com o aumento da carga e com a diminuição do raio do átomo central e a labilidade sempre diminui com o aumento da carga e com a diminuição do raio do átomo central dos complexos.⁶¹

Devido a presença de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares^{15,16,38} e a pequenas diferenças na basicidade dos sítios^{22,51,62} nem todos os centros de coordenação da amilopectina estão envolvidos na coordenação. A flexibilidade das cadeias da amilopectina, definida principalmente pela liberdade torsional ao redor das ligações simples, possibilita a fácil adaptação ao redor de íons metálicos de tamanho variável.⁵⁸ Acredita-se que as unidades monoméricas que constituem a amilopectina atuam como ligantes quelantes, devido à existência de mais de um sítio de coordenação no monômero de glicose. Além disso, sabe-se que ligantes multidentados tendem a formar complexos mais estáveis; o principal fator responsável por esse aumento na estabilidade é o aumento da entropia do sistema.¹ Uma

maior entropia é observada quando um complexo de ligantes polidentados é formado, devido ao aumento de moléculas livres no sistema.⁶¹

3.3 ESTUDO TEÓRICO DE CARBOIDRATOS

Dentre os produtos naturais, os carboidratos são aqueles que existem sob o maior número de formas (ácidos nucleicos, glicoproteínas, etc) e grande parte de sua importância deve-se a participação em um grande número de ciclos bioquímicos.⁶³ Em relação à diversidade de aplicações biológicas, destaca-se a ação de carboidratos como substâncias bioativas, especificamente em atividades antibacterianas,⁶⁴ antivirais^{65,66} e antifúngicas.⁶⁷

Sabendo que os carboidratos desempenham um papel essencial em muitos processos biológicos, a elucidação conformacional dessas biomoléculas é fundamental. A análise conformacional consiste na exploração dos arranjos espaciais (formas) energeticamente favoráveis de uma molécula (conformações).⁶⁸ A dificuldade na realização de análise conformacional de carboidratos através de métodos teóricos se dá no número de conformações existentes. Um exemplo clássico é o número de conformações existentes em um monômero de glicose, chegando a 1458 possibilidades (considerando apenas a conformação cadeira em ambos os anômeros).⁶⁹

O processo de minimização de energia fornece uma conformação estável, que não representa necessariamente a estrutura mais estável de determinada molécula. Na minimização, os cálculos de energia são interrompidos quando a molécula atinge a primeira conformação estável e levam a uma estrutura semelhante à original, com energia mínima local. A Figura 3 mostra que esta conformação estável pode estar separada de outra, ainda mais estável, por uma barreira de energia, que o cálculo de minimização é incapaz de ultrapassar. Neste caso, para identificar a conformação mais estável, com uma energia mínima global, é necessário gerar várias conformações de uma molécula e comparar os valores de energias obtidos a cada modificação.⁷⁰

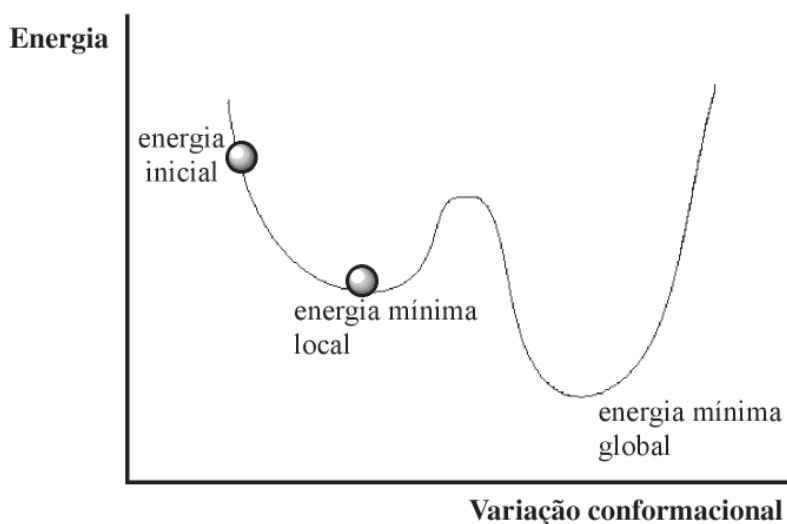


Figura 3. Representação dos mínimos de energia local e global⁷⁰

O estudo conformacional de carboidratos envolve mudanças nos ângulos diedros, rotação de grupos funcionais, comprimentos de ligação, avaliação de interações de longa distância, ligações de hidrogênio, torsão do anel e efeito anomérico e exo-anomérico. De acordo com Silva e colaboradores,⁶⁹ três fatores principais estabilizam este tipo sistema: efeito exoanomérico, ligações de hidrogênio e interações de longa distância.

Os métodos computacionais utilizados na análise conformacional podem ser divididos em quânticos e clássicos. Os métodos quânticos são baseados em resoluções aproximadas da Equação de Schrödinger independente do tempo ($H\Psi=E\Psi$).⁷¹ Métodos clássicos utilizam recursos da Física Clássica, onde a evolução temporal do sistema é obtida resolvendo-se equações de movimento de Newton.⁷² Os ângulos diedros (chamados de Φ , Ψ e Ω) existentes nos carboidratos são usados para descrever a conformação da ligação glicosídica,⁶⁸ estudados através de métodos quânticos desde 1995 por Tvaroška e colaboradores⁷³ e por métodos clássicos desde 1974 por Lemieux e Koto⁷⁴ em trabalho pioneiro sobre o assunto.

Muitos estudos têm sido dedicados à análise conformacional de carboidratos, sendo a maioria utilizando métodos clássicos⁷⁵⁻⁷⁷ para obtenção de conformações estáveis. De fato os métodos clássicos são úteis quando o sistema é muito grande e flexível, e também quando não envolvem efeitos estereoeletrônicos.^{58,69,78} Porém, em carboidratos, este último é exatamente o caso: estudos anteriores^{78,79} sugerem que os ângulos Φ e Ψ são definidos pelo efeito exo-anomérico e interações de longa distância, respectivamente. Métodos quânticos são bastante eficientes na quantificação de efeitos estereoeletrônicos devido a consideração dos elétrons

nos cálculos e a não utilização de parametrizações.^{69,78} Hoje, os métodos quânticos podem ser estendidos a sistemas maiores, visto a disponibilidade de computadores mais rápidos e códigos computacionais mais eficientes capazes de lidar com sistemas maiores.⁸⁰

Embora a química computacional seja uma ferramenta poderosa para a exploração de conformações estáveis de moléculas, a análise conformacional de carboidratos é difícil devido aos numerosos graus de liberdade, principalmente pelo fato de existirem inúmeras possibilidades de arranjos de ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares.⁸¹ A partir de 2002, Tvaroška e colaboradores⁸² continuaram os estudos de investigação em torno da ligação glicosídica, da rotação do grupo hidroximetil e do efeito do solvente (água ou etanol) usando Teoria do Funcional de Densidade (DFT).

A D-glicose ou D-glicopirranose possui várias conformações que a tornam alvo de estudo experimental e conformacional. A D-glicose pode estar arranjada como um aldeído acíclico, como um anel piranosídico de seis membros com o grupo hidroxílico anomérico na posição α ou β ou como um anel furanosídico de cinco membros com arranjos α ou β do grupo hidroxílico anomérico (Figura 4 – a, b, c, d, e).^{83,84} Dentre os tipos de piranose possíveis, praticamente 100% encontram-se na forma cadeira 4C_1 ,^{51,85,86} que significa que o C4 está situado no topo da cadeira e o C1 no ponto mais baixo da cadeira, ambos em relação ao plano definido pelos átomos O5→C2→C3→C5.⁵¹

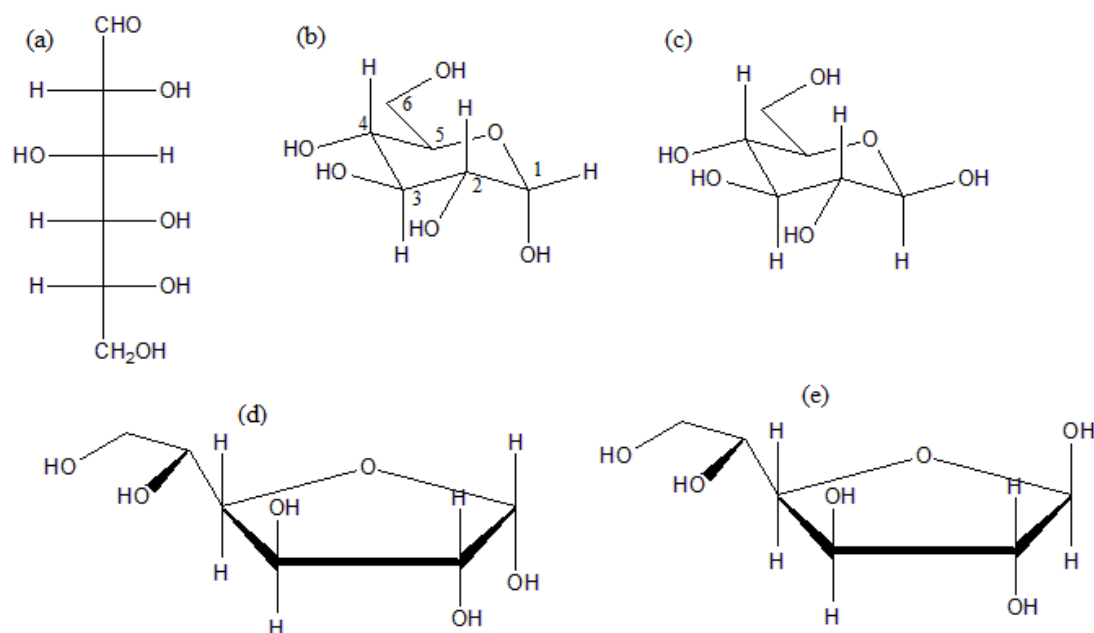


Figura 4. Configurações da D-glicose: (a) aldeído acíclico, (b) α -anel piranosídico, (c) β -anel piranosídico, (d) α -anel furanosídico, (e) β -anel furanosídico.

Devido ao efeito anomérico, os monômeros constituintes da amilopectina, objeto de estudo deste trabalho, possuem a hidroxila ligada ao C1 na posição axial (α). O efeito anomérico refere-se a uma preferência termodinâmica da posição axial de substituintes mais eletronegativos ligados ao C1.⁷⁹ Essa situação foi primeiramente observada por Edward em 1955⁸⁷ em carboidratos que sofriam hidrólise ácida na ligação glicosídica, e denominada por Lemieux e Chü em 1958⁸⁸ como efeito anomérico, para identificar a orientação conformacional *gauche* do grupamento aglicona (grupo OR) em relação à ligação C-O endocíclica (Figura 4 – b).

A origem do efeito anomérico é principalmente devida à hiperconjugação, baseada na proposta de deslocalização de um dos pares de elétrons isolados do átomo de oxigênio (O5) para o orbital antiligante não ocupado σ^*_{C1-O1} , visto o átomo eletronegativo O1 atrair o par de elétrons da ligação química C1-O1, movimento este favorecido na conformação axial.⁷⁹ Outra proposta para a natureza do efeito anomérico tem origem eletrostática, surgindo da repulsão eletrostática entre os pares de elétrons isolados dos átomos de oxigênio O1 e O5, menos pronunciado na conformação axial.⁸⁶

As diferenças nas conformações do monômero de α -D-glicose estão na rotação da ligação C5-C6, chamado ângulo ω e no sentido das ligações de hidrogênio intramoleculares (*c-clockwise* e *cc-counterclockwise*) (Figura 5).⁸⁹ Na rotação deste ângulo ω , três rotâmeros distintos são encontrados, chamados *gauche-gauche*, *gauche-trans* e *trans-gauche* (Figura 6).

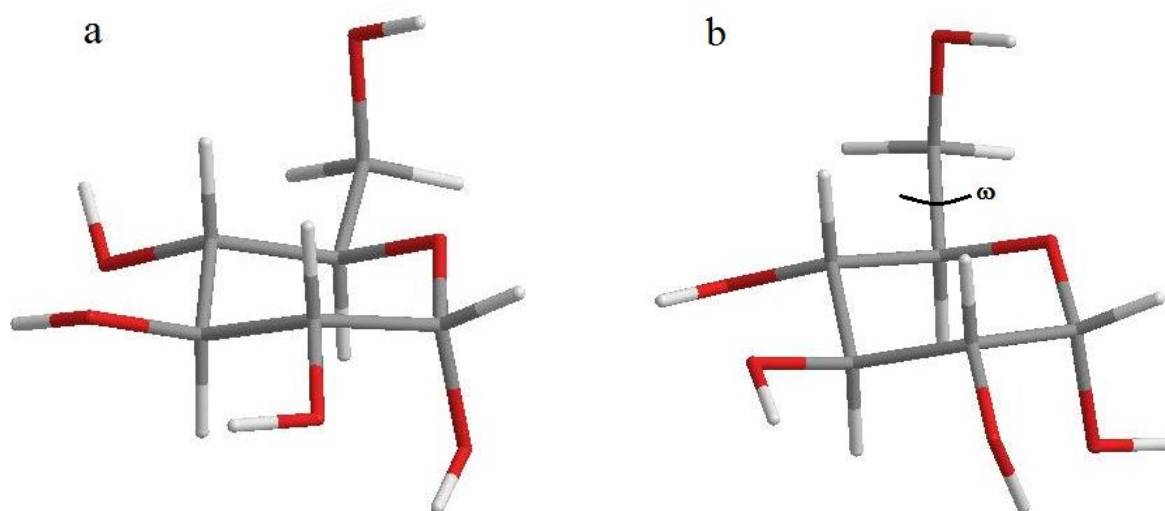


Figura 5. Representação do sentido das ligações de hidrogênio intramoleculares *c* (a) e *cc* (b). O ângulo ω da glicose está representado na conformação *cc* (b) (em cinza os átomos de carbono, em vermelho os átomos de oxigênio e em branco os átomos de hidrogênio).

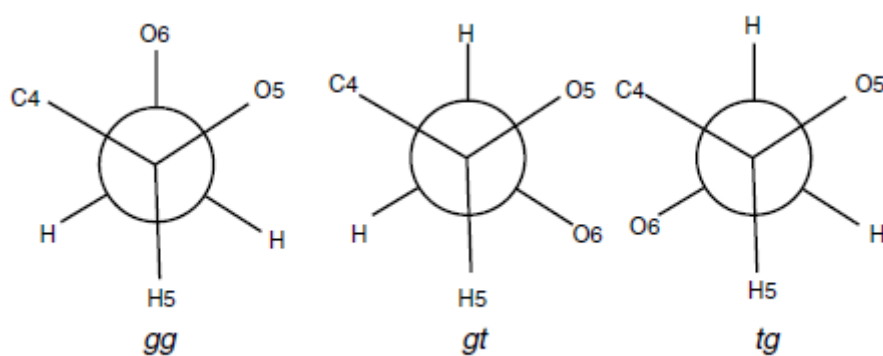


Figura 6. Rotâmeros *gauche-gauche* (gg), *gauche-trans* (gt) e *trans-gauche* (tg).⁸¹

Estudos de RMN^{90,91} revelaram populações relativas para os rotâmeros *gg/gt/tg* de 56/44/0% para o anômero α , e resultados de DFT⁹²⁻⁹⁴ mostram que as diferenças de energia entre os três rotâmeros são bem pequenas, sugerindo que o rotâmero *tg* é energeticamente menos favorecido que as formas *gg* e *gt*. O favorecimento das formas *gg* e *gt* pode ser uma indicação de formação de ligações de hidrogênio intramoleculares entre o grupo hidroximetil e o átomo de oxigênio do anel piranosídico, causando um efeito estabilizador.⁹⁵

Em α -glicanos apenas dois dímeros são possíveis: a maltose ligada em $\alpha(1\rightarrow4)$ e a isomaltose ligada em $\alpha(1\rightarrow6)$.^{51,62,76} Na maltose, os ângulos torsionais da ligação glicosídica $\alpha(1\rightarrow4)$ são denominados Φ (fi) e Ψ (psi),^{51,76,96,97} onde o ângulo Φ é definido pelos átomos O5 – C1 – O1 – C4' e o ângulo Ψ pelos átomos C1 – O1 – C4' – C5' (o açúcar reduzido é rotulado com (')) (Figura 7). Na isomaltose, além dos ângulos Φ e Ψ definidos respectivamente pelos átomos O5 – C1 – O1 – C6' e C1 – O1 – C6' – C5' há um terceiro ângulo torsional denominado Ω (ômega), definido pelos átomos O1 – C6' – C5' – O5' (Figura 8). A torsão em Ω tem três configurações estrela preferenciais denominadas *GG* (300°), *GT* (60°) e *TG* (180°),^{51,62,78,98} similar a torsão do ângulo ω já definido na Figura 5.

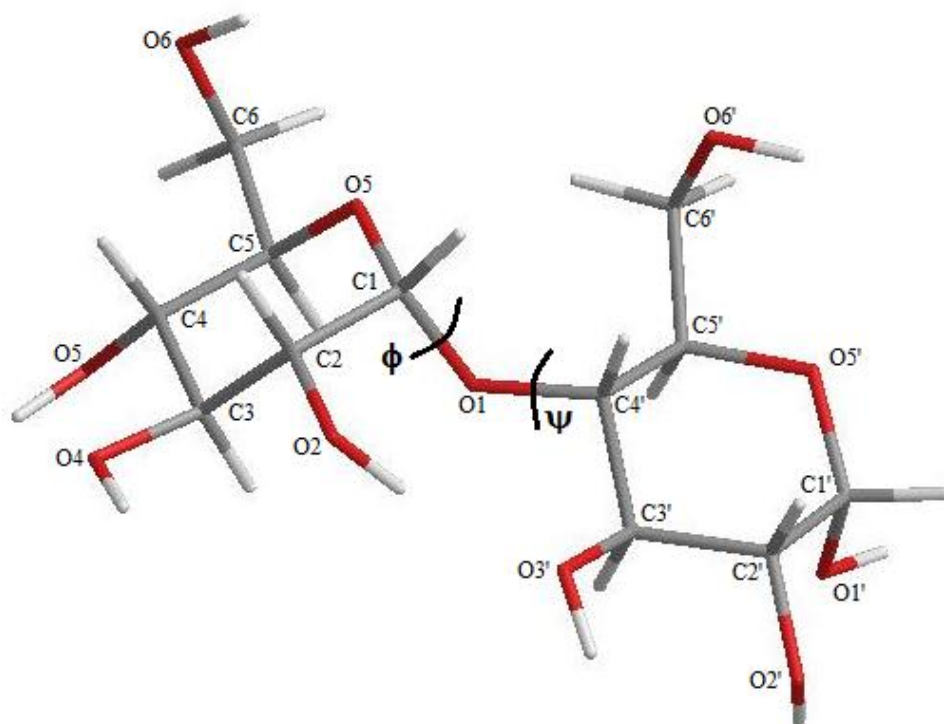


Figura 7. Representação dos ângulos diedros da maltose (em cinza os átomos de carbono, em vermelho os átomos de oxigênio e em branco os átomos de hidrogênio).

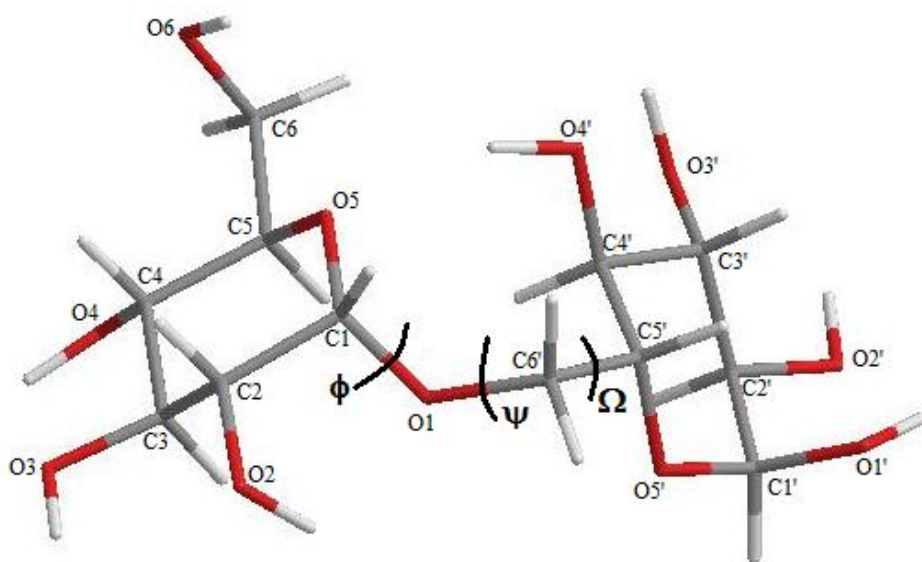


Figura 8. Representação dos ângulos diedros para a isomaltose (em cinza os átomos de carbono, em vermelho os átomos de oxigênio e em branco os átomos de hidrogênio).

O ponto de ramificação da amilopectina foi investigado inicialmente como um composto tetrassacarídico^{75,98} e, alguns anos depois, Corzana e colaboradores⁶² incluíram mais um resíduo de glicose no tetrassacarídeo já estudado, a fim de melhor representar as características estruturais do biopolímero. Desde então, o estudo do pentasacarídeo (Figura 1) tem se mostrado representativo no âmbito da investigação conformacional da amilopectina.

Em relação à interação da amilopectina com íons metálicos, os cálculos teóricos representam uma ferramenta complementar na correlação dos dados experimentais com detalhes estruturais.²⁴ Em 2005, Bhatia e colaboradores⁹⁹ desenvolveram estudo teórico-experimental de complexos de quitosana com íons Fe^{2+} e Fe^{3+} utilizando métodos DFT. Mais recentemente, Cisnetti e colaboradores¹⁰⁰ desenvolveram estudo envolvendo métodos teóricos e experimentais para elucidar as propriedades de um novo complexo envolvendo um ligante baseado em D-ribose e íons metálicos bivalentes.

Por apresentar diversas conformações em solução, um estudo da interação entre íons metálicos e ligantes ainda é crítico do ponto de vista teórico, visto as numerosas variáveis do sistema, principalmente quando os ligantes possuem mais de um sítio de coordenação e/ou são grandes.¹⁰¹ A exata representação de toda extensão de solvatação e desolvatação dos compostos envolvidos são variáveis físico-químicas importantes, e muitas vezes os métodos computacionais são limitados.¹⁰²

Devido aos dados teóricos encontrados na literatura da amilopectina (incluindo os dímeros maltose e isomaltose que representam as ligações glicosídicas da biomolécula) serem escassos,^{51,78,96,97,103} nosso estudo teórico consiste em estimar os valores desses ângulos diedros para posterior avaliação do efeito do solvente (implícito). Estabelecendo uma geometria satisfatória da amilopectina é possível avaliar os valores das cargas parciais para estimar possíveis sítios de coordenação, além de produzir um espectro vibracional teórico e correlacioná-lo com o experimental.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse capítulo serão descritos os materiais utilizados para a realização das reações de complexação e os métodos experimentais e teóricos utilizados neste trabalho. O planejamento fatorial empregado teve como objetivo aprimorar as condições reacionais de complexação, quantificadas através do aumento no rendimento das reações. As análises de pH e condutividade foram feitas com o intuito de observar as mudanças provocadas nesses parâmetros pela coordenação da amilopectina com os íons metálicos. Especificamente em relação à amilopectina, espectros vibracionais foram obtidos através da técnica de Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com o objetivo de verificar os deslocamentos nas bandas de absorção características da amilopectina ocasionados pela interação com o metal. Também foi empregada a técnica de Espectroscopia de Absorção na Região do UV-Vis, com o intuito de observar mudanças nos espectros eletrônicos dos íons metálicos. A análise termogravimétrica (TGA) foi utilizada para verificar a mudança causada na temperatura de decomposição da amilopectina frente a introdução do metal na matriz polimérica.

O estudo teórico realizado teve por objetivo entender a estrutura ramificada da amilopectina, verificando se a molécula construída computacionalmente é passível de comparação com aquela de fato existente. Os cálculos envolveram a inclusão do solvente de forma implícita e resultados de frequências vibracionais. Com respeito à interação da amilopectina com o metal, foram avaliados os sítios de coordenação da amilopectina através das cargas parciais.

4.1 MATERIAIS

O biopolímero empregado foi a amilopectina obtida do Amidex 40003, obtida da Corn Products Brasil Ingredientes Industriais Ltda. (Jundiaí, SP, Brasil), contendo de 80 – 100% de amilopectina em massa, com massa molecular (M_w) de $5,12 \times 10^6$ g.mol⁻¹. A M_w foi determinada através da técnica de espalhamento de luz estático (SLS). O grau de amilopectina

presente no amido foi informado pelo fabricante, tendo sido obtido a partir de modificação genética da planta do qual foi extraído o amido. A preparação deste biopolímero foi realizada por Peres,³⁹ através de uma metodologia de redução da massa molecular da amilopectina sob técnicas ultrassônicas, em uma mistura 90:10 de dimetilsulfóxido (DMSO) e água deionizada. Com o tratamento aplicado, a massa molecular do biopolímero foi reduzida para $5,61 \times 10^5$ g.mol⁻¹ e o raio hidrodinâmico determinado em 151 ± 16 nm, medidos através da técnica de Espalhamento de Luz (LS). Neste trabalho a solução tratada contendo majoritariamente amilopectina (preparada pela dissolução do Amidex 40003)³⁹ será nomeada "solução tratada de amilopectina ApT". O sistema solvente água-DMSO tem sido amplamente utilizado como um agente solubilizador do amido e seus componentes. Enquanto soluções de amido em água são instáveis devido ao fenômeno de retrogradação, soluções de amido em sistema misto de solventes (água e DMSO) possuem relativa estabilidade.^{104,105}

Os complexos foram preparados com os seguintes sais adquiridos da Aldrich com elevado grau de pureza: FeCl₃.6H₂O, Fe(NO₃)₃.9H₂O, Cu(NO₃)₂.3H₂O, CuCl₂.2H₂O, Cu(CH₃COO)₂.H₂O, Cr₃(CH₃COO)₇(OH)₂, Cr(NO₃)₃.9H₂O, NiCl₂.6H₂O, Ni(CH₃COO)₂.4H₂O, CoCl₂.6H₂O, Pb(NO₃)₂ e PbCl₂. Para as titulações complexométricas foram utilizados indicadores metalocrômicos (alaranjado de xilenol e murexida), ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃), iodeto de potássio (KI) e ácido sulfúrico (H₂SO₄). Para ajuste de pH foram utilizadas soluções de ácido clorídrico 1M (HCl), ácido nítrico 1M (HNO₃), ácido acético 1M (CH₃COOH) e solução tampão NH₃/NH₄Cl 0,1M. Todos os reagentes foram adquiridos da Aldrich com elevado grau de pureza.

4.2 PREPARAÇÃO DOS COMPLEXOS

As amostras foram preparadas de acordo com o procedimento reacional exemplificado na Figura 9, sob agitação constante em agitador magnético.

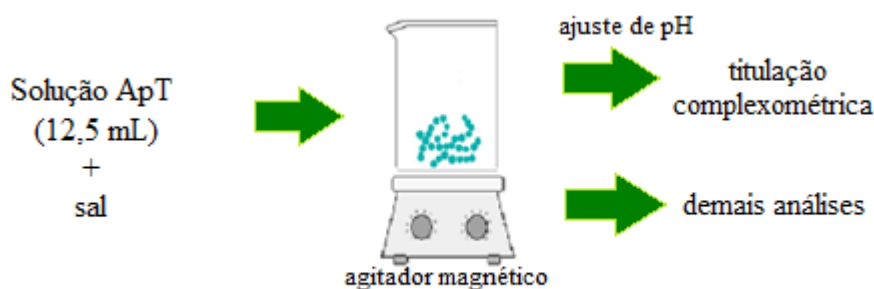


Figura 9. Esquema do procedimento reacional realizado.

A solução ApT possui concentração de 4 mg.mL^{-1} , preparada na mistura de solventes DMSO/água deionizada na proporção 90:10, sob agitação e posterior tratamento ultrassônico. Os detalhes da preparação da solução ApT podem ser encontrados no trabalho desenvolvido por Peres.³⁹ A massa de sal utilizada, o tempo e a temperatura das reações foram definidos através de planejamento fatorial, e serão detalhados no item 4.4. O volume da solução ApT utilizado nas reações foi previamente definido em estudos realizados por Peres.³⁹

4.3 TITULAÇÃO COMPLEXOMÉTRICA

A titulação complexométrica é uma técnica de análise volumétrica na qual há formação de um complexo suficientemente estável entre íons metálicos e um agente complexante, com o auxílio de indicadores metalocromáticos. Os indicadores são utilizados para indicar a total complexação de determinado íon metálico pelo agente complexante, sendo o final da titulação indicado pela mudança de cor devido à passagem do complexo Metal-Indicador para o complexo Metal-Agente Complexante. Para que a titulação seja bem sucedida é necessário que o pH em que a titulação deve ser feita seja respeitado, por esta razão faz-se necessário um ajuste do pH da solução para que ponto viragem da titulação possa ser observado. Além disso, o complexo metal-indicador deve ser estável o bastante para se manter em solução, porém menos estável que o complexo metal-agente complexante.^{106,107} Para a titulação complexométrica foram realizados ensaios sem a amilopectina, a fim de quantificar a complexação do metal com o solvente.

Após o término da reação, as amostras foram submetidas ao ajuste do pH antes da titulação. A Tabela I apresenta a faixa de pH da solução de cada metal e o indicador utilizado na titulação complexométrica. Os ajustes de pH foram realizados em pHmetro Digimed modelo DM-23, previamente calibrado com soluções tampão.

Tabela I. Faixa de pH da titulação, forma de ajuste e indicador utilizado para cada íon metálico

Íon	Faixa de pH ideal ^{106,107}	Forma de ajuste	Indicador
Fe³⁺	Cloreto	HCl	Alaranjado de Xilenol
	Nitrato	HNO ₃	
Ni²⁺	Cloreto	HCl	Murexida
	Acetato	CH ₃ COOH	
Cu²⁺	Cloreto	solução tampão NH ₃ /NH ₄ Cl	Murexida
	Nitrato		
	Acetato		
Pb²⁺	Cloreto	HCl	Alaranjado de Xilenol
	Nitrato	HNO ₃	
Co²⁺	Cloreto	HCl	Murexida

Como pode ser observado, as amostras contendo os sais de cromo não estão listados na tabela acima. Para as amostras contendo o íon Cr³⁺ foi realizada uma titulação indireta, no qual 5 mL do complexo formado foram transferidos quantitativamente para um balão volumétrico de 500 mL completando com água destilada até o menisco. Após esse procedimento, recolheu-se 25 mL da solução, que foram colocados em um erlenmeyer onde foram adicionados 5 g de iodeto de potássio (KI), 10 mL de H₂SO₄ 20 % e 10 mL de uma solução padrão de EDTA 0,1M. A solução foi deixada em repouso por 5 minutos e posteriormente foi titulada com uma solução padrão de Na₂S₂O₃ 0,01 M.

As demais amostras foram tituladas diretamente com EDTA. Para as amostras contendo os sais de ferro, cobre, níquel e cobalto a concentração da solução de EDTA utilizada na titulação foi de 2.10⁻³ M; para as amostras contendo os sais de chumbo a

concentração da solução de EDTA utilizada na titulação foi de 1.10^{-3} M. Os cálculos utilizados para quantificar o percentual de complexação estão descritos no Anexo 2.

4.4 PLANEJAMENTO FATORIAL

Planejamento fatorial é um tipo de planejamento experimental que é de grande utilização em investigações preliminares quando se deseja saber se determinados fatores têm ou não influência sobre a resposta desejada.¹⁰⁸ Um planejamento adequado permite também a redução da variabilidade de resultados, a redução de tempos de análises e dos custos envolvidos.^{109,110}

No planejamento de qualquer experimento, inicialmente é necessário decidir quais são os fatores e as respostas de interesse. Para k fatores, ou seja, k variáveis controladas pelo analista, um planejamento completo de dois níveis exige a realização de 2^k ensaios diferentes.¹⁰⁸ Os níveis são os valores dos fatores que serão usados para fazer os experimentos. Para estudar o efeito de qualquer fator sobre uma dada resposta, precisamos fazê-lo variar de nível e observar o resultado que essa variação produz sobre a resposta. Para as reações de complexação, foram avaliados três fatores: temperatura, tempo e massa do sal, estudados em dois níveis, sendo assim foi realizado um planejamento fatorial 2^3 , acrescidos de um ponto central em triplicata (Tabela II). Os experimentos no ponto central, também conhecido como nível zero, fornecem uma boa estimativa dos erros com a utilização dos valores médios dos níveis de todas as variáveis.^{111,112}

Tabela II. Planejamento fatorial completo 2^3 com ponto central

Experimento	temperatura (°C)	tempo (h)	massa (mg)*
1	25	3	5
2	40	3	5
3	25	5	5
4	40	5	5
5	25	3	10
6	40	3	10
7	25	5	10
8	40	5	10
9	32,5	4	7,5

* As concentrações molares dos sais são apresentadas no Anexo 1.

A variável massa utilizada no planejamento fatorial foi previamente avaliada por Peres³⁹ em seus estudos de complexação da amilopectina com íons metálicos, visando concentrações ideais para os experimentos de Espalhamento de Luz.

Todos os experimentos (1-9) foram realizados em triplicata. O objetivo do planejamento foi avaliar a influência das variáveis no rendimento das reações de complexação, quantificado através da titulometria de complexação. Os dados obtidos do planejamento fatorial foram tratados por planilhas eletrônicas publicadas pelo Laboratório de Quimiometria Teórica e Aplicada (LQTA) do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).¹¹¹ Nesse tratamento de dados, os efeitos das variáveis temperatura, tempo e massa de sal foram avaliados de forma univariada e multivariada, o que corresponde a interações de até 3ª ordem (efeitos das 3 variáveis ao mesmo tempo). Normalmente, os níveis dos fatores são nomeados pelos sinais – (menos) para o nível mais baixo e + (mais) para o nível mais alto. Para os experimentos no nível zero, o número 0 (zero) é utilizado na nomeação. Os sinais para os efeitos de interação entre todas as variáveis do planejamento, realizando todas as combinações possíveis, são obtidos pelo produto dos sinais originais das variáveis envolvidas. Aqui, a variável temperatura é chamada de 1, a variável tempo é chamada de 2 e a variável concentração é chamada de 3. Desta maneira, é possível construir as colunas de sinais para todas as interações (Tabela III).

Tabela III. Matriz de sinais para um planejamento fatorial 2^3 considerando todas as interações

Experimento	Variáveis			Interações			
	1	2	3	12	13	23	123
1	-	-	-	+	+	+	-
2	+	-	-	-	-	+	+
3	-	+	-	-	+	-	+
4	+	+	-	+	-	-	-
5	-	-	+	+	-	-	+
6	+	-	+	-	+	-	-
7	-	+	+	-	-	+	-
8	+	+	+	+	+	+	+
9	0	0	0	0	0	0	0

É importante ressaltar que a numeração dos ensaios é apenas uma forma didática de identificar as várias combinações de níveis, ou seja, não coincidem com a ordem em que de fato os experimentos foram realizados. Os ensaios (inclusive as triplicatas) foram realizados de forma aleatória, a fim de minimizar a probabilidade de qualquer fator indesejável afetar a resposta de interesse. No planejamento fatorial todos os sais foram testados frente à variação dos fatores considerados importantes nas reações de complexação (temperatura, tempo e massa do sal).

Para as posteriores análises de caracterização dos complexos, foram utilizadas as condições experimentais que alcançaram maior rendimento reacional, condições estas definidas pelo tratamento dos dados do planejamento experimental.

4.4.2 Identificação dos efeitos significativos

Após a realização dos cálculos dos efeitos em um planejamento fatorial ocorre a identificação dos efeitos significativos, ou seja, aqueles que de fato influenciam na resposta de interesse. Nas planilhas eletrônicas publicadas pelo LQTA (UNICAMP) utilizadas para a avaliação dos efeitos das variáveis no rendimento das reações de complexação a identificação

dos efeitos significativos é realizada empregando o teste *t* (*distribuição de Student*), através do valor *p*, sendo necessária a compreensão dos testes de hipótese e significância.

Hipótese é uma suposição e, em muitos casos, formula-se uma hipótese estatística com o propósito de rejeitá-la ou invalidá-la. Aqui, o desejo é decidir se um efeito é significativo na resposta, então formula-se a hipótese de que não há significância dos efeitos. Essa hipótese é denominada nula e representada por H_0 , enquanto qualquer outra hipótese diferente (como a significância do efeito) é denominada hipótese alternativa e é representada por H_1 . Ao testar uma hipótese estabelecida, a probabilidade máxima, representada frequentemente por α , com a qual se sujeitaria a correr o risco de um erro é denominada nível de significância do teste. Se é escolhido um nível de significância 0,05 ou 5%, há então cerca de 5 chances em 100 da hipótese nula ser rejeitada, quando deveria ser aceita, isto é, há uma confiança de 95% de que se tomou uma decisão correta. Nesses casos, diz-se que a hipótese é rejeitada ao nível de significância 0,05, o que significa que a probabilidade de erro seria de 0,05.¹¹¹

Uma maneira de concluir o teste de hipótese é comparar o valor *p* do teste estatístico amostral com o nível de significância α . O valor *p* do teste estatístico amostral é o menor nível de significância para que se rejeite H_0 . Neste sentido, compara-se o valor *p* com α e, se o valor $p \leq \alpha$ rejeita-se H_0 , caso contrário H_0 é aceito.¹¹¹ Então, para que o efeito das variáveis seja significativo, o valor *p* deve ser menor ou igual a α , a fim de anular a hipótese nula H_0 .

4.5 MÉTODOS INSTRUMENTAIS

Em todos os ensaios instrumentais foram realizados brancos. Para os ensaios de pH, condutividade e UV-Vis os brancos foram preparados com a ausência da amilopectina, com o intuito de verificar as diferenças do metal complexado somente com o solvente e depois com a amilopectina. Para a análise de FT-IR foram obtidos espectros vibracionais da solução ApT pura e complexada com os diversos metais. A análise termogravimétrica foi realizada com a solução ApT pura e complexada somente com o íon metálico de maior rendimento reacional.

4.5.1 pH

As medidas de pH foram realizadas utilizando um pHmetro Digimed modelo DM-23, previamente calibrado com soluções tampão. As análises foram realizadas em temperatura ambiente (22 à 25°C) e em triplicata.

4.5.2 Condutividade

As medidas de condutividade foram realizadas utilizando condutivímetro de bancada microprocessado Bel Engineering srl, modelo W12D, previamente calibrado com solução padrão. As análises foram realizadas em temperatura ambiente (22 à 25°C) e em triplicata. Todos os valores de condutividade das soluções salinas (sal e solvente) foram subtraídos do valor de condutividade da mistura de solventes DMSO/água 90:10 (2,763 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), assim como os valores de condutividade dos complexos (sal, solvente e amilopectina) foram subtraídos do valor de condutividade da solução ApT pura (7,193 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$).

4.5.3 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica importante para a caracterização de materiais, sendo uma ferramenta bastante útil para identificação de grupos funcionais, conformação e estrutura de macromoléculas. A técnica permite a análise qualitativa de compostos orgânicos, visto que os modos característicos de vibração de cada grupo provocam o aparecimento de bandas no espectro infravermelho em frequências específicas, que também são influenciadas pela presença de grupos funcionais próximos (acoplamentos).¹¹³ Cada grupo químico pode ter uma ou mais bandas específicas de absorção nos espectros de infravermelho, e as características espectrais dos picos mudarão quando o

ambiente químico for alterado ou quando os grupos químicos interajam uns com os outros.¹¹⁴

Os dados espectroscópicos de FT-IR foram obtidos através do equipamento Bruker Modelo Alpha-P de Módulo UATR (Refletância Total Atenuada Universal). Os espectros foram obtidos com resolução espectral de 4 cm⁻¹, em duplicata. Em todos os ensaios foi realizado o *background*.

4.5.3.1 Análise por Componentes Principais por Intervalo (i-PCA)

O tratamento dos dados gerados pela espectroscopia na região do infravermelho foi realizado utilizando a ferramenta estatística i-PCA, através do software Matlab 7.11 (MathWorks Inc., Natick, MA) e o pacote iToolbox (<http://www.models.kvl.dk>, Copenhagen, Denmark). Similar ao PCA (análise por componentes principais), o i-PCA permite a visualização gráfica de todo o conjunto de dados, mesmo quando o número de amostras e variáveis é elevado.¹¹⁵ O uso dessa técnica estatística tem como objetivo principal aumentar a compreensão do conjunto de dados, examinando a presença ou a ausência de similaridades entre as amostras.¹⁰⁹

A análise de componentes principais consiste basicamente em rescrever as coordenadas das amostras em outro sistema de eixo mais conveniente para a análise dos dados. Em outras palavras, as n-variáveis originais geram, através de suas combinações lineares, n-componentes principais (PC), cuja principal característica, além da ortogonalidade, é que são obtidos em ordem decrescente de máxima variância. Desta forma, a componente principal 1 (PC1) é traçada no sentido da maior variação no conjunto de dados, retendo mais informação estatística que a componente principal 2 (PC2), que é traçada ortogonalmente à primeira, com o intuito de descrever a maior porcentagem da variação não explicada pela PC1 e que por sua vez tem mais informação estatística que a componente principal 3 (PC3) e assim por diante.^{116,117}

Na PCA, a matriz **X** é decomposta em um produto de duas matrizes, denominadas escores (**T**) e pesos (**P**), mais uma matriz de erros (**E**)¹¹⁸, como mostrado da Equação 1:

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E} \quad (1)$$

Os escores representam as coordenadas das amostras no sistema de eixos formados pelos PC's. Cada PC é constituído pela combinação linear das variáveis originais e os coeficientes da combinação são denominados pesos. Os pesos representam o quanto cada variável original contribui para uma determinada PC, enquanto os escores representam as relações de similaridade entre as amostras. A matriz de erros contém os resíduos, ou seja, a parte dos dados não explicados pelo modelo de componentes principais.¹¹⁸ O número de PC's utilizadas no modelo PCA é determinado pela porcentagem de variância explicada.^{109,117,119}

O uso da espectroscopia no infravermelho combinado com análise quimiométrica é constantemente utilizado, tanto no meio científico como industrial, como em estudos de reconhecimento de padrões de óleos vegetais comestíveis,¹²⁰ autenticidade¹²¹ e adulteração desses óleos.^{122,123}

A i-PCA consiste em dividir o conjunto de dados em um número de intervalos equidistantes; para cada intervalo realiza-se uma PCA.¹²⁴ A vantagem da i-PCA na comparação de dados espectrais é a possibilidade de avaliar o conjunto de dados em intervalos específicos ($i= 1, 4, 8, 16$, etc), podendo limitar qual a faixa (no caso, frequência) que se deseja estudar. Neste trabalho foi realizado pré-processamento dos dados (dados centrados na média).

4.5.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

Os espectros eletrônicos na região do UV-Vis foram registrados em um espectrofotômetro Varian modelo Cary 50 com cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Leituras abaixo de 300 nm não puderam ser realizadas porque o solvente (DMSO) absorve fortemente na faixa de 200-300 nm devido às transições $n \rightarrow \pi^*$.^{125,126}

4.5.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

Termogravimetria é a técnica na qual uma variação da massa de uma substância é medida em função da temperatura enquanto esta é submetida a uma programação controlada.^{127,128} A análise termogravimétrica (TGA) tem sido utilizada frequentemente no estudo da estabilidade térmica e da decomposição de polímeros, sendo ambas as propriedades importantes do ponto de vista científico e industrial.¹²⁹ A técnica examina a mudança de massa da amostra como uma função da temperatura ou do tempo, enquanto é submetida a uma programação controlada de aquecimento.¹²⁷ A curva de termogravimetria derivada (DTG), recurso matemático que fornece a primeira derivada do TG, apresenta o pico máximo de temperatura de degradação e a área desse pico é proporcional à perda de massa naquele evento térmico.¹²⁹

As análises termogravimétricas foram realizadas no equipamento TGA Q5000IR fabricado pela TA Instruments, utilizando atmosfera de nitrogênio puro em uma vazão de 25 mL.min⁻¹, em panelas de platina hermeticamente fechadas modelo Platinum HT, em duplicata. A massa de amostra utilizada foi de 10 mg, aquecidas desde 20°C até 400°C, com rampa de aquecimento de 5 °C.min⁻¹. Os resultados foram tratados pelo software TA (*Thermal Analysis*) versão 4.4A, fornecido pelo próprio fabricante.

4.6 MÉTODOS COMPUTACIONAIS

Todos os cálculos foram realizados no programa computacional Gaussian 09.¹³⁰ Com relação à análise conformacional, todos os cálculos foram realizados utilizando nível de teoria DFT. Para as conformações da α -D-glicose foi empregado o funcional B3LYP¹³¹ e conjuntos de base 6-31G(d), 6-31G(d,p), 6-311++G(d,p) e 6-311++G(2d,2p), calculados no vácuo. O funcional híbrido B3LYP é uma das aproximações mais populares, largamente utilizado em estudos envolvendo análise conformacional.^{78,80,85}

Em relação aos conjuntos de base, foram utilizadas funções de polarização (d,p) e funções difusas (+,++) para alguns cálculos. A adição de funções de polarização a um conjunto de base permite uma melhor descrição dos elétrons nos orbitais, uma vez que por

meio dessas funções consegue-se uma descrição das deformações sofridas pelos orbitais que participam de uma ligação química.^{132,133} A letra *d* indica que funções de polarização de simetria *d* foram adicionadas aos átomos pesados, e a presença da letra *p* indica que além de adicionar funções de polarização de simetria *d* aos átomos pesados, adicionaram-se também funções de polarização de simetria *p* aos átomos de hidrogênio. As funções difusas permitem descrever uma região maior do espaço dos orbitais ocupados. Utilizam-se essas funções para melhorar a representação de sistemas que tenham densidades eletrônicas significativas a longas distâncias.¹³⁴ O sinal + indica que funções difusas foram adicionadas aos átomos pesados, e os sinais ++ indicam a presença de funções difusas também aos átomos de hidrogênio.

Nos dissacarídeos foram utilizados os funcionais B3LYP, CAM-B3LYP¹³⁵ e ω B97XD¹³⁶ e conjunto de base 6-311++G(d,p), sendo todos os cálculos realizados no vácuo. O funcional híbrido CAM-B3LYP (CAM – *Coulomb-attenuating Method*) possui correções de longo alcance não descritas corretamente pelo B3LYP, enquanto o funcional ω B97XD além de correções para longas distâncias inclui dispersão empírica.

Para o pentassacarídeo foi utilizado o funcional B3LYP e conjuntos de base 6-31G(d), 6-31G(d,p) e 6-311++G(d,p). Foram realizados cálculos no vácuo e com efeito de solvente (implícito). Para a realização dos cálculos com inclusão de solvente implícito foi utilizado o Modelo do Contínuo Polarizável¹³⁷ (PCM), método bastante utilizado para avaliação do efeito do solvente em cálculos quânticos. Esse tipo de modelo trata-se de uma simplificação do sistema, onde o solvente é representado como um contínuo polarizável interagindo eletrostaticamente com o soluto, tendo seu enfoque voltado para o cálculo da contribuição eletrostática da energia livre de solvatação. Nesse modelo o solvente é tratado como um contínuo dielétrico, isotrópico e homogêneo caracterizado pela constante dielétrica ϵ .¹³⁸ Para o estudo dos possíveis sítios de coordenação da amilopectina foram realizados cálculos de cargas parciais empregando o funcional B3LYP e conjunto de base 6-31G(d,p) utilizando o método ChelpG¹³⁹ (*Charges from Electrostatic Potentials using a Grid*).

As frequências vibracionais teóricas do pentassacarídeo foram obtidos através de cálculos empregando nível de teoria DFT com funcional B3LYP e conjunto de base 6-31G(d,p) com fator de escalonamento 0,9608¹⁴⁰. O fator de escalonamento é um ajuste realizado devido a um erro sistemático na determinação de espectros vibracionais teóricos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 PARTE EXPERIMENTAL

5.1.1 Planejamento Fatorial

A Tabela IV reúne os resultados experimentais (obtidos através de titulação complexométrica) do planejamento fatorial realizado com os 12 sais na complexação com a solução ApT.

Tabela IV. Rendimento das complexações (%) dos 12 sais com a solução ApT

	PbCl₂	Pb(NO₃)₂	FeCl₃	Fe(NO₃)₃	Cu(NO₃)₂	CuCl₂
1	3,53 ± 1,1	5,52 ± 1,7	16,6 ± 0,5	25,9 ± 1,3	18,4 ± 1,6	7,53 ± 0,6
2	2,04 ± 1,3	6,62 ± 1,9	12,6 ± 1,0	18,9 ± 2,7	12,6 ± 1,6	11,7 ± 1,4
3	4,64 ± 0,3	10,8 ± 0,6	11,5 ± 1,3	35,0 ± 2,0	38,8 ± 0,8	10,3 ± 1,1
4	4,27 ± 0,7	12,6 ± 1,4	19,5 ± 0,9	31,2 ± 2,0	10,0 ± 2,0	9,35 ± 0,9
5	12,0 ± 0,3	7,11 ± 0,6	9,81 ± 1,1	27,5 ± 1,3	24,9 ± 1,4	7,34 ± 0,8
6	10,8 ± 1,6	9,43 ± 0,9	13,5 ± 1,6	16,7 ± 1,0	26,4 ± 0,8	11,1 ± 0,3
7	20,4 ± 2,3	15,5 ± 0,5	28,1 ± 0,9	38,5 ± 1,7	40,0 ± 0,5	16,1 ± 0,7
8	6,26 ± 0,6	9,32 ± 0,3	13,5 ± 0,7	15,1 ± 1,7	8,95 ± 0,6	10,8 ± 0,3
9	6,74 ± 0,4	8,23 ± 1,8	15,4 ± 0,2	14,9 ± 0,2	12,8 ± 1,0	8,14 ± 0,8
	Cu(CH₃COO)₂	Cr₃(CH₃COO)₇(OH)₂	Cr(NO₃)₃	NiCl₂	Ni(CH₃COO)₂	CoCl₂
1	14,1 ± 1,0	23,4 ± 2,2	29,6 ± 2,3	19,7 ± 1,2	22,9 ± 2,1	11,1 ± 1,2
2	10,1 ± 0,7	27,8 ± 0,2	15,7 ± 2,0	13,0 ± 0,4	17,6 ± 1,2	6,35 ± 1,2
3	14,1 ± 1,0	29,8 ± 0,3	46,9 ± 1,5	30,1 ± 2,7	21,6 ± 1,7	17,5 ± 1,2
4	12,3 ± 1,0	24,5 ± 0,7	20,0 ± 1,7	19,0 ± 1,3	11,9 ± 0,8	11,7 ± 0,4
5	9,09 ± 0,9	45,5 ± 0,2	35,3 ± 4,1	20,2 ± 0,2	20,7 ± 0,8	9,70 ± 1,0
6	6,61 ± 0,2	47,8 ± 0,3	46,7 ± 0,5	15,1 ± 0,4	12,9 ± 1,4	16,1 ± 0,4
7	17,0 ± 0,2	55,4 ± 0,7	54,0 ± 3,1	32,2 ± 0,6	31,1 ± 0,8	21,6 ± 0,2
8	9,22 ± 0,5	48,7 ± 0,2	22,5 ± 3,2	10,6 ± 1,7	14,1 ± 0,8	14,3 ± 0,2
9	10,4 ± 1,5	35,7 ± 0,1	44,5 ± 0,8	13,8 ± 0,9	18,8 ± 0,7	14,5 ± 0,6

Observando os resultados das complexações, é visível que o experimento 7 atende a condição de maximização do rendimento reacional desejado em todos os casos, variando apenas a magnitude dessa maximização. De acordo com a Tabela II, o experimento 7 foi realizado à 25 °C, por 5 horas e com 10 mg de sal. Os efeitos das variáveis temperatura, tempo e concentração podem ser discutidos através da Tabela V, que mostra o efeito das variáveis no percentual de complexação de cada sal com a solução ApT. Os valores destacados em vermelho são os efeitos considerados não significativos no percentual de rendimento das complexações (nível de confiança de 95%). A média das complexações que é mostrada na tabela V inclui o resultado do ponto central.

Tabela V. Efeitos das variáveis no rendimento de complexação de cada sal*

		PbCl ₂	Pb(NO ₃) ₂	FeCl ₃	Fe(NO ₃) ₃	Cu(NO ₃) ₂	CuCl ₂
	Média das complexações	7,65	9,23	15,6	23,0	19,9	9,88
Efeitos principais	1	-4,32	-0,24	-1,72	-11,2	-16,0	0,43
	2	1,80	4,88	5,02	7,74	3,87	2,23
	3	8,75	1,44	1,18	-3,30	5,12	1,63
Interação de 2ª ordem	12	-2,94	-1,95	-1,60	-2,36	-13,9	-3,54
	13	-3,39	-1,67	-3,71	-5,86	1,26	-1,21
	23	0,13	-0,75	4,11	-3,03	-5,01	2,05
Interação de 3ª ordem	123	-3,50	-2,28	-7,55	-3,98	-2,43	-0,98
		Cu(CH ₃ COO) ₂	Cr ₃ (CH ₃ COO) ₇ (OH) ₂	Cr(NO ₃) ₃	NiCl ₂	Ni(CH ₃ COO) ₂	CoCl ₂
	Média das complexações	11,2	37,3	36,8	18,3	19,0	13,8
Efeitos principais	1	-4,03	-1,35	-15,2	-11,1	-9,93	-2,83
	2	3,16	3,49	4,03	5,99	1,13	5,47
	3	-2,18	23,0	11,6	-0,95	1,21	3,79
Interações de 2ª ordem	12	-0,79	-4,67	-14,0	-5,22	-3,40	-3,67
	13	-1,10	-0,85	5,17	-2,23	-2,46	2,40
	23	2,09	1,92	-6,77	-2,26	4,62	-0,40
Interação de 3ª ordem	123	-1,86	0,19	-7,44	-3,00	-1,24	-3,20

* A análise de variância para cada sal é apresentada no Anexo 3.

Os efeitos 1, 2 e 3 correspondem respectivamente às variáveis temperatura, tempo e massa do sal avaliadas univariadamente. Os efeitos de interação entre variáveis são chamados de 12, 13, 23 e 123. No geral, os efeitos 2, 3 e a interação 23 são aqueles que representam um aumento no percentual de complexação por terem valores positivos, e os efeitos que envolvem a variável 1 (temperatura) representam uma redução no percentual de complexação por possuírem valores negativos.

Muitos dos efeitos foram considerados não significativos para determinados sais, ou seja, não apresentam influência no sistema e podem ser fixados em qualquer valor entre os níveis estudados. Algumas considerações para tais observações serão abordadas nos próximos parágrafos.

A reação de complexação envolvendo biopolímeros é bastante limitada pelo fator tempo, isso porque a concentração, o tamanho do íon metálico, assim como o alto peso molecular da amilopectina influenciam no alcance do equilíbrio químico na complexação, onde para alguns casos é necessário um maior tempo reacional para a formação do complexo. O que observamos para as reações envolvendo o íon Cu^{2+} é que independente do nível utilizado da variável 2 o efeito causado na resposta é insignificante, devido à labilidade deste íon. Entretanto, para a complexação do íon Cu^{2+} contendo o contra-íon nitrato o efeito torna-se significativo, sugerindo uma influência do ânion na complexação.

De acordo com o Princípio de Le Chatelier, qualquer fator externo que provoque o sistema de forma que o mesmo desvie-se do estado de equilíbrio, a reação se deslocará no sentido de minimizar esse efeito até que atinja um novo estado de equilíbrio com novos valores de concentrações dos reagentes e produtos, mas de forma que o valor da constante de equilíbrio permaneça o mesmo. Com o aumento da concentração de reagentes na reação de complexação o equilíbrio químico é deslocado no sentido dos produtos, resultando em rendimentos maiores de reação (considerando as respostas nas quais a variável 3 foi significativa).

Em todos os casos quando a variável temperatura está presente de forma univariada e/ou multivariada dependendo da significância do efeito, o efeito torna-se negativo, ou seja, ocorre diminuição do percentual de rendimento reacional, mostrando que a variável temperatura deve ser mantida no nível menor (temperatura ambiente). É bem sabido que a temperatura influencia na taxa de solubilidade do sal e que normalmente com o aumento da temperatura ocorre aumento na velocidade das reações,¹⁴¹ mas para os complexos de amilopectina formados, dissolvidos em DMSO e H_2O , observa-se o contrário. Isto reforça que

a temperatura é um indicativo da capacidade da amilopectina absorver água à temperatura acima da ambiente e formar um gel ou líquido viscoso como resultado da pré-gelatinização¹⁴² da amilopectina, devido as suas cadeias ramificadas e ao seu alto peso molecular. O aumento da temperatura faz com que ocorra o empacotamento das cadeias poliméricas em razão do rompimento das ligações de hidrogênio, favorecendo a capacidade de hidratação das cadeias, refletindo no grau de pré-gelatinização da solução ApT a temperaturas elevadas.¹⁴³

Também pode ser observado na Tabela IV que o rendimento das reações difere radicalmente dependendo do metal envolvido. A interpretação dessas diferenças pode ser realizada com sucesso com base no princípio HSAB (*hard and soft acid and bases*).¹⁴⁴ Sabe-se que ligantes que possuem o oxigênio como átomo doador são espécies duras de Pearson, devido ao oxigênio possuir pequeno raio atômico, alta carga efetiva nuclear e baixa polarizabilidade. Embora possam existir exceções, a regra geral dita que ácidos duros se ligam a bases duras. Dentre os metais escolhidos para o estudo de complexação, os cátions Cr^{3+} e Fe^{3+} (ácidos de Lewis) também são espécies duras de Pearson, justificando o rendimento reacional maior, assim como a significância dos efeitos quando estes metais estão envolvidos, independente do contra-íon. Embora não tenhamos calculado, de acordo com a literatura^{1,59} as constantes de estabilidade de complexos no qual a interação entre íons metálicos e ligantes de mesmo caráter são maiores devido à formação de ligações mais fortes. Em estudo teórico realizado por Afaneh e colaboradores¹⁴⁵ há uma sólida discussão sobre a preferência do íon Hg^{2+} na interação com espécies do mesmo caráter (mole-mole). O íon Pb^{2+} é considerado um ácido mole, e por isso apresenta rendimentos baixos na complexação. Os efeitos são considerados insignificantes quando o ânion nitrato atua como contra-íon, porém tornam-se significantes quando o contra-íon é o ânion cloreto, indicando mais uma vez a influência dos contra-íons na complexação. O estudo desenvolvido por Nikolić e colaboradores⁵⁴ sobre complexos metálicos de dextrano exemplifica a influência dos contra-íons na complexação.

Pode-se concluir então que o experimento 7 mostrou-se mais adequado na obtenção de rendimento maximizado na complexação de grande parte dos sais com a solução ApT (considerando os níveis e as variáveis utilizados no planejamento fatorial), visto que as variáveis 2 e 3 estão no nível maior e a variável 1 no nível menor. A partir dessa conclusão, todas as amostras utilizadas para as análises posteriores foram preparadas nas condições do experimento 7.

5.1.2 Avaliação do pH

A realização desse experimento teve como objetivo avaliar as diferenças observadas no pH devido à formação dos complexos. Para isso realizaram-se medidas de pH das soluções salinas (brancos) e dos complexos. A Tabela VII mostra as medidas de pH realizadas em temperatura ambiente.

Tabela VI. Medidas de pH das soluções salinas e dos complexos formados

Contra-íon	pH das soluções salinas	pH dos complexos	Percentual de redução (%)
Sais de Fe³⁺			
Cloreto	5,73 ± 0,03	4,92 ± 0,05	14,2
Nitrato	5,15 ± 0,05	4,52 ± 0,06	12,1
Sais de Cu²⁺			
Nitrato	6,22 ± 0,02	4,96 ± 0,12	20,3
Cloreto	6,06 ± 0,05	4,97 ± 0,07	18,0
Acetato	9,20 ± 0,01	8,59 ± 0,03	6,7
Sais de Cr³⁺			
Acetato	9,25 ± 0,02	8,08 ± 0,02	12,7
Nitrato	5,77 ± 0,02	4,79 ± 0,09	17,0
Sais de Ni²⁺			
Cloreto	8,60 ± 0,01	5,92 ± 0,02	31,2
Acetato	10,01 ± 0,04	9,74 ± 0,03	2,7
Sais de Co²⁺			
Cloreto	7,21 ± 0,02	5,46 ± 0,08	24,3
Sais de Pb²⁺			
Nitrato	6,31 ± 0,02	5,60 ± 0,02	11,3
Cloreto	6,48 ± 0,03	5,78 ± 0,12	10,7

Como observado na tabela acima, há uma redução de pH na solução em todos os complexos formados. Essa redução pode ser atribuída à reação de complexação, devido à troca de alguns íons H^+ das hidroxilas da molécula de amilopectina pelos cátions metálicos, liberando íons H^+ e acidificando o meio.¹⁴⁶

Sabe-se que a formação do complexo depende do pH da solução devido ao equilíbrio químico entre a amilopectina e o metal, bem como à participação do sítio ligante básico -OH e moléculas de água presentes na esfera de coordenação do metal. Além destes fatores, acredita-se que os contra-íons atuam também na redução do pH. Observa-se que para os sais de cloreto e nitrato a redução do pH é mais evidente, comparada com os sais de acetato. O ânion acetato atua como tampão, contribuindo pouco na redução do pH.

5.1.3 Avaliação da condutividade molar

A condutividade de uma solução depende da concentração do soluto e do grau de ionização, que por sua vez depende da natureza do soluto. A formação dos complexos dos sais metálicos com a solução ApT é evidenciada pela redução nas medidas de condutividade (Tabela VI), como observado em outros estudos.^{15,18,19,38} Ciesielski e Tomasiak³⁸ em seus estudos de complexação de íons metálicos com amilopectina padrão de batata e de milho observaram um decréscimo de cerca de 7% nos valores de condutividade.

Tabela VII. Condutividades das soluções salinas e dos complexos formados

Contra-íon	Condutividade molar (Λ_m) das soluções salinas (S.cm².mol⁻¹)^a	Condutividade molar (Λ_m) dos complexos (S.cm².mol⁻¹)^b	Média de redução (%)
Sais de Fe³⁺			
Cloreto	44,84 ± 0,25	38,62 ± 0,43	13,9
Nitrato	88,38 ± 0,27	79,22 ± 0,17	10,4
Sais de Cu²⁺			
Nitrato	55,63 ± 0,09	50,65 ± 0,12	8,9
Cloreto	22,06 ± 0,05	18,78 ± 0,46	14,9
Acetato	2,84 ± 0,03	0,62 ± 0,01	78,0
Sais de Cr³⁺			
Acetato	20,22 ± 0,13	7,47 ± 0,19	63,1
Nitrato	81,32 ± 0,11	71,77 ± 0,33	11,7
Sais de Ni²⁺			
Cloreto	43,60 ± 0,19	39,08 ± 0,11	10,4
Acetato	5,52 ± 0,03	3,92 ± 0,01	28,9
Sais de Co²⁺			
Cloreto	49,62 ± 0,05	40,10 ± 0,05	19,2
Sais de Pb²⁺			
Nitrato	63,39 ± 0,04	52,89 ± 0,89	16,6
Cloreto	19,06 ± 0,59	15,49 ± 0,06	18,7

^a Condutividade da mistura de solventes (DMSO 90%/H₂O 10%) é de 2,763 μS/cm.

^b Condutividade da solução ApT é de 7,193 μS/cm.

A condutividade molar de uma solução varia com a concentração do eletrólito. Como a concentração dos sais não foi alterada, essa redução de condutividade pode ser explicada devido à redução de íons livres em solução causada pela complexação. Além da coordenação, também deve ser considerado a natureza do eletrólito.

Os eletrólitos fortes são substâncias totalmente ionizadas em solução e, em virtude disso, a concentração dos íons em solução é proporcional à concentração do eletrólito forte. Os eletrólitos fracos são parcialmente ionizados em solução, e a condutividade dependerá do grau de ionização (α). Como observado na Tabela VI os valores da condutividade das

soluções salinas contendo o contra-íon acetato são em geral menores quando comparadas aos demais contra-íons (considerando comparações realizadas com o mesmo metal). Tanto nas soluções salinas quanto na formação dos complexos acredita-se que o ânion acetato forma um ácido fraco, com baixo grau de ionização, justificando os menores valores de condutividade encontrados.

Observando os resultados encontrados no item 5.1.2 no qual atribui-se a redução das medidas de pH ao aumento da concentração de íons H^+ no meio devido à complexação, teoricamente esperávamos que houvesse uma tendência contrária nas medidas de condutividade, visto que o íon H^+ possui maior condutividade que os demais íons metálicos. Os resultados de condutividade obtidos permitem concluir que não é possível correlacionar os mesmos com os resultados de medidas de pH, porque outros fatores também influenciam em ambas as medidas. Dentre esses fatores, pode-se citar a utilização majoritária de um solvente não aquoso nas reações de complexação. Apesar do solvente majoritário (DMSO) ter características comparáveis com a água (como elevada constante dielétrica e polaridade), a química de solventes não aquosos é complexa, influenciando nos resultados observados.

5.1.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho foi utilizada com o objetivo de analisar as possíveis modificações químicas ocorridas na amilopectina no processo de complexação com os íons metálicos. Primeiramente foi realizado um levantamento bibliográfico das bandas características de alguns carboidratos, apresentado na Tabela VIII.

Tabela VIII. Bandas características de absorção na região do infravermelho para carboidratos

Frequência (cm⁻¹)	Atribuição
3440 ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹	ν_{OH}
3000/2932 ¹⁴⁹	ν_{CH}
2928 ¹⁴⁷	ν_{CH}
1648 ¹⁴⁷	δ_{OH}
1432 ¹⁴⁷	$\delta_{\text{OH}}, \delta_{\text{CH}}$
1377 ¹⁴⁷	$\delta_{\text{OH}}, \delta_{\text{CH}}$
1008 ¹⁴⁹	$\nu_{\text{C-O}} / \nu_{\text{C-OH}}$
924 ¹⁴⁸	$\delta_{\text{C-O-C}} \text{ lig. } \alpha (1,4)$

Relacionando os dados da tabela acima com o espectro da solução ApT representado na Figura 10, foi possível correlacionar os dados publicados com os encontrados neste estudo. Algumas diferenças na frequência de absorção foram observadas, visto que os dados encontrados na tabela não são da amilopectina.

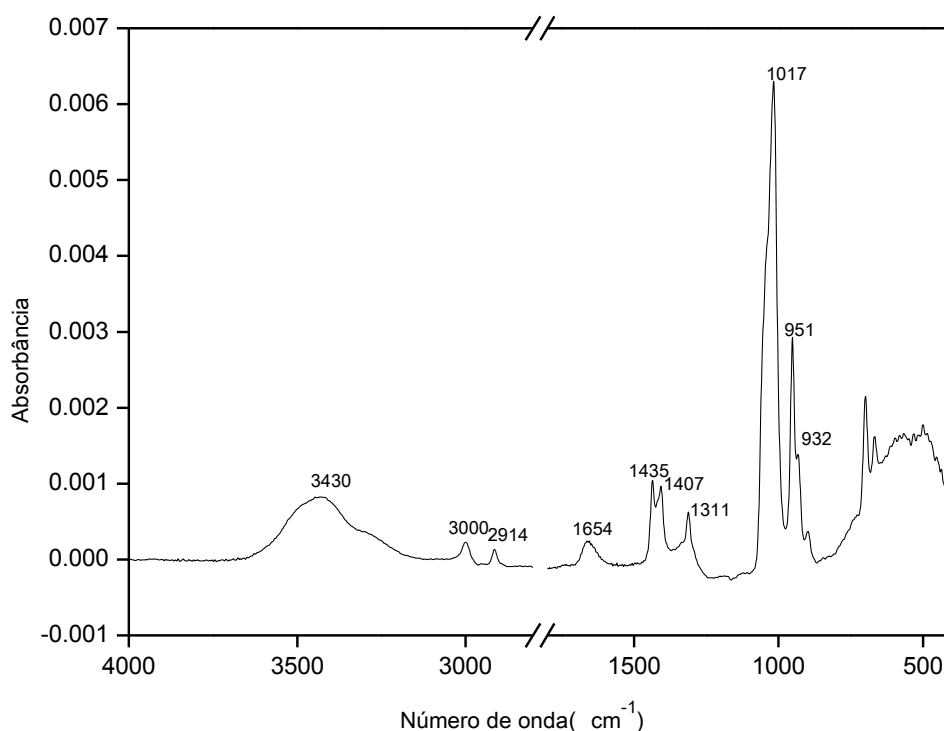


Figura 10. Espectro de absorção na região do infravermelho da solução ApT

Em relação aos complexos formados, a Figura 11 apresenta a sobreposição dos espectros obtidos da solução ApT e seus complexos. A dificuldade de observar as diferenças antes e após a complexação é clara, e por isso foi utilizada a ferramenta estatística de separação por similaridade i-PCA.

A principal utilidade do i-PCA está em reduzir a dimensão do conjunto de dados, retendo a maior quantidade de informação possível em um número pequeno de componentes principais (PC's)¹¹⁹. Assim, a primeira componente principal é uma combinação das variáveis que conseguem explicar a maior proporção da variância total dos dados. A segunda PC define a maior variação que a primeira PC não pode explicar e assim em diante. A análise multivariada foi utilizada para visualizar as mudanças ocorridas no espectro vibracional antes e após a complexação.

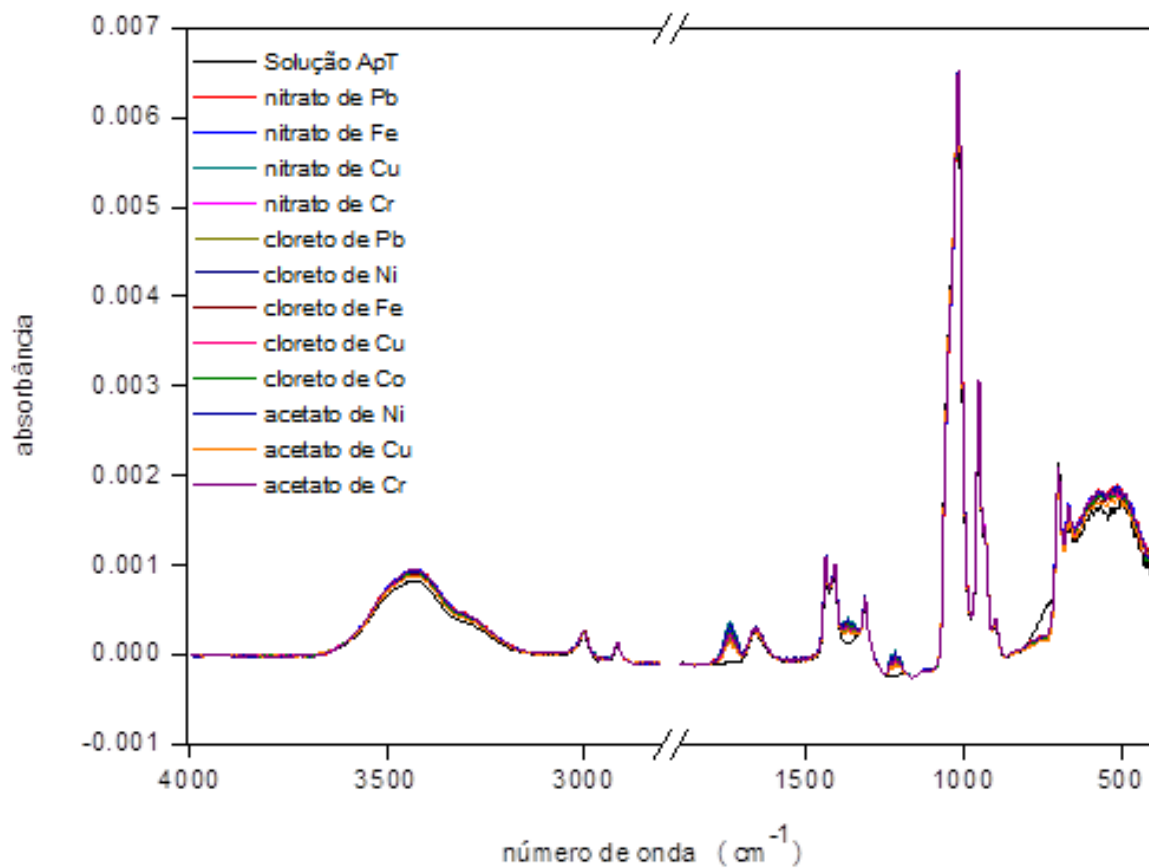


Figura 11. Espectro completo da solução ApT pura e complexada com os diversos sais

A Figura 12 apresenta o i-PCA quando $i=1$; esse modelo não foi considerado adequado, visto que não há como distinguir em quais bandas do intervalo espectral a distinção entre a solução ApT pura e os complexos é vista, mesmo que a separação seja nítida.

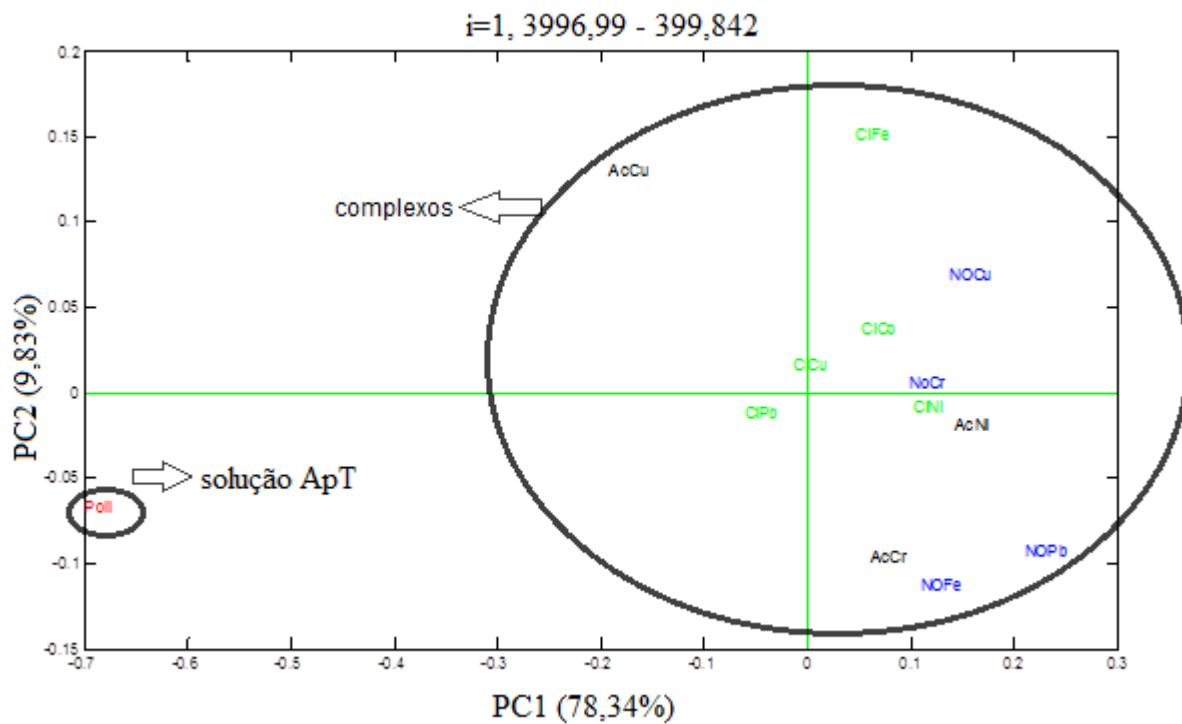


Figura 12. PC1 x PC2 do polímero e seus complexos em todo intervalo espectral (3995,99 – 399,84 cm^{-1})

Visto isso, o modelo de i-PCA foi dividido em 16 intervalos ($i= 16$), mostrando-se mais adequado para o melhor detalhamento das diferenças observadas nos espectros (Figura 13).

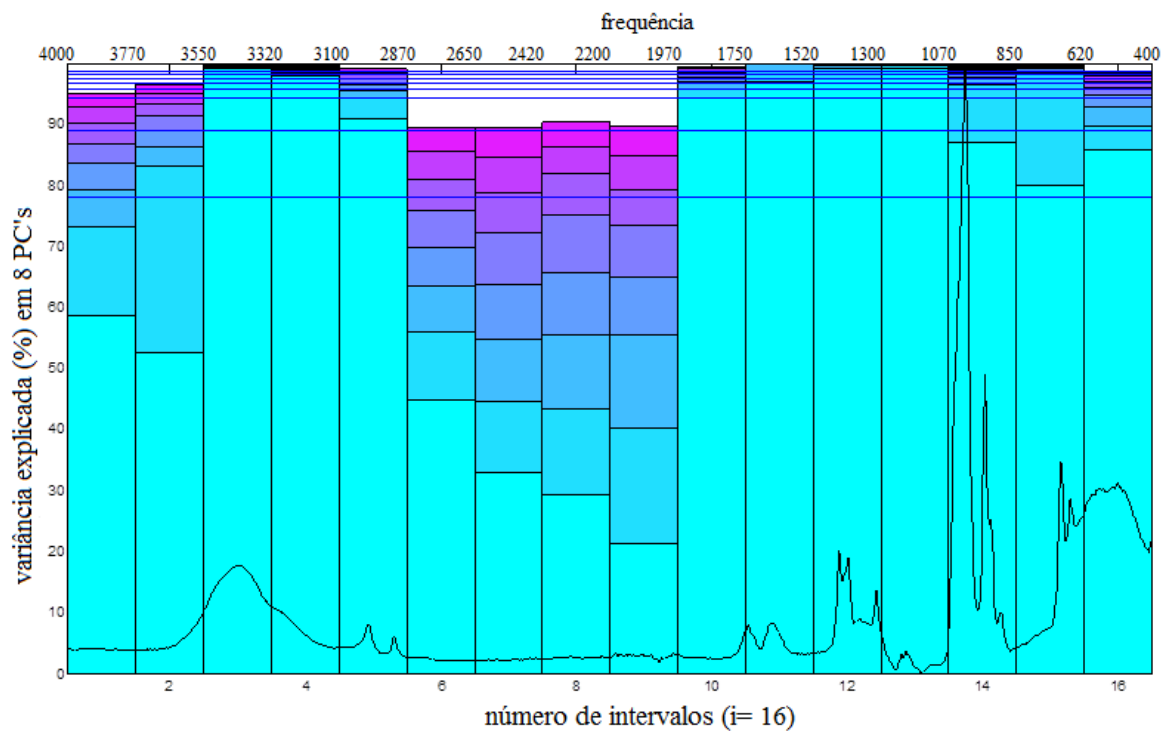


Figura 13. Número de PC's x número de intervalos (i=16)

De acordo com a Figura 13, constatamos que os intervalos de 1-2 e 6 – 9 necessitam de um número elevado de PC's para expressar a variância explicada, devido ao excesso de ruído e de pouca representatividade do intervalo completo.

De acordo com a literatura ^{150,151} e como observado na Figura 14, há uma distinção entre a solução ApT e os complexos na região do intervalo 3, as quais podem ser atribuídas às vibrações de estiramento assimétrico dos grupos hidroxilas da amilopectina e do deslocamento dessa banda causado pelos grupos hidroxilas complexados ao metal.

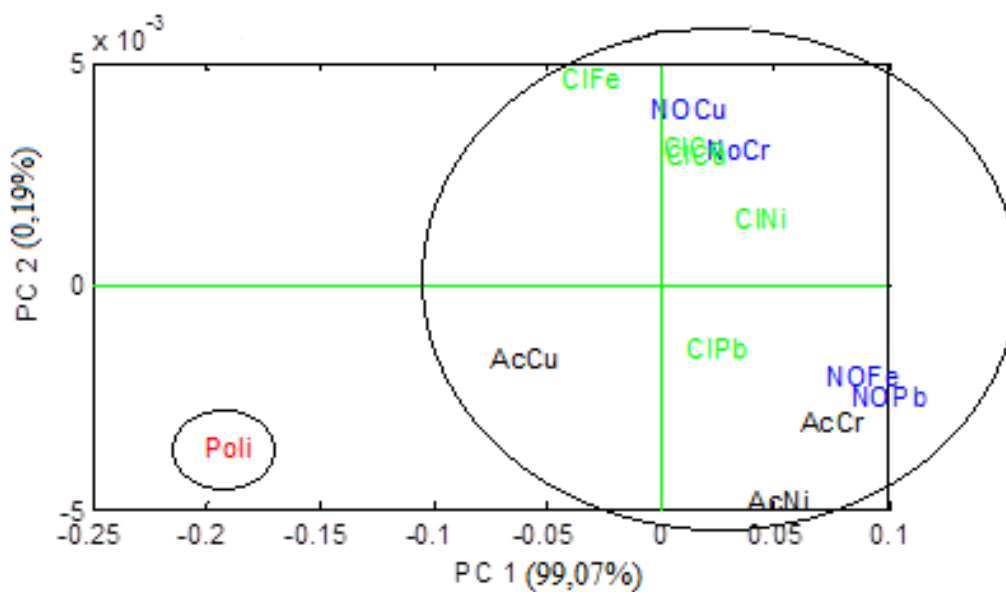


Figura 14. PC1 x PC2 da solução ApT e seus complexos no intervalo 3 de 3546,99–3323,42 cm^{-1}

Observa-se outra clara separação no intervalo 14, região onde caracteriza-se o pico referente ao estiramento C-O da amilopectina,^{148,152} indicando a desprotonação do grupo hidroxila (Figura 15).

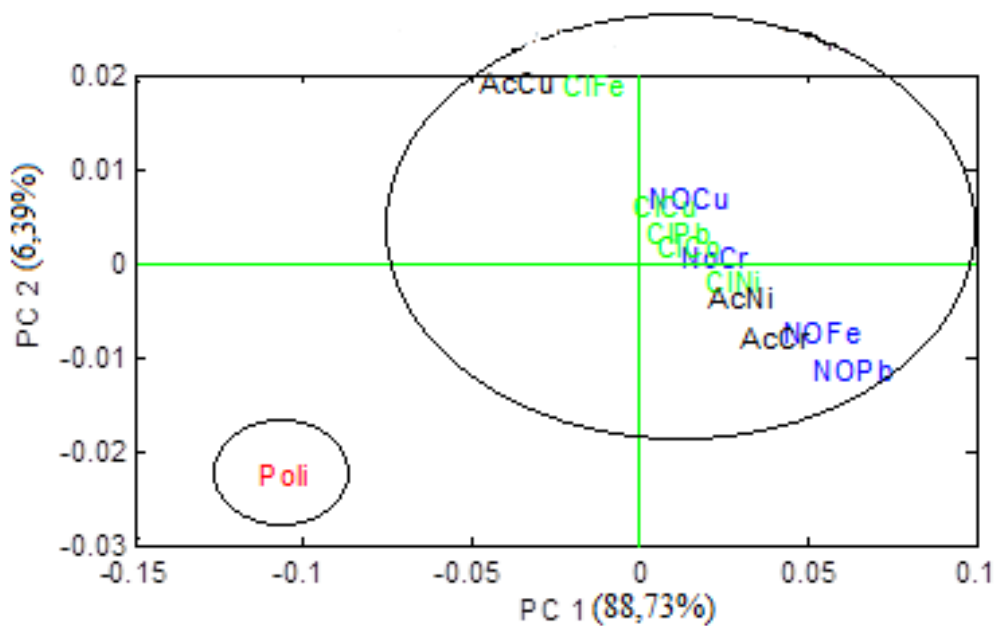
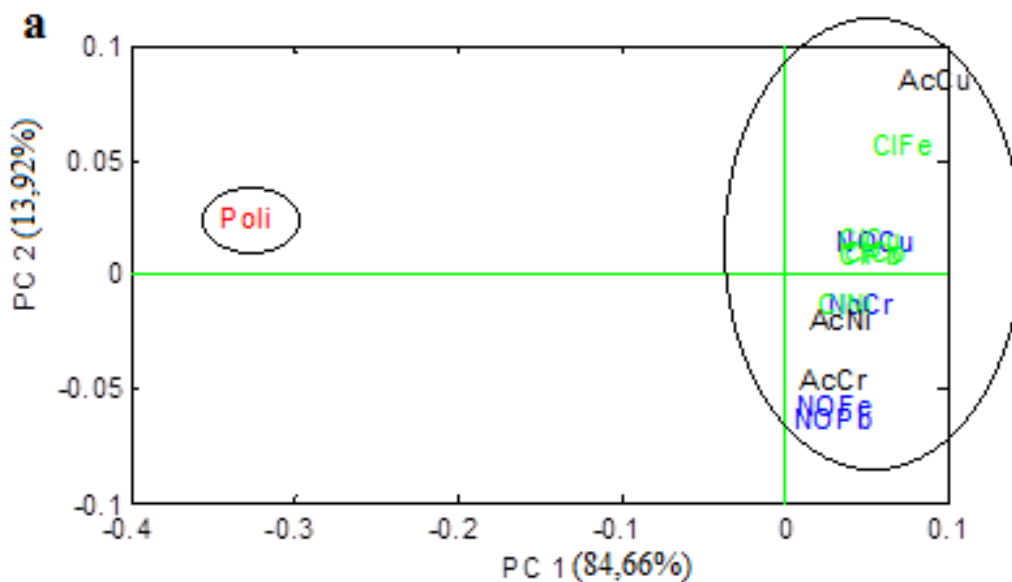


Figura 15. PC1xPC2 da solução ApT e seus complexos no intervalo 14 de 1071,98–848,41 cm^{-1}

Nos intervalos 15 e 16 (Figura 16), regiões que compreendem os intervalos de 847 a 400 cm^{-1} , nota-se outra distinção, devido ao surgimento da ligação M-O. ^{5,153}



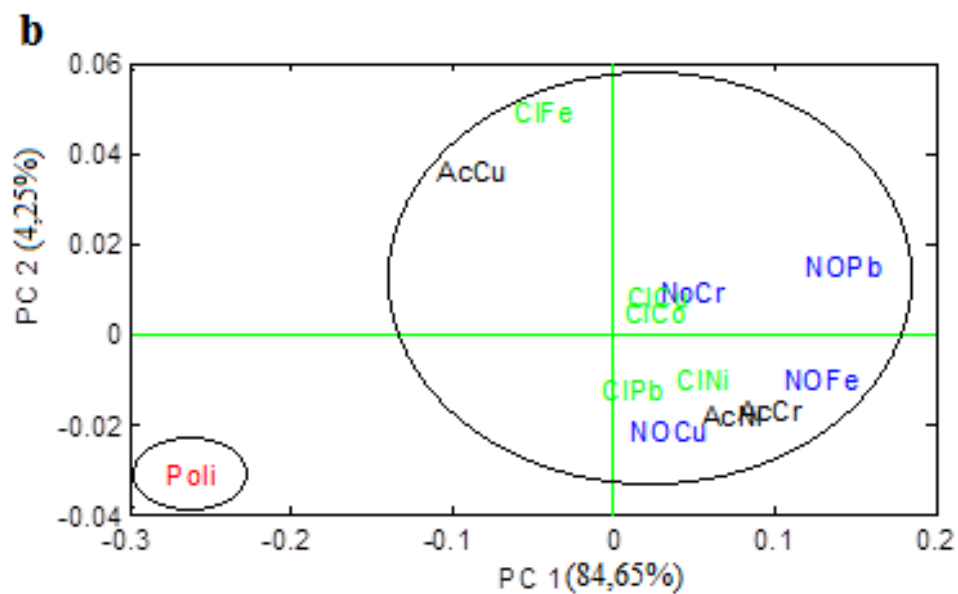


Figura 16. PC1 x PC2 da solução ApT e seus complexos nos intervalos 15 de 846,98-623,41 cm^{-1} (a) e 16 de 621,98-399,84 cm^{-1} (b)

Na Figura 17 são apresentadas as diferenças evidenciadas pelo i-PCA através dos espectros da solução ApT e do complexo de nitrato de cromo.

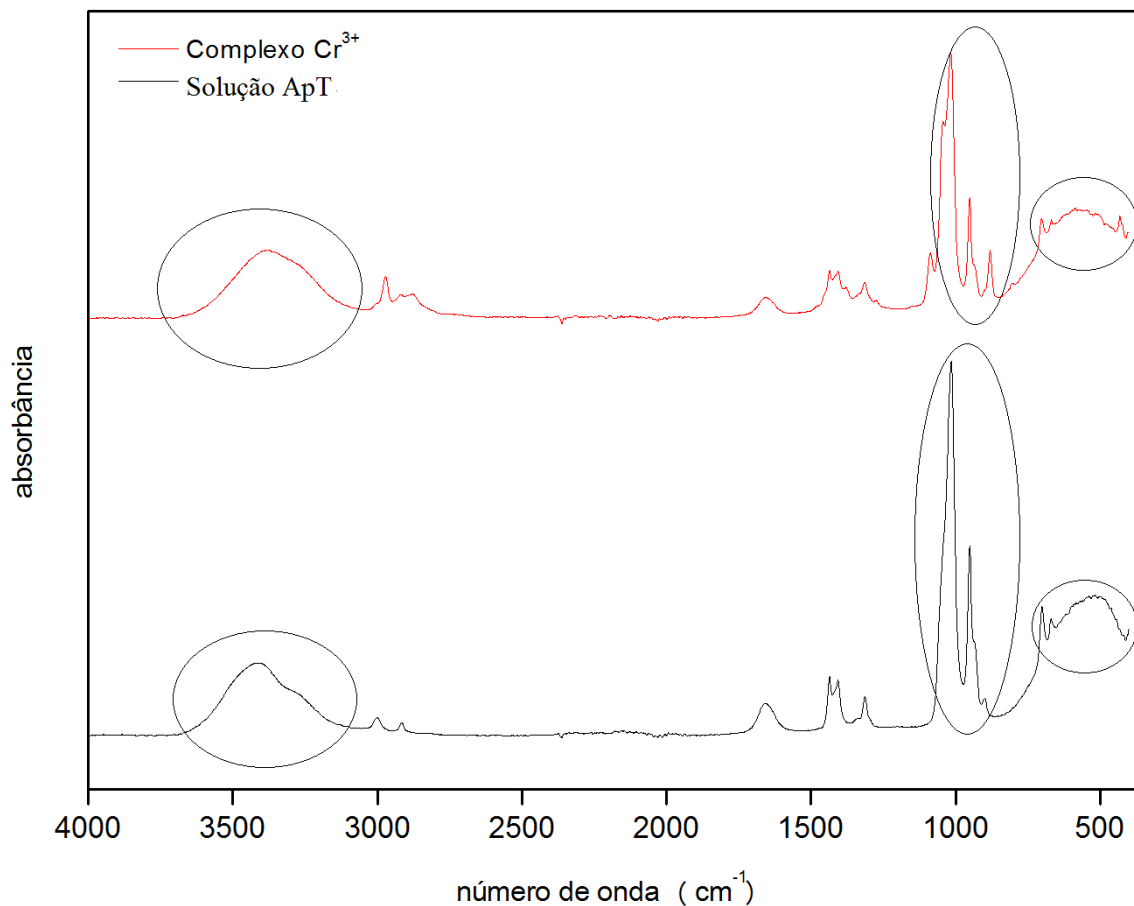


Figura 17. Representação das mudanças ocorridas no espectro de absorção do infravermelho da solução ApT devido à sua complexação com Cr^{3+} .

No espectro da solução ApT, na região de absorção do grupo $-\text{OH}$, um ombro é observado ($\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$), relativo às ligações de hidrogênio intramoleculares.^{154,155} No complexo de Cr^{3+} essa banda é menor, devido à coordenação do oxigênio.^{5,156} Na região $\sim 1000 \text{ cm}^{-1}$ observa-se uma diminuição da intensidade e o deslocamento da banda de absorção devido às vibrações da ligação C-O, o que indica a coordenação dos grupos hidroxilas desprotonados.^{17,152}

Em relação à zona de "impressão digital" da solução ApT pura e complexada a visualização das diferenças é dificultada pela complexidade da região, e a exata localização desta banda pode variar. Silva e colaboradores¹⁵⁷ afirmam que o surgimento da ligação M-O ocorre na região de 600 cm^{-1} ; Kandasamy e colaboradores⁵ sugerem que a ligação M-O surge como fracas bandas entre $470 - 425 \text{ cm}^{-1}$.

5.1.5 Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis

Como observado na Tabela IX, a coordenação de íons metálicos à amilopectina causa um deslocamento no comprimento de onda de absorção devido à diferença da espécie ligada ao metal. Para^{158,159} verificou em seus estudos de complexação resultados similares aos encontrados neste trabalho, onde uma redução de 0,2 - 3 nm no comprimento de onda das soluções salinas para os complexos foram observadas.

Acredita-se que antes da complexação com a solução ApT os íons metálicos estavam coordenados ao solvente majoritário (DMSO). Mesmo com a presença de água na solução o poder doador do DMSO é muito maior que o da água, justificando a hipótese de que a coordenação dos íons metálicos antes da complexação com a solução ApT aconteça com o DMSO. O poder doador de uma base de Lewis é dado pelo número doador, uma medida da polaridade do solvente.¹⁶⁰ O número doador do DMSO é 29,8 kcal.mol⁻¹ enquanto o da água é de 18 kcal.mol⁻¹. Esses complexos formados entre o metal e o solvente absorvem em comprimentos de onda característicos e, quando há a mudança do ligante, essa absorção ocorre em comprimento de onda diferente.

Tabela IX. Análise UV-Vis: comprimento de onda (nm) e absorvidade molar ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$) máxima das soluções salinas puras e dos complexos^a

Contra-íon	Soluções salinas		Complexos	
	$\lambda_{\text{máx}}$	$\epsilon_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}$	$\epsilon_{\text{máx}}$
Sais de Fe³⁺				
Cloreto	331,2	311,33	330,7	188,67
Nitrato	310,6	415,50	309,9	470,00
Sais de Cu²⁺				
Nitrato	860,0	29,39	855,1	32,12
Cloreto	884,9	68,30	884,8	63,19
Acetato	729,1	91,50	717,8	83,50
Sais de Cr³⁺				
Acetato (pico 1)	444,7	123,85	442,9	120,00
Acetato (pico 2)	588,8	122,31	588,8	111,54
Nitrato (pico 1)	440,0	19,50	436,5	21,00
Nitrato (pico 2)	619,3	18,00	619,3	17,00
Sais de Ni²⁺				
Cloreto (pico 1)	414,9	9,41	413,8	12,65
Cloreto (pico 2)	774,7	3,82	770,8	3,88
Acetato (pico 1)	404,7	12,19	403,2	18,12
Acetato (pico 2)	739,8	5,00	739,8	5,00
Sais de Co²⁺				
Cloreto (pico 1)	534,6	15,75	534,1	13,03
Cloreto (pico 2)	669,9	6,97	669,8	3,94

^a Por não absorver na região visível os complexos contendo o íon Pb^{2+} não estão na tabela.

Pode-se verificar também que para alguns metais observa-se mais de um pico de absorção, devido à configuração dos orbitais *d*. De acordo com a literatura^{2,59} metais com configuração d^1 , d^4 , d^5 , d^6 e d^9 apresentam apenas uma banda de absorção, como verificado para os complexos de Fe^{3+} (d^5) e Cu^{2+} (d^9); aqueles com configuração d^2 , d^3 , d^7 e d^8 apresentam três bandas de absorção, sendo a terceira de difícil detecção, confirmado para os complexos de Ni^{2+} (d^8), Co^{2+} (d^7) e Cr^{3+} (d^3). A Figura 18 representada abaixo mostra a

sobreposição dos espectros eletrônicos contendo o íon Cr^{3+} (CH_3COO^-). Os espectros eletrônicos dos demais íons metálicos encontram-se no Anexo 4.

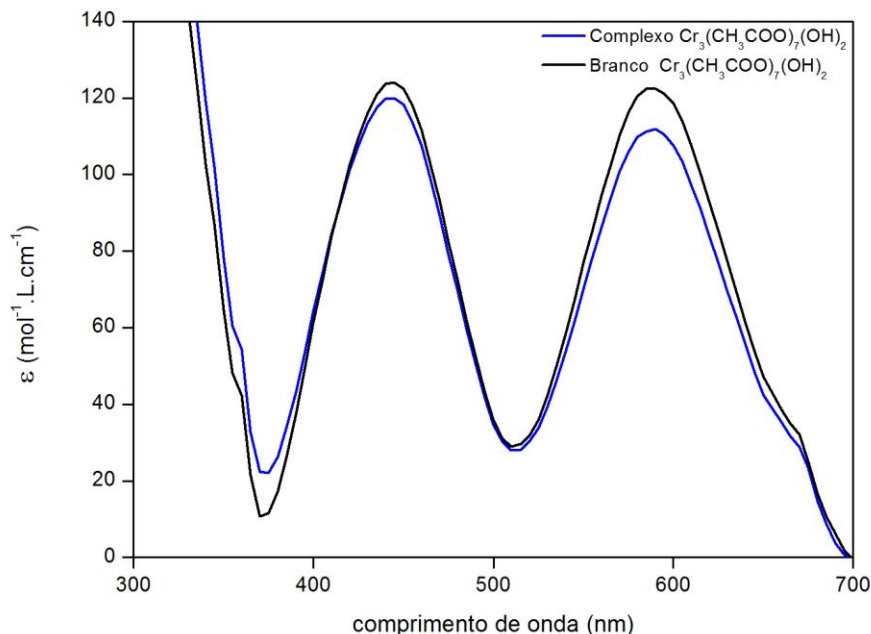


Figura 18. Sobreposição dos espectros eletrônicos envolvendo o íon Cr^{3+} (d^3).

O número de bandas encontradas no espectro eletrônico está relacionado a duas importantes regras de seleção. A primeira delas é a regra de seleção de spin, que diz que só são permitidas transições que não alteram o número de elétrons desemparelhados, em outras palavras, o número quântico do spin total S no decorrer da transição ($\Delta S = 0$).^{1,2,59} A segunda é a regra de Laporte, que diz que as transições eletrônicas de uma molécula ou íon em um ambiente centrossimétrico só serão permitidas quando acompanhadas de uma mudança na paridade (*g* (*gerade*) para *u* (*ungerade*) e vice-versa) no decorrer da transição.^{1,2}

Para os complexos de Cr^{3+} , objeto de estudo mais aprofundado deste trabalho devido ao maior rendimento reacional, algumas considerações podem ser realizadas a respeito do espectro eletrônico. Com poucas exceções, complexos de Cr^{3+} são hexacoordenados e octaédricos e todos possuem três elétrons desemparelhados independente da força do campo ligante.¹⁶¹

Na estrutura octaédrica os elétrons no estado excitado podem-se emparelhar de diferentes maneiras. Os termos espectroscópicos A, E e T são utilizados para designar as

diferentes maneiras de emparelhamento, sendo o termo A utilizado quando há apenas uma maneira de distribuir os elétrons nos orbitais d , o termo E utilizado quando há duas maneiras diferentes de distribuição e o termo T quando existem três maneiras diferentes de distribuir os elétrons nos orbitais d .^{2,59}

É importante ressaltar que a soma das degenerescências dos componentes individuais em um campo octaédrico é igual ao termo original, ou seja, a degenerescência global é conservada.⁵⁹ Para os complexos de cromo (III) o desdobramento dos orbitais d e o número de transições eletrônicas é exemplificado na Figura 18.

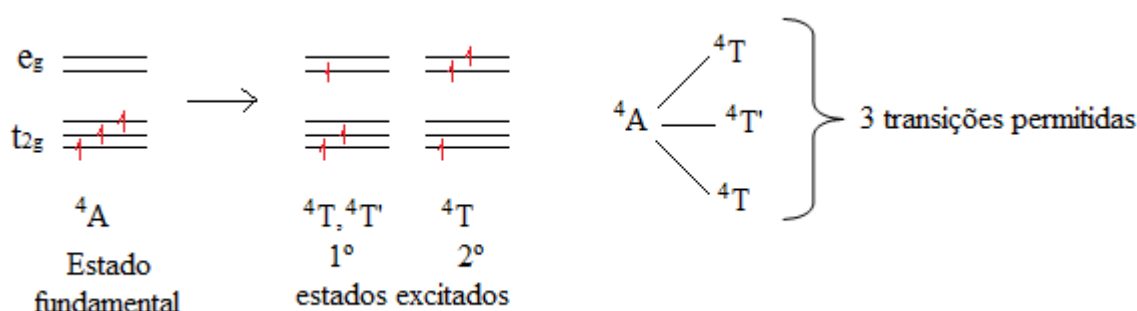


Figura 19. Representação das transições eletrônicas permitidas para os complexos de Cr^{3+} .

O número sobrescrito nos termos espectroscópicos é a multiplicidade de spin, dada por $2S + 1$; para o íon Cr^{3+} o valor de S é igual a $3/2$.

Com relação às atribuições das bandas no espectro eletrônico, em um complexo octaédrico todos os orbitais d têm paridade g , de modo que as transições $d-d$ são proibidas por Laporte. Na prática, porém, as transições nesses complexos não serão totalmente proibidas (vibrações assimétricas atenuam essa restrição); por isso são observadas absorções fracas com valores de ϵ da ordem de $20 - 100 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$, observadas para o complexo de Cr^{3+} estudado (Figura 18).¹

5.1.6 Análise Termogravimétrica (TGA)

A coordenação da amilopectina com o metal (neste caso, somente o cromo devido ao maior rendimento reacional) foi expressa por uma diferença na decomposição térmica da solução ApT pura e complexada (Figuras 20 e 21).

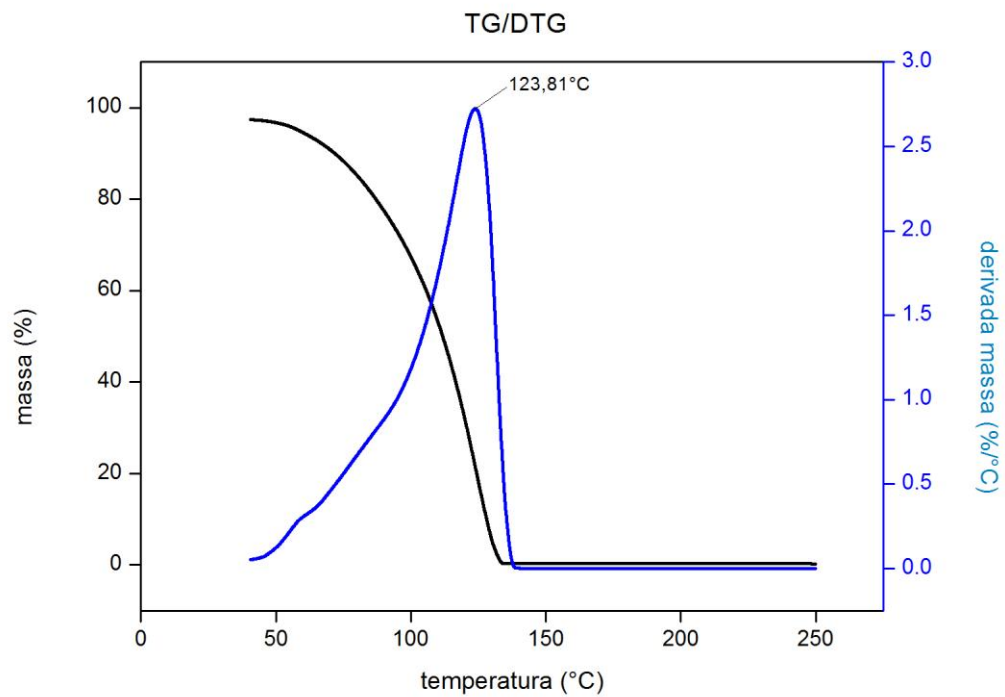


Figura 20. TG/DTG da solução ApT pura.

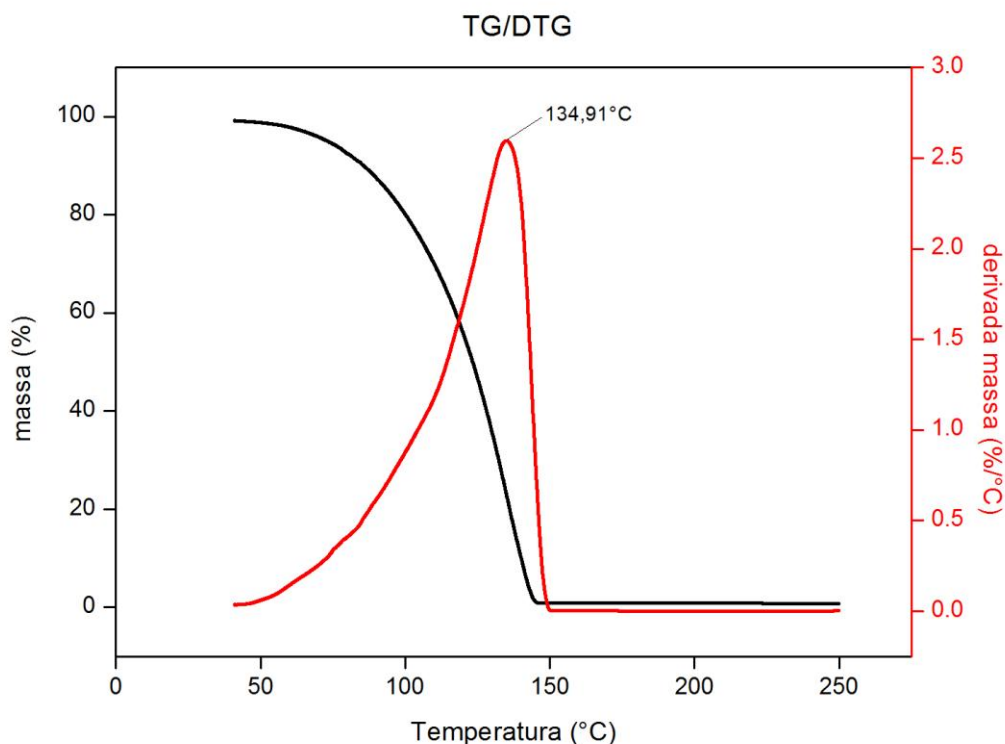


Figura 21. TG/DTG do complexo amilopectina- Cr^{3+} .

De acordo com os gráficos apresentados nas Figuras 20 e 21 pode-se afirmar que a perda de massa ocorreu em um único evento térmico. A formação do complexo agregou estabilidade térmica à amilopectina, caracterizado pelo pico DTG em maior temperatura quando comparado à amilopectina pura.

5.2 PARTE COMPUTACIONAL

O estudo conformacional da amilopectina, representado por um pentassacarídeo com ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$, foi iniciado com a análise do monômero α -D-glicose, passando ao estudo dos dissacarídeos maltose e isomaltose e finalmente à análise do pentassacarídeo.

O estudo do monômero envolveu análises conformacionais avaliando o ângulo ω (rotâmeros *gg*, *gt* e *tg*) e o sentido das ligações de hidrogênio (*c* e *cc*). Para isso, foram

realizados cálculos DFT utilizando o funcional B3LYP e conjuntos de base 6-31G(d), 6-31G(d,p) e 6311++G(d,p). Para cada conjunto de base, 6 conformêros foram estudados. As energias encontradas estão resumidas na Tabela X.

Tabela X. Energias relativas das 18 conformações estudadas da α -D-glicose

	ΔE (kcal/mol)					
	<i>c-gg</i>	<i>c-gt</i>	<i>c-tg</i>	<i>cc-gg</i>	<i>cc-gt</i>	<i>cc-tg</i>
6-31G(d)	1,45	3,06	0,77	0,55	0,74	0,00
6-31G(d,p)	1,30	2,90	0,74	0,43	0,65	0,00
6-311++G(d,p)	0,90	2,35	1,10	-0,07 ^a	-0,006	0,00

^a A energia em Hartree da conformação mais estável (*cc-gg*) é de -687,405373928.

Como observado, utilizando conjuntos de base de tamanho menor o rotâmero *tg* é favorecido, contradizendo os estudos experimentais^{90,91} que relatam que esse rotâmero possui a menor população relativa em relação aos outros dois rotâmeros. A adição de funções difusas nos cálculos modifica essa tendência, mostrando que os rotâmeros *gg* e *gt* são energeticamente favorecidos pela presença da ligação de hidrogênio entre o hidrogênio do grupo hidroximetil e o oxigênio do anel piranosídico (H6...O5), porém isso só pode ser observado com o aumento significativo do conjunto de base. Além disso, podemos observar uma estabilidade adicional da configuração *cc* independente do conjunto de base utilizado em todos os conformêros estudados, também atribuída a uma ligação de hidrogênio formada entre o hidrogênio da hidroxila ligada ao carbono anomérico e o oxigênio do anel piranosídico (H1...O5). A Figura 22 apresenta essas observações.

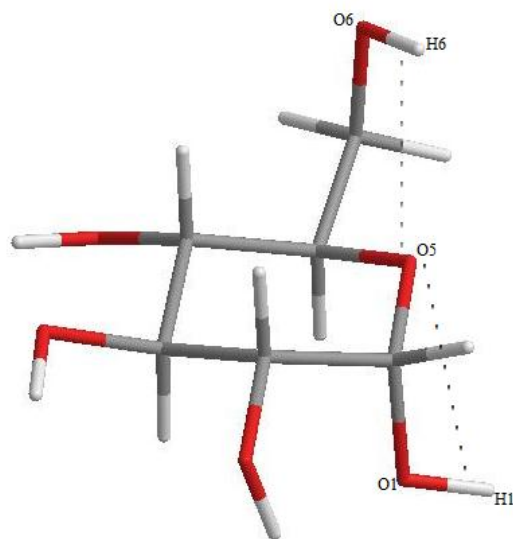


Figura 22. Conformação *cc-gg*, mais estável devido às ligações de hidrogênio entre os átomos $H6 \cdots O5$ e $H1 \cdots O5$.

O gráfico da Figura 23 demonstra essas mudanças observadas através da representação gráfica da mudança na energia em função do aumento do conjunto de base. Neste gráfico foram colocadas apenas as conformações energeticamente favoráveis, isto é, aquelas em que a rotação das hidroxilas encontra-se no sentido anti-horário (*cc*). Além disso, para ver se essa preferência da conformação *cc-gg* continua com o aumento do conjunto de base, mais um cálculo foi realizado para as conformações *cc* com o conjunto de base 6-311++G(2d,2p).

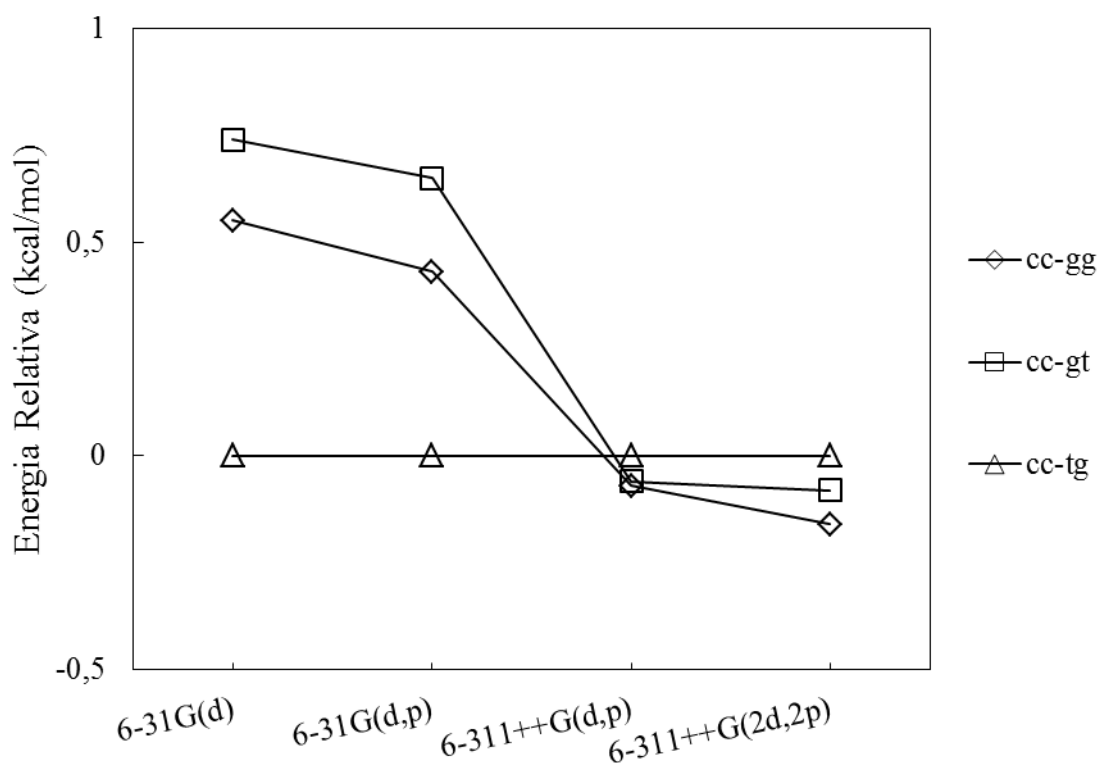


Figura 23. Gráfico da variação da energia relativa em função do aumento do conjunto de base.

Miura e colaboradores⁸¹ realizaram estudo semelhante a este utilizando o funcional B3PW91, no qual utilizaram 12 conjuntos de base na avaliação dos confôrmeros da α e β -D-glicose. Os resultados foram análogos aos encontrados neste trabalho, sugerindo que a inclusão de funções de polarização e funções difusas são necessárias para o estudo conformacional de carboidratos.

Considerando a conformação mais estável do monômero, iniciou-se o processo de estudo conformacional dos dissacarídeos. De acordo com a literatura,^{51,94} na maltose há uma forte ligação de hidrogênio entre O2...H3' ou H2...O3', sendo os átomos participantes dessa ligação de hidrogênio dependentes do sentido horário ou anti-horário das hidroxilas (c e cc). Nosso estudo foi realizado nas conformações em que essa ligação pudesse ser observada, ou seja, nas conformações $cc-cc'$, $c-c'$ e $cc-c'$ (Figura 24 – a,b,c). Respeitando o estudo feito da α -D-glicose neste trabalho, a rotação da ligação C5-C6 dos monômeros constituintes dos dissacarídeos foi fixada na posição do rotâmero gg . Além disso, os cálculos foram realizados com conjunto de base contendo funções de polarização e difusas, visto que somente nessa base a conformação gg foi considerada mais estável. A inclusão da função de polarização p

aos átomos leves auxilia na estabilização energética ao melhorar a descrição das interações de ligação. As funções difusas ajudam a descrever as regiões externas das moléculas, possuindo um importante papel na descrição das interações de longa distância. A Tabela XI apresenta os comprimentos da ligação de hidrogênio formada para cada conformêros da maltose, os valores dos ângulos diedros e das energias encontradas utilizando o funcional B3LYP e conjunto de base 6-311++G(d,p).

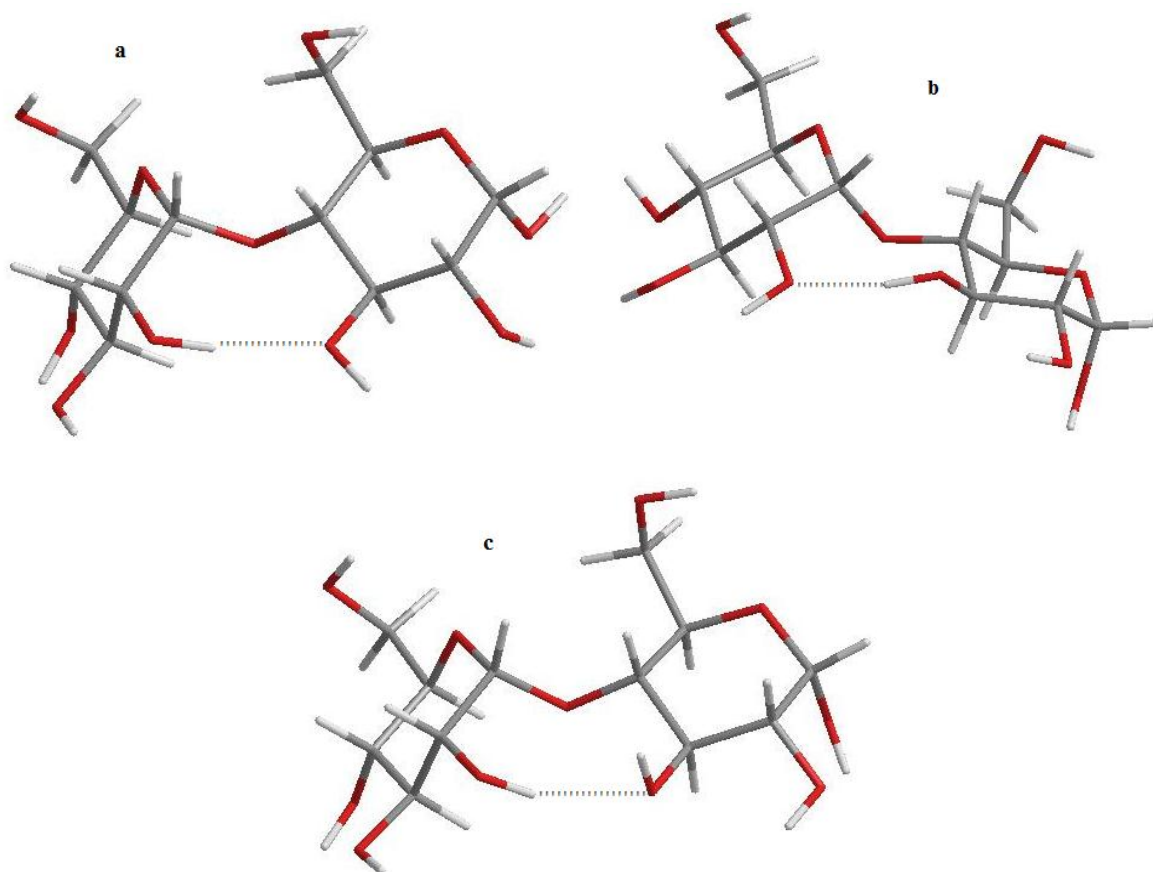


Figura 24. Evidência da ligação de hidrogênio formada entre as unidades glicosídicas na maltose. Conformação *cc-cc'*, lig. H entre os átomos H2...O3' (a), conformação *c-c'*, lig. H entre os átomos O2...H3' (b) e conformação *cc-c'*, lig. H entre os átomos H2...O3' (c).

Tabela XI. Energias relativas, ângulos diedros e comprimento das ligações de hidrogênio da maltose usando B3LYP/6-311++G(d,p)

Conformação	ΔE (kcal/mol)	Φ (graus)	Ψ (graus)	Comprimento da lig. H (Å)
<i>cc-cc'</i>	0,00 ^a	115	255	1,98
<i>c-c'</i>	0,25	108	213	1,85
<i>cc-c'</i>	2,53	114	255	2,05

^a A energia em Hartree da conformação mais estável (*cc-cc'*) é de -1298,35147414.

De acordo com a Tabela XI, observa-se que os valores do ângulo Φ pouco variam nas diferentes conformações devido ao efeito exo-anomérico,¹⁶² que define o ângulo Φ e restringe a rotação do ângulo. Este efeito tem a mesma origem do efeito anomérico, porém influencia na orientação da ligação O1-R, especificamente à preferência *gauche* desta ligação em relação à ligação C-O endocíclica.^{163,164} O ângulo Ψ , fortemente influenciado pela ligação de hidrogênio formada, também variou pouco nas diferentes conformações. Momany e Willett^{94,96} encontraram em seus estudos valores para os ângulos diedros Φ e Ψ de 108° e 255°, respectivamente, utilizando o funcional B3LYP e conjunto de base 6-31G(d).

Em relação à isomaltose, o ângulo Ω existente é encontrado em três conformações preferenciais, *GG* (300°), *GT* (60°) e *TG* (180°). Em estudo utilizando cálculo semi-empírico no vácuo, Pérez e colaboradores¹⁶⁵ encontraram populações relativas de 71%, 17% e 12% para as conformações *GG*, *GT* e *TG*, respectivamente. Javaroni e colaboradores⁷⁸ estudaram a ligação $\alpha(1\rightarrow6)$ através do ângulo Ω utilizando métodos *ab initio* e concluíram que no vácuo e em solução aquosa a conformação *GG* é mais estável. Considerando essas observações, o estudo dedicado à isomaltose neste trabalho envolveu somente a rotação das hidroxilas (*c* e *cc*), logo foram realizados cálculos envolvendo as conformações *cc-cc'*, *cc-c'*, *c-c'* e *c-cc'*. A Tabela XII reúne os resultados obtidos dessas conformações.

Tabela XII. Energias relativas e valores dos ângulos diedros da isomaltose usando B3LYP/6-311++G(d,p)

Conformação	ΔE (kcal/mol)	Φ (graus)	Ψ (graus)	Ω (graus)
<i>cc-cc'</i>	2,00	99	274	306
<i>c-c'</i>	3,21	96	241	282
<i>cc-c'</i>	0,00 ^a	91	241	287
<i>c-cc'</i>	4,02	135	258	293

^a A energia em Hartree da conformação mais estável (*cc-c'*) é de -1298,34845138.

A estabilidade adicional da conformação *cc-c'* deve-se às ligações de hidrogênio adicionais formadas, como demonstradas na Figura 25. Esses resultados sugerem a importância que as interações intra e intermoleculares possuem como efeito estabilizador do sistema. Sabe-se que as ligações de hidrogênio possuem um papel importantíssimo nos mecanismos biológicos, sendo um componente fundamental na estrutura e função de biomoléculas, como nos polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos.¹⁶⁶

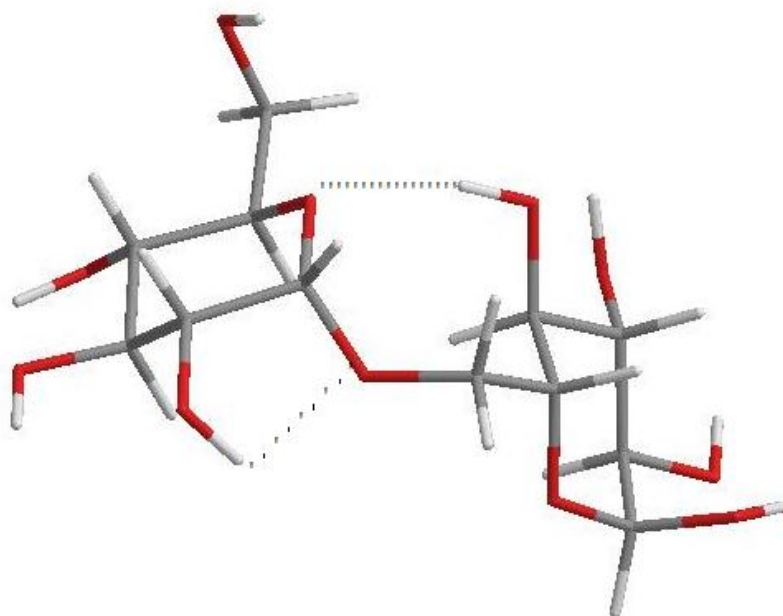


Figura 25. Conformação mais estável encontrada da isomaltose (*cc-c'*) e a representação das ligações de hidrogênio formadas (H2...O1= 2,23 Å e O5...H4'= 2,04 Å)

A partir dos resultados pode-se observar que as configurações mais estáveis são aquelas denominadas *cc-cc'* para a maltose e *cc-c'* para a isomaltose, por possuírem as menores energias.

A fim de verificar a variação energética e conformacional dos dissacarídeos quando há mudança do funcional utilizado no cálculo, foram realizados cálculos envolvendo os funcionais CAM-B3LYP e ω B97XD. O funcional CAM-B3LYP é um funcional híbrido com correções para longas distâncias, enquanto o funcional ω B97XD, também um funcional híbrido, além de correções para longas distâncias inclui dispersão empírica. Esses cálculos só foram realizados para os dissacarídeos de melhor resposta anterior, ou seja, na conformação *cc-cc'* para a maltose e na conformação *cc-c'* para a isomaltose. A Tabela XIII reúne os valores de energia e ângulos diedros dos dissacarídeos, enquanto a Tabela XIV reúne os valores dos comprimentos das ligações de hidrogênio.

Tabela XIII. Energias e ângulos diedros dos dissacarídeos utilizando conjunto de base 6-311++G(d,p)

	Funcional	Energia (Hartree)	Φ (graus)	Ψ (graus)	Ω (graus)
maltose <i>cc-cc'</i>	B3LYP	-1298,35147414	115	255	----
	CAM-B3LYP	-1297,85576405	117	256	----
	ω B97XD	-1297,97080539	122	259	----
isomaltose <i>cc-c'</i>	B3LYP	-1298,34845138	91	241	287
	CAM-B3LYP	-1297,85278549	91	244	283
	ω B97XD	-1297,96949832	89	248	290

Tabela XIV. Comprimento das ligações de hidrogênio formadas nos dissacarídeos

	Funcional	Comprimento da ligação de hidrogênio (Å)		
		H2...O3'	H2...O1	O5...H4'
maltose <i>cc-cc'</i>	B3LYP	1,98	—	—
	CAM-B3LYP	1,95	—	—
	ω B97XD	1,94	—	—
isomaltose <i>cc-c'</i>	B3LYP	—	2,23	2,04
	CAM-B3LYP	—	2,21	1,99
	ω B97XD	—	2,23	1,97

De acordo com os resultados da Tabela XIII observa-se que a utilização de funcionais com correções de longa distância não favorece a estabilização do sistema, provavelmente devido a melhor descrição de interações de repulsão. O funcional ω B97XD possui correções para longas distâncias, o que inclui interações de repulsão, justificando a hipótese de aumento da energia do sistema. No funcional CAM-B3LYP, são incluídas algumas correções para interações fracas, também justificando o pequeno aumento na energia do sistema. Esse funcional também é chamado de funcional de longo alcance, modelado para trabalhos que envolvam excitação eletrônica para orbitais de alta energia.

Em relação aos valores dos ângulos diedros, independente do funcional utilizado, os valores não foram muito diferentes entre si, sugerindo uma otimização geométrica do sistema satisfatória, dentro dos parâmetros e limitações impostos.

Estabelecidas as condições dos sistemas, foi iniciada a construção do pentasacarídeo, representação do ponto de ramificação da amilopectina. Similar à Figura 1, o pentasacarídeo é formado por uma maltotriose (três unidades monoméricas conectadas por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$), representando a porção linear do polissacarídeo. O monômero central da maltotriose é conectado por mais uma ligação glicosídica $\alpha(1\rightarrow6)$ para descrever a ramificação. Essa ramificação é composta por uma maltose, no intuito de descrever a continuidade da cadeia polimérica.

Os cálculos foram realizados utilizando funcional B3LYP com conjuntos de base 6-31G(d), 6-31G(d,p) e 6-311++G(d,p). Os resultados estão resumidos na Tabela XV.

Tabela XV. Energias relativas e ângulos diedros da amilopectina utilizando funcional B3LYP (vácuo)

Conjunto de base	ΔE (kcal/mol)	Φ (graus)		Ψ (graus)		Ω (graus)	
		1→4	1→6	1→4	1→6	1→4	1→6
6-31G(d)	668,44	115	79	250	159	—	299
6-31G(d,p)	580,04	117	79	251	158	—	300
6-311++G(d,p)	0,00 ^a	115	79	250	156	—	299

^a A energia em Hartree do cálculo utilizando o conjunto de base 6-311++G(d,p) é de -3131,19021526.

Os ângulos Φ e Ψ da ligação $\alpha(1\rightarrow4)$ são médias observadas em todo sistema, visto que cada uma dessas ligações glicosídicas possui uma variação nos ângulos torsionais ($\pm 5^\circ$), que dependem da posição no sistema e o tipo de interação existente com os átomos vizinhos. Como esperado, o aumento significativo do conjunto de base diminui a energia do sistema, por motivos já discutidos anteriormente. Para a amilopectina não foram feitas rotações do ângulo ω ou mudança no sentido das hidroxilas, visto os numerosos graus de liberdade existentes nesta molécula, além do custo computacional envolvido em cálculos quânticos com elevado número de átomos.

O ângulo Φ da ligação $\alpha(1\rightarrow4)$ possui valores muito similares aqueles encontrados para a maltose devido à manifestação do efeito exo-anomérico, mostrando mais uma vez a importância da descrição correta desses parâmetros na restrição da rotação do ângulo diedro. Como esperado, a mesma similaridade é observada no ângulo Ψ da ligação $\alpha(1\rightarrow4)$, pois neste ângulo as ligações de hidrogênio formadas são melhor descritas. Assim, a ligação $\alpha(1\rightarrow4)$ da amilopectina tende a adotar a mesma conformação daquela encontrada na estrutura da maltose. O ponto de ramificação da amilopectina adota uma orientação paralela à parte linear (Figura 26) promovendo uma ligação de hidrogênio entre os monômeros participantes da ligação $\alpha(1\rightarrow6)$, como encontrado em estudo experimental de Corzana e colaboradores.⁶²

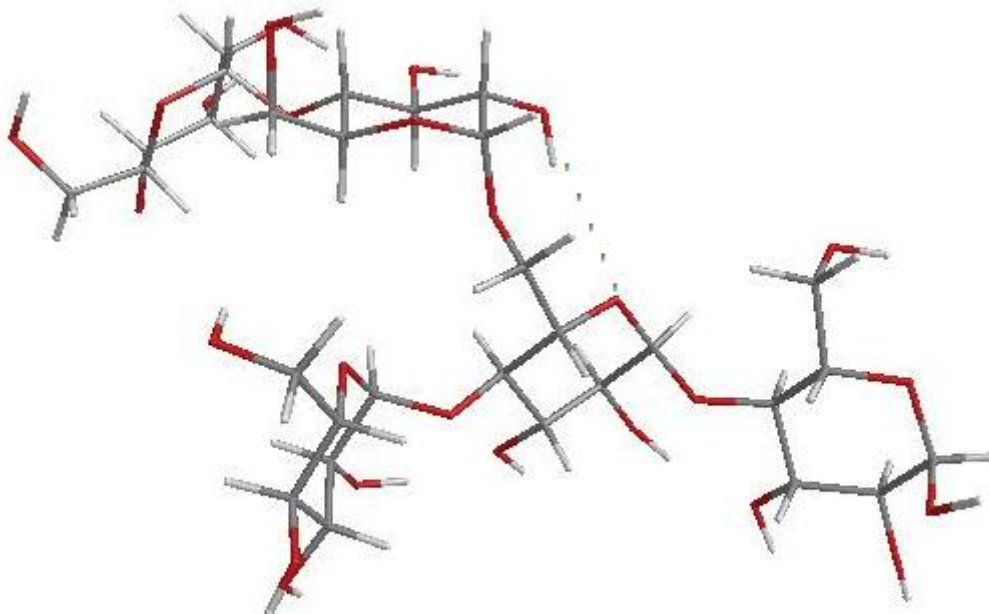


Figura 26. Representação do ponto de ramificação da amilopectina, no qual a ramificação posiciona-se paralelamente à porção linear.

Buscando a realização de um dos objetivos do trabalho, foram realizados cálculos da amilopectina com a inclusão de solvente implícito. Na ausência do solvente de forma explícita, o efeito do mesmo se dá através de sua capacidade de descrever as propriedades eletrostáticas do meio (constante dielétrica, ϵ). Quando o efeito de solvente é realizado de forma implícita, fica claro que interações entre o soluto e o solvente não são quantificadas, como ligações de hidrogênio ou interações de Van der Waals. Nesse tipo de estudo, então, espera-se que conformações de elevado momento dipolar sejam estabilizadas em meios de elevada constante dielétrica, assim como conformações de reduzido momento dipolar sejam estabilizadas em meios de baixa constante dielétrica.

Os cálculos com efeito de solvente para a amilopectina foram realizados com os mesmos conjuntos de base nos quais foram realizados os cálculos no vácuo da amilopectina, para efeitos de comparação. A constante dielétrica da mistura de solventes foi realizada em termos da fração percentual de cada solvente no sistema, onde a constante dielétrica do DMSO utilizada foi de $\epsilon=46,8$ e a constante dielétrica da H_2O foi de $\epsilon=78,3$, resultando em uma constante dielétrica da mistura de $\epsilon=49,9$. A Tabela XVI apresenta a comparação dos

resultados das energias e ângulos diedros encontrados para a amilopectina com efeito de solvente e no vácuo.

Tabela XVI. Energias relativas e ângulos diedros da amilopectina utilizando funcional B3LYP

	Conjunto de base	ΔE (kcal/mol)	Φ (graus)		Ψ (graus)		Ω (graus)
			1→4	1→6	1→4	1→6	1→6
Vácuo	6-31G(d)	697,45	115	79	250	159	299
	6-31G(d,p)	609,06	117	79	251	158	300
	6-311++G(d,p)	29,02	115	79	250	156	299
$\epsilon= 49,9$	6-31G(d)	668,58	112	82	249	159	298
	6-31G(d,p)	581,09	113	82	249	158	298
	6-311++G(d,p)	0,00 ^a	113	81	249	160	299

^a A energia em Hartree do cálculo utilizando o conjunto de base 6-311++G(d,p) é de -3131,23647121.

Devido ao grande número de hidroxilas presentes na amilopectina e conseqüentemente ao elevado momento dipolar da molécula o efeito do solvente causa uma estabilização na energia do sistema. Os valores dos ângulos diedros não demonstraram mudanças significativas quando comparados aos valores obtidos da molécula no vácuo.

Em relação aos possíveis sítios de coordenação da amilopectina, verifica-se na literatura²² que os grupos –OH ligados ao C2 e C3 dos polissacarídeos estão envolvidos na coordenação, atribuindo então uma certa seletividade entre os potenciais sítios de interação dos carboidratos com íons metálicos. Essa seletividade pode ser atribuída aos efeitos estéricos e conformacionais da molécula, assim como à reatividade das hidroxilas. De fato, os átomos de oxigênio ligados aos átomos de carbono C1, C4 e C6 da amilopectina estão em sua maioria participando das ligações glicosídicas, deixando evidente a atividade das hidroxilas ligadas aos carbonos C2 e C3 na interação com outras espécies.

A fim de averiguar as informações reportadas na literatura, verificamos os valores das cargas parciais dos átomos de oxigênio geradas no cálculo de otimização geométrica da amilopectina utilizando o conjunto de base 6-31G(d,p) com efeito de solvente. Essas cargas

parciais foram obtidas a partir do método ChelpG. A legenda de cada monômero é representada na Figura 27 e os valores das cargas estão apresentados na Tabela XVII.

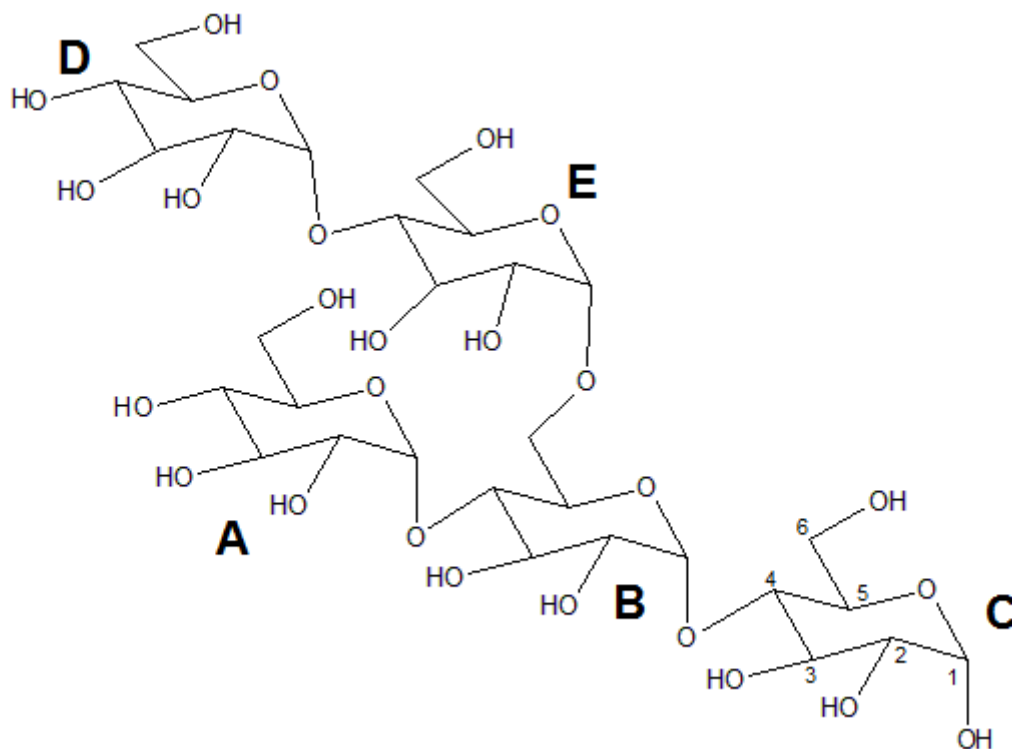


Figura 27. Legenda dos monômeros constituintes da amilopectina para estudo das cargas parciais dos átomos de oxigênio e nomenclatura usual de carboidratos

Tabela XVII. Valores das cargas parciais para os átomos de oxigênio da amilopectina

Unidade monomérica					
	A	B	C	D	E
O1	-0,526	-0,529	-0,639	-0,529	-0,517
O2	-0,697	-0,694	-0,659	-0,696	-0,665
O3	-0,674	-0,664	-0,662	-0,675	-0,661
O4	-0,672	-0,526	-0,529	-0,673	-0,529
O5	-0,524	-0,510	-0,517	-0,524	-0,523
O6	-0,653	-0,517	-0,650	-0,650	-0,651

Como observado na Tabela XVII os átomos de oxigênio O2 e O3 possuem maior eletronegatividade quando comparados aos outros átomos de oxigênio, tornando-os prováveis ligantes preferenciais na coordenação com íons metálicos, como verificado na literatura. Em relação ao oxigênio O1 (C) é vista uma diferença no valor da carga parcial quando comparado aos outros átomos de oxigênio semelhantes, visto que na unidade monomérica C o átomo de oxigênio O1 não faz uma ligação glicosídica como os demais oxigênios ligados ao C1. A mesma tendência é observada para os átomos O4 (A,D) que não participam da ligação glicosídica. Para o O6 (B) a diferença é atribuída pela formação da ligação glicosídica $\alpha(1\rightarrow6)$.

Como relatado nos objetivos, frequências vibracionais teóricas da amilopectina foram obtidas utilizando o funcional B3LYP, conjunto de base 6-31G(d,p) e solvente implícito. No cálculo teórico, na região de absorção do grupo -OH, duas bandas muito próximas são verificadas. Como discutido nos resultados experimentais, um "ombro" é observado na banda da hidroxila da amilopectina relativo às ligações de hidrogênio intramoleculares. A fim de verificar essa observação mais claramente, foi realizada a deconvolução desta região do espectro vibracional experimental da amilopectina com o intuito de compará-lo com as bandas encontradas teoricamente. A Figura 28 ilustra a deconvolução realizada na região de $3700 - 3100 \text{ cm}^{-1}$.

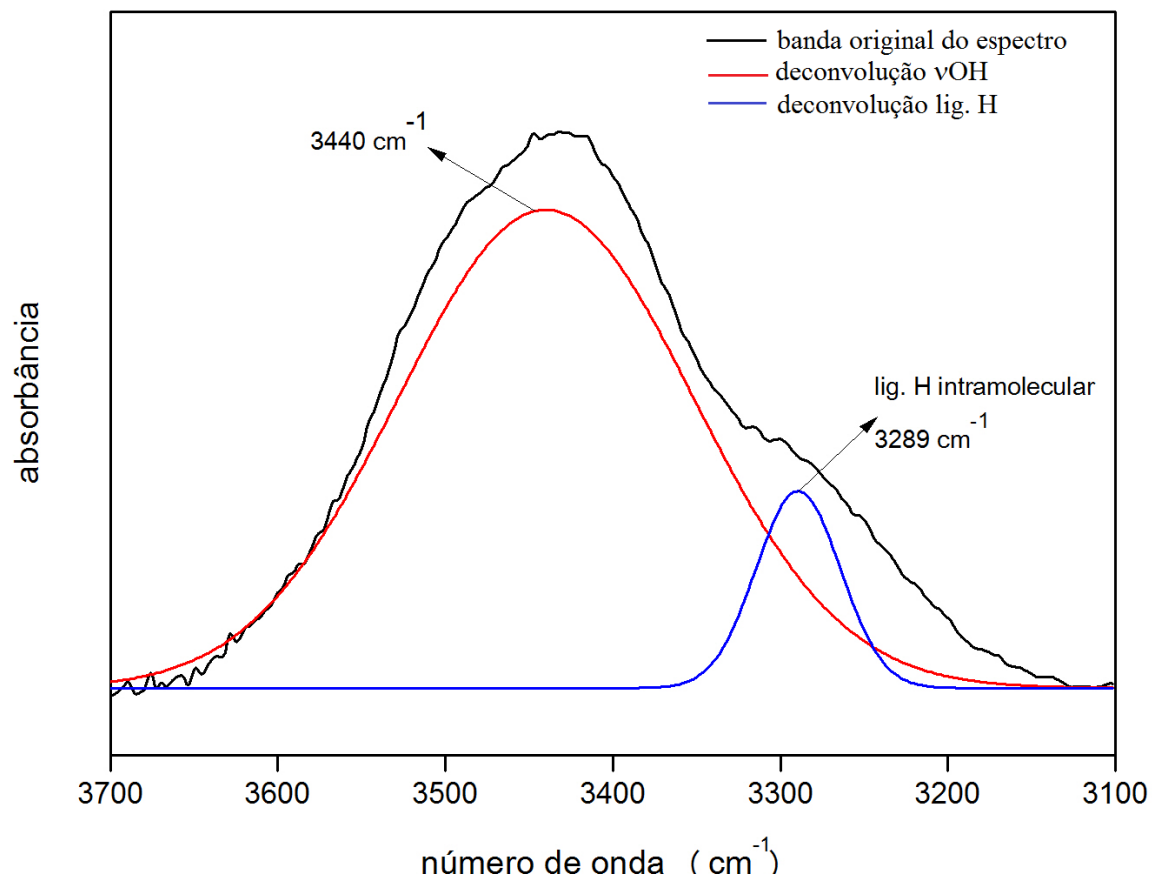


Figura 28. Deconvolução do espectro vibracional da amilopectina na região de absorção do grupo –OH.

Estimados os comprimentos de onda de absorção da hidroxila e das ligações de hidrogênio formadas na amilopectina, pode-se comparar as frequências vibracionais obtidas teoricamente e experimentalmente. A Tabela XVIII apresenta os resultados obtidos.

Tabela XVIII. Comparação das frequências vibracionais teóricas e experimentais

Atribuição	Experimental	Teórico
ν_{OH}	3440	3488
lig. H intramolecular	3289	3319
ν_{CH}	3000	2974
ν_{CH}	2914	2922
$\nu_{\text{C-O}}$	1017	1019

Os resultados acima não incluem todas as frequências encontradas experimentalmente, e sim aquelas em que a observação teórica foi verificada. A reprodução teórica de frequências experimentais é difícil devido a diversos fatores, como a não utilização do solvente explícito nos cálculos, omitindo as interações polímero-solvente, além das próprias frequências vibracionais do solvente e outros componentes contidos na amostra.

Os valores das frequências encontradas teoricamente podem ser considerados bastante próximos daquelas encontradas experimentalmente devido a aproximação realizada na construção de um polissacarídeo a fim de representar um polímero ramificado. O que pode ser destacado aqui é a descrição das ligações de hidrogênio, da hidroxila e do estiramento da ligação C-OH, muito importantes na identificação de um carboidrato. Não foram encontrados na literatura recente estudos teóricos de carboidratos envolvendo a obtenção de espectros vibracionais, indicando a dificuldade desse tipo de aproximação e a quantidade de informações e parâmetros que devem ser levados em consideração.

6 CONCLUSÕES

A reação de complexação entre a amilopectina e diversos íons metálicos foi realizada na mistura de solvente DMSO/H₂O 90/10% e estudada por diversas técnicas experimentais, com o intuito de comprovar os complexos formados, quantificar o rendimento das reações, identificar os fatores que influenciam o sistema e estudar as mudanças ocorridas no polímero e íon metálico em análises espectroscópicas. Além disso, foi estudada a conformação da amilopectina teoricamente através da DFT, a fim de verificar as ligações de hidrogênio descritas na literatura, avaliar os possíveis sítios de coordenação com metais e tentar produzir um espectro teórico vibracional próximo do obtido experimentalmente.

A quantificação do rendimento das reações de complexação foi realizada através de titulação complexométrica, onde fatores como temperatura, tempo e massa de sal utilizados nas reações foram alterados em dois níveis a fim de verificar como o sistema responderia a essas mudanças. A utilização do planejamento fatorial na avaliação dos fatores que influenciaram o aumento/diminuição do rendimento das reações foi muito útil, por que foi observado que para alguns sistemas a alteração dos níveis das variáveis não influenciou o rendimento das reações, enquanto que para outros sistemas os efeitos foram bastante significativos. As justificativas para tais observações são baseadas principalmente no caráter dos metais como ácidos de Lewis (duros ou moles), na influência do contra-íon e no tamanho e caráter do ligante (amilopectina). O efeito da temperatura foi considerado bastante significativo, pois refletiu no grau de organização das cadeias da amilopectina dificultando a interação do polímero com o metal. Aqui, conclui-se que o íon Cr³⁺ interagiu mais fortemente com a amilopectina, enquanto o íon Pb²⁺ mais fracamente, de acordo com os resultados de rendimento reacional. Além disso, verificou-se também que as reações devem ser conduzidas à 25°C. Fatores como tempo e massa de sal devem ser controlados dependendo do metal a ser complexado. Para uma conclusão mais abrangente, outros fatores devem ser incluídos no planejamento, ficando como proposta a utilização de um catalisador e a padronização das concentrações molares dos sais. É importante destacar como a utilização do planejamento fatorial é útil para redução de tempo, reagentes e resíduos, além da qualidade dos resultados que são obtidos com esse tipo de ferramenta.

As análises de pH e condutividade refletiram os dados encontrados na literatura, onde uma redução de ambas as medidas foram observadas quando ocorre a complexação. Foi

observado que a redução do pH foi menos pronunciada quando os ânions acetato assumem o papel de contra-íon, devido ao efeito tampão.

Com o auxílio do i-PCA, foi possível avaliar as mudanças ocorridas nas frequências vibracionais da amilopectina, como as diferenças nas vibrações de estiramento dos grupos hidroxilas da amilopectina, o deslocamento da banda C-O indicando a desprotonação do grupo hidroxila e o surgimento da ligação M-O. Através da comparação dos espectros vibracionais da amilopectina e do complexo de Cr^{3+} observou-se a redução do "ombro" observado na região de aparecimento da banda do grupo -OH, relativo às ligações de hidrogênio.

As análises de UV-Vis corroboraram com as observações verificadas na literatura. Devido à troca do ligante junto ao átomo central, pequenas diferenças nas absorções na região do visível para os metais foram observadas. Para o íon Cr^{3+} foi possível atribuir também o número de picos encontrados no espectro eletrônico ao número de transições permitidas. A análise termogravimétrica mostrou que a complexação da amilopectina com o íon Cr^{3+} refletiu na propriedade térmica do polímero, devido ao aumento da temperatura de degradação da amilopectina.

O estudo teórico da conformação da amilopectina teve seu início com a avaliação das possíveis conformações da α -D-glicose, calculados com o funcional B3LYP. Foi observado que há uma dependência do conjunto de base utilizado, principalmente devido à descrição das ligações de hidrogênio. A preferência conformacional da glicose reportada na literatura é a *cc-gg*, sendo essa preferência observada apenas aumentando consideravelmente o tamanho do conjunto de base. Posteriormente foram realizadas análises conformacionais dos dissacarídeos maltose e isomaltose, responsáveis pela descrição das ligações glicosídicas da amilopectina. Foram empregados os funcionais B3LYP, CAM-B3LYP e ω B97XD para uma avaliação mais criteriosa desses dissacarídeos. Os resultados sugerem que as conformações mais estáveis para a maltose e isomaltose são, respectivamente, *cc-cc'* e *cc-c'*. A preferência conformacional desses dissacarídeos é fortemente influenciada pelo efeito exo-anomérico e ligações de hidrogênio.

Para a construção da amilopectina as conformações energeticamente favoráveis dos dissacarídeos foram levadas em conta. Foi verificado que a ramificação adota uma posição paralela à porção linear da amilopectina, favorecendo a formação de uma ligação de hidrogênio adicional. Para a amilopectina o efeito de solvente foi avaliado empregando o

PCM. Como esperado, a utilização de um solvente com constante dielétrica alta estabilizou o sistema devido à polaridade elevada da molécula.

Finalmente, foi realizada a avaliação das cargas parciais da amilopectina com o intuito de verificar os potenciais sítios de coordenação da molécula. Os resultados fortaleceram os dados encontrados na literatura, sugerindo que os átomos O2 e O3 são os possíveis ligantes na coordenação com metais. Foram obtidas também frequências vibracionais teóricas da amilopectina, onde as principais bandas de absorção foram identificadas e correlacionadas com aquelas encontradas experimentalmente. O estudo teórico de sistemas grandes em nível *ab initio* é muito útil na quantificação de efeitos eletrônicos, porém ainda é custoso computacionalmente, podendo levar semanas até o término de um cálculo. Para resultados mais sólidos, deve ser considerada a utilização de solvente explícito, além da construção de cadeias maiores do polímero a fim de ter uma representatividade maior do sistema.

Considerando os resultados obtidos e os estudos em andamento sobre a amilopectina e suas aplicações, conclui-se que a mesma apresenta um grande potencial de aplicação como agente complexante de metais, principalmente com íons metálicos de pequeno raio atômico central como o Cr^{3+} e Fe^{3+} , seja para a utilização na área ambiental ou cosmética, justificando seu uso principalmente pela abundância desse biomaterial.

Como proposta para estudos futuros, seria importante a utilização de uma técnica que fornecesse a possibilidade da construção da geometria dos complexos formados (EPR ou EXAFS, por exemplo), assim como a determinação das constantes de formação (K_f) dos complexos e o estudo cinético das reações.

7 REFERÊNCIAS

1. Jones, C. J. *A Química dos Elementos dos Blocos d e f*; Bookman: Porto Alegre, **2002**.
2. Shriver, D. F.; Atkins, P. W.; Overton, T. L.; Rourke, J. P.; Weller, M. T.; Armstrong, F. A. *Inorganic Chemistry*; Oxford University Press: Oxford, **2006**.
3. Kaliyappan, T.; Kannan, P. *Progress in Polymer Science* **2000**, *25*(3), 343-370.
4. Lee, J.; Li, J.; Jagiello, J. *Journal of Solid State Chemistry* **2005**, *178*(8), 2527-2532.
5. Kandasamy, P.; Sasidaran, M.; Janaki, N.; Kaliyappan, T. *Journal of Applied Polymer Science* **2012**, *124*(5), 3600-3605.
6. Ward, M. D. *Science* **2003**, *300*(6522), 1104-1105.
7. Donia, A. M. *Thermochimica Acta* **1998**, *320*(1-2), 187-199.
8. Silva, V. P. R.; Caliman, V.; Silva, G. G. *Polímeros: Ciência e Tecnologia* **2005**, *15*(4), 249-255.
9. Lutfor, M. R.; Silong, S.; Zin, W. M.; Ab Rahman, M. Z.; Ahmad, M.; Haron, J. *European Polymer Journal* **2000**, *36*(10), 2105-2113.
10. Grande, J. A.; Jimenez, A.; Romero, S.; de la Torre, M. L.; Gomez-Olivera, T. *Water Air and Soil Pollution* **2010**, *212*(1-4), 299-307.
11. de la Torre, M. L.; Grande, J. A.; Jimenez, A.; Borrego, J.; Curiel, J. M. D. *Water Resources Management* **2009**, *23*(7), 1275-1289.
12. Liu, S.; Hammond, S. K.; Rojas-Cheatham, A. *Environmental Health Perspectives*, **2013**, *121*, 705-710.
13. Castillo-Blum, S. E.; Barba-Behrens, N. *Coordination Chemistry Reviews* **2000**, *196*, 3-30.
14. Robin, A. Y.; Fromm, K. M. *Coordination Chemistry Reviews* **2006**, *250*(15-16), 2127-2157.
15. Ciesielski, W.; Tomasik, P. *International Journal of Food Science and Technology* **2004**, *39*(6), 691-698.
16. Gyurcsik, B.; Nagy, L. *Coordination Chemistry Reviews* **2000**, *203*, 81-149.
17. Yang, L. M.; Su, Y. L.; Xu, Y. Z.; Wang, Z. M.; Guo, Z. H.; Weng, S. F.; Yan, C. H.; Zhang, S. W.; Wu, J. G. *Inorganic Chemistry* **2003**, *42*(19), 5844-5856.
18. Ciesielski, W.; Tomasik, P. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* **2003**, *17*(2), 155-165.

19. Ciesielski, W.; Tomasik, P. *Thermochimica Acta* **2003**, *403*(2), 161-171.
20. Ciesielski, W.; Lii, C. Y.; Yen, M. T.; Tomasik, P. *Carbohydrate Polymers* **2003**, *51*(1), 47-56.
21. Zheng, Y. J.; Ornstein, R. L.; Leary, J. A. *Theochem-Journal of Molecular Structure* **1997**, *389*(3), 233-240.
22. Ciesielski, W. *E-Polymers* **2009**, *92*, 1-13.
23. Cocinero, E. J.; Lesarri, A.; Ecija, P.; Cimas, A.; Davis, B. G.; Basterretxea, F. J.; Fernandez, J. A.; Castano, F. *Journal of the American Chemical Society* **2013**, *135*(7), 2845-2852.
24. Gutten, O.; Besseova, I.; Rulisek, L. *Journal of Physical Chemistry A* **2011**, *115*(41), 11394-11402.
25. Pidko, E. A.; Degirmenci, V.; van Santen, R. A.; Hensen, E. J. M. *Inorganic Chemistry* **2010**, *49*(21), 10081-10091.
26. Mandal, S.; Seth, D. K.; Mukhopadhyay, B.; Gupta, P. *Inorganica Chimica Acta* **2013**, *398*, 83-88.
27. Rulisek, L.; Ryde, U. *Coordination Chemistry Reviews* **2013**, *257*(2), 445-458.
28. Tvaroska, I.; Kozmon, S.; Wimmerova, M.; Koca, J. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*(37), 15563-15571.
29. Bernal-Uruchurtu, M. I.; Metta-Magana, A. J.; Guerrero-Alvarez, J. A.; Reyes-Martinez, R.; Tlahuext, H. *Carbohydrate Research* **2008**, *343*(16), 2804-2812.
30. Corradini, E.; Teixeira, E. d. M.; Agnelli, J. A. M.; Mattoso, L. H. C. *Amido Termoplástico*; Embrapa Instrumentação Agropecuária: São Carlos, **2007**.
31. Oliveira, A. N. d.; Oliveira, L. A. d.; Andrade, J. S.; Chagas Junior, A. F. *Brazilian Journal of Microbiology* **2007**, *38*, 208-216.
32. Sonnewald, U.; Kossmann, J. *Plant Biotechnology Journal* **2013**, *11*(2), 223-232.
33. Cereda, M. P. *Propriedades gerais do amido*; Fundação Cargill: São Paulo, **2002**.
34. Le Corre, D.; Bras, J.; Dufresne, A. *Biomacromolecules* **2010**, *11*(5), 1139-1153.
35. Ding, W.; Zhai, S. Y.; Liu, J. T.; Wang, R.; Li, R. *Water Science and Technology* **2013**, *67*(2), 306-310.
36. Liu, J. T.; Zhang, K. Y.; Wang, P.; Ding, W.; Zhao, P.; Dong, Z. P.; Li, R. *Separation Science and Technology* **2013**, *48*(5), 766-774.
37. Janegitz, B. C.; Lourenção, B. C.; Lupetti, K. O.; Fatibello-Filho, O. *Quim Nova* **2007**, *30*(4), 879-884.

38. Ciesielski, W.; Tomasik, P. *Journal of Inorganic Biochemistry* **2004**, *98*(12), 2039-2051.
39. Peres, G. L. *Tese de Doutorado*, PPGQ, UFRGS: Porto Alegre, **2013**.
40. Silva, G. d. O. d.; Takizawa, F. F.; Pedroso, R. A.; Franco, C. M. L.; Leonel, M.; Sarmiento, S. B. S.; Demiate, I. M. *Ciênc Tecnol Aliment* **2006**, *26*(1), 188-197.
41. Denardin, C. C.; Silva, L. P. d. *Ciência Rural* **2009**, *39*(3), 945-953.
42. Perez, S.; Bertoft, E. *Starch-Starke* **2010**, *62*(8), 389-420.
43. Tester, R. F.; Karkalas, J.; Qi, X. *Journal of Cereal Science* **2004**, *39*(2), 151-165.
44. De Kerf, M.; Mondelaers, W.; Lahorte, P.; Vervaet, C.; Remon, J. P. *International Journal of Pharmaceutics* **2001**, *221*(1-2), 69-76.
45. Buleon, A.; Colonna, P.; Planchot, V.; Ball, S. *International Journal of Biological Macromolecules* **1998**, *23*(2), 85-112.
46. Jenkins, P. J.; Donald, A. M. *Carbohydrate Research* **1998**, *308*(1-2), 133-147.
47. Goesaert, H.; Brijs, K.; Veraverbeke, W. S.; Courtin, C. M.; Gebruers, K.; Delcour, J. A. *Trends in Food Science & Technology* **2005**, *16*(1-3), 12-30.
48. Liu, H. S.; Xie, F. W.; Yu, L.; Chen, L.; Li, L. *Progress in Polymer Science* **2009**, *34*(12), 1348-1368.
49. Tomasik, P.; Schilling, C.; Anderegg, J.; Refvik, M. *Carbohydrate Polymers* **2000**, *41*(1), 61-68.
50. Tomasik, P.; Schilling, C. H. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Vol 59 **2004**, *59*, 175-403.
51. Damager, I.; Engelsen, S. B.; Blennow, A.; Moller, B. L.; Motawia, M. S. *Chemical Reviews* **2010**, *110*(4), 2049-2080.
52. Chang, F. D.; He, X. W.; Huang, Q. *Food Hydrocolloids* **2013**, *32*(2), 365-372.
53. Hung, P. V.; Phat, N. H.; Phi, N. T. L. *Starch-Starke* **2013**, *65*(5-6), 382-389.
54. Nikolic, G. S.; Cakic, M.; Mitic, Z.; Ilic, L. *Russian Journal of Coordination Chemistry* **2008**, *34*(5), 322-328.
55. Bergmann, D.; Furth, G.; Mayer, C. *International Journal of Biological Macromolecules* **2008**, *43*(3), 245-251.
56. Benite, A. M. C.; Machado, S. d. P.; Barreiro, E. J. *Quimica Nova* **2007**, *30*(8), 2062-2067.
57. Batten, S. R.; Murray, K. S. *Coordination Chemistry Reviews* **2003**, *246*(1-2), 103-130.

58. Comba, P. *Coordination Chemistry Reviews* **1999**, 185(6), 81-98.
59. Huheey, J. *Inorganic chemistry : principles of structure and reactivity*; Harper Collins: New York, **1993**.
60. Clarisse, M. D.; Lucas, E. F.; Amorim, M. C. V. *Polímeros: Ciência e Tecnologia* **2000**, 10(3), 162-169.
61. Basolo, F. *Coordination Chemistry: The Chemistry of Metal Complexes*; Benjamin-Cummings: London, **1964**.
62. Corzana, F.; Motawia, M. S.; du Penhoat, C. H.; van den Berg, F.; Blennow, A.; Perez, S.; Engelsen, S. B. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, 126(40), 13144-13155.
63. Nogueira, C. M.; Parmanhan, B. R.; Farias, P. P.; Corrêa, A. G. *Revista Virtual de Química* **2009**, 1(2), 149-159.
64. Devulapalle, K. S.; de Segura, A. G.; Ferrer, M.; Alcalde, M.; Mooser, G.; Plou, F. J. *Carbohydrate Research* **2004**, 339(6), 1029-1034.
65. Chu, C. K.; Jin, Y. H.; Baker, R. O.; Huggins, J. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, 13(1), 9-12.
66. Barradas, J. S.; Errea, M. I.; D'Accorso, N. B.; Sepulveda, C. S.; Talarico, L. B.; Damonte, E. B. *Carbohydrate Research* **2008**, 343(14), 2468-2474.
67. Muhizi, T.; Coma, V.; Grelier, S. *Carbohydrate Research* **2008**, 343(14), 2369-2375.
68. Gerbst, A. G.; Grachev, A. A.; Shashkov, A. S.; Nifantiev, N. E. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* **2007**, 33(1), 24-37.
69. da Silva, C. O.; Menezes, A. O.; Coelho, A. V.; Paralovo, V. O.; Soares, C. S.; *Strategies for the Determination of Carbohydrates Structures and Conformation*, Transworld Research Network: Kerala, **2010**.
70. Carvalho, I.; Pupo, M. T.; Borges, Á. D. L.; Bernardes, L. S. C. *Quim Nova* **2003**, 26(3), 428-438.
71. Szabo, A. *Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory*, Dover Publications: New York, **1989**.
72. Morgon, N. H.; Coutinho, K. *Métodos de química teórica e modelagem molecular*; Editora Livraria da Física: São Paulo, **2007**.
73. Tvaroska, I.; Gajdos, J. *Carbohydrate Research* **1995**, 271(2), 151-162.
74. Lemieux, R. U.; Koto, S. *Tetrahedron* **1974**, 30(13), 1933-1944.
75. Imberty, A.; Perez, S. *International Journal of Biological Macromolecules* **1989**, 11(3), 177-185.

76. Best, R. B.; Jackson, G. E.; Naidoo, K. J. *Journal of Physical Chemistry B* **2001**, *105*(20), 4742-4751.
77. Corzana, F.; Motawia, M. S.; Du Penhoat, C. H.; Perez, S.; Tschampel, S. M.; Woods, R. J.; Engelsen, S. B. *Journal of Computational Chemistry* **2004**, *25*(4), 573-586.
78. Javaroni, F.; Ferreira, A. B. B.; da Silva, C. O. *Carbohydrate Research* **2009**, *344*(10), 1235-1247.
79. Bitzer, R. S.; Barbosa, A. G. H.; da Silva, C. O.; Nascimento, M. A. C. *Carbohydrate Research* **2005**, *340*(13), 2171-2184.
80. French, A. D.; Johnson, G. P.; Cramer, C. J.; Csonka, G. I. *Carbohydrate Research* **2012**, *350*, 68-76.
81. Miura, N.; Taniguchi, T.; Monde, K.; Nishimura, S. I. *Chemical Physics Letters* **2006**, *419*(4-6), 326-332.
82. Tvaroska, I.; Taravel, F. R.; Utille, J. P.; Carver, J. P. *Carbohydrate Research* **2002**, *337*(4), 353-367.
83. Bachrach, S. M. *Computational Organic Chemistry*; John Wiley & Sons: New Jersey, **2007**.
84. Taylor, M. E.; Drickamer, K. *Introduction to Glycobiology*; Oxford University Press: Oxford, **2011**.
85. Appell, M.; Strati, G.; Willett, J. L.; Momany, F. A. *Carbohydrate Research* **2004**, *339*(3), 537-551.
86. da Silva, C. O. *Revista Virtual de Química* **2011**, *3*(4), 235-246.
87. Edward, J. T. *Chemistry & Industry* **1955**, *36*, 1102-1104.
88. Lemieux, R. U.; Chu, P. *Journal of the American Chemical Society* **1958**, *80*(17), 4745-4745.
89. Momany, F. A.; Appell, M.; Willett, J. L.; Schnupf, U.; Bosma, W. B. *Carbohydrate Research* **2006**, *341*(4), 525-537.
90. Nishida, Y.; Ohrui, H.; Meguro, H. *Tetrahedron Letters* **1984**, *25*(15), 1575-1578.
91. Jebber, K. A.; Zhang, K.; Cassady, C. J.; ChungPhillips, A. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*(43), 10515-10524.
92. Strati, G. L.; Willett, J. L.; Momany, F. A. *Carbohydrate Research* **2002**, *337*(20), 1851-1859.
93. Strati, G. L.; Willett, J. L.; Momany, F. A. *Carbohydrate Research* **2002**, *337*(20), 1833-1849.

94. Momany, F. A.; Willett, J. L. *Journal of Computational Chemistry* **2000**, *21*(13), 1204-1219.
95. da Silva, C. O.; Mennucci, B.; Vreven, T. *Journal of Organic Chemistry* **2004**, *69*(23), 8161-8164.
96. Schnupf, U.; Willett, J. L.; Bosma, W. B.; Mornany, F. A. *Carbohydrate Research* **2007**, *342*(15), 2270-2285.
97. Momany, F. A.; Schnupf, U.; Willett, J. L.; Bosma, W. B. *Structural Chemistry* **2007**, *18*(5), 611-632.
98. Best, R. B.; Jackson, G. E.; Naidoo, K. J. *Journal of Physical Chemistry B* **2002**, *106*(19), 5091-5098.
99. Bhatia, S. C.; Cardelino, B. H.; Ravi, N. *Hyperfine Interactions* **2005**, *165*(1-4), 339-344.
100. Cisnetti, F.; Marechal, J. D.; Nicaise, M.; Guillot, R.; Desmadril, M.; Lambert, F.; Policar, C. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2012**, *20*, 3308-3319.
101. Bentz, A.; Comba, P.; Deeth, R. J.; Kerscher, M.; Seibold, B.; Wadehohl, H. *Inorganic Chemistry* **2008**, *47*(20), 9518-9527.
102. Deeth, R. J.; Anastasi, A.; Diedrich, C.; Randell, K. *Coordination Chemistry Reviews* **2009**, *253*(5-6), 795-816.
103. Hansen, P. I.; Larsen, F. H.; Motawia, S. M.; Blennow, A.; Spraul, M.; Dvortsak, P.; Engelsen, S. B. *Biopolymers* **2008**, *89*(12), 1179-1193.
104. Kapoor, B.; Bhattacharya, M. *Carbohydrate Polymers* **2000**, *42*(4), 323-335.
105. Chamberlain, E. K.; Rao, M. A. *Carbohydrate Polymers* **1999**, *40*(4), 251-260.
106. Skoog, D.; West, D.; Holler, J.; Crouch, S. *Fundamentos de Quimica Analitica*; Pioneira Thonson Learning: São Paulo, **2006**.
107. Mendham, J.; Denney, R. C.; Barnes, J. D.; Thomas, M. J. K. *Vogel: Analise Quimica Quantitativa*; LTC: Rio de Janeiro, **2002**.
108. Barros Neto, B. d.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E.; *Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*, Bookman: Porto Alegre, **2010**.
109. Brereton, R. *Chemometrics : applications of mathematics and statistics to laboratory systems*; Ellis Horwood: New York, **1993**.
110. Vandeginste, B. G. M.; Deming, S. N.; Michotte, Y.; Kaufman, L.; Massart, D. L. *Chemometrics: a textbook*; Elsevier: Amsterdam, **1988**.
111. Teofilo, R. F.; Ferreira, M. M. C. *Quimica Nova* **2006**, *29*(2), 338-350.

112. Lundstedt, T.; Seifert, E.; Abramo, L.; Thelin, B.; Nystrom, A.; Pettersen, J.; Bergman, R. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **1998**, *42(1-2)*, 3-40.
113. Silverstein, R. M. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*; LTC: Rio de Janeiro, **2007**.
114. Guo, Y. L.; Wu, P. Y. *Carbohydrate Polymers* **2008**, *74(3)*, 509-513.
115. Correia, P. R. M.; Ferreira, M. M. C. *Quimica Nova* **2007**, *30(2)*, 481-487.
116. Miranda, F. A. A.; Passos, R. R.; Lopes, J. A. D.; Moita Neto, J. M. *Polimeros: Ciência e tecnologia* **1998**, *8(2)*, 41-45.
117. Souza, A. M. d.; Poppi, R. J. *Quimica Nova* **2012**, *35(1)*, 223-229.
118. Wold, S.; Esbensen, K.; Geladi, P. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **1987**, *2(1-3)*, 37-52.
119. Jolliffe, I. T. *Principal Components Analysis*; Springer: New York, **2002**.
120. Sinelli, N.; Cosio, M. S.; Gigliotti, C.; Casiraghi, E. *Analytica Chimica Acta* **2007**, *598(1)*, 128-134.
121. Poulli, K. I.; Mousdis, G. A.; Georgious, C. A. *Food Chemistry* **2009**, *117(3)*, 499-503.
122. Reid, L. M.; O'Donnell, C. P.; Downey, G. *Trends in Food Science & Technology* **2006**, *17(7)*, 344-353.
123. Gurdeniz, G.; Ozen, B.; Tokatli, F. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2010**, *112(2)*, 218-226.
124. Norgaard, L.; Saudland, A.; Wagner, J.; Nielsen, J. P.; Munck, L.; Engelsen, S. B. *Applied Spectroscopy* **2000**, *54(3)*, 413-419.
125. Rao, C. N. R. *Ultra-violet and visible spectroscopy: chemical applications*; Butterworths: London, **1975**.
126. Lever, A. B. P. *Inorganic electronic spectroscopy*; Elsevier: Amsterdam, **1984**.
127. Hatakeyama, T.; Quinn, F. X.; *Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymer Science*, John Wiley & Sons: Michigan, **1999**.
128. Canevarolo Júnior, S. V. *Técnicas de caracterização de polímeros*; Artliber: São Paulo, **2004**.
129. Liu, X. X.; Wang, Y. F.; Yu, L.; Tong, Z.; Chen, L.; Liu, H. S.; Li, X. X. *Starch-Starke* **2013**, *65*, 48-60.
130. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.;

Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J.; *Gaussian, Inc.*, Wallingford CT, **2009**.

131. Becke, A. D. *Journal of Chemical Physics* **1993**, *98*(2), 1372-1377.
132. Arruda, P. M. *Dissertação de Mestrado*, PPGF, UFES: Vitória, **2009**.
133. Machado, S. F. *Tese de Doutorado*, PPGF, UFES: Vitória, **2009**.
134. Oliveira, P. J. P. *Tese de Doutorado*, PPGF, UFES: Vitória, **2010**.
135. Yanai, T.; Tew, D. P.; Handy, N. C. *Chemical Physics Letters* **2004**, *393*(1-3), 51-57.
136. Chai, J. D.; Head-Gordon, M. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2008**, *10*(44), 6615-6620.
137. Cammi, R.; Tomasi, J. *Journal of Computational Chemistry* **1995**, *16*(12), 1449-1458.
138. Gonçalves, P. F. B. *Tese de Doutorado*, PPGQ, UFRGS: Porto Alegre, **2003**.
139. Breneman, C. M.; Wiberg, K. B. *Journal of Computational Chemistry* **1990**, *11*(3), 361-373.
140. Byrd, E. F. C.; Sherrill, C. D.; Head-Gordon, M. *Journal of Physical Chemistry A* **2001**, *105*(42), 9736-9747.
141. Netz, P. A.; Ortega, G. G. *Fundamentos de físico-química: uma abordagem conceitual para as ciências farmacêuticas*; Artmed: Porto Alegre, **2002**.
142. Chen, X.; Peng, L. H.; Shan, Y. H.; Li, N.; Wei, W.; Yu, L.; Li, Q. M.; Liang, W. Q.; Gao, J. Q. *International Journal of Pharmaceutics* **2013**, *447*(1-2), 171-181.
143. Wang, W. B.; Huang, D. J.; Kang, Y. R.; Wang, A. Q. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces* **2013**, *106*, 51-59.
144. Pearson, R. G. *Journal of the American Chemical Society* **1963**, *85*(22), 3533-3539.
145. Afaneh, A. T.; Schreckenbach, G.; Wang, F. Y. *Theoretical Chemistry Accounts* **2012**, *131*(4), 1-17.
146. Martell, A. E.; Calvin, M. *Chemistry of the Metal Chelate Compounds*; Englewood Cliffs: New Jersey, **1956**.

147. Ibrahim, M.; Alaam, M.; El-Haes, H.; Jalbout, A. F.; Leon, A. d. *Eclética Química* **2006**, *31*(3), 15-22.
148. Miranda, V. R.; Carvalho, A. J. F. *Polimeros: Ciencia E Tecnologia* **2011**, *21*(5), 353-360.
149. Xie, G. R.; Shang, X. Q.; Liu, R. F.; Hu, J.; Liao, S. F. *Carbohydrate Polymers* **2011**, *84*(1), 430-438.
150. Hudak, A.; Kosturiak, A. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* **1999**, *58*(3), 579-587.
151. Staroszczyk, H. *Food Chemistry* **2011**, *129*(3), 1217-1223.
152. Bera, M.; Patra, A. *Carbohydrate Research* **2011**, *346*(14), 2075-2083.
153. Malik, A.; Parveen, S.; Ahamad, T.; Alshehri, S. M.; Singh, P. K.; Nishat, N. *Bioinorganic Chemistry and Applications* **2010**, 2010.
154. Zhabankova, R. G.; Firsov, S. P.; Grinshpan, D. D.; Baran, J.; Marchewka, M. K.; Ratajczak, H. *Journal of Molecular Structure* **2003**, *645*(1), 9-16.
155. Kondo, T.; Koschella, A.; Heublein, B.; Klemm, D.; Heinze, T. *Carbohydrate Research* **2008**, *343*(15), 2600-2604.
156. Kaliyappan, T.; Swaminathan, C. S.; Kannan, P. *Polymer* **1996**, *37*(13), 2865-2869.
157. Silva, G. R. O.; Santos, J. C.; Martinelli, D. M. H.; Pedrosa, A. M. G.; Souza, M. J. B. d.; Melo, D. M. A. *Materials Sciences and Applications* **2010**, *1*, 39-45.
158. Para, A. *Carbohydrate Polymers* **2004**, *57*(3), 277-283.
159. Para, A.; Karolczyk-Kostuch, S. *Carbohydrate Polymers* **2002**, *50*(2), 151-158.
160. Velho, R. G. *Tese de Doutorado*, PPGQ, UFSCar: São Carlos, **2006**.
161. Cotton, F. A. *Advanced inorganic chemistry*; John Wiley & Sons: New York, **1999**.
162. Perez, S.; Marchessault, R. H. *Carbohydrate Research* **1978**, *65*(1), 114-120.
163. Tvaroska, I.; Carver, J. P. *Journal of Physical Chemistry* **1994**, *98*(38), 9477-9485.
164. Tvaroska, I.; Carver, J. P. *Carbohydrate Research* **1998**, *309*(1), 1-9.
165. Tvaroska, I.; Imberty, A.; Perez, S. *Biopolymers* **1990**, *30*(3-4), 369-379.
166. He, Y.; Zhu, B.; Inoue, Y. *Progress in Polymer Science* **2004**, *29*(10), 1021-1051.

8 ANEXOS

ANEXO 1. Concentrações molares dos sais utilizados no planejamento fatorial, de acordo com a Tabela II.

Sal	Concentração Molar (mol.L ⁻¹)		
	Experimentos 1-4 (0,4 g.L ⁻¹)	Experimentos 5-8 (0,8 g.L ⁻¹)	Experimentos 9-11 (0,6 g.L ⁻¹)
PbCl₂	1,4.10 ⁻³	2,9.10 ⁻³	2,1.10 ⁻³
Pb(NO₃)₂	1,2.10 ⁻³	2,4.10 ⁻³	1,8.10 ⁻³
FeCl₃.6H₂O	1,5.10 ⁻³	3,0.10 ⁻³	2,2.10 ⁻³
Fe(NO₃)₃.9H₂O	1,0.10 ⁻³	2,0.10 ⁻³	1,5.10 ⁻³
CuCl₂.2H₂O	2,3.10 ⁻³	4,7.10 ⁻³	3,5.10 ⁻³
Cu(NO₃)₂.3H₂O	1,6.10 ⁻³	3,3.10 ⁻³	2,5.10 ⁻³
Cu(CH₃COO)₂.H₂O	2,0.10 ⁻³	4,0.10 ⁻³	3,0.10 ⁻³
Cr₃(CH₃COO)₇(OH)₂	6,6.10 ⁻⁴	1,3.10 ⁻³	9,9.10 ⁻⁴
Cr(NO₃)₃.9H₂O	1,0.10 ⁻³	2,0.10 ⁻³	1,5.10 ⁻³
NiCl₂.6H₂O	1,7.10 ⁻³	3,4.10 ⁻³	2,5.10 ⁻³
Ni(CH₃COO)₂.4H₂O	1,6.10 ⁻³	3,2.10 ⁻³	2,4.10 ⁻³
CoCl₂.6H₂O	1,7.10 ⁻³	3,3.10 ⁻³	2,5.10 ⁻³

ANEXO 2. Cálculos utilizados para quantificar o percentual de complexação através da titulação complexométrica

$$n_{\text{titulante}} = n_{\text{titulado}} \quad \text{onde} \quad n_{\text{titulante}} = M_{\text{titulante}} \cdot V_{\text{gasto}}$$

$$m_{\text{i metal}} = m_{\text{sal}} \cdot X_{\text{metal}} \quad m_{\text{f metal}} = n_{\text{titulante}} \cdot \bar{M}_{\text{metal}}$$

$$y \% = \frac{(m_{\text{i metal}} - m_{\text{f metal}}) \cdot 100}{m_{\text{i metal}}}$$

Onde:

$n_{\text{titulante}}$ = nº mols do titulante

n_{titulado} = nº mols titulado (íon metálico)

$M_{\text{titulante}}$ = molaridade do titulante

V_{gasto} = volume gasto do titulante (bureta)

$m_{\text{i metal}}$ = massa inicial do metal

m_{sal} = massa do sal

X_{metal} = fração molar do metal no sal

$m_{\text{f metal}}$ = massa final do metal

$y \%$ = percentual de complexação do íon metálico com o EDTA

ANEXO 3. Análises de Variância para cada sal de acordo com os resultados do planejamento fatorial

- Cr(NO₃)₃

Análise de Variância - Modelo Linear						
FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.		p
Regressão	1410	7	201,4	2,408		0,3
Resíduos	251	3	83,66			
F. Ajuste	249,1	1	249,1	262	SG	0
Erro Puro	1,901	2	0,951			
Total	1380	10				
% variação explicada				102,2		
% máx. de variação explicável				99,86		

- Cr(CH₃COO)₇(OH)₂

Análise de Variância - Modelo Linear						
FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.		p
Regressão	1136	7	162,3	46,93	SG	0
Resíduos	10,37	3	3,458			
F. Ajuste	10,34	1	10,34	566,9	SG	0
Erro Puro	0,036	2	0,018			
Total	982,8	10				
% variação explicada				115,6		
% máx. de variação explicável				100		

- Fe(NO₃)₃

Análise de Variância - Modelo Linear						
FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.		p
Regressão	524,3	7	74,9	0,822		0,6
Resíduos	273,4	3	91,15			
F. Ajuste	273,4	1	273,4	8438	SG	0
Erro Puro	0,065	2	0,032			
Total	730,4	10				
% variação explicada				71,79		
% máx. de variação explicável				99,99		

- FeCl₃

Análise de Variância - Modelo Linear

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.	p
Regressão	125,7	6	20,94	0,732	0,7
Resíduos	114,4	4	28,6		
F. Ajuste	114,3	2	57,14	951,8	SG 0
Erro Puro	0,12	2	0,06		
Total	240	10			
% variação explicada				52,34	
% máx. de variação explicável				99,95	

- CoCl₂

Análise de Variância - Modelo Linear

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.	p
Regressão	164	7	23,43	23,64	SG 0
Resíduos	2,972	3	0,991		
F. Ajuste	1,877	1	1,877	3,428	0,2
Erro Puro	1,095	2	0,548		
Total	162,7	10			
% variação explicada				100,8	
% máx. de variação explicável				99,33	

- Ni(CH₃COO)₂

Análise de Variância - Modelo Linear

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.	p
Regressão	283,8	7	40,54	68,98	SG 0
Resíduos	1,763	3	0,588		
F. Ajuste	0,197	1	0,197	0,251	0,7
Erro Puro	1,566	2	0,783		
Total	235,4	10			
% variação explicada				120,6	
% máx. de variação explicável				99,33	

- NiCl₂

Análise de Variância - Modelo Linear

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.	p
Regressão	413,5	7	59,08	2,086	0,3
Resíduos	84,95	3	28,32		
F. Ajuste	82,23	1	82,23	60,59	SG 0
Erro Puro	2,714	2	1,357		
Total	498	10			
% variação explicada				83,05	
% máx. de variação explicável				99,45	

- Cu(CH₃COO)₂

Análise de Variância - Modelo Linear

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.	p
Regressão	74,51	6	12,42	2,937	0,2
Resíduos	16,91	4	4,228		
F. Ajuste	9,919	2	4,959	1,418	0,4
Erro Puro	6,994	2	3,497		
Total	91,42	10			
% variação explicada				81,5	
% máx. de variação explicável				92,35	

- Cu(NO₃)₂

Análise de Variância - Modelo Linear

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.	p
Regressão	1049	7	149,9	2,135	0,3
Resíduos	210,6	3	70,19		
F. Ajuste	207,4	1	207,4	130,6	SG 0
Erro Puro	3,175	2	1,588		
Total	1163	10			
% variação explicada				90,22	
% máx. de variação explicável				99,73	

- CuCl₂

Análise de Variância - Modelo Linear

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.	p
Regressão	53,83	7	7,691	1,631	0,4
Resíduos	14,14	3	4,714		
F. Ajuste	12,47	1	12,47	14,89	0,1
Erro Puro	1,674	2	0,837		
Total	67,69	10			
% variação explicada				79,53	
% máx. de variação explicável				97,53	

- Pb(NO₃)₂

Análise de Variância - Modelo Linear

FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.	p
Regressão	66,28	6	11,05	1,831	0,3
Resíduos	24,13	4	6,031		
F. Ajuste	14,58	2	7,289	1,527	0,4
Erro Puro	9,548	2	4,774		
Total	90,4	10			
% variação explicada				73,31	
% máx. de variação explicável				89,44	

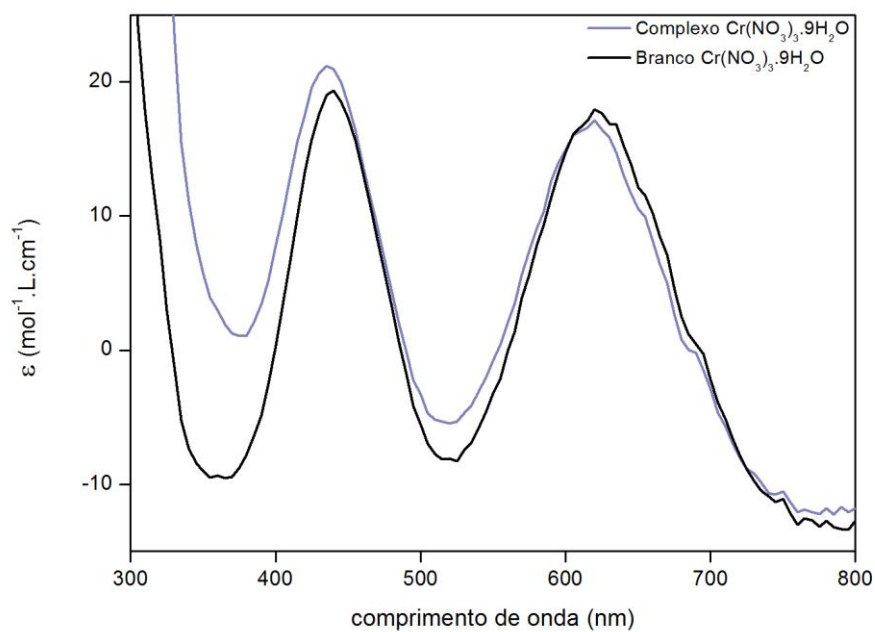
- PbCl₂

Análise de Variância - Modelo Linear

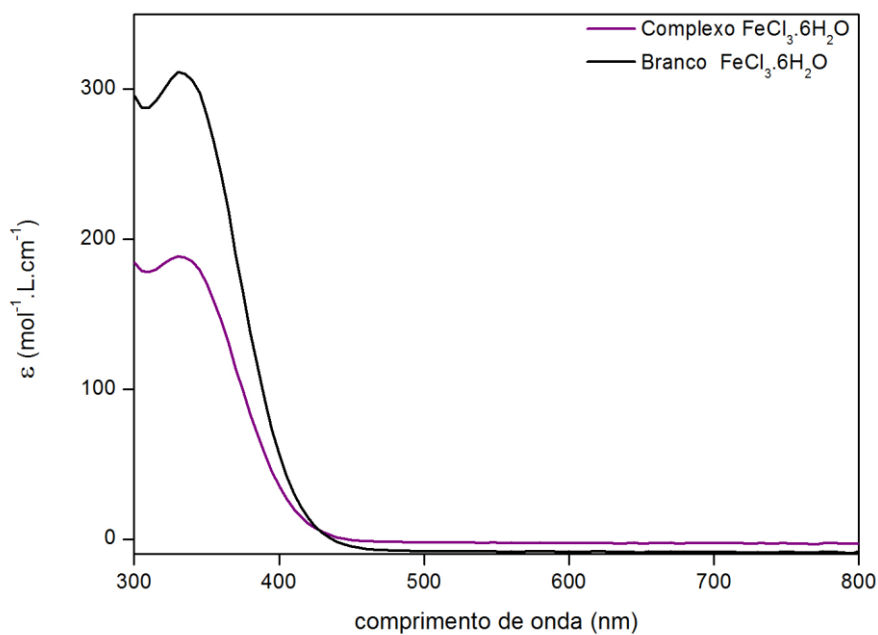
FV	SQ	nGL	MQ	Fcalc.	p
Regressão	261,7	7	37,38	28,39	SG 0
Resíduos	3,95	3	1,317		
F. Ajuste	3,43	1	3,43	13,19	0,1
Erro Puro	0,52	2	0,26		
Total	254,2	10			
% variação explicada				102,9	
% máx. de variação explicável				99,8	

ANEXO 4. Sobreposição dos espectros eletrônicos das soluções salinas (brancos) e dos complexos.

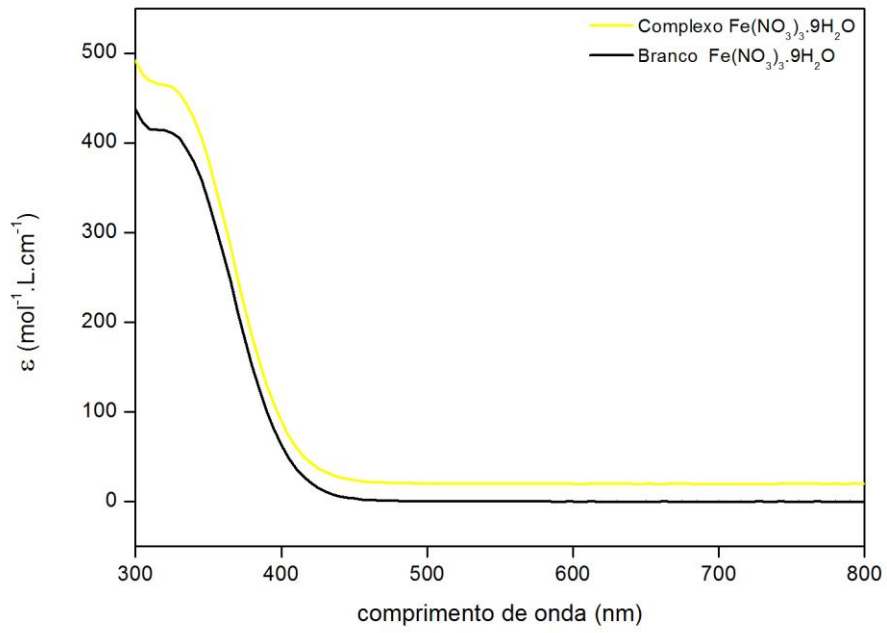
- $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 - d^3$



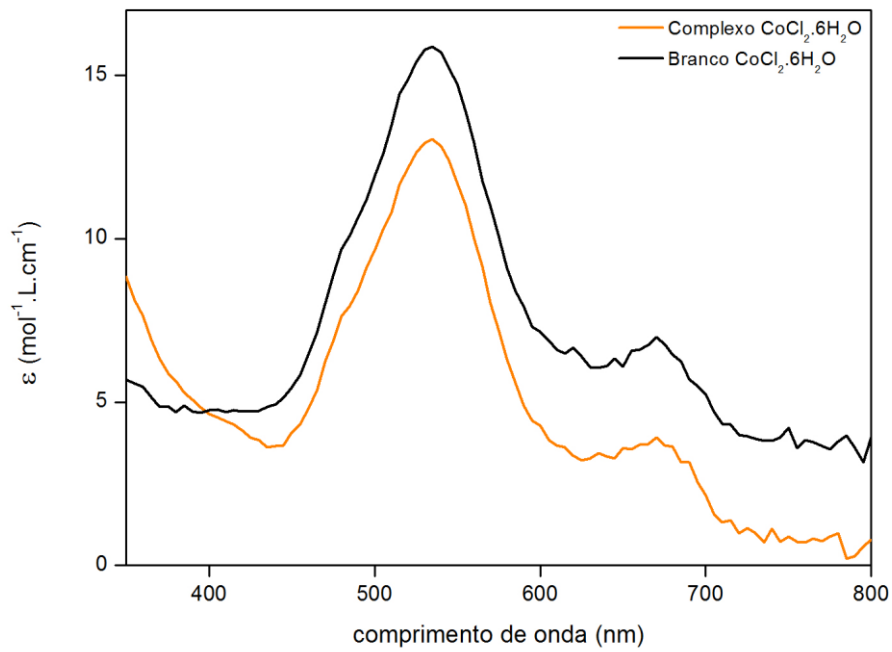
- $\text{FeCl}_3 - d^5$



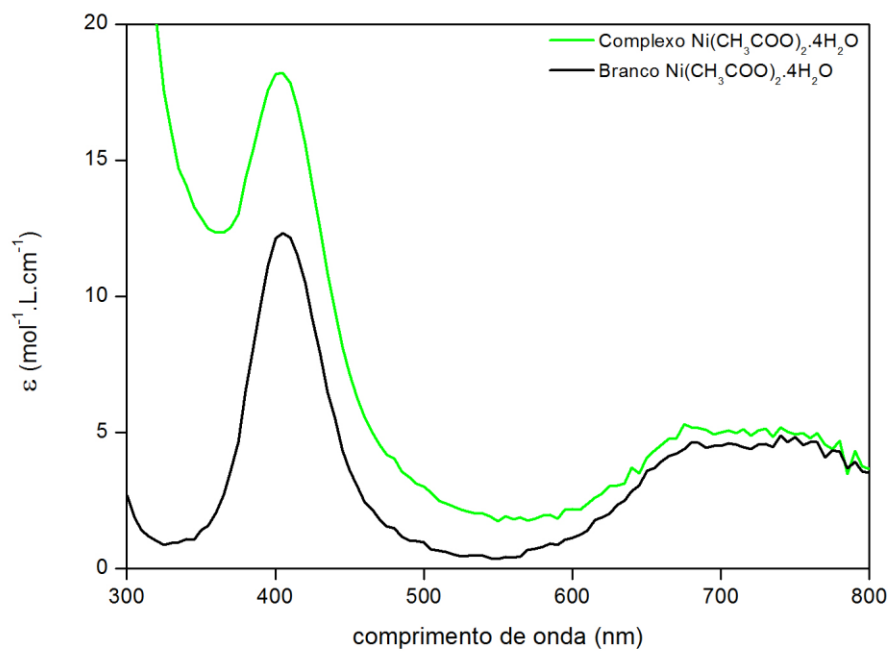
- $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 - d^5$



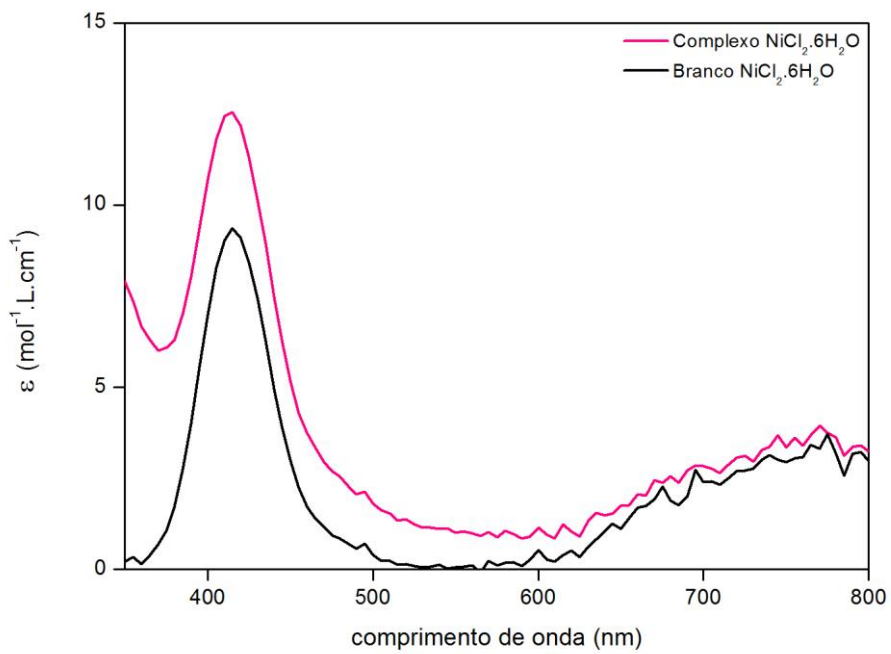
- $\text{CoCl}_2 - d^7$



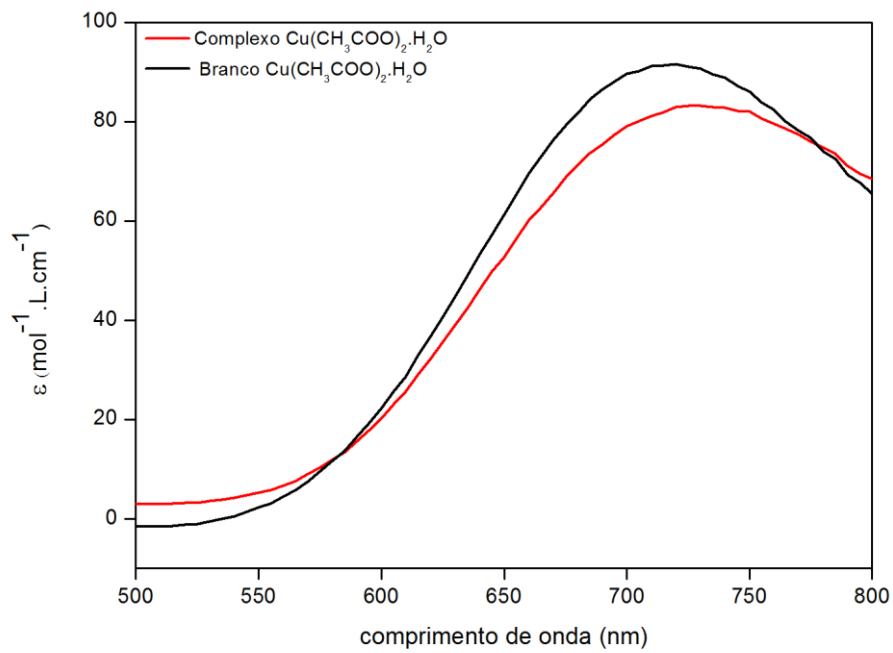
- $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 - d^8$



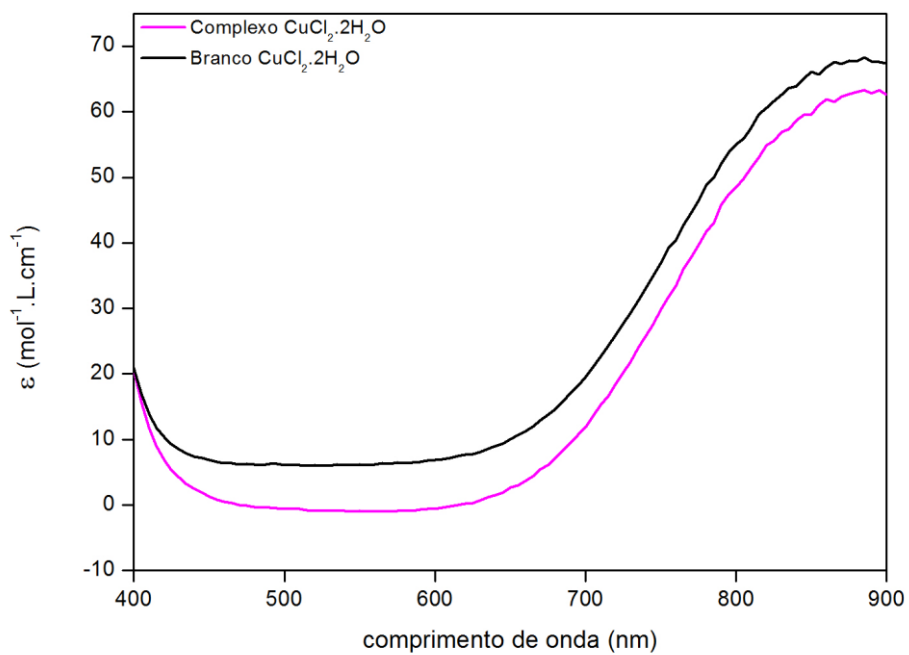
- $\text{NiCl}_2 - d^8$



- $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 - d^9$



- $\text{CuCl}_2 - d^9$



- $\text{Cu}(\text{NO}_3)_3 - d^9$

