



TESE DE DOUTORADO

**DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE
ESTABILIDADE DOS COMPLEXOS FORMADOS
ENTRE OS AMINOÁCIDOS CISTEÍNA, CISTINA,
ORNITINA E LISINA COM ALUMÍNIO EM SOLUÇÃO
AQUOSA**

Vania Regina Gabbi Polli

PPGQ

Santa Maria, RS, BRASIL

2004

**DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE
ESTABILIDADE DOS COMPLEXOS FORMADOS
ENTRE OS AMINOÁCIDOS CISTEÍNA, CISTINA,
ORNITINA E LISINA COM ALUMÍNIO EM SOLUÇÃO
AQUOSA**

Por

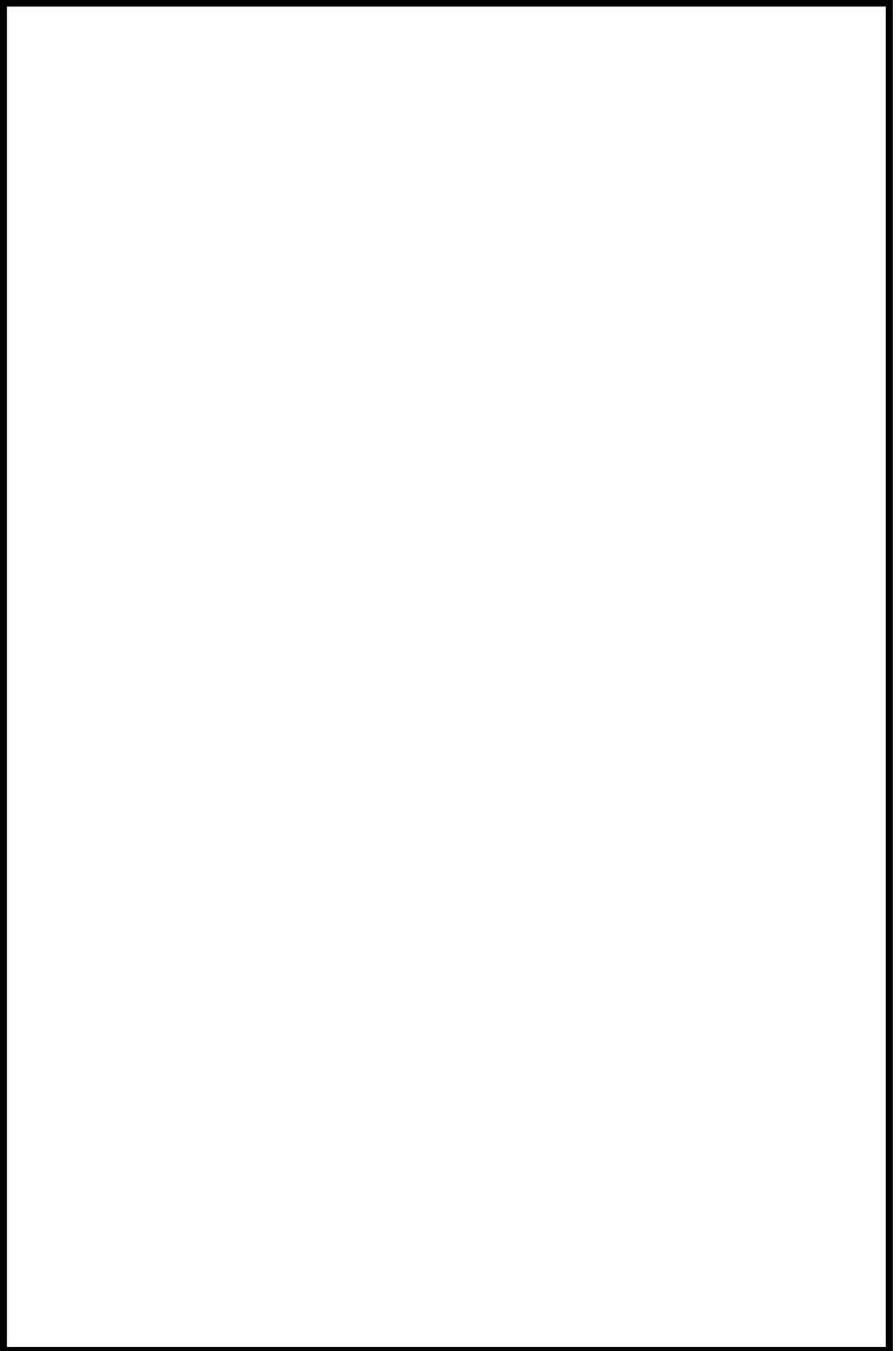
Vania Regina Gabbi Polli

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do
Programa de Pós-Graduação em Química,
Área de Concentração em Química Analítica, da
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),
como requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutor em Química

PPGQ

Santa Maria, RS, Brasil

2004



**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE
ESTABILIDADE DOS COMPLEXOS FORMADOS
ENTRE OS AMINOÁCIDOS CISTEÍNA, CISTINA,
ORNITINA E LISINA COM ALUMÍNIO EM
SOLUÇÃO AQUOSA**

elaborada por
Vania Regina Gabbi Polli

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutor em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof^ª. Dra. Denise Bohrer do Nascimento
(Orientadora)

Prof^ª. Dra. Judith Felcman

Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho

Prof^a. Dr. Manfredo Hörner

Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento

Santa Maria, 29 de julho de 2004.

DEDICO ESTA TESE

As pessoas que me apoiaram de todas as formas, a minha família, principalmente aos meus filhos (Fernando, Rodrigo e Paula), esposo (Volmir) e mãe (Célia), que me acompanharam e me deram forças durante todo o período de realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dra. Denise Bohrer do Nascimento, pela orientação neste trabalho e pela oportunidade, permitindo a realização do curso de Doutorado.

Ao Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento, obrigado pelos esclarecimentos de dúvidas ao longo deste trabalho.

Aos colegas e amigos Marieli Marques, Sandra Maria Ribeiro, Luciana Del Fabro, Adrian G. Ramirez, Denise Bertagnolli, Morgana Dessuy, Cristiane Jost, Regina Binotto, Zilda Baratto, Emilene Becker, Fernanda Depoi, Claudia Willke, Ana Lúcia Rohlfes, Jean Karlo Mendonça, Joselito Trevisan, Eduardo Pilau, Maurício Hilgemann, Marení Pauletto, Leandro de Carvalho, pela amizade, carinho, apoio e pelos momentos de descontração vividos ao longo deste período em que trabalhamos juntos.

Aos meus colegas do departamento de Física, pela ajuda e apoio durante a realização deste trabalho.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Departamento de Física pela licença concedida, permitindo a realização do curso de Doutorado.

A todos os funcionários e professores do departamento de Química que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A Deus por ter me ajudado com muita saúde e força de vencer.

Muito obrigado.

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	vi
Resumo.....	xxi
Abstract.....	xxiii
Índice de figuras.....	xiii
Índice de tabelas.....	xviii
Abreviaturas e símbolos usados.....	xx
1 Introdução.....	1
2 Revisão Bibliográfica.....	3
2.1 O alumínio.....	3
2.1.1 Abundância e fontes de contaminação.....	3
2.1.2 Efeitos tóxicos do alumínio para o homem.....	5
2.1.3 Efeitos tóxicos do alumínio para plantas.....	8
2.1.4 Propriedades químicas e capacidade de ligação.....	9
2.1.4.1 Hidrólise do alumínio.....	9
2.2 Nutrição parenteral.....	10
2.3 Os aminoácidos.....	11
2.4 Resinas trocadoras de íons.....	12
2.5 Complexos.....	13
2.5.1 Reação de formação de complexos.....	13
2.5.2 Estabilidade dos complexos.....	14
2.5.2.1 Habilidade de complexação dos metais.....	15
2.5.2.2 Habilidade de complexação dos ligantes.....	17
2.5.3 Teoria HSAB (ácidos e bases/duros e moles).....	18

2.6 Constante de estabilidade.....	20
2.6.1 Influência da força iônica sobre a constante de equilíbrio	22
2.6.2 Complexação do alumínio	24
2.6.3 Interação metais-aminoácidos.....	28
2.6.3.1 Interação cisteína-metais.....	29
2.6.3.2 Interação cistina-metais.....	32
2.6.3.3 Interação ornitina-metais.....	34
2.6.3.4 Interação lisina-metais	36
2.6.4 Interação alumínio-aminoácido.....	38
2.6.5 Princípios básicos para determinação de constantes de estabilidade.....	41
2.7 Métodos de obtenção de constantes de estabilidade	42
2.7.1 Titulação potenciométrica.....	46
2.7.2 Método Scatchard.....	48
2.7.3 Cálculos de constante de estabilidade.....	50
3 Materiais e Métodos.....	53
3.1 Instrumentação	53
3.2 Reagentes e Soluções	54
3.3 Cuidados com a contaminação.....	55
3.4 Titulação complexométrica.....	55
3.5 Determinação de constantes de estabilidade.....	56
3.5.1 Titulação potenciométrica.....	56
3.5.1.1 Calibração do sistema potenciométrico	57
3.5.1.2 Sistema alumínio/cisteína	58
3.5.1.3 Sistema alumínio/cistina	59
3.5.1.4 Sistema alumínio/ornitina	59

3.5.1.5 Sistema alumínio/lisina	60
3.6 Estudo da interação do alumínio com os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina através do uso de resina catiônica	61
3.6.1 Preparo dos resinas catiônicas	62
3.6.2.Determinação da capacidade de troca da resina	62
3.6.3 Interação do alumínio em solução com cisteína e cistina na presença de resinas catiônicas nas formas H^+ e Na^+	63
3.6.4 Interação dos aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina com resina na forma Al^{3+}	63
3.6.5 Avaliação das constantes de estabilidade dos complexos Al-cisteína e Al-cistina através do método Scatchard.....	64
3.6.5.1 Avaliação da constante de estabilidade do complexo Al-cisteína.....	65
3.6.5.2 Avaliação da constante de estabilidade do complexo Al-cistina	65
3.7 Estudo da interação do alumínio com os aminoácidos cisteína e cistina por polarografia	66
3.8 Avaliação da estabilidade da cisteína em soluções aquosas	67
4 Resultados e discussão	68
4.1 Titulação complexométrica.....	69
4.2 Determinação das constantes de estabilidade	72
4.2.1 Determinação das constantes de estabilidade Al-aminoácido por titulação potenciométrica.....	72
4.2.1.1 Calibração do sistema potenciométrico	72
4.2.1.2 Estudo da proporção metal:ligante.....	74

4.2.1.3 Determinação das constantes de estabilidade dos complexos cisteína-alumínio	80
4.2.1.4 Determinação das constantes de estabilidade dos complexos cistina-alumínio.....	84
4.2.1.5 Determinação das constantes de estabilidade dos complexos ornitina-alumínio.....	89
4.2.1.6 Determinação das constantes de estabilidade dos complexos lisina-alumínio.....	92
4.3 Estudo da interação do alumínio com os aminoácidos cisteína e cistina através do uso de resinas de troca iônica.....	97
4.3.1 Determinação da capacidade de troca da resina	99
4.3.2 Interação do alumínio em solução com cisteína e cistina na presença de resina catiônica nas formas H ⁺ e Na ⁺	100
4.3.3 Interação dos aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina com resina na forma Al ³⁺	103
4.3.3.1 Interação dos aminoácidos cisteína e cistina com resina na forma Al ³⁺	103
4.3.3.2 Interação dos aminoácidos lisina e ornitina com resinas catiônica na forma Al ³⁺	109
4.3.4 Avaliação das constantes de estabilidade dos complexos Al-cisteína e Al-cistina através do método Scatchard.....	113
4.4 Estudo da interação do Al com os aminoácidos cisteína e cistina por polarografia	117
4.5 Avaliação da estabilidade da cisteína em solução	125
5. Sugestões para trabalhos futuros	127
6. Conclusões.....	130

7. Referências bibliográficas	132
Apêndice A - Aplicação do método Gran.....	140
Apêndice B – Polarogramas de soluções de cisteína e cistina, obtidos usando o modo DME	141
Apêndice C - Diagrama de equilíbrio de espécies para soluções aquosas de alumínio na concentrações de 0,001 M	143
Apêndice D - Diagramas de equilíbrio de espécies para os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina em solução aquosa ..	144
Apêndice E - Determinação do produto iônico da água (pK _w).....	146
Apêndice F - Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cisteína na proporção de 1:1, $\mu = 0,1$ M e $T = 25$ °C.	147
Apêndice G - Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cisteína, usando nos cálculos as constantes de hidrólise do alumínio, na proporção de 1:1, $\mu = 0,1$ M e $T = 25$ °C.....	151
Apêndice H - Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constante de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cistina na proporção de 1:1, $\mu = 0,01$ M e $T = 25$ °C	155
Apêndice I - Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cistina, usando as constantes de hidrólise do alumínio na proporção de 1:1, $\mu = 0,01$ M e $T = 25$ °C	

.....	158
Apêndice J - Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e ornitina na proporção de 1:1, $\mu = 0,091 \text{ M}$ e $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$	161
Apêndice K- Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e ornitina, usando as constantes de hidrólise do alumínio, na proporção de 1:1, $\mu = 0,091 \text{ M}$ e $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$	164
Apêndice L - Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica, usando o programa BEST para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e lisina na proporção de 1:1, $\mu = 0,1\text{M}$ e $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$	167
Apêndice M - Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica, usando o programa BEST para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e lisina, usando as constantes de hidrólise do alumínio, na proporção de 1:1, $\mu = 0,1\text{M}$ e $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$	170
Apêndice N - Resultado dos cálculos das constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina com inclusão de espécies 1:2 e 1:3 (M:L)..	173

Índice das figuras

Figura 1: Diagrama de Scatchard.....	49
Figura 2: Sistema de titulação potenciométrica.....	57
Figura 3: pH versus volume de AlCl_3 10,0 mM, na titulação de 30 mL de solução (A) 3,3 mM de cisteína e (B) 0,139 mM de cistina, separadamente	70
Figura 4: pH versus volume de AlCl_3 100,0 mM, na titulação de 20 mL de solução 50,0 mM de ornitina e lisina, separadamente	71
Figura 5: Curvas de titulação potenciométrica com KOH de soluções de cisteína e cisteína-Al nas proporções 1:1 e 2:1. A) pH versus m e B) pH versus a	75
Figura 6: Curvas de titulação potenciométrica com KOH de soluções de cistina e cistina-Al nas proporções 1:1 e 2:1. A) pH versus m e B) pH versus a	76
Figura 7: Curvas de titulação potenciométrica com KOH de soluções de ornitina e ornitina-Al nas proporções 1:1 e 2:1. A) pH versus m e B) pH versus a	77
Figura 8: Curvas de titulação potenciométrica com KOH de soluções de lisina e lisina-Al nas proporções 1:1 e 2:1. A) pH versus m e B) pH versus a.....	78
Figura 9: Porcentagem das espécies em solução para uma relação molar 1:1 de cisteína/Al, como função do pH, $\mu = 0,1 \text{ M}$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$	83

Figura 10: Porcentagem das espécies em solução para uma relação molar 1:1 de cistina/Al, como função do pH, $\mu = 0,01$ M, $T = 25$ °C	87
Figura 11: Porcentagem das espécies em solução para uma relação molar 1:1 de ornitina/Al, como função do pH, $\mu = 0,091$ M, $T = 25$ °C	91
Figura 12: Porcentagem das espécies em solução para uma relação molar 1:1 de lisina/Al, como função do pH, $\mu = 0,1$ M, $T = 25$ °C	95
Figura 13: Gráfico da quantidade de alumínio na resina catiônica (mmol/g) versus concentração de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ após 135 min de contato resina solução	99
Figura 14: Concentração de Al^{3+} em solução versus tempo de contato da solução de Al^{3+} (0,11 mM), na presença ou não de cisteína 500mM com resina catiônica Na^+ e H^+ (0,15 g)	101
Figura 15: pH da solução versus tempo de contato da solução de Al^{3+} (0,11 mM), na presença ou não de cisteína 500 mM com resina catiônica Na^+ e H^+ (0,15 g)	102
Figura 16: Concentração de Al^{3+} em solução versus tempo de contato da resina catiônica na forma Al^{3+} (0,15 g) com água, solução de cisteína e solução de cistina (0,39 mM), separadamente.....	104
Figura 17: Gráfico da concentração de alumínio em solução (mM) extraído de resina catiônica na forma Al^{3+} (0,1 g) versus	

concentração de cisteína em solução (mM) em diferentes tempos de contato (dia) resina-solução. (Isoterma de troca)	105
Figura 18: Concentração de alumínio em solução (mM) versus tempo de contato (dia) resina-solução de duas soluções de cisteína 15 e 35 mM, separadamente.	106
Figura 19: Gráfico de concentração de alumínio em solução (mM) extraído de resina catiônica na forma Al^{3+} (0,1 g) versus concentração de cistina em solução (mM) em diferentes tempos de contato (dia) resina-solução. (Isoterma de troca)	107
Figura 20: Concentração de alumínio em solução (mM) versus tempo de contato (dia) resina Al^{3+} -solução de duas soluções de cisteína 20 e 40 mM, separadamente.....	108
Figura 21: Concentração de alumínio na resina/concentração de alumínio em solução versus concentração do ligante em solução (100 mL) em contato com resina catiônica na forma Al^{3+} (0,15 g)	110
Figura 22: Porcentagem de alumínio em solução versus concentração do ligante (mM) em equilíbrio com a resina Al^{3+}	111
Figura 23: Porcentagem de alumínio em solução versus tempo de contato da resina catiônica Al^{3+} com solução contendo o ligante.....	112
Figura 24: (A) Isoterma de troca iônica para soluções contendo cisteína em diferentes concentrações em equilíbrio com resina catiônica na forma Al^{3+} (0,1 g). (B) Diagrama de	

Scatchard para cisteína em solução combinada com Al^{3+} extraído da resina catiônica	115
Figura 25: (A) Isoterma de troca iônica para soluções contendo cistina em diferentes concentrações em equilíbrio com resina catiônica na forma Al^{3+} (0,1 g). (B) Diagrama de Scatchard para cistina em solução combinada com Al^{3+} extraído da resina catiônica	116
Figura 26: Polarogramas das soluções de cistina 0,125 mM (A) e cistina mais alumínio nas proporções de 1:1 (B) e 1:2 (C), usando modo de operação DME.....	119
Figura 27: Intensidade de corrente do sinal polarográfico versus concentração de cisteína em água ou solução de AlCl_3 em diferentes proporções.....	121
Figura 28: Intensidade de corrente do sinal polarográficos da cistina em solução (0,0408 mM) versus concentração de AlCl_3 (mM).	122
Figura 29: Intensidade de corrente do sinal polarográfico versus concentração de cistina em água ou solução de AlCl_3 em diferentes proporções	124
Figura 30: Espectro de absorção de solução de cisteína (0,10 mM) com DTNB após diferentes dias de preparo à temperatura ambiente.....	125
Figura 31: Porcentagem de decomposição da cisteína em solução aquosa e pH com o tempo (dias) à temperatura ambiente....	126

Figura 32: Estruturas esquemáticas propostas das moléculas dos complexos nos sistemas: (A) AlCl_3 (anidro) – cisteína (1:1)
(B) AlCl_3 (anidro) – cistina (1:1) 128

Figura 33: Estruturas esquemáticas propostas das moléculas dos complexos nos sistemas: (A) AlCl_3 (anidro) – ornitina (1:2)
(B) AlCl_3 (anidro) – lisina (1:2) 129

Índice das tabelas

Tabela 1: Fontes comuns de alumínio para o homem, concentração de Al, exposição diária ao Al, biodisponibilidade estimada e quantidade calculada de Al absorvido diariamente	4
Tabela 2: Ligantes predominantes para o alumínio <i>in vivo</i> , suas constantes de equilíbrio efetiva com alumínio (K), suas concentrações no plasma e no fluido extracelular no cérebro, e a porcentagem de alumínio predito estar associada com o ligante.....	7
Tabela 3: Classificação dos ácidos e bases de Lewis, usando o critério duros e moles	19
Tabela 4: Constantes de estabilidade como log K dos complexos de aminoácidos trivalentes com metais	38
Tabela 5: Métodos para determinação de constantes de estabilidade.	43
Tabela 6: Dados das titulações potenciométricas para verificação da relação metal:ligante predominante	61
Tabela 7: Produto iônico da água obtido experimentalmente e o calculado para diferentes meios iônicos	73
Tabela 8: Constantes de hidrólise do alumínio (log β').....	80
Tabela 9: Constantes de protonação da cisteína (log β)	81
Tabela 10: Resultado da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cisteína na proporção de 1:1, $\mu = 0,1$ M e $T = 25$ °C	82
Tabela 11: Constantes de protonação da cistina (log β)	85

Tabela 12: Resultado da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cistina na proporção de 1:1, $\mu = 0,01$ M e $T = 25$ °C	86
Tabela 13: Constantes de protonação da ornitina	89
Tabela 14: Resultado da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e ornitina na proporção de 1:1, $\mu = 0,091$ M e $T = 25$ °C ...	90
Tabela 15: Constantes de protonação da lisina ($\log \beta$).....	93
Tabela 16: Resultado da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e lisina na proporção de 1:1, $\mu = 0,1$ M e $T = 25$ °C	94
Tabela 17: Logaritmo da constante de estabilidade para complexos formados entre MEA e íons metálicos trivalentes e divalentes medidos potenciometricamente em água a 25 °C e força iônica $0,1$ M KCl.....	98
Tabela 18: Constante de estabilidade de complexos ($\log \beta$)	112
Tabela 19: Intensidade de corrente do sinal polarográfico para solução de cisteína com e sem AlCl_3 em diferentes proporções..	120
Tabela 20: Intensidade de corrente do sinal polarográfico para solução de cistina com e sem AlCl_3 em diferentes proporções....	123

Abreviaturas e símbolos usados

aa – aminoácido

Cys – cisteína

Ci – cistina

Orn – ornitina

Lis – lisina

AAE – espectroscopia de absorção atômica

μ - força iônica

σ - desvio padrão de unidades de pH

DME – eletrodo de mercúrio gotejante

NP – nutrição parenteral

AD – doença de Alzheimer

DS – síndrome de Down

pH – potencial de hidrogênio

β - constante de estabilidade

K = constante de equilíbrio

IDA – iminodiacético

NTA – nitrilotriacético

L – ligante

M – metal

pK_w – produto iônico da água

BEST – programa computacional para cálculo de constantes de estabilidade.

DTNB – ácido 5,5'ditiobisnitrobenzóico

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE ESTABILIDADE DOS COMPLEXOS FORMADOS ENTRE OS AMINOÁCIDOS CISTEÍNA, CISTINA, ORNITINA E LISINA COM ALUMÍNIO EM SOLUÇÃO AQUOSA

Autora: Vania Regina Gabbi Polli

Orientadora: Denise Bohrer do Nascimento

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 29 de julho de 2004.

A formação dos complexos entre alumínio e os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina em solução foi avaliada por meio de titulação potenciométrica. As titulações foram feitas em solução aquosa a $25 \pm 0,1$ °C, com força iônica constante (KCl).

As constantes de estabilidade foram calculadas usando o programa computacional BEST, próprio para cálculos de constantes de estabilidade. A análise dos dados potenciométricos indicam que as espécies formadas em solução são na proporção de 1:1, metal:ligante, mesmo com excesso de ligante. Os valores das constantes de estabilidade encontrados para os complexos predominantes em solução, apresentaram a seguinte ordem crescente de estabilidade: lisina < cisteína < cistina < ornitina

Com o propósito de confirmar a interação entre alumínio e os aminoácidos cisteína e cistina, foram feitos ensaios envolvendo polarografia e resinas de troca iônica. Os resultados obtidos confirmaram as interações e a estabilidade dos complexos formados

entre alumínio e os aminoácidos estudados. Nestes experimentos, a interação aumenta seguindo a ordem de estabilidade, lisina < cisteína < ornitina < cistina.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE STABILITY CONSTANTS OF THE COMPLEXES FORMED BETWEEN ALUMINIUM AND THE AMINO ACIDS ORNITHINE, LYSINE, CYSTEINE AND CYSTINE IN AQUEOUS SOLUTION

The complex formation between aluminium and the amino acids ornithine, lysine, cysteine and cystine was evaluated by means of potentiometric titration. The titration was carried out in aqueous solution with constant ionic strength (KCl) and at $25,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

The stability constants were calculated with the computational program BEST, specially designed for the calculation stability constants. The analysis of the results showed that the predominant species in solution were found with a proportion metal:ligand 1:1. The constants found for the Al-amino acid complexes presented the following stability: lysine < cysteine < cystine < ornithine.

In order to confirm the interaction between aluminium and the amino acids cystine and cysteine polarographic measurements and experiments with ion-exchange resins were also carried out. The results confirmed the interaction and the stability of the complexes. In these experiments, the interaction increased following the same order: lysine < cysteine < ornithine < cystine.

1. INTRODUÇÃO

O tema do presente trabalho surgiu a partir da comprovação de contaminação por alumínio de soluções de aminoácidos para nutrição parenteral (NP), onde a contaminação pode estar associada à formação de complexos entre alumínio e alguns aminoácidos (aa) presentes nas soluções de NP.

O alumínio é um elemento tóxico para plantas animais e seres humanos, por isto necessitamos conhecer não somente a quantidade de alumínio presente nos organismos, mas também as formas nas quais ele pode se apresentar [1].

O alumínio é tão disponível quanto o Fe(III) e está presente no ambiente diário. Sua disponibilidade aumenta rapidamente com a acidez do meio e um dos seus efeitos adversos bem conhecido é a sua toxicidade para plantas sob condições de chuva ácida. Por estas e outras razões, que o estudo contínuo da química do alumínio e a sua interação com moléculas biológicas *in vitro* e *in vivo* vem crescendo nos últimos anos. Desde 20 anos atrás, quando o alumínio foi considerado tóxico por afetar as funções neurológicas de pacientes em tratamento de hemodiálise, até hoje, o avanço no entendimento da química e bioquímica *in vitro* do Al tem produzido, através de trabalhos publicados, aumento de conhecimento sobre o tema [2].

O conhecimento de constantes de estabilidade não é restrito a estudos do comportamento químico *in vitro*. Interação entre íons metálicos com uma ampla variedade de ligantes, tem sido de grande interesse para bioquímicos. Mais recentemente, a determinação de

constantes de estabilidade tem estendido seu domínio por tornar-se necessária para cientistas do solo e oceanógrafos [3]. No caso específico do Al, as espécies em soluções aquosas são uma ameaça séria à vida aquática, podendo causar a morte de peixes [4]. E ainda, o Al pode substituir certos metais, como magnésio, envolvidos no crescimento das plantas [5].

A toxicidade de metais pesados pode ser causada por vários mecanismos, incluindo bloqueio de grupos funcionais essenciais de biomoléculas tais como proteínas e enzimas, deslocando íons de metais essenciais de biomoléculas, rompendo a integridade de biomembranas ou ligações com bioânions resultando na diminuição do nível de bioânions essenciais [6].

Neste trabalho investigou-se a interação entre alumínio e os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina através de estudos para determinar as constantes de estabilidade dos complexos formados entre eles.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O alumínio

2.1.1 Abundância e fontes de contaminação

O alumínio é o elemento metálico mais abundante na crosta da Terra e o terceiro elemento mais abundante, depois do oxigênio e do silício [7], onde está fixado na forma hidróxidos e silicatos sob condições neutras. Porém ele se torna móvel em soluções aquosas ácidas e assim quantidade significativa de Al é liberada na superfície e em lençóis de água, podendo ser absorvidos por organismos vivos e causar danos severos [8].

Como o alumínio é onipresente, existem muitas fontes deste elemento, sendo a maior delas para o homem a dieta, inclusive a água potável que é purificada com $\text{Al}(\text{OH})_3$. Desodorantes, vacinas, antiácidos, fluidos parenterais, vapores respirados e partículas a partir da exposição ocupacional, podem ser também fontes significativas para muitas pessoas [9, 10]. Algumas plantas usadas como chá, pode acumular uma enorme quantidade de alumínio, o conteúdo de alumínio em folhas velhas de chás pode alcançar até mesmo 3%. Uma quantidade significativa de alumínio pode ser liberada de utensílios de alumínio usados na cozinha quando comidas ácidas são cozidas neles [1].

Um resumo das fontes primárias de Al para o homem está mostrado na tabela 1.

Tabela 1: Fontes comuns de Al para o homem, concentração de Al, exposição diária ao Al, biodisponibilidade estimada e quantidade calculada de Al absorvido diariamente [11].

Fonte	Concentração Al	Exposição diária	% estimada absorvida	Al absorvido diariamente ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
Exposição normal				
Água	Média ~ 70 $\mu\text{g}/\text{L}$	100 μg	0,3	0,005
Comida		5000 – 10000 μg	0,1 – 0,3	0,08 – 0,5
Ar rural	0,2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	4 μg	0,35 – 2 (pulmão) 0,1 – 0,3 (GI)	0,001 0,0001
Ar urbano	1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	20 μg	0,5 – 2 (pulmão)	0,006
Antitranspirantes	5 – 7,5%	50000-75000 μg	Acima de 0,012	Acima de 0,1
Vacinas	150 – 850 $\mu\text{g}/\text{dose}$	1,4 – 8 μg	Eventualmente 100	0,07 – 0,4
Exposição elevada				
Antiácidos/ligantes fosfatos		Acima de 5000000 μg	0,01	80
Ar industrial	25 – 2500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	250 – 25000 μg	1,5 – 2 (pulmão) 0,1 – 0,3 (GI)	0,6 - 8 0,008 – 1
Imunoterapia alérgica	150 – 850 $\mu\text{g}/\text{dose}$	7 – 40 μg	Eventualmente 100	0,1 – 0,6
Solução de diálise	Se água tratada 50 $\mu\text{g}/\text{L}$	2400 μg	25	9
Solução NP total	Noenatal/infantil 110 – 270 $\mu\text{g}/\text{L}$	11 - 27 $\mu\text{g}/\text{Kg}$	100	11 – 27
	Adultos 40 – 135 $\mu\text{g}/\text{L}$	80 – 270 μg	100	1,2 – 4,2

GI – gastrointestinal.

a- tomando como base um adulto com 65 kg.

A fração média de alumínio absorvido a partir de uma dada dose de exposição diária, é estimada ser muito baixa (~ 1%) ainda que esteja sujeita a grande variação (0,06 – 27% em animais e 0,001 – 24% em humanos) dependendo do modo como é administrada [12].

Essencialmente a química relevante do alumínio em sistemas biológicos diz respeito a suas ligações e sua estabilidade em moléculas orgânicas, sua estrutura (desde que isto afete a captura) e facilidade de liberação dos íons metálicos pelos complexos [2].

2.1.2 Efeitos tóxicos do alumínio para o homem

Devido à baixa solubilidade do alumínio, particularmente como sal fosfato, somente uma pequena fração de alumínio presente em alimentos, água e medicamentos (antiácidos) está disponível para absorção (0,1 – 1%) pelo trato gastrointestinal, a maior parte do alumínio ingerido é excretada nas fezes e na urina. Entretanto, até uma pequena quantidade que seja absorvida pode representar, mesmo sob condições normais de vida, através de vários anos, significativo acúmulo no cérebro, ossos, fígado e outros tecidos do corpo, particularmente se sua excreção for prejudicada [9, 13].

O alumínio não tem função biológica em células vivas [10], mas tem sido mostrado ter toxicidade biológica em modelos experimentais, e em particular em pacientes em estágio final de deficiência renal com diálise regular, contribuindo para várias doenças, como encefalopatia de diálise, osteodistrofia renal e anemia microcítica [12]. Também, o

acúmulo de alumínio tem sido relacionado ao processo neurodegenerativo da doença de Alzheimer (AD) [13, 14] e tem sido mostrado ser significativamente aumentada sua absorção em pacientes com síndrome de Down (DS) [12].

Administração intravenosa de alumínio cria um risco potencial de acumulação e toxicidade devido à biodisponibilidade de 100% de alumínio injetado. A presença de alumínio em dialisados, pode resultar em difusão do Al no plasma e sua retenção pela transferrina. Um indicador inicial de um elevado alumínio sistêmico é muitas vezes uma anemia devido à diminuição da síntese da hemoglobina [11]. Muitos processos metabólicos do alumínio, em particular considerando o acesso do metal ao cérebro, ainda são desconhecidos [12].

O rim parece ser a maior rota de eliminação de alumínio sistêmico. Em adição à proteínas, pequenos ligantes capazes de ligar significativamente alumínio no plasma [10], são também esperados interagirem com excreção renal de metal. Em particular, citrato, isocitrato, ascorbato, lactato, malato e tartarato, mostram-se capazes de aumentar a excreção urinária do alumínio [12].

As informações disponíveis sobre modelos termodinâmicos sugerem que existem espécies contendo alumínio, no plasma e no fluído extracelular no cérebro, como é mostrado na tabela 2.

Tabela 2: Ligantes predominantes para o alumínio *in vivo*, suas constantes de equilíbrio efetiva com alumínio (K), suas concentrações no plasma e no fluido extracelular no cérebro, e a porcentagem de alumínio predito estar associado com o ligante [11].

Ligante	Log K	Plasma		Fluído extracelular - cérebro	
		Concentração ($\mu\text{mol/L}$)	% de espécies de Al	Concentração ($\mu\text{mol/L}$)	% de espécies de Al
Transferrina	13,7 – 12,6	30	91	<0,25	4
Citrato	11,6	99	7 - 8	180	90
Hidróxido livre	6,5	0,4	<1	0,4	5
Fosfato	9,3	1100	<1	490	1

A constante de equilíbrio efetiva (K) fornece uma relação entre a concentração de todos os produtos da reação em solução e a concentração dos reagentes, indicando a atividade do ligante a pH 7,4 (pH fisiológico) [11].

Metais prejudiciais à saúde humana, podem ter uma fração absorvida substituindo metais essenciais semelhantes quimicamente (ferro e cálcio) [12]. O alumínio interfere em sistemas biológicos através da competição com outros cátions metálicos. Ele pode ocupar permanentemente sítios de ligação que em sistemas saudáveis são ocupados por outros cátions metálicos com ligações específicas [15].

2.1.3 Efeitos tóxicos do alumínio para plantas

A concentração do alumínio em soluções no solo depende principalmente do pH do mesmo, entretanto a influência do pH no comportamento do alumínio é fortemente influenciada pela presença de frações complexantes de matéria orgânica no solo [16]. Substâncias húmicas, que derivam de plantas, são polifuncionais, podendo conter um grande número de diferentes grupos complexantes em cada molécula, tais como catecol, quinona, ftalato e salicilato, que reagem fortemente com o Al, agindo como redutores da toxicidade do Al para plantas e animais, por diminuírem a biodisponibilidade do íon Al [10].

A maior parte do alumínio no solo é inofensiva a organismos vivos. Espécies instáveis podem entrar na cadeia alimentar, sendo portanto, potencialmente tóxicas aos organismos vivos. A toxicidade do alumínio para plantas pode conduzir a decréscimo no rendimento de colheitas e causar sérios danos à florestas [16].

Igualmente o entendimento e transporte de Al^{3+} pode ser promovido pela formação de complexos com ligantes naturais e antropogênicos em soluções no solo, água e biofluidos. Especialmente importante é a formação de quelantes neutros, uma vez que tais complexos são muito estáveis e, devido à sua carga nula, muito móveis [8].

2.1.4 Propriedades químicas e capacidade de ligação

O alumínio existe somente como um cátion trivalente. Ele é muito reativo para ser encontrado em seu estado elementar na natureza. Geralmente apresenta número de coordenação 6 produzindo complexos octaédricos [10].

A solubilidade do alumínio é baixa entre pH 5 e 7. Soluções ácidas e básicas, bem como alguns ligantes complexantes, aumentam sua solubilidade, com formação de complexos solúveis [11].

O Al(III) é um íon metálico trivalente duro, com raio iônico efetivo de 0,5 Å, sendo menor do que outros íons metálicos trivalentes [9]. Como um cátion duro, o Al(III) tem afinidade por ânions duros. Em biosistemas, os prováveis sítios de ligação para o alumínio são, freqüentemente, grupos contendo oxigênio carregado negativamente [1].

2.1.4.1 Hidrólise do alumínio

O estudo envolvendo a formação de complexos com alumínio em meio aquoso, não é uma tarefa muito fácil, devido a forte tendência do íon Al(III) em sofrer hidrólise [17].

Como o Al é um cátion pequeno e altamente carregado, ele é facilmente hidrolisado em solução aquosa na ausência de ligantes. Em solução com pH < 5, o íon Al (III) permanece não hidrolisado, sendo a principal espécie mononuclear $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, usualmente abreviado

como Al^{3+} . Com o aumento do pH, espécies mononucleares tais como $[\text{Al}(\text{OH})]^{2+}$, $[\text{Al}(\text{OH})_2]^+$ e $\text{Al}(\text{OH})_3$ solúvel são formados, bem como espécies polinucleares, dependendo do tempo e da concentração total de alumínio (uma concentração alta de alumínio favorece reações de oligomerização, que são usualmente processos mais lentos). Em soluções neutras há formação de um precipitado de $\text{Al}(\text{OH})_3$, que redissolve em consequência da formação de $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$, a principal espécie solúvel de alumínio em $\text{pH} > 7$ [1]. O diagrama de equilíbrio das espécies de alumínio em função do pH está representado no apêndice C.

2.2 Nutrição parenteral

A nutrição parenteral (NP) pode ser definida como a administração de nutrientes por meio de uma via não gastrointestinal, em geral a intravenosa. A fonte de nitrogênio e aminoácidos de todas as soluções de NP ou é de hidrolisados protéicos, ou de soluções compostas por α - aminoácidos sob forma cristalina [18, 19]. Apesar de vantagens, as soluções cristalinas de aminoácidos têm encontrado diversos problemas relacionados com o seu conteúdo, sendo um deles a alta concentração de Al como contaminantes dessas soluções [20].

2.3 Os aminoácidos

Os aminoácidos são substâncias que apresentam um grupo amino e um grupo carboxílico ligados ao mesmo carbono [21]. Os aminoácidos de importância biológica têm estes grupos ligados ao carbono α . As espécies de aminoácidos diferem uma das outras por possuírem diferentes cadeias laterais ligadas ao carbono α , assim a cadeia lateral dá a cada aminoácido a sua identidade. Os aminoácidos podem apresentar-se na forma carregada ou neutra, dependendo do pH do meio no qual se encontram [20].

O valor nutritivo de uma proteína está estritamente relacionado à proporção de aminoácidos que a compõem. Alguns destes devem ser fornecidos por meio da dieta aos organismos adultos, aos jovens em crescimento ou a ambos, uma vez que o organismo não tem capacidade de sintetizá-los, chamados de aminoácidos essenciais, entre os quais estão incluídos a alanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina, são os que somente são fornecidos na dieta alimentar [20]. São em número de 20 os principais aminoácidos encontrados em alimentos e utilizados em NP: alanina, arginina, asparagina, ácido glutâmico, ácido aspártico, cisteína, tirosina, leucina, isoleucina, fenilalanina, treonina, histidina, metionina, valina, glicina, serina, lisina, triptofano, prolina e glutamina [20].

Os aminoácidos abordados no presente estudo são a cisteína, a cistina, a ornitina e a lisina.

2.4 Resinas trocadoras de íons

Resinas são partículas amorfas de matéria orgânica (poliestireno). Os trocadores de cations contém grupos carregados negativamente como o sulfonato ($-\text{SO}_3^-$) enquanto os trocadores de ânions grupos carregados positivamente ($-\text{NR}_3^+$) [22].

As resinas de troca iônica contém grupos que são também capazes de complexar íons metálicos. O mecanismo de ação pode ser através de quelação em lugar de uma simples troca iônica, e como consequência, elas se tornam muito mais seletivas. Elas são largamente usadas para separação e pré-concentração de íons metálicos [23, 24, 25].

Pasavento *et al.* [26] observaram que quando íons metálicos são sorvidos por Chelex 100 (grupo iminodiácetico) de soluções aquosas, o mecanismo que prevalece é quelação com formação de complexos estáveis como no caso do cobre e do zinco, embora complexação por carboxilato prevaleça quando íons metálicos com baixa constante de complexação com iminodiacetato, tais como zinco, cádmio e cálcio estão envolvidos.

Pasavento e Biesuz [27] observaram que a presença do complexante em solução (IDA), afeta grandemente a sorção de íons metálicos (cobre II), diminuindo a fração sorvida do metal pela resina, na presença de IDA em solução; mudando isto em altos pH, quando as frações sorvidas de metal tendem para o mesmo valor.

Resinas quelantes contendo grupos iminodiacético que formam complexos estáveis com íons de metais pesados, formam também

complexos com o íon alumínio. Tendo sido mostrado, através de curvas de sorção (fração de metal sorvido versus pH) que o alumínio presente nas amostras consideradas foi sorvido completamente pela resina ou observada a formação de complexos quando o contra-íon da resina estava presente na solução [28, 29].

Resina Chelex 100 tem sido usada para determinação da capacidade de complexação de metais tri e divalentes como zinco, cádmio, níquel, cobre e alumínio [26, 30], bem como determinação de constantes de estabilidade para a formação de complexos entre o íon metálico em solução e o contra íon da resina, usando o modelo de equilíbrio de Gibbs-Donnan [27,29].

2.5 Complexos

2.5.1 Reação de formação de complexos



Apesar da amplitude do conceito de compostos complexos, se considera normalmente uma reação de formação de complexos aquela na qual uma ou varias moléculas do solvente são deslocadas por outras espécies químicas, estas espécies químicas unidas ao íon central se denominam ligantes (L), o número máximo de átomos doadores dos ligantes (n) se denomina número de coordenação do íon central. O ligante pode se monodentado, bidentado, tridentado..., dependendo do

número de sítios de ligação envolvidos na formação do complexo [31]. Quelante é o ligante com no mínimo dois grupos funcionais participando da formação do complexo quelato, apresentando maior estabilidade do que complexos monodentados [10].

A formação do complexo é o resultado de uma interação ácido-base de Lewis, na qual o átomo central com um orbital vago, atrai um par de elétrons de um átomo doador do ligante. Para isto, o íon central deve dispor de orbitais simetricamente adequados, estericamente disponíveis e de baixa energia. O ligante deve ter átomos (N, O, S, etc.) com pares eletrônicos não compartilhados [31].

De acordo com o mecanismo geral aceito de Eigen-Wilkins para complexação de íons metálicos, a formação de complexos de alumínio ocorre através de um mecanismo com dois passos: no primeiro passo, por difusão controlada, um complexo esfera-controlada é formado, onde o íon Al^{3+} e o ligante são separados por uma camada interna completa de hidratação do íon metálico. O segundo passo é a formação de um complexo esfera-interna, onde o íon metálico e ligante estão em contato direto. Este passo é controlado pela taxa de troca de uma molécula de água da camada interna de hidratação do íon metálico [8].

2.5.2 Estabilidade dos Complexos

A estabilidade termodinâmica de uma espécie é uma medida da extensão na qual esta será formada a partir de outras espécies sob

determinadas condições, desde que se estabeleça equilíbrio no sistema [32].

O conhecimento dos valores das constantes de estabilidade é de considerável importância em química analítica, pois elas fornecem informações sobre as concentrações dos vários complexos formados por um metal em dadas misturas em equilíbrio. Isto é valioso no estudo da complexometria e de vários processos de separação analítica, como os de extração por solvente, troca iônica e cromatografia [32].

A estabilidade dos complexos, do mesmo tipo, está relacionada com [32, 33]:

- a) habilidade de complexação dos metais,
- b) habilidade de complexação dos ligantes,
- c) afinidade metal-ligante.

2.5.2.1 Habilidade de complexação dos metais

Cada íon metálico fornece uma combinação distinta de preferência geométrica de coordenação, raio iônico, troca de ligante, densidade de carga e outras propriedades que podem ser exploradas pelo ligante para complexação [34].

A relativa habilidade de complexação, para ligantes simples, principalmente aqueles contendo N e O como átomos doadores, com metais, é convenientemente descrita em termos da classificação de Schwarzenbach, que é amplamente baseada na divisão dos metais em

ácidos de Lewis, ou seja, aceptadores de elétrons classe A e classe B. Os metais da classe A são distinguidos pela seguinte ordem de afinidade (em solução aquosa) face aos halogênios $F^- \gg Cl^- > Br^- > I^-$, e formam os seus complexos mais estáveis com o primeiro membro de cada grupo de átomos doadores na tabela periódica (N, O, F). Os metais da classe B se coordenam mais prontamente com I^- do que com F^- em soluções aquosas, e formam os seus complexos mais estáveis com o segundo (ou mais pesado) átomo doador de cada grupo (P, S, Cl). A classificação de Schwarzenbach define três categorias de íons metálicos aceptadores de elétrons:

1. Cátions com configuração de metais nobres. Os metais alcalinos, alcalinos-terrosos e alumínio pertencem a este grupo que exhibe as propriedades de aceptadores da classe A. Na formação dos complexos predominam forças eletrostáticas, de modo que as interações entre íons pequenos de carga elevada são particularmente fortes, conduzindo a complexos estáveis.
2. Cátions com subcamadas-d completamente preenchidas. Elementos típicos deste grupo são cobre(I), a prata(I), que exibem propriedades de aceptadores classe B. Estes íons tem um alto poder de polarização e as ligações formadas nos seus complexos tem caráter covalente apreciável. O complexo formado é tanto mais estáveis quanto mais nobre for o metal e menos eletronegativo o átomo doador do ligante.
3. Íons de metal de transição com subcamadas-d incompletas. Neste grupo tanto a classe A como a classe B tem tendências

que podem ser distinguidas. Elementos com características da classe B formam um grupo aproximadamente triangular dentro da tabela periódica, com o ápice no cobre e a base estendendo-se do rênio ao bismuto. À esquerda deste grupo, os elementos em seus estados de oxidação mais elevados tendem a exibir propriedades da classe A, enquanto que a direita do grupo os estados de oxidação mais elevados de um dado elemento apresentam mais caráter da classe B [32, 33].

2.5.2.2 Habilidade de complexação dos ligantes

Se aplicarmos o conceito ácido-base de Lewis a reação de complexação, esta reação poderá ser tomada como uma reação de neutralização. O ligante é um doador de pares eletrônicos e atua como uma base, desde que o íon metálico aceite o par de elétrons e funcione como um ácido [33].

Entre as características do ligante que são, geralmente, reconhecidas como influentes na estabilidade dos complexos em que estão envolvidos, estão [32]:

- (i) a força básica do ligante.
- (ii) as suas propriedades de quelação (se as tiver) e
- (iii) efeitos estéricos.

O termo “efeito quelante” refere-se ao fato de que um complexo quelato, isto é, que seja formado por um ligante bidentado ou multidentado, é mais estável do que o correspondente complexo com

ligantes monodentados: quanto maior o número de pontos de ligação ao íon metálico, maior a estabilidade do complexo [32].

A geometria do anel quelante é tal que anéis quelantes com 5 membros preferem íons metálicos grandes e anéis quelantes com 6 membros combinam melhor com íons metálicos pequenos, com o mínimo de tensão e comprimento de ligação metal-ligante, estabilizando o complexo formado [9, 34].

O efeito estérico mais comum é o da inibição da formação do complexo devido a presença de um grupo grande ligado ou próximo ao átomo doador [32].

Cineticamente os complexos podem ser classificados em complexos lábeis e complexos inertes. O termo complexo lábil é aplicado aos casos em que a substituição nucleofílica é completa dentro do intervalo de tempo requerido para se fazer a mistura dos reagentes. O termo inerte é aplicado aos complexos que sofrem reações de substituição lentas, isto é, reações com meia-vida na ordem de horas e até dias [32].

2.5.3 Teoria HSAB (ácidos e bases/duros e moles)

Em 1963 Pearson introduziu os termos duro e mole para descrever íons metálicos e ligantes. De acordo com a teoria de Pearson, uma base mole pode ser definida como aquela cujo átomo doador tem polarizabilidade elevada e baixa eletronegatividade, é facilmente oxidada, bem como associada com orbitais vacantes

baixos. Estes termos descrevem, por diferentes modos, uma base cujos elétrons do átomo doador não estão fortemente presos, mas são facilmente destorcidos e removíveis. Bases duras têm propriedades opostas a estas, ou seja, o átomo doador tem baixa polarizabilidade e alta eletronegatividade, é difícil de se reduzir e está relacionada com orbitais vacantes de alta energia que são inacessíveis [32].

Na tabela 3 estão classificados exemplos específicos de ácidos e bases, duros e moles [35].

Tabela 3: Classificação dos ácidos e bases de Lewis usando o critério duros e moles [35].

	Ácidos	Bases
Duros	H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} Al^{3+} , Ln^{3+} Cr^{3+} , Co^{3+} , Fe^{3+} , VO^{2+} , MoO^{3+}	H_2O , ROH , NH_3 , RNH_2 RCO_2^- , Cl^- , F^- , PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$, SO_4^{2-} ,
Intermediários	Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Sn^{2+} , SO_2 , NO^+ , Ru^{2+}	Imidazol, piridina
Moles	Cu^+ , Ag^+ , Au^+ , Tl^+ , Hg^+ Cd^{2+} , Pd^{2+} , Pt^{2+} , Hg^{2+}	RSH , R_2S , CN^- , I^- $S_2O_3^{2-}$

R representa uma cadeia lateral orgânica .

Desta forma, vê-se que os aceitadores da classe A, preferem ligar-se a bases duras, com átomos doadores, como: nitrogênio, oxigênio e flúor, enquanto que os aceitadores da classe B preferem ligar-se a bases moles, como: átomos doadores P, As, S, Se, Cl, Br, I. Um exame dos aceitadores da classe A, mostra que eles têm as

seguintes características importantes: tamanho pequeno, estado de oxidação positivo elevado e ausência de elétrons mais externos que sejam facilmente excitáveis a estados mais elevados. Estes são todos fatores que levam a baixa polarizabilidade, e tais aceptadores são chamados ácidos duros. Os aceptadores classe B, no entanto, tem uma ou mais das seguintes propriedades: estado de oxidação positivo baixo ou zero, tamanho grande e muitos elétrons externos facilmente excitáveis (no caso dos metais estes são elétrons d). Todas estas propriedades conduzem à polarizabilidade elevada, e assim os ácidos classe B podem ser chamados de ácidos moles [32].

De um modo geral, pode-se correlacionar a capacidade de complexação dos metais pelo enunciado: “Os ácidos duros preferem se associar com as bases duras e os ácidos moles com as bases moles”. Este princípio não deve ser encarado como exclusivo, isto é, sobre condições adequadas, ácidos moles podem complexar com bases duras ou ácidos duros com bases moles, resultando entretanto em complexos de baixa estabilidade, uma vez que ambos os componentes são incompatíveis [32, 35].

2.6 Constante de estabilidade (β)

A reação de formação de complexos pode ser expressa como:



“Constante geral de estabilidade”(β), é meramente a constante de equilíbrio para formação de um complexo em particular, a partir

dos componentes apropriados M e L [3], podendo ser representada por:

$$\beta = \frac{[M(H_2O)_{n-1}L]}{[M(H_2O)_n][L]}$$

sendo, no equilíbrio: $[M(H_2O)_{n-1}L]$ = concentração do complexo formado

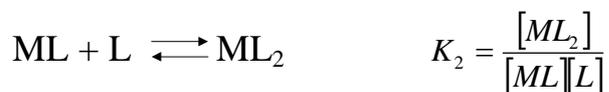
$[M(H_2O)_n]$ = concentração do íon metálico

$[L]$ = concentração do ligante

Medidas de variação da concentração livre de somente uma espécie com a composição geral da solução, podem em princípio, levar a valores da constante de estabilidade [3].

Variação de propriedades adequadas com a composição da solução, podem, entretanto ser exploradas para dar informações sobre os complexos que são formados. Por exemplo, medidas potenciométricas podem ser designadas de maneira que sua f.e.m. forneça uma medida da concentração do íon metálico não complexado [3].

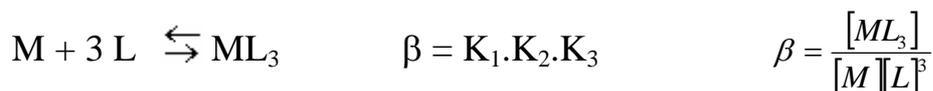
Na formação sucessiva de complexos de índice de coordenação superior a unidade, se tem as seguintes reações e constantes:



As constantes K_1 , K_2 e K_3 são denominadas constantes sucessivas de formação dos distintos complexos. O subíndice nos

indica de forma clara a etapa de complexação, bem como o número de ligantes unidos ao metal no complexo [36].

As vezes é conveniente utilizar as constantes globais de formação (β), que para o complexo ML_3 é dada pela relação [31]:



2.6.1 Influência da força iônica sobre a constante de equilíbrio

Constantes de equilíbrio para formação de complexos em solução a uma dada temperatura são usualmente representadas em função do cociente de atividade (constante de estabilidade termodinâmica), que deveria ser independente do meio iônico, ou em função do cociente de concentração (constante de estabilidade estequiométrica), que são válidas somente em uma solução de composição particular. Se a constante de estabilidade estequiométrica for determinada na presença de um grande excesso de um eletrólito forte inerte e as soluções em estudo forem bastante diluídas, pode ser assumido que os coeficientes de atividade são independentes da concentração das espécies reagentes e dependem somente da natureza e concentração do eletrólito principal. Constantes de estabilidade estequiométricas obtidas sob estas condições são também quantidades termodinâmicas, referentes ao estado padrão no qual todos os coeficientes de atividade são unitários. Contudo, em respeito ao uso convencional, o termo constante de estabilidade termodinâmica se refere ao cociente de atividades [37].

Se no tratamento matemático do equilíbrio químico se utilizar a constante termodinâmica, K_t , esta não se modifica com a força iônica, já que é constante e independe dos fatores de atividade. Entretanto a constante de equilíbrio K , não termodinâmica, está relacionada com K_t pelos coeficientes de atividade das espécies que interferem no equilíbrio. Para a reação: [31]



a relação entre K e K_t é:

$$K_t = \left(\frac{\gamma_C \cdot \gamma_D}{\gamma_A \cdot \gamma_B} \right) \cdot K$$

Sendo K_t constante, só será K , se o termo correspondente aos coeficientes de atividade o forem.

Se numa reação química houver só espécies moleculares, não carregadas, os coeficientes de atividade são unitários, e a constante de equilíbrio será igual a termodinâmica; não dependendo da força iônica do meio [31].

A adoção do assim chamado método do meio iônico constante, valores dos coeficientes de atividade podem permanecer efetivamente constantes. De acordo com este método, um grande excesso de um sal, eletrólito de baixa valência é adicionado a solução sob investigação (ex. NaCl, NaClO₄ ou KNO₃). Estes íons monovalentes, que são escolhidos serem inertes dentro do possível, dominam a força iônica da solução e o conjunto de coeficientes de atividade para todos os íons e moléculas formados nos sistemas sob investigação serão constantes. Na prática isto se mantém enquanto a concentração equivalente dos compostos investigados não excederem a ~ 10 % da concentração do

eletrólito suporte. Isto corresponde ao limite superior de uma “janela” experimental, na qual os coeficientes de atividade podem ser incorporados ao valor de β , e na qual concentrações químicas podem ser usadas no lugar das atividades [38].

Constantes condicionais (determinadas neste trabalho) sofrem efeito do meio, portanto dependem do solvente usado, da força iônica do meio, da temperatura e englobam a dissociação da água [33].

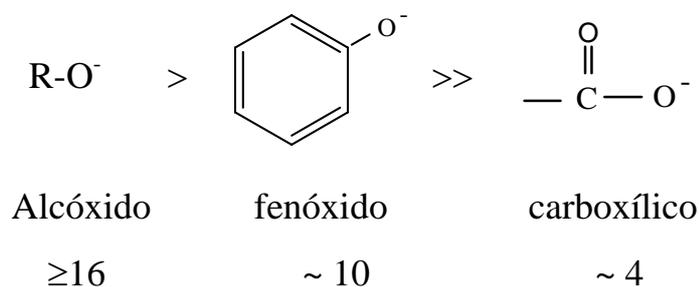
2.6.2 Complexação do alumínio

O alumínio é um íon metálico aquo trivalente duro, é menor do que outros íons metálicos trivalentes comumente encontrados. A acidez de um íon aquo metálico é medida pela sua afinidade pelo íon OH^- , que para o Al é $\log K_{1(\text{OH})} = 9,01$. Embora o Al^{3+} seja um íon metálico pequeno, tem uma forte tendência a hidrólise em solução aquosa [9].

O alumínio é altamente eletropositivo e não facilmente polarizável. O íon Al^{3+} prefere coordenar com bases de Lewis duras, tais como OH^- , F^- , PO_4^- , CH_3COO^- , ROH , RO^- e RNH_2 , que doam elétrons dos orbitais vacantes [10].

Devido ao Al^{3+} ser um íon metálico muito duro, ele tem alta afinidade por ânions duros. Entre os doadores duros, o íon óxido é encontrado geralmente em espécies com Al(III) polimérico, usualmente coordenado com dois ou mais íons Al(III) [9].

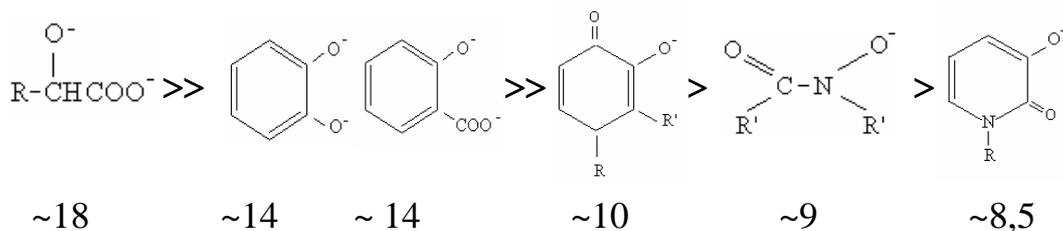
Os complexos mais estáveis de Al^{3+} são formados por ligantes multidentados com oxigênio negativo doador [10]. O oxigênio negativo doador que é freqüentemente encontrado em ligantes monodentados que são efetivos para Al(III) , estão mostrados no esquema 1, em ordem decrescente de basicidade, juntamente com sua constante de protonação aproximada [9]:



Esquema 1

As constantes de protonação dos doadores acima, indicam que sua afinidade pelo Al(III) varia com a basicidade, que é medida em solução pela constante de protonação. Deste modo, ligantes com alta afinidade pelo Al(III) têm também alta afinidade pelo íon hidrogênio, e a competição com o próton deve ser também considerada quando se avaliam os equilíbrios Al(III) -ligante em soluções aquosas.

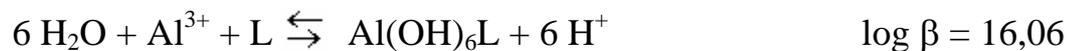
Pares bidentados que são efetivos para Al(III) , e outros íons metálicos trivalentes duros, organizados em ordem decrescente de basicidade, estão mostrados no esquema 2, juntamente com as suas constantes de protonação aproximadas.



Esquema 2

Para ligantes multidentados com mais de dois grupos doadores, outros fatores tais como pré-organização do ligante (adequado arranjo espacial), são também importantes [1, 9].

Salvadó *et al.* [39] estudando a formação de complexos entre Al^{3+} e ácido 2-fosfonobutano,1,2,4-tricarboxílico através de titulação potenciométrica, calcularam a constante de estabilidade dos complexos formados usando o programa computacional LETAGROP-NYTIT, o modelo proposto possui as espécies $\text{Al}(\text{OH})_6\text{L}$ e $\text{Al}(\text{OH})_3\text{L}_2$. A espécie com estequiometria 1:1 é predominante, em todo intervalo de pH estudado (2-10), que devido a sua estabilidade ($\log \beta = 16,06$) é formado em solução no pH inicial. A reação de formação do complexo pode ser expressa como [39]:



O íon Al^{3+} interage com moléculas grandes como proteínas, peptídeos, polissacarídeos e polifenolatos [9]. Resultados de estudos envolvendo ligação de alumínio com moléculas grandes mostram o

controle exercido pelos ácidos húmicos em pH 4,0 sobre a disponibilidade de íons metálicos como o Al^{3+} , no solo [2].

Al(III) e Fe(III) são ácidos duros com raio iônico similar (0,54 e 0,64 Å), desta forma os quelante para o ferro podem também ser quelante para o alumínio [17]. Mg e Ca são também suscetíveis a competição com Al(III) , tamanho similar é um fator dominante sobre carga idêntica, concernente a complexação com o metal [12, 18].

O alumínio é capaz de formar complexos com ligantes inorgânicos como o íon fluoreto (formando complexos estáveis) [2], íon fosfato e ácido silícico. Tem sido mostrado que ácido silícico significativamente reduz a biodisponibilidade e a toxicidade do íon Al(III) , isto parece envolver a formação de hidroxialuminossilicatos [1].

O papel da sílica foi recentemente confirmado ser decisivo para prevenir a absorção do alumínio a partir da água potável, que parece ser confirmado por recentes resultados sobre o papel protetor da sílica com respeito a possível indução da AD pelo alumínio contido na água potável [12, 14]. Remoção de Al^{3+} por Si(OH)_4 em águas naturais [17].

O fosfato é um ligante importante para o alumínio in vivo, apesar da sua interação com íon Al(III) ser melhor investigada dentro de uma pequena faixa de pH (2-4), devido a formação de compostos pouco solúveis [12]. Tem sido estudada recentemente a complexação de alumínio com os íons fosfinato (H_2PO_2^-) e fosfito (HPO_3^{2-}) por meio de $^{27}\text{Al-NMR}$, sendo constatada a formação de complexos do tipo 1:1, 1:2, 1:3 e 2:2 [1].

Estudos envolvendo equilíbrio de complexação com Al(III) em sistemas aquosos, encontram várias dificuldades [14]. O íon Al^{3+} parte hidrolisado em solução ácida ($\text{pH} \geq 3,5$), a formação lenta de espécies polinucleares e diferentes processo de precipitação enfatizam um cuidado e planejamento próprio de conduta experimental para obtenção de bons resultados [4].

2.6.3 Interação metais-aminoácidos

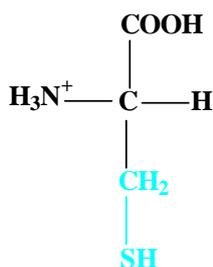
A capacidade dos aminoácidos de formarem complexos metálicos não é somente de importância teórica, mas também prática, devido a presença de Al(III) em sistemas biológicos [21], estando relacionada não só à presença dos grupos amino e carboxílico, mas também ao grupo funcional constituinte da cadeia lateral. Entretanto, como os grupos são diferentes em sua natureza, a capacidade dos aminoácidos se ligarem a metais também é diferente. Por exemplo, os grupos R-OH, R-NH₂, RCO₂ podem ser classificados como ligantes duros, enquanto que os grupos R-SH, R₂S podem ser classificados como moles. Com isso, os aminoácidos não podem ser classificados de uma única maneira e estão aptos a combinarem-se de diferentes formas com diferentes íons metálicos [20].

O primeiro complexo preparado entre um metal e um aminoácido foi obtido em 1854 por Gossmann, através da reação do cobre com a leucina, seguido pela complexação de cobre com a glicina [21].

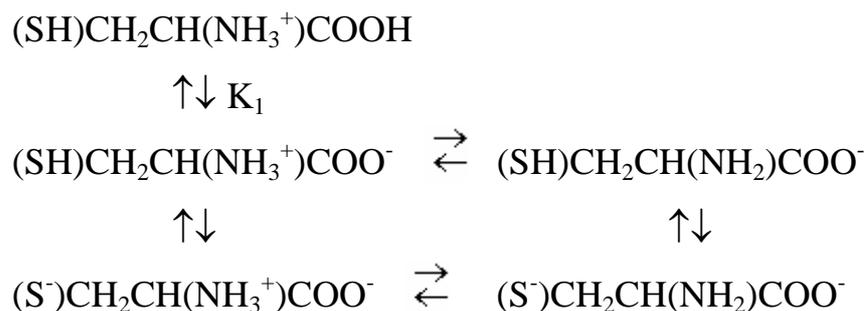
Li e Doody através de polarografia, condutometria e espectrofotometria estudaram a formação de complexos de prolina, alanina, leucina, metionina, glicilglicina com cobre e zinco [40].

Albert usando titulação potenciométrica determinou as constantes de estabilidade de complexos formados entre os metais cobre e níquel, com os aminoácidos ornitina, glicina, ácido diaminobutírico e ácido diaminopropanóico [41].

2.6.3.1 Interação cisteína-metais



A cisteína tem três prótons dissociáveis (sítios de ligação). A dissociação do próton a partir do grupo carboxílico ocorre em baixos valores de pH ($\text{pK}_1 = 1,71$). A dissociação dos outros dois prótons dos grupos $-\text{SH}$ e NH_3^+ tem pKs 8,33 e 10,78, respectivamente [21]. E podem ser representados pelos seguintes passos [42]:



Esquema 3

Uma característica da desprotonação da cisteína está na dificuldade de designar o grupo envolvido nos dois passos de equilíbrio mais básicos. Os modos de ionização estão descritos no esquema (3) acima, que tem sido discutido por várias décadas. Atualmente é aceito que a ionização da cisteína ocorra simultaneamente a partir dos grupos SH e NH_3^+ [43].

Durante a formação de complexos entre a cisteína e os metais cobre, cobalto e ferro, há formação de cistina, dificultando a determinação das constantes de estabilidade dos complexos formados, devido a capacidade da cisteína de oxidar metais que apresentam mais de um estado de oxidação [21].

O aminoácido cisteína pode sofrer oxidação se transformando em cistina. Em virtude desta tendência de sofrer oxidação, a hidrólise de uma proteína onde a cisteína estiver normalmente presente, conduz sob condições normais, ao isolamento final de cistina em vez da forma reduzida do aminoácido [21, 44].

Çakir *et al.* [45] estudaram a complexação de cisteína com o íon Cu^{2+} através de polarografia, usando voltametria de onda quadrada.

Quimicamente, grupos tióis diferem unicamente de outros grupos funcionais por serem prontamente oxidados para formar dissulfetos, especialmente na presença de uma grande variedade de metais em níveis traços, tais como Fe^{2+} , Co^{2+} e Mn^{2+} [46].

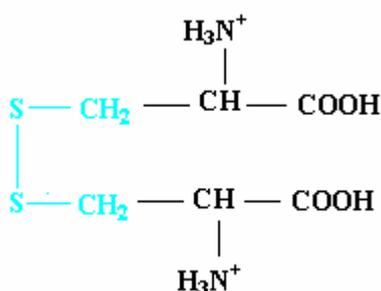
Para complexação de cisteína com íons metálicos divalentes Disbudak e col. [6] encontraram a seguinte ordem de afinidade metal-ligante em função das constantes de estabilidade obtidas $\text{Cd(II)} > \text{Pb(II)} > \text{Cu(II)}$. Ordem esta que está de acordo com o previsto pela teoria de Pearson, pois o Cd(II) é classificado como um ácido mole, apresentando maior afinidade pelo $-\text{SH}$ (base mole) da cisteína do que o Pb(II) e o Cu(II) , que são intermediários [34].

Dolinska [47] observou que o aminoácido cisteína combina com Zn(II) para formar complexos sólidos na faixa de concentração de 4 a 90 μM , possuindo três sítios de ligação com o metal, sendo que o complexo (1:1) formado entre Zn(II) e cisteína é de média estabilidade com $\log \beta = 2,23$. Na formação de complexos cisteína-zinco (1:2), dois anéis quelantes de 5 membros coordenados com o metal são formados, cada anel envolvendo enxofre e nitrogênio, enquanto o grupo carboxílico está livre [48]. A cisteína pode atuar como um ligante tridentado para o chumbo, os sítios de ligação envolvendo grupos enxofre, amino e carboxílico. Esta pode ser a razão da maior estabilidade dos complexos de chumbo que de zinco. A prata é outro metal que forma mercaptídeo insolúveis com cistina ou cisteína e que possui a capacidade de causar a redução da cistina [21].

Martins, mostrou através de estudos envolvendo resinas de troca iônica, que existe uma forte interação entre o íon Al^{3+} e cisteína [49].

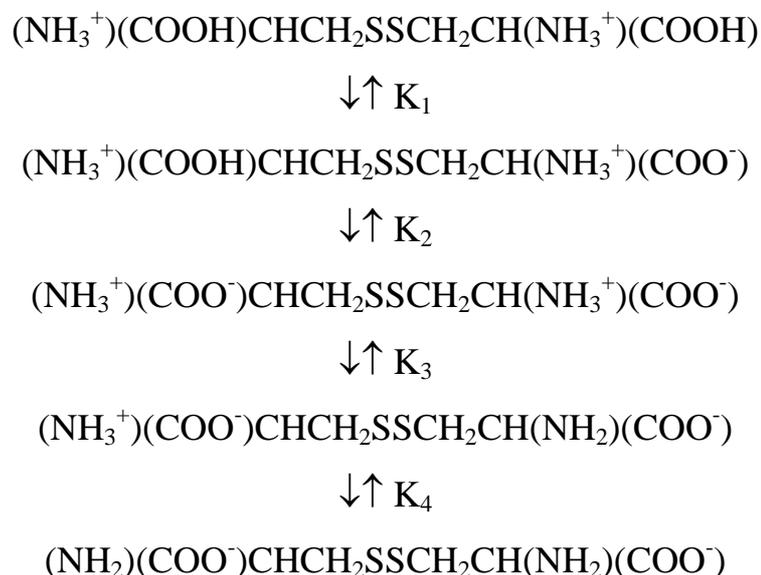
Estudos feitos por Mercero *et al.* [15] com simulação usando os programas computacionais GAUSSIAN94 e GAUSSIAN98 para cálculos de energia de ligação concernente ao estudo da interação entre Al(III) com aminoácidos contendo enxofre: cisteína e metionina. O estudo iniciou com um simples modelo representando a molécula do ligante (SH_2) e completou pela adição de grupos metila até se aproximar da molécula do aminoácido. Ligações com Al(III) somente foram encontradas para o maior dos ligantes estudados ($\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_3$), com energia de ligação de 383 kcal/mol e além disso na forma bidentada, com uma ligação de ambos S e C terminal.

2.6.3.2 Interação cistina-metais



A cistina possui 4 prótons dissociáveis (sítios de ligação), dois grupos carboxílico e dois grupos amino, cujos pKs são a 25 °C respectivamente: 1,6; 2,1; 8,02 e 8,71 [21, 43]. Os passos de

dissociação da cistina podem ser representados como mostrado no esquema 4:



Esquema 4

A cistina é instável em solução alcalina, o que leva a produção de cisteína e possivelmente ácido cistêmico entre outros produtos. A cistina em solução ácida é também um tanto instável embora muito menos que em soluções alcalinas [21].

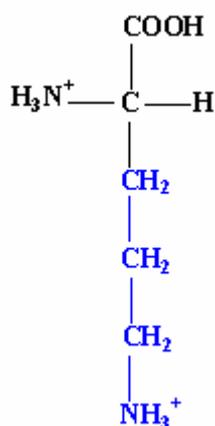
De um modo geral, a baixa solubilidade da cistina em solução aquosa neutra, tem limitado severamente a investigação de seus complexos metálicos [43].

Complexos metálicos de cistina são pouco conhecidos, provavelmente por não terem sido estudados, considerando que a cistina é formada por redução da cisteína e que isto ocorre a nível biológico na estruturação das proteínas [44].

Para a complexação com o cobre, os ligantes predominantes no plasma foram encontrados ser a cistina e a histidina [48].

O voltamograma de onda quadrada de $6,5 \times 10^{-5}$ M de cistina em pH fisiológico (7,4) foi obtido por Çakir *et al.* [50], mostrando que é possível o estudo polarográfico deste aminoácido.

2.6.3.3 Interação ornitina-metais



O aminoácido ornitina apresenta três hidrogênios ionizáveis, correspondendo a um grupo carboxílico, e a dois grupos amino, com pKs a 25 °C de 1,94; 8,65 e 10,76, respectivamente [21]. Os passos de dissociação podem ser representados como segue, no esquema 5:



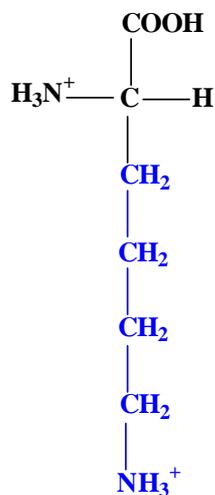
Esquema 5

A ornitina contém na cadeia lateral o grupo amino, que é potencialmente apto a coordenar um íon metálico, em adição aos grupos α -amino e carboxílico que estão tipicamente envolvidos na complexação de íons como cobre (II) [41, 51], mesmo nos aminoácidos que não contém cadeia lateral polar. Em pH fisiológico, o nitrogênio da cadeia lateral está parcialmente desprotonado sendo nestas condições a ornitina um ligante tridentado [52].

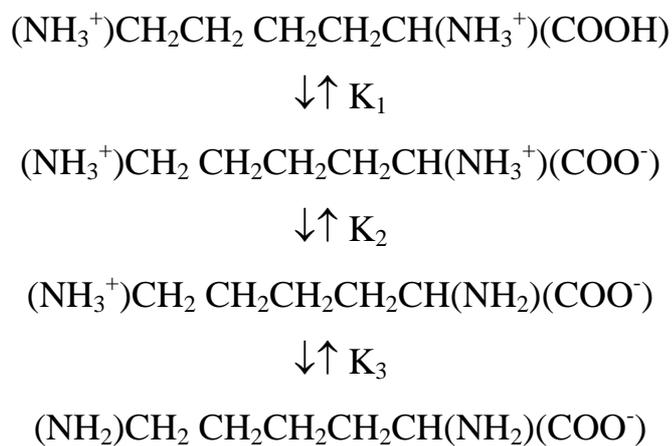
Babu *et al.*[53], através de dados de titulação potenciométrica e usando o programa computacional Miniquad75, determinaram constantes de estabilidade de complexos formados entre ornitina e os metais divalentes cobre, cobalto e zinco.

Albert [41] através de dados de titulação potenciométrica, obteve constantes de estabilidade para complexos formados entre o aminoácido ornitina e íons metálicos divalentes (Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} e Mg^{2+}).

2.6.3.4 Interação lisina-metals



O aminoácido lisina apresenta três hidrogênios ionizáveis, correspondendo ao grupo carboxílico, e a dois grupos amino, com pKs a 25 °C de 2,20; 8,90 e 10,28, respectivamente [21]. Os passos de dissociação estão representados no esquema 6:



Esquema 6

A lisina contém na cadeia lateral o grupo amino, que é potencialmente apto a coordenar íons metálicos, podendo atuar como ligante tridentado [52]. Tem sido mostrado que sais de cobre de lisina envolvem principalmente ambos os grupos aminos e com pequena extensão o α -amino com o grupo carboxílico [21, 51], o que foi comprovando através de dados de titulação potenciométrica publicados por Albert [41].

A lisina pode complexar com alguns íons metálicos, como Fe(III) [54], V(III) [55].

A cadeia lateral do grupo amino do resíduo lisina é um grupo doador para coordenação de oligopeptídeos e proteínas com íons metálicos. Dados da literatura neste tópico são crescentes, mas habilidade real deste grupo para participar da formação de complexos metálicos é ainda uma questão discutida. Não tem sido observado evidências de ligação -NH_2 -metal, cadeia lateral, para complexos Cu(II)/Lys e Ni(II)/dipeptídeos [56, 57]. De outro modo, recentes investigações [58-59] do equilíbrio de formação de complexos de oligopeptídeos contendo Lys com íon Cu(II), sustentam a hipótese de que o grupo -NH_2 do resíduo Lys interage com cobre, mas somente em pH alcalino. A desprotonação do -NH_2 (e subsequente interação com cobre) não foi encontrada em pH neutro, assim sustentando a hipótese que, sob condições fisiológicas resíduos protonados de Lys de metalo-peptídeos podem agir como “âncora” para receptores biológicos.

Sharma [60], obteve as constantes de estabilidade dos complexos formados entre L-lisina e os metais divalentes, Zn(II),

Cd(II) e Hg(II). A tendência nas estabilidades destes 1:2 complexos metálicos foi encontrado ser: Zn(II) > Hg(II) > Cd(II). O Cd(II) e o Hg(II) são classificados como ácidos moles segundo a classificação de Pearson [35] e o Zn(II) como intermediário, isto explica a ordem encontrada por Sharma, pois a lisina apresenta os grupos amino (base dura) e carboxílico (base dura) em sua molécula, possuindo, portanto mais afinidade pela ácido intermediário do que pelos ácidos moles.

Albert [41] através de dados de titulação potenciométrica, obteve constantes de estabilidade para complexos formados entre aminoácidos trivalentes a íons metálicos, alguns valores obtidos estão mostrados na tabela 4 [21].

Tabela 4: Constante de estabilidade como log K de complexos de aminoácidos trivalentes com metais [21].

AMINOÁCIDO	Cu ²⁺	Ni ²⁺	Zn ²⁺	Co ²⁺	Fe ²⁺	Mn ²⁺	Mg ²⁺
Cisteína	-	19,3	18,2	-	6,2 ^a	4,1	2
Ornitina	13,0	8,3	6,9	6,3	5,0 ^a	< 2	-
Lisina	13,7	8,8	7,5	6,8	4,5 ^a	2	-

^a Valores somente do log de K_(ML), insolubilidade do complexo interfere na determinação do log K₂

K é a constante geral de estabilidade dos complexos formados.

2.6.4 Interação alumínio-aminoácido

Aminoácidos são naturalmente liberados pela digestão das proteínas animal e vegetal e estão também presentes como tal na grande maioria dos alimentos industrializados e bebidas. Aminoácidos

são de interesse para distribuição do alumínio *in vivo*, embora em menor extensão [12], eles podem, desta forma, influir no metabolismo do Al, especialmente no trato gastrointestinal, onde ele pode alcançar níveis completamente apreciáveis. Aminoácidos com cadeia lateral polar, aptos a ligarem-se ao alumínio, isto é, serina, treonina e histidina, foram investigado por Daydé et ali [61]. A investigação foi conduzida primeiro potenciométricamente com eletrodo de vidro e NMR (ressonância magnética nuclear) foi usada para confirmar a estequiometria das espécies caracterizadas, houve a formação de complexos M_2LH_2 , com estabilidade relativamente baixa.

Estudos feitos por Saraswath e Miller, usando espectrometria de massa, comprovaram a interação entre Al(III) e glicina, alanina, valina, leucina, prolina, fenilalanina, tirosina, histidina, serina, cisteína, triptofano, ácido glutâmico e ácido aspártico [62].

O grupo α -carboxílico do aminoácido é fracamente básico ($pK \sim 2,2$), o que sugere uma fraca habilidade de ligação com Al(III). Tem sido encontrado [1] que a força de complexação para com Al(III) diminui fortemente na seqüência ácido dicarboxílico \gg ácido hidroxicarboxílico $>$ ácido carboxílico \gg aminoácido. O efeito enfraquecedor devido a presença do grupo amino, pode ser explicado em termos do efeito repulsivo eletrostático do grupo $-NH_3^+$ [63]. Constantes de estabilidade obtidas por medidas diretas de pH para interação do Al(III) com aminoácidos simples bidentados, estão na faixa de $\log K = 5,5 - 5,9$; o que está de acordo com os valores derivados de cálculos LFER (relação linear de energia livre: uma relação linear pode ser esperada entre a habilidade de ligação do

próton de um grupo doador, caracterizado pelo próprio valor do pK, e a habilidade de coordenar com o íon metálico). Estudos usando NMR de ^{27}Al -, ^1H -, ^{13}C , em pH fracamente ácido, indicam que nos complexos $[\text{Al}(\text{LH})\text{OH}]^{2+}$ e $[\text{AL}_2(\text{LH})(\text{OH})_2]^{4+}$, aminoácidos simples formam complexos monodentado através do grupo carboxilato, estando o grupo amino na forma protonada [1].

O ácido aspártico [Asp, $(\text{COOH})\text{CH}_2\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$], contendo dois grupos COO^- e um grupo NH_2 central, é um ligante significativamente forte para o Al(III). A estabilidade dos complexos 1:1, é cerca de duas ordens de grandeza maior do que aqueles de aminoácidos simples, indicando o envolvimento de ambos grupos carboxilatos na ligação com o metal. É interessante também que complexos estáveis não tenham sido detectados com os ácidos succínico $[(\text{COOH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}]$ e N-acetilaspártico (ambos sem o sítio de ligação do amino central), que indicaria envolvimento do grupo $-\text{NH}_2$ no modo de ligação do complexo Al(III)-Asp [1]. A participação do grupo amino no processo de complexação com Al^{3+} , também foi observado por Kiss [64], para Asp-Al(III), através de medidas potenciométricas e técnica NMR.

Pohlmeier e Knoche [8] estudaram a cinética de complexação do alumínio com os aminoácidos glicina, β -alanina, ácido aspartico, ácido iminodiacético (IDA) e ácido nitrilotriacético (NTA).

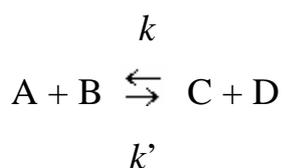
2.6.5 Princípios básicos para determinação de constantes de estabilidade

Constantes de estabilidade podem ser determinadas por métodos cinéticos e por métodos de equilíbrio, usando as variáveis discutidas abaixo.

Método cinético: em poucos casos, onde as velocidades de formação e dissociação de complexos são suficientemente lentas para serem medidas experimentalmente, a constante de estabilidade pode ser obtida a partir da relação de Guldberg e Waage,

$$\begin{aligned} \text{Constante de equilíbrio} &= \text{constante de velocidade da reação direta} / \\ &\quad \text{constante de velocidade da reação reversa} \\ &= \frac{k}{k'} \end{aligned}$$

desde que a solução contenha somente uma espécie considerada, que seja formada na etapa determinante de velocidade. Assim a razão entre as constantes de velocidades direta e reversa da reação:



fornece a constante geral de estabilidade (β_n).

A velocidade de formação de um complexo está relacionada com a estrutura eletrônica do grupo central, e reações lentas (mensuráveis) são restritas principalmente a complexos de íons de metais de transição. Embora a aproximação cinética possa, em

princípio, ser usada para o estudo destes sistemas, métodos de equilíbrio são geralmente mais convenientes [33].

Método do equilíbrio: um grande número de sistemas de complexos atingem rapidamente o equilíbrio em temperaturas ordinárias e podem ser estudados mais convenientemente pelo método do equilíbrio. Este método pressupõe a determinação de variáveis de concentração através de propriedades coligativas ou outras propriedades físicas, tais como espectros de absorção ou medidas de condutividade, os quais dependem de variáveis intensivas de várias espécies presentes [33].

2.7 Métodos de obtenção de constantes de estabilidade

Vários métodos podem ser usados para determinação da concentração com razoável exatidão, de pelo menos uma das espécies no equilíbrio, que junto com a composição analítica da solução experimental pode levar a determinação de constantes de estabilidade [65].

Métodos para medida de constantes de estabilidade podem ser classificados de acordo com a natureza das espécies existentes, ou não, em mais de uma fase [3]. Alguns métodos utilizados na determinação de constantes de estabilidade estão citados na tabela 5.

Tabela 5: Métodos para determinação de constantes de estabilidade [65].

Potenciometria

Espectrofotometria

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Polarografia

Troca iônica

Condutividade iônica

Distribuição entre duas fases

Cinética de reação

Medidas de pressões parciais

Solubilidade

Eletroforese

Eletroforese capilar

Medidas de solubilidade de um sólido pouco solúvel em solução aquosa de um agente complexante é um dos métodos mais antigos para o estudo de equilíbrio em solução. O método tem sido aplicado ao estudo do equilíbrio em misturas de solventes aquosos-orgânicos e em sistemas saturados com respeito a líquidos ou gases pouco solúveis. Se um complexo formado em solução aquosa for eletricamente neutro, ele pode ser parcialmente extraído por um solvente orgânico imiscível. A determinação do efeito da concentração do ligante livre no equilíbrio de partição permite em princípio, o cálculo da constante de estabilidade do complexo formado na fase aquosa [37].

Estudos de absorção de radiação no visível e ultravioleta têm sido usados para obter informações sobre equilíbrios em solução. As mudanças de energia que são estudadas em diferentes regiões do espectro são de diferentes tipos: nuclear, eletrônico ou mudanças moleculares, os vários ramos da espectroscopia dão informações sobre a concentração de espécies constituintes do sistema em estudo [37]. Medidas espectrofotométricas podem ser difíceis de interpretar, já que a absorvidade molar é a soma das absorvidades molares de todas as espécies que absorvem radiação no λ usado. Porém se a adição do ligante ao íon metálico resultar em uma mudança significativa na absorvância, devido a formação de um único complexo, a concentração desta espécie pode ser determinada espectrofotometricamente e levar então a obtenção de constantes de estabilidade [3].

A polarografia [66] é usada em sistemas nos quais o íon metálico pode ser reversivelmente reduzido no eletrodo de mercúrio gotejante, mas alguns sistemas podem ser melhor estudados potenciométricamente pelo uso de eletrodo de amalgama [3]. Análises polarográficas são baseadas nas curvas características, corrente-voltagem (polarogramas) para soluções diluídas (10^{-6} a 10^{-2} M) [37]. A formação de complexo resulta em uma mudança no potencial de redução do íon para valores mais negativos, pois íons complexos resistem a redução eletrolítica mais efetivamente que íons simples [67].

O uso de troca iônica para determinação de constantes de estabilidade é mais difícil do que a distribuição entre fases líquidas,

exceto para casos especiais, onde o único cátion formado seja o íon metálico livre. A quantidade de metal sorvida na resina só pode ser obtida pela diferença entre a quantidade inicial e final em solução [3]. Pasavento e Biasuz determinaram constantes de complexação para adsorção de Cu(II) em resina IDA [27].

O método de Gulberg e Waage para determinação da constante de estabilidade de um complexo BA_n pressupõe a medida da velocidade de formação do complexo. Se uma ou mais das espécies BA_n ($n \geq 0$) ou A reagem espontaneamente permitindo uma medida da velocidade de formação do complexo, ou determinação da velocidade de decomposição do mesmo como uma função das concentrações de A e B [37], é possível chegar às constantes de estabilidade dos complexos.

Eletroforese em papel foi usada por Tewari [68] para determinação de constantes de estabilidade dos complexos formados entre os metais Fe(III) e Cr(III), e metilcisteína, através de medidas da mobilidade eletroforética.

Eletroforese capilar é um método com aplicação na determinação de constantes de estabilidade relativamente novo, como mostra Havel *et al.* [69] na determinação de constantes de estabilidade para complexos do sulfato com metais alcalinos e alcalinos terrosos. O cálculo de constantes de estabilidade envolvendo eletroforese capilar se baseia no efeito causado sobre a migração eletroforética de um íon, quando o mesmo sofre complexação.

2.7.1 Titulação potenciométrica

A potenciometria é uma das mais convenientes e úteis técnicas empregadas para a avaliação de complexos metálicos no equilíbrio. Embora medidas de concentração de íons metálicos possam ser feitas com eletrodos específicos para íons, ou com eletrodos metálicos, é usual o emprego do eletrodo de vidro de alta exatidão para medidas da concentração do íon hidrogênio em um procedimento de titulação potenciométrica. Neste procedimento, uma solução padrão de uma base é adicionada em incrementos a uma solução ácida bem caracterizada do ligante na ausência e na presença de uma conhecida concentração do íon metálico. Na maioria dos casos, o pH varia entre 2 e 12, durante tempo no qual 50-100 leituras de equilíbrio são obtidas, constituindo a curva de equilíbrio potenciométrico [65].

Uma grande vantagem do uso de medidas com eletrodos íon-seletivo, é que uma série de dados podem ser facilmente coletados através de titulações. A partir da composição analítica inicial, mudanças parciais com adições da base feitas com auxílio de uma bureta [38], permitem a determinação da atividade dos íons em solução [70].

A determinação de constantes de equilíbrio de complexos metal-ligante em meio aquoso, requer primeiro o conhecimento, com grande exatidão, do pK_w específico para a temperatura e meio iônico usado. Este valor pode ser obtido durante a calibração do eletrodo, trabalhando no intervalo de pH dentro do qual a resposta do eletrodo de vidro é rigorosamente Nernstiana. O segundo estágio é a

determinação da interação do ligante com o próton e do metal com o ânion hidroxila. Nos metais com a interação hidróxido-metal fraca, a mesma pode ser negligenciada, uma vez que o uso das constantes de hidrólise disponíveis na literatura, pode acarretar erros insignificantes de cálculo [12].

As medidas potenciométricas do íon hidrogênio podem ser empregadas para cálculo de constantes de estabilidade, quando a formação do complexo for sensível à concentração do íon hidrogênio, isto é, o grau de formação apresentar mudanças mensuráveis conforme o pH for mudado [65].

O perfil de pH obtido para o ligante sozinho é usado para calcular a constante de protonação do ligante. Um ou mais perfis de pH, quando necessário, são medidos para o sistema contendo uma ou mais razões molares de metal/ligante. Quando este é uma competição aproximada entre o número de grupos doadores efetivos do ligante e o número de coordenação (em solução) do íon metálico, uma razão molar 1:1 é usualmente suficiente. O perfil de pH assim obtido é empregado para calcular a constante de estabilidade do complexo formado em solução, como descrito por exemplo por Martell e Motekaitis, usando o programa computacional BEST [65].

O programa BEST refina constantes de estabilidade pelo ajuste iterativo não linear dos mínimos quadrados das curvas de equilíbrio através de um conjunto de equações de balanço de massa simultâneas para todos os componentes expressos em termos de constantes de equilíbrio conhecidas e desconhecidas. Com o uso apropriado do

programa é possível obter um alto grau de discriminação na seleção de espécies químicas [71].

O programa computacional BEST tem sido usado para determinação de constantes de estabilidade, através de dados obtidos das titulações potenciométricas do ligante e do ligante mais o íon metálico, em solução com força iônica constante, com um base forte; dentre os trabalhos publicados usando o referido programa estão:

- Li e Martell [71]: determinação das constantes de estabilidade de complexos formados entre íons metálicos divalentes (Pb^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} e Pb^{2+}) e os trivalentes (Ga^{3+} , In^{3+} e Al^{3+}) com 2-mercaptoetilamina (MEA),
- Chen *et al.* [72]: determinação das constantes de equilíbrio para a formação de complexos entre Fe(III) e sorbitol,
- Inoue *et al.* [73]: determinação das constantes de estabilidade de complexos formados entre o dissociado ácido epigallocatequina galato e Al^{3+} ,
- Gholivand *et al.* [74]: determinaram a constante de equilíbrio para os complexos formados entre Xylenol orange e íons alcalinos terrosos (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} e Ba^{2+}) e o Al^{3+} .

2.7.2 Método Scatchard

Existem vários caminhos para linearizar dados que fornecem a relação entre quantidades de uma dada substância combinada e livre em solução, os diagramas Scatchard (mais precisamente atribuído a

Rosenthal) são freqüentemente usados para este fim [75]. Um gráfico de $[PA]/[A]$ (concentração do componente A ligado sobre concentração do componente A livre) versus $[PA]$, terá uma inclinação de $-K$ (constante de equilíbrio do complexo formado PA) e é chamado diagrama de Scatchard [22]. Como mostra a Figura 1:

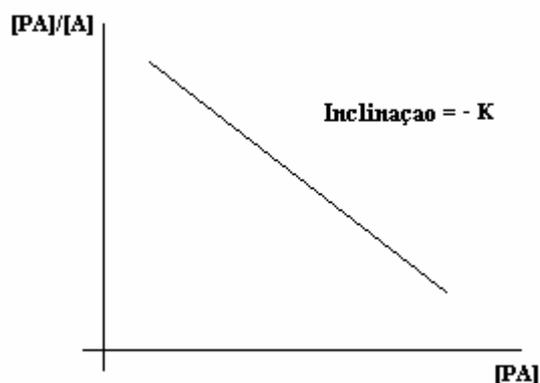


Figura 1: Gráfico de Scatchard

Abate e Masini [76, 77] usando o diagrama Scatchard determinaram as constantes de estabilidade de complexos formados entre ácidos húmicos e os metais: cobre, chumbo, cádmio e zinco.

O método Scatchard tem sido usado por vários pesquisadores para determinação de constantes de estabilidade de complexos formados entre Cu^{2+} e diferentes ligantes [78, 79, 80 e 81].

Embora o diagrama de Scatchard seja muito útil para visualização dos dados, não é o caminho mais exato para análise de dados. O problema é que a transformação linear distorce os erros experimentais [75].

2.7.3 Cálculos de constante de estabilidade

Se o sistema puder ser descrito por somente um ou dois parâmetros, métodos gráficos podem ser usados no cálculo de constantes de estabilidade. Métodos gráficos são de dois tipos principais [3]:

- 1) Método linear: até dois parâmetros podem ser obtidos de um único gráfico. O valor médio de β pode ser encontrado convenientemente a partir do gráfico linear $\log [\alpha/(\alpha-1)]$ versus $\log a$, que fornece uma linha reta de intercepção $\log \beta$.
- 2) Método de ajuste de curva: usualmente baseado no gráfico semi-logarítmico envolvendo uma variável normalizada. Se um único complexo for formado, a curva n e $\log a$ (α) é de forma única. O valor de β pode ser obtido por combinação de pontos experimentais com a curva teórica n e $\log a$ (α) [3, 37].

Onde: n = número médio do ligante complexado

a = concentração do ligante livre no equilíbrio

α = fração do metal complexado

O desenvolvimento de métodos computacionais para processamento de dados de equilíbrio, provendo mais exatidão e rapidez nos cálculos de constantes de estabilidade, representou um grande avanço nesta área. Constantes de estabilidade podem ser usadas, com a ajuda de programas computacionais apropriados para elucidação de espécies moleculares e iônicas presentes em meios biológicos e sistemas ambientais [65].

Muitos programas computacionais para cálculo de constantes de estabilidades são usados e citados na literatura, como SPECFIT 209 V [82], Hyperquad [55], CELET [69], BEST [83] e PSEQUAD [84]. O programa BEST é um programa computacional FORTRAN para computação de dados das curvas de titulação potenciométrica. Devido a ser interativo ele é uma ferramenta poderosa para computação de constantes de estabilidade com algum grau prático de complexidade. Nesta consideração o BEST é usado para minimizar o desvio padrão do ajuste (σ - sigfit), entre os valores de pH observados e calculados de toda a curva de titulação. Esta minimização é executada manualmente ou com variação automática da constante de estabilidade selecionada. O refinamento de constantes de estabilidade é um processo por meio do qual o computador ajusta um parâmetro ou alguns parâmetros com um algoritmo programado com o propósito de obter o melhor ajuste possível dos mínimos quadrados entre os dados observados e os dados obtidos. A boa qualidade do ajuste é medida por σ_{fit} que é uma medida da soma ponderada do quadrado da diferença entre $\text{pH}_{\text{obs}} - \text{pH}_{\text{calc}}$ e o objetivo é minimizar σ_{fit} através do refinamento dos parâmetros [65].

$$\sigma_{\text{fit}} = \left(\frac{\sum w(\text{pH}_{\text{obs}} - \text{pH}_{\text{calc}})^2}{\sum w} \right)^{\frac{1}{2}}$$

onde: w = fator ponderante, dado pela equação,

$$w = \left(\frac{1}{(\text{pH}_{i+1} - \text{pH}_{i-1})^2} \right)$$

i- número do componente da titulação.

O programa computacional BEST foi usado no presente trabalho para tratamento dos dados obtidos experimentalmente através de titulações potenciométricas de soluções do ligante e soluções do ligante mais o metal, com o objetivo de obter as constantes de estabilidade dos complexos formados em solução aquosa.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Instrumentação

- Espectrofotômetro Hewlett Packard 8453 (Hewlett Packard, Waldbronn, Alemanha);
- Espectrômetro de absorção atômica com atomizador por chama e com atomizador eletrotérmico em forno de grafite, SPECTRAA-200 (Varian, Melbourne, Austrália);
- Potenciômetro Digital Corning 320 com eletrodo de vidro combinado (UK);
- Célula para titulação potenciométrica de acrílico com tampa de nylon (Santa Maria, Brasil);
- Banho termostático Julabo U3 (25 – 37 °C) (Alemanha);
- Dosimat 665 com teclado para programação (Metrohm, Suíça);
- Câmara de fluxo laminar Trox do Brasil, classe 100;
- Polarógrafo processador 646 VA (Metrohm) com trocador de amostras 675 (Metrohm).

3.2 Reagentes e Soluções

Utilizou-se água destilada, deionizada e posteriormente purificada em um sistema Milli-Q (resistividade de 18,2 MΩ cm) no preparo de todas as soluções.

Todos os reagentes empregados neste trabalho foram de grau analítico da Merck, Sigma, Vetec ou Aldrich, e estão listados abaixo:

- L-cistina (Aldrich Chemical Company, Inc.)
- L-cisteína (Aldrich Chemical Company, Inc.)
- Cloridrato de L-ornitina (Vetec Química Fina Ltda., Rio de Janeiro)
- L-lisina monohidrocloreto (Aldrich Chemical Company, Inc.)
- Resina trocadora de cations fortemente ácida (E. Merck, Darmstadt)
- Titrisol KOH 0,1 N (E. Merck, Darmstadt)
- AlCl₃ anidro (Merck, Schuchardt)
- HCl (Vetec Química Fina Ltda., Rio de Janeiro)
- KCl (E. Merck, Darmstadt)
- NaCl (E. Merck, Darmstadt)
- Al(NO₃)₃.9H₂O (E. Merck, Darmstadt)
- Solução Al(NO₃)₃ (padrão Merck)
- CH₃COOH (E. Merck, Darmstadt)
- Ácido oxálico (E. Merck, Darmstadt)
- Ácido fluorídrico (E. Merck, Darmstadt)

Neste trabalho, toda a preparação para os ensaios realizados foi feita seguindo descrições de publicações na área, desde a calibração do sistema de titulação potenciométrica [65], preparo das resinas e descontaminação do material [85].

3.3 Cuidados com a contaminação

Em todas as etapas deste trabalho, foi utilizado apenas material plástico (polietileno, polipropileno e acrílico), a fim de evitar contaminação com Al proveniente do vidro, que apresenta em sua composição óxido de alumínio.

Todo o material utilizado foi armazenado em solução descontaminante (HNO_3 10,0% em etanol), num tempo mínimo de 48 horas antes do uso. Após este tempo, o material foi lavado com água Milli-Q em abundância, estando assim pronto para o uso.

Sempre que necessário, foi usada a câmara de fluxo laminar, que foi ligada, pelo menos meia hora antes do início dos trabalhos.

3.4 Titulação complexométrica

Com o propósito de observar a interação entre o alumínio e os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina, foram feitas titulações complexométricas usando pHmetro com eletrodo de vidro combinado, sistema termostatizado a 25 °C e desaeração com nitrogênio puro, para

titulações de 30 mL de solução de cisteína 3,3 mM e de cistina 0,139 mM, separadamente, com solução de AlCl₃ (anidro) 10,0 mM e titulações de 20,0 mL de soluções de ornitina e lisina 50,0 mM, separadamente, com AlCl₃ (anidro) 100,0 mM.

3.5 Determinação das constantes de estabilidade

A determinação da constante de estabilidade foi feita usando dois métodos: o potenciométrico e resina de troca iônica.

3.5.1 Titulação potenciométrica

Todas as titulações e calibrações para medidas potenciométricas foram realizadas em uma célula (Figura 2) de acrílico de parede dupla termostaticada ($25,0 \pm 0,1$ °C), com capacidade de 80 mL, em atmosfera inerte (N₂), com força iônica constante (KCl em concentrações variáveis, dependendo da concentração do aminoácido). O sistema era fechado com uma tampa de nylon com 4 orifícios, sendo um para colocação do eletrodo de vidro combinado, um para o borbulhamento de gás inerte, um para introdução da bureta automática e o último para saída do N₂. O sistema foi mantido sob agitação magnética desaerando por 15 minutos antes do início e durante toda a titulação. Os incrementos do titulante variaram de 0,01 mL no início da titulação, até 0,5 mL no seu final e foram feitas através de uma

bureta automática de pistão Dosimat. Todas as titulações potenciométricas foram feitas em triplicata, e a média usada para calcular as constantes de estabilidade dos complexos formados, com o programa computacional BEST (MS DOS disquete) [65]. No total foram feitos três cálculos para cada aminoácido estudado, sendo que em cada cálculo foi usada a média de três titulações.

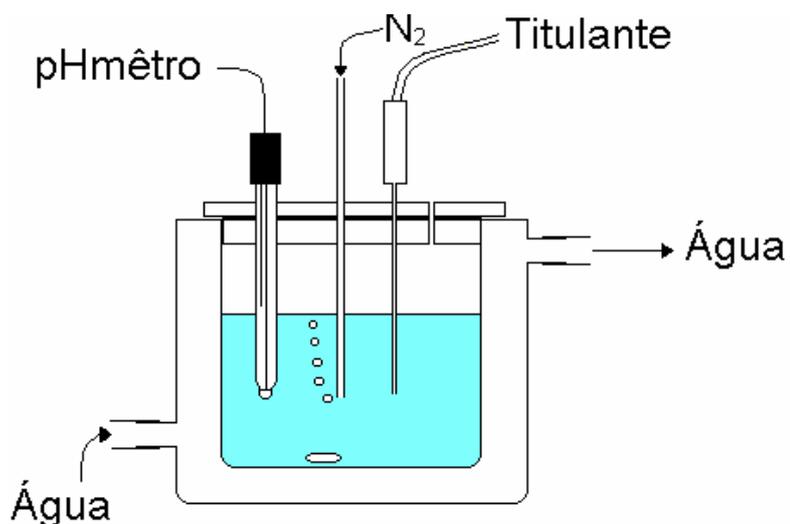


Figura 2: Sistema de titulação potenciométrica.

3.5.1.1 Calibração do sistema potenciométrico

O sistema eletrodo e pHmetro foi inicialmente calibrado usando soluções tampão Merck com pHs 4,0 e 7,0 e solução tampão Kolthoff pH 10,0.

A calibração foi feita em termos de pH para pHmêtro e eletrodo usando 22 mL de uma solução de HCl 45,0 mM e KCl 91,0 mM, com

solução de KOH 93,0 mM. O método Gran foi aplicado para avaliar o grau de contaminação por carbonato das soluções de KOH.

O produto iônico da água foi determinado usando o programa BEST, aplicado a titulação de 30 mL de solução de ácido acético 10,0 mM, no meio iônico usado para a obtenção das constantes de estabilidade, ou seja, 0,01, 0,091 e 0,1 M com KCl, separadamente, com KOH 10,0 mM.

3.5.1.2 Sistema alumínio/cisteína

Para verificação da proporção metal-ligante, no complexo formado, foram feitas titulações de soluções de cisteína-alumínio, nas proporções de (1:1) e (2:1). Para tal, foram titulados 20 mL de solução de cisteína 1,0 mM e 1,0 mM de AlCl_3 com KOH 5,0 mM e solução de cisteína 2,0 mM e 1,0 mM de AlCl_3 (anidro) com KOH 5,0 mM. A força iônica do meio foi mantida em 0,005 M com KCl.

Para determinação das constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cisteína, foram titulados 20,0 mL e 30,0 mL, separadamente, de solução de cisteína 8,1 mM na ausência e presença de solução de AlCl_3 (anidro) 8,1 mM com KOH 10,0 mM e 87,0 mM respectivamente; a força iônica do meio foi mantida em 0,1 M com KCl.

3.5.1.3 Sistema alumínio/cistina

Para verificação da proporção metal-ligante, no complexo formado, foram feitas titulações de soluções de cistina-alumínio, nas proporções de (1:1) e (2:1), para tal, foram titulados 20 mL de solução de cistina 0,39 mM e 0,39 mM de AlCl_3 com KOH 87,0 mM e de solução de cistina 0,39 mM e 0,2 mM de AlCl_3 (anidro) com KOH 87,0 mM. A força iônica do meio foi mantida em 0,005 M com KCl.

Para determinação das constantes de estabilidade dos complexos alumínio-cistina, foram titulados 20,0 mL de solução de cistina 0,353 mM na ausência e presença de solução de AlCl_3 (anidro) 0,360 mM com KOH 10,0 mM; a força iônica do meio foi mantida em 0,01 M com KCl.

3.5.1.4 Sistema alumínio/ornitina

Para verificação da proporção metal-ligante, no complexo formado, foram feitas titulações de soluções de ornitina-alumínio, nas proporções de (1:1) e (2:1), para tal, foram titulados 22 mL de solução de ornitina 18,2 mM e 18,2 mM de AlCl_3 (anidro) com KOH 87,0 mM e de solução de ornitina 36,0 mM e 18,2 mM de AlCl_3 (anidro) com KOH 87,0 mM. A força iônica do meio foi mantida em 0,09 M com KCl.

Para determinação das constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e ornitina, foram titulados 22,0

mL de solução de ornitina 18,2; 45,0 e 9,1 mM na ausência e presença de solução de AlCl_3 (anidro) 18,2; 45,0 e 18,2 mM, respectivamente, com KOH 85,0 mM, a força iônica do meio foi mantida em 0,091 M com KCl.

3.5.1.5 Sistema alumínio/lisina

Para verificação da proporção metal-ligante, no complexo formado, foram feitas titulações de soluções de lisina-alumínio, nas proporções de (1:1) e (2:1), para tal, foram titulados 22 mL de solução de lisina 10,0 mM e 10,0 mM de AlCl_3 com KOH 87,0 mM e de solução de lisina 20,0 mM e 10,0 mM de AlCl_3 (anidro) com KOH 100,0 mM. A força iônica do meio foi mantida em 0,1 M com KCl.

Para determinação da constante de estabilidade do complexo alumínio-lisina, foram titulados 20,0 mL de solução de lisina 10,0 mM na ausência e presença de solução de AlCl_3 (anidro) 10,0 mM, com KOH 100,0 mM, a força iônica do meio foi mantida em 0,1 M com KCl.

Os dados das titulações potenciométricas feitas para verificação da proporção ligante:metal nos complexos formados entre os quatro aminoácidos em estudo e o alumínio, estão resumidos na tabela 6.

Tabela 6: Dados das titulações potenciométricas para verificação da relação metal:ligante predominante.

Ligante (L)	Conc. ligante (mM)	Conc. metal (mM)	Proporção molar (L:M)	Força iônica (M)	Conc. KOH (mM)
Cisteína	1,00	1,00	1:1	0,005	5,0
Cisteína	2,00	1,00	2:1	0,005	5,0
Cistina	0,39	0,39	1:1	0,005	87,0
Cistina	0,39	0,20	2:1	0,005	87,0
Ornitina	18,20	18,20	1:1	0,090	87,0
Ornitina	36,00	18,20	2:1	0,090	87,0
Lisina	10,00	10,00	1:1	0,100	100,0
Lisina	20,00	10,00	2:1	0,100	100,0

3.6 Estudo da interação do alumínio com os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina através do uso de resina catiônica

O estudo foi feito em batelada, e consistiu em colocar uma certa quantidade da resina catiônica de interesse em contato com a solução em estudo, sob agitação mecânica na temperatura ambiente.

3.6.1 Preparo das resinas catiônicas

Antes do preparo das resinas, as mesmas foram descontaminadas com solução alcoólica de HNO_3 10% (v/v), conforme descrito no item 3.3.

Resina catiônica na forma H^+ : 5 g de resina descontaminada foram condicionados, em coluna, com 500 mL de solução de HCl 0,5 M, numa vazão de 2 mL/min. Após a resina foi lavada com água Milli-Q até que o efluente da coluna apresentasse pH em torno de 5,0.

Resina catiônica na forma Na^+ : 5 g de resina descontaminada foram condicionados, em coluna, com 500 mL de solução de NaCl 1,0 M, numa vazão de 2 mL/min. Após a resina foi lavada com água Milli-Q até o descarte da coluna não acusar precipitação com solução de AgNO_3 .

Resina catiônica na forma Al^{3+} : 5 g de resina descontaminada foram condicionadas, em coluna, com 500 mL de solução de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 0,5 M, numa vazão de 2 mL/min. Após a resina foi lavada com água Milli-Q até o descarte da coluna não acusar a presença de alumínio por reação com cromasuro S.

3.6.2 Determinação da capacidade de troca da resina

Porções de 0,15 g de resina catiônica na forma H^+ , foram colocadas em contato com soluções (100 mL) de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ de 0,055 a 8,76 mM. Após 135 minutos de contato resina-solução, alíquotas de

aproximadamente 3 mL foram retiradas das soluções em equilíbrio com a resina, amostras estas que foram analisadas usando AAS com atomização por chama para determinação da concentração de alumínio.

3.6.3 Interação do alumínio em solução com cisteína e cistina na presença de resina catiônica nas formas H^+ e Na^+

Porções de 0,15 g de resina catiônica nas formas H^+ e Na^+ , foram colocadas em contato com 100 mL de água ou de solução de $Al(NO_3)_3$ (0,11 mM), contendo ou não cisteína (500 mM). Após tempos de contato pré-estabelecidos (resina-solução), alíquotas de aproximadamente 3 mL foram retiradas das soluções em equilíbrio com a resina, amostras estas que foram analisadas usando AAS com atomização por chama para determinação da concentração de alumínio e concomitantemente foram feitas medidas de pH.

3.6.4 Interação dos aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina com resina na forma Al^{3+}

Porções de 0,15 g de resina catiônica na forma Al^{3+} , foram colocadas em contato com 200 mL de água ou de solução dos aminoácidos (cisteína ou cistina 0,39 mM), separadamente. Após tempos de contato pré-estabelecidos (resina-solução), alíquotas de

aproximadamente 3 mL foram retiradas das soluções em equilíbrio com a resina, amostras estas que foram analisadas usando AAS com atomização eletrotérmica em forno de grafite para determinação da concentração de alumínio.

Porções de 0,15 g de resina catiônica na forma Al^{3+} , foram colocadas em contato com 100 mL de solução de cisteína, cistina (em meio ácido, HCl, suficiente para dissolver o aminoácido), ornitina e lisina nas concentrações de 0 a 70 mM, separadamente. Após tempos de contato pré-estabelecidos (resina-solução), alíquotas de aproximadamente 3 mL foram retiradas das soluções em equilíbrio com a resina, amostras estas que foram analisadas usando AAS com atomização por chama para determinação da concentração de alumínio.

Para fins comparativos os mesmos ensaios foram feitos com solução de ácido oxálico e ácido fluorídrico.

3.6.5 Avaliação das constantes de estabilidade dos complexo Al-cisteína e Al-cistina através do método Scatchard

Este estudo foi feito em batelada, para determinação da constante de estabilidade usando os dados obtidos por AAS para determinação da concentração de alumínio em solução contendo aminoácido, em equilíbrio com resina catiônica na forma Al^{3+} , o método Scatchard [75] foi usado para tratamento dos dados.

3.6.5.1 Avaliação da constante de estabilidade do complexo Al-cisteína

Para determinação das constantes de estabilidade dos complexos formados entre Al-cisteína, porções de 0,1 g de resina catiônica na forma Al^{3+} , foram colocadas em contato com 50 mL de água ou de solução de cisteína com concentração entre 5,0 e 80,0 mM, separadamente, sob agitação mecânica. Após tempos de contato pré-estabelecidos, alíquotas da solução em equilíbrio com a resina foram retiradas e analisadas usando AAS com atomização por chama para determinação da concentração de alumínio.

3.6.5.2 Avaliação da constante de estabilidade do complexo Al-cistina

Para determinação das constantes de estabilidade dos complexos formados entre Al-cistina, usando o método scatchard, foi preparada uma solução de cistina 250 mM em HCl 820 mM. A partir de diluições desta solução mãe, foram obtidas soluções de cistina com concentrações entre 10,0 e 70,0 mM (32,8 a 262 mM de HCl). Soluções estas (50 mL) que foram colocadas em contato com porções de 0,1 g de resina catiônica na forma Al^{3+} . Para efeitos de comparação, uma solução de HCl 820 mM, foi diluída para dar soluções com as mesmas concentrações usadas nas soluções com cistina (de 32,8 a 262 mM). Ambos os conjuntos de soluções

permaneceram sob agitação mecânica. Após tempos de contato pré-estabelecidos (resina-solução), aliquotas das soluções em equilíbrio com a resina foram retiradas e analisadas usando AAS com atomização por chama para determinação da concentração de alumínio. Os valores obtidos de concentração de alumínio em solução, para o conjunto contendo só HCl, foram descontados daqueles obtidos com cistina, para as mesmas concentrações de HCl.

3.7 Estudo da interação do alumínio com os aminoácidos cisteína e cistina por polarografia

As medidas polarográficas foram feitas usando polarografia de onda quadrada no modo de operação com eletrodo gotejante de mercúrio (DME) como eletrodo de trabalho, o eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl 3 M), o eletrodo auxiliar de Pt, amplitude de pulso de 50 mV, tempo de gota 600 ms, velocidade de varredura de 10 mV/s, faixa de varredura potenciais de -100 a - 500 mV, soluções de KCl 0,1 M como eletrólito suporte, pH ~ 5, soluções de cisteína (0,0098 a 0,0392 mM) ou cistina (0,0416 a 0,125 mM) e solução de AlCl₃ (anidro) (0,0098 a 0,248 mM).

3.8 Avaliação da estabilidade da cisteína em soluções aquosas

Com o objetivo de observar se ocorre a decomposição da cisteína em solução aquosa com o tempo, à temperatura ambiente, foram feitas medidas espectrofotométricas de absorção molecular na região UV-visível (200 – 700 nm), usando solução de DTNB (0,25 % m/v) em solução tampão fosfato a pH 8,0.

Inicialmente foram preparadas solução aquosas de diferentes concentrações de cisteína (0,165 e 0,083 mM), para verificar a resposta a absorção molecular frente a variação da concentração da cisteína com DTNB.

As soluções para avaliação da estabilidade da cisteína, foram preparadas com concentração de 0,165 mM em 25 mL de tampão fosfato a pH 8,0 com 1 mL de solução DTNB. As medidas espectrofotométricas foram feitas após 0, 9, 35 e 44 dias do preparo das mesmas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da constatação da contaminação pelo alumínio das soluções de NP, passou-se a investigar com mais profundidade a interação existente entre alguns aminoácidos, que compõem estas soluções, e o alumínio. Bohrer *et al.* [85], observaram que o alumínio existente no vidro é extraído por soluções contendo alguns aminoácidos, entre eles ornitina e lisina. Os autores, em um outro estudo, observaram que os aminoácidos são também capazes de extrair o Al presente em uma resina catiônica contendo o Al como contra íon [20]. Dentre os aminoácidos estudados, os 20 necessários a manutenção da vida para os seres humanos, os que extraíram quantidades elevadas de Al foram: ornitina, lisina, cistina e cisteína [86].

Desta forma, a proposta deste trabalho foi um estudo mais aprofundado da interação entre estes aminoácidos e o Al através de determinação das constantes de estabilidade.

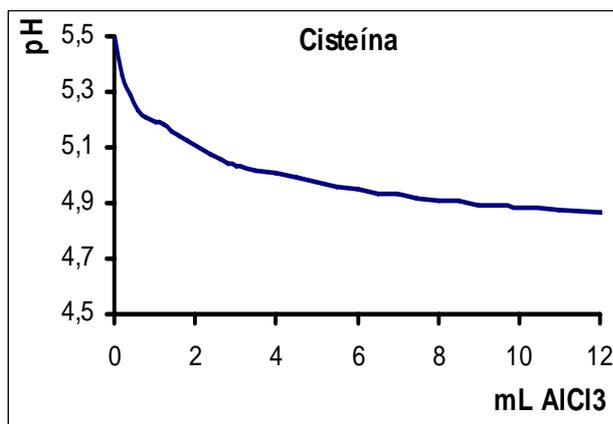
Na primeira parte do presente trabalho, obteve-se os valores das constantes de estabilidade dos complexos formados entre os 4 aminoácidos estudados e o alumínio, usando dados de titulação potenciométrica, e na segunda parte, foi estudada a interação entre alumínio e os aminoácidos cisteína e cistina usando resinas catiônicas e polarografia.

4.1 Titulação complexométrica

A titulação com formação de complexos ou complexometria se baseia em reações envolvendo um íon metálico e um agente complexante, com formação de um complexo. A variação da concentração do metal em solução em torno do ponto de equivalência é tão acentuada quanto maior a constante de estabilidade do complexo formado [87].

Segundo Li e Doody [40], o formato da curva de titulação complexométrica, indica a intensidade da interação metal-ligante, ou seja, a estabilidade dos complexos formados. Quando não há quebra na curva de titulação, há a formação de complexos de menor estabilidade. Para observar o efeito descrito acima, foram feitas titulações potenciométricas de soluções dos ligantes (cisteína, cistina, ornitina e lisina), separadamente, com o íon metálico (Al^{3+}), as curvas obtidas estão representadas nas Figuras 3 e 4.

(A)



(B)

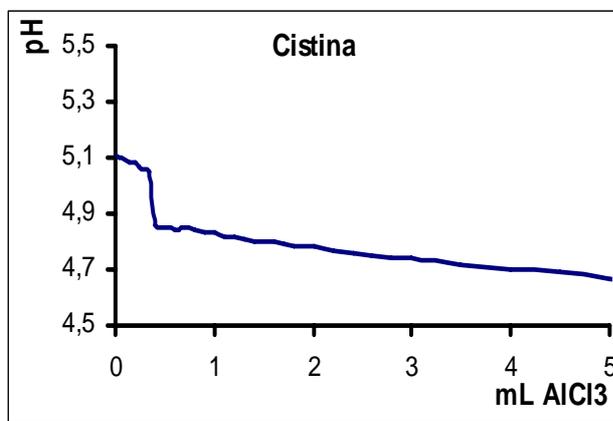


Figura 3: pH versus volume de AlCl₃ 10,0 mM, na titulação de 30 mL de solução (A) 3,3 mM de cisteína e (B) 0,139 mM de cistina, separadamente.

Para a titulação complexométrica da solução de cisteína, a proporção metal-ligante de 1:1 é atingida com 10 mL adicionados de solução de AlCl₃. Para a solução contendo cistina, a mesma proporção metal-ligante é alcançada com um gasto de 0,4 mL de AlCl₃.

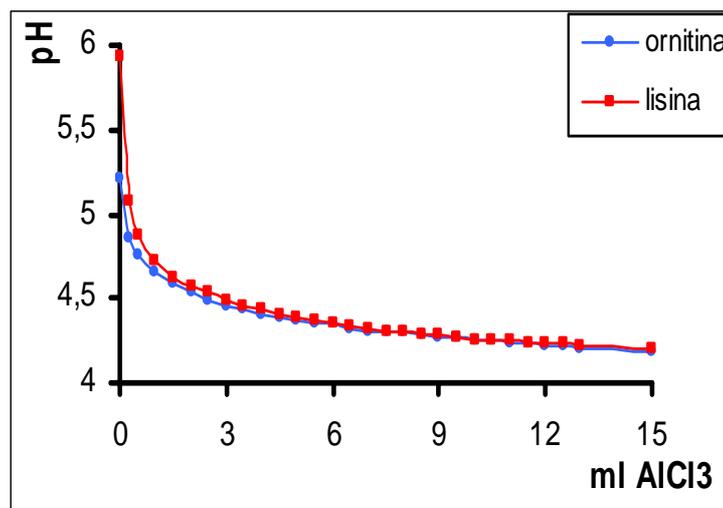


Figura 4: pH versus volume de AlCl₃ 100,0 mM, na titulação de 20 mL de solução 50,0 mM de ornitina e lisina, separadamente.

Para soluções de ornitina e lisina, separadamente, a equivalência de 1:1 entre metal e ligante é obtida quando 10 mL de solução de AlCl₃ são adicionados à solução.

O gráfico para titulação complexométrica da solução de cistina mostra claramente um salto de pH quando a proporção metal ligante 1:1 foi atingida. Para os outros aminoácidos, só pode ser observado pelo formato da curva de titulação, que a interação metal e ligante não foi muito forte [40].

4.2 Determinação das constantes de estabilidade

Para determinação das constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina, foi usado o método potenciométrico e para a cisteína e cistina foi usado também o método Scatchard.

- Método potenciométrico: obtenção dos dados de titulação potenciométrica de soluções do ligante e do ligante mais metal com uma solução alcalina. Posterior tratamento dos dados usando o programa computacional BEST, próprio para cálculos de constantes de estabilidade.
- Método de Scatchard, obtenção de dados de equilíbrio entre uma solução contendo o aminoácido (cisteína e cistina) e resinas catiônicas na forma Al^{3+} , seguido da determinação do alumínio extraído da resina pelo aminoácido. [64].

4.2.1 Determinação das constantes de estabilidade Al-aminoácido por titulação potenciométrica

4.2.1.1 Calibração do sistema potenciométrico

Antes de cada conjunto de titulações potenciométricas, o sistema eletrodo-pHmêtro era calibrado. O método Gran era aplicado para determinação da contaminação por carbonato das soluções de KOH, como está mostrado no apêndice A, conforme descrito por

Martell e Motekaitis [65]. As soluções de KOH preparadas usando água purificada pelo sistema Milli-Q, se mostraram isentas de CO₂. O CO₂ absorvido em soluções de KOH pode formar carbonato de potássio [88], interferindo nos resultados das titulações potenciométricas.

O procedimento conhecido como calibração interna, foi usado para determinação do produto iônico da água [43]. Ele consiste basicamente na titulação de um ácido fraco com uma base forte no meio iônico considerado, as constantes de protonação do ácido fraco sendo conhecidas, o produto iônico da água pôde ser determinado usando programas computacionais apropriados (BEST) para a titulação potenciométrica.

Com o uso dos dados da titulação potenciométrica de soluções de ácido acético com as soluções de KOH, foram obtidos os pK_w, para diferentes valores de força iônica da solução (0,01; 0,091 e 0,1 M), os valores obtidos estão na tabela 7:

Tabela 7: Produto iônico da água obtido experimentalmente e o calculado, para diferentes meios iônicos.

Força iônica (M)	pK _w (exp.)	pK _w (calc.)
0,010	-14,20	-14,09
0,091	-14,23	-14,22
0,100	-14,28	-14,23

pK_w(calc) usando $K_w = C_{H^+} \cdot C_{OH^-} \cdot \delta_{\pm}^2$ (apêndice E)

Os valores de pK_w foram confirmados, para cada ligante, no refinamento de suas constantes de protonação.

4.2.1.2 Estudo da proporção metal:ligante

Uma ou mais curvas de pH, quando necessário, devem ser obtidas para sistemas contendo uma ou mais relação molar do metal-ligante. Quando existir uma igualdade aproximada entre o número efetivo de grupos doadores do ligante e o número de coordenação do íon metálico em solução, uma relação molar (1:1) é suficiente [65]. O íon Al^{3+} geralmente apresenta número de coordenação 6 [10], desta forma, é esperado que coordene com os ligantes em estudo nas relações ligante:metal de 1:1 ou 2:1, visto que os ligante cisteína, cistina, ornitina e lisina, de acordo com o número de hidrogênios ionizáveis, apresentam 3, 4, 3 e 3 sítios de ligação, respectivamente [21].

As curvas de pH versus **a** (mols da base/mol do ligante) e versus **m** (mols da base/mol do íon metálico) obtidos para relações molares de 1:1 e 2:1 ligante:metal dos sistemas contendo cisteína, cistina, ornitina e lisina com alumínio, estão apresentados nas Figuras 5, 6, 7 e 8, respectivamente.

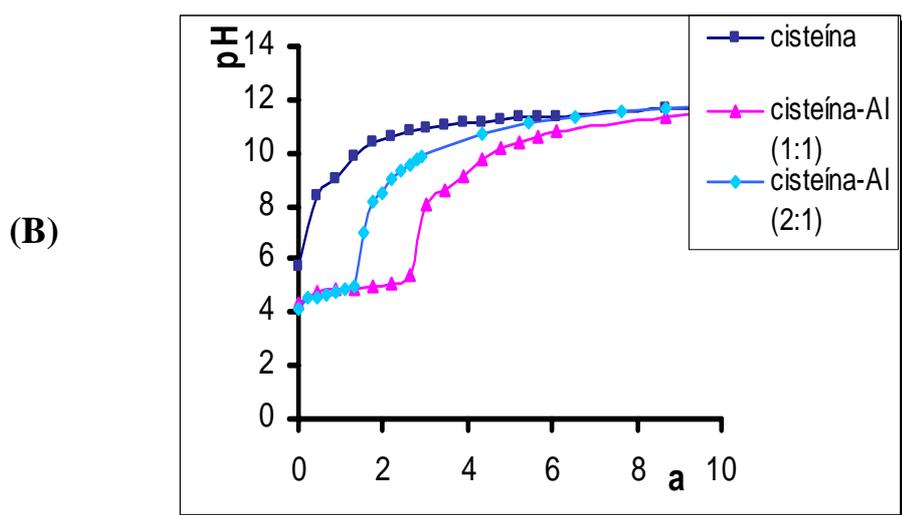
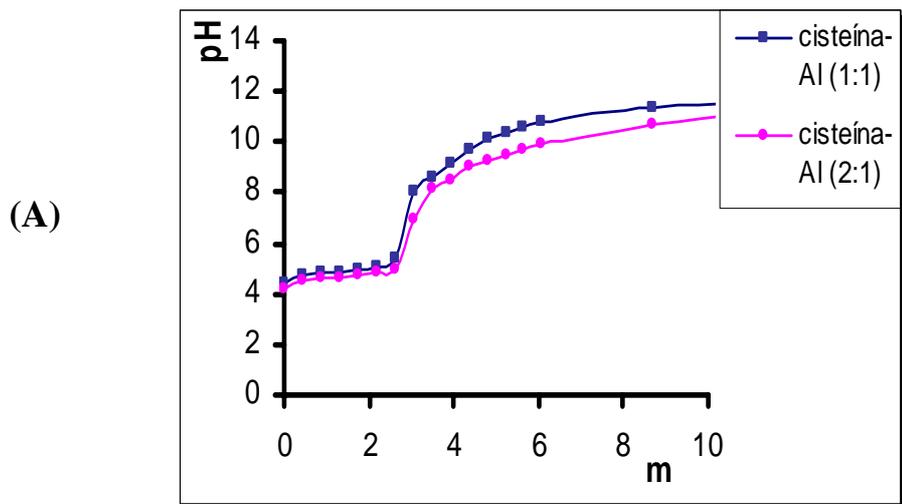


Figura 5: Curvas de titulação potenciométrica com KOH de soluções de cisteína e cisteína-Al nas proporções de 1:1 e 2:1, A) pH versus m e B) pH versus a .

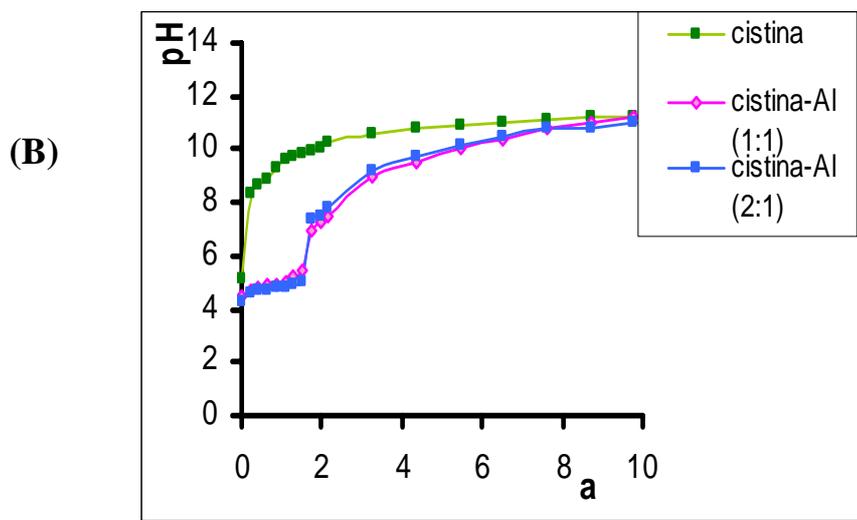
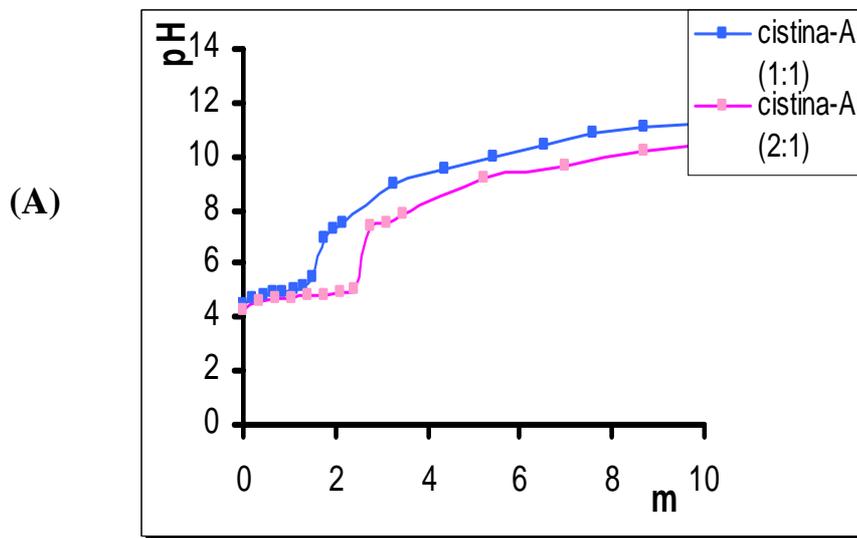


Figura 6: Curvas de titulação potenciométrica com KOH de soluções de cistina e cistina-Al nas proporções de 1:1 e 2:1, A) pH versus m e B) pH versus a.

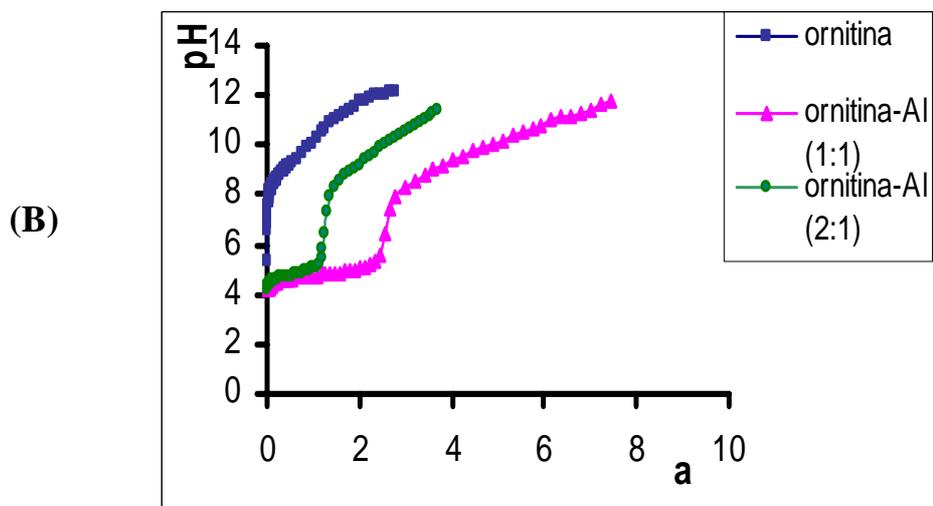
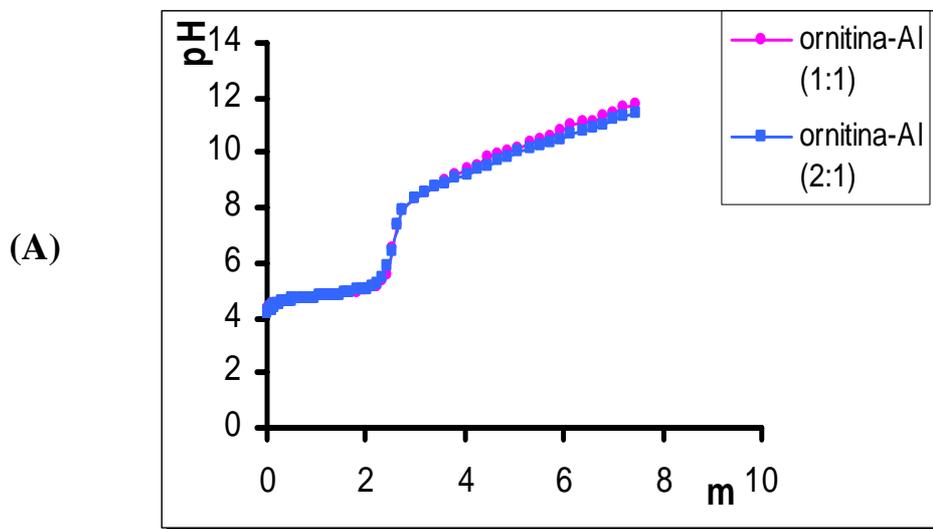


Figura 7: Curvas de titulação potenciométrica com KOH de soluções de ornitina e ornitina-Al nas proporções de 1:1 e 2:1, A) pH versus m e B) pH versus a .

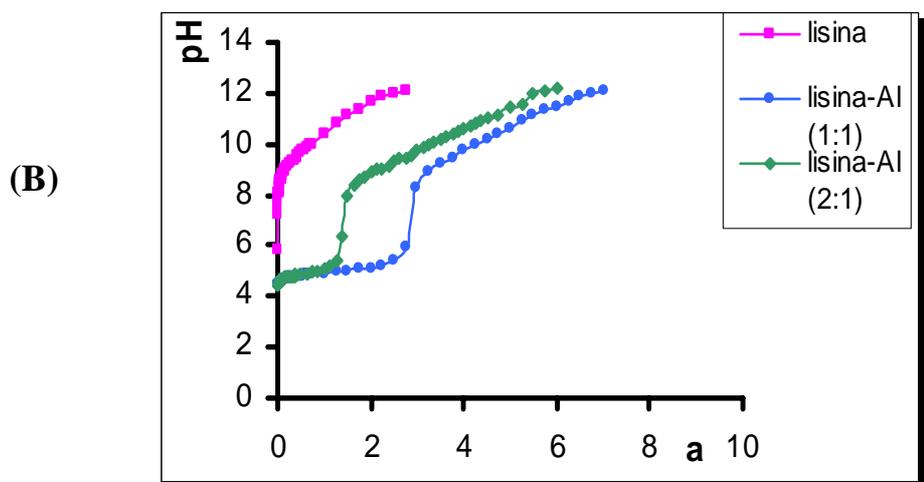
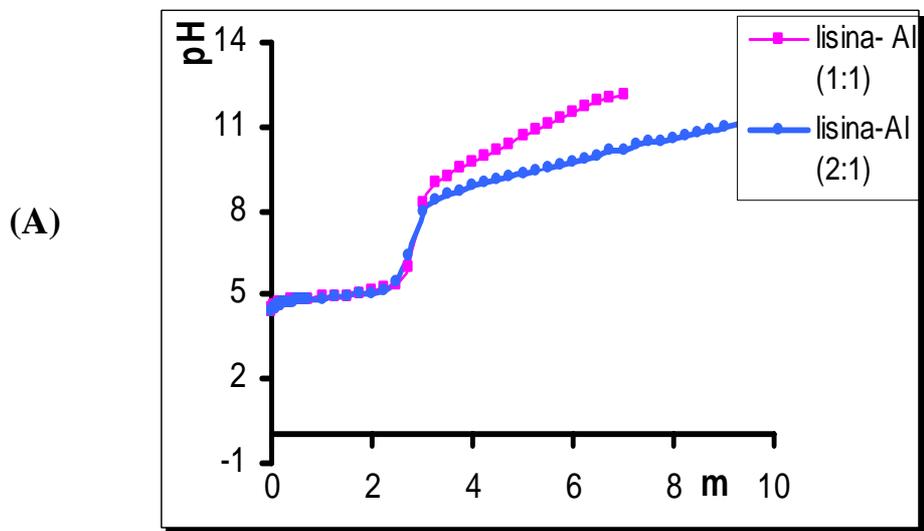


Figura 8: Curvas de titulação potenciométrica com KOH de soluções de lisina e lisina-Al nas proporções de 1:1 e 2:1, A) pH versus m e B) pH versus a .

Através dos diagramas obtidos se chegou a razão predominante ligante:metal em solução como sendo 1:1, independente do ligante usado na obtenção das curvas.

$$\frac{a}{m} \cong 1 \quad \text{mols do ligante/mols do metal} \approx 1$$

Esta observação foi obtida através do cálculo da relação mols de ligante/mols do metal, a partir dos dados referentes ao ponto de equivalência das curvas de titulação, indicando que no ponto de equivalência ocorre coordenação entre 1 mol de ligante com 1 mol de metal.

A partir de então se adotou no cálculo das constantes a proporção 1:1 metal-ligante, para todas as titulações dos aminoácidos em estudo.

Pelo aspecto das curvas de titulação apresentada para os 4 aminoácidos, pode-se constatar que, de acordo com Martell e Motekaitis [65], a reação de complexação entre o aminoácido e alumínio se completa em soluções com pH abaixo do pH de hidrólise do aquo íon, $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ ($\text{pK}_1 = 5,3$), pois para os quatro sistemas em estudo, não existe coincidência entre a curva de titulação da solução do ligante puro e a curva de titulação da solução do ligante mais o metal. A curva de titulação do ligante mais o metal parte de pH inferior a 5,0.

Com o objetivo de minimizar erros sistemáticos devido a alterações nos coeficientes de atividade como resultado de pequenas mudanças nas condições experimentais, constantes de protonação dos ligantes usadas como referência no cálculo das constantes de formação

dos complexos foram redeterminadas sob condições idênticas às da formação dos complexos.

O programa computacional BEST foi usado para refinar constantes de formação estimadas e desconhecidas de prováveis complexos presentes em solução. Nos cálculos das constantes de estabilidade dos complexos em solução, foram usadas as constantes de hidrólise do alumínio, os valores estão na tabela 8.

Tabela 8: Constantes de hidrólise do alumínio ($\log \beta'$) [61].

	$\log \beta'$
AlOH^{2+}	- 5,33
Al(OH)_2^+	-10,41
Al(OH)_3	-29,92
Al(OH)_4^-	-23,46
$\text{Al}_3(\text{OH})_4$	-13,13

4.2.1.3 Determinação das constantes de estabilidade dos complexos cisteína-alumínio

Cisteína com três prótons ionizáveis é propensa naturalmente a formação de complexos protonados. Além disso, o tamanho do átomo de enxofre facilita a formação de complexos polinucleares [43].

Após a calibração do sistema de titulação potenciométrica, foi feita a determinação do valor de pK_w na condições experimentais adotadas, bem com a determinação experimental das constantes de

protonação da cisteína, conforme descrito por Martell [65]. O diagrama de equilíbrio das espécies presentes na solução titulada de cisteína (8,1 mM) em KCl 0,1 M está mostrado no apêndice D. Os valores obtidos para as constantes de protonação da cisteína ($\log \beta$) bem como os valores tabelados ($\log \beta^*$), estão listados na tabela 9.

Tabela 9: Constantes de protonação da cisteína ($\log \beta$).

Espécie	$\log \beta$	$\log \beta^*$
HL	11,04	10,87
H ₂ L	19,79	19,07
H ₃ L	22,77	21,04
$\sigma = 0,0178$		

β obtido experimentalmente a 25 °C, $\mu = 0,1$ M e $pK_w = -14,28$

β^* valores tabelados [43].

O esperado é que o alumínio forme complexo com a cisteína através dos grupos $-\text{COO}^-$ e $-\text{NH}_2$, que são bases duras, segundo a classificação de Pearson, pois o íon Al^{3+} sendo um ácido duro, forma complexos mais estáveis com bases duras [35]. Então a cisteína pode atuar com um ligante bidentado para o alumínio.

Usando os dados e resultados das titulações potenciométricas de soluções de cisteína e cisteína mais solução de cloreto de alumínio com hidróxido de potássio e os valores acima, foi montado um arquivo de introdução dos dados no programa computacional BEST. O processamento dos dados foi feito através de refinamento das constantes de estabilidade estimadas ou desconhecidas, introduzidas no arquivo dos dados, feitos até um valor mínimo no desvio padrão de

unidades de pH (σ) ser alcançado; significando que o modelo proposto descreve o sistema real, fornecendo então os valores das constantes de estabilidade dos complexos formados entre cisteína e alumínio num arquivo como o mostrado no apêndice F. Na tabela 10, estão os resultados obtidos para o log das constantes de estabilidade dos complexos formados entre cisteína e alumínio, usando as constantes de protonação da cisteína ($\log \beta$) e os resultados obtidos com a inclusão das constantes de hidrólise do alumínio nos cálculos ($\log \beta^*$). O arquivo com os resultados está mostrado no apêndice G.

Tabela 10: Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cisteína na proporção de 1:1, $\mu = 0,1$ M e $T = 25$ °C.

$\log \beta$	$\log \beta^*$	Complexo formado
7,30	6,45	ML
7,15	6,38	MHL
6,78	6,15	MLOH
-2,04	-2,80	ML(OH) ₂
-14,67	-15,47	ML(OH) ₃
$\sigma = 0,012$	$\sigma = 0,459$	

β = cálculos sem as constante de hidrólise do alumínio

β^* = cálculos com as constante de hidrólise do alumínio

O desvio padrão de unidades de pH (σ) obtido para os cálculos usando as constantes de hidrólise do alumínio foi alto ($\sigma = 0,459$), mesmo assim foram destacados os $\log \beta^*$ dos complexos

predominantes em solução, obtidos com as constantes de hidrólise do alumínio, valores estes considerados como resultados dos cálculos das constantes de estabilidade dos complexos formados em solução aquosa para o sistema cisteína-Al.

As espécies predominantes em solução nas condições usadas, ou seja, $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $\mu = 0,1\text{ M}$, foram, com os respectivos valores do log da constante de estabilidade:

$$(8) \text{CysAlOH} \quad \log \beta^* = 6,15 \pm 0,14$$

$$(10) \text{CysAl(OH)}_2 \quad \log \beta^* = -2,80 \pm 0,12$$

Estes valores são valores médios de uma série de três cálculos para cada conjunto de 3 titulações.

O diagrama de equilíbrio das espécies presentes no sistema constituído de cisteína-Al, para os cálculos usando as constantes de hidrólise do alumínio, está representado na Figura 9, mostrando as espécies predominantes em solução em função do pH.

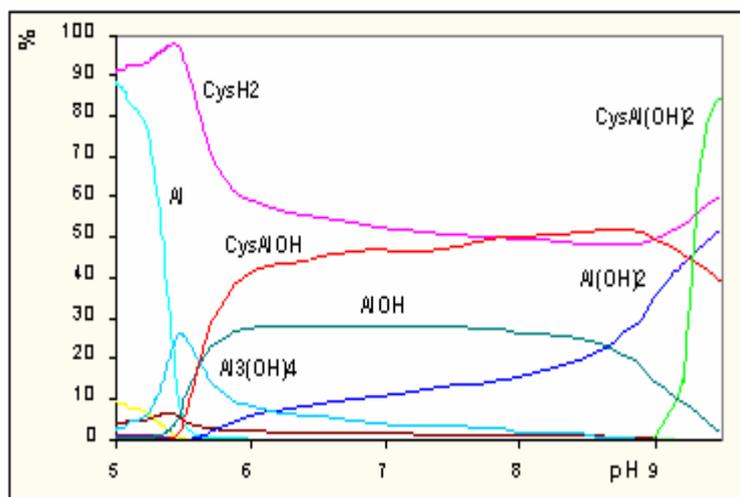


Figura 9: Porcentagem das espécies em solução para uma relação molar 1:1 de cisteína/Al, como função do pH, $\mu = 0,1\text{ M}$, $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Através do diagrama de equilíbrio das espécies, pode-se observar que na faixa de pH de 5,0 a 9,5 a espécie predominante é CysAlOH e que acima de pH 10,0 a espécie CysAl(OH)₂ aparece e aumenta sua porcentagem em solução. As duas espécies existentes correspondem a formação de complexos 1:1.

Segundo Rubini *et al.* [1], a formação de espécies mononucleares, [Al(LH)(OH)]²⁺ e [AIL(OH)]⁺ pode ser considerada em sistemas nos quais as constantes de estabilidade obtidas através de medidas diretas de pH, para interação de Al(III) com aminoácidos bidentados simples, estão na faixa de 5,5 – 5,9. O valor obtido para log β* (6,15) do complexo formado entre cisteína e alumínio, está próximo a faixa citada. Foi encontrado o valor publicado para complexação da glicina com Al³⁺ (log K = 5,91, [AIL]²⁺) [63], que é um aminoácido simples, supondo não envolvimento do grupo tiol no processo de complexação.

4.2.1.4 Determinação das constantes de estabilidade do complexos cistina-alumínio

A cistina possui quatro hidrogênios ionizáveis, sendo dois grupos carboxilato (que tem alta afinidade pelo alumínio) [63] e dois grupos amino, e apresenta ainda um grupo dissulfeto, podendo a cistina atuar como ligante tetradentado para o alumínio.

Devido a solubilidade da cistina em água ser baixa (0,094 g/1000 g), as soluções foram preparadas obedecendo o limite de

solubilidade e com força iônica menor. Os dados foram tratados da mesma forma como foram para a cisteína, o diagrama de equilíbrio das espécies para cistina está mostrado no apêndice D e os resultados obtidos no cálculo das constantes de protonação da cistina, estão na tabela 11:

Tabela 11: Constantes de protonação da cistina ($\log \beta$).

Espécie	$\log \beta$	$\log \beta^*$
HL	9,80	9,85
H ₂ L	18,50	17,70
H ₃ L	22,55	19,92
H ₄ L	23,52	21,52
$\sigma = 0,0087$		

β obtido experimentalmente a 25 °C, $\mu = 0,01$ M e $pK_w = -14,20$

β^* valores tabelados [43].

Usando os dados da titulação potenciométrica de soluções de cistina e cloreto de alumínio em KCl, mais as constantes de protonação da cistina, foram montados os arquivos para introdução dos dados, com e sem as constantes de hidrólise do alumínio. Feitos os cálculos, as constantes de estabilidade ($\log \beta$) foram obtidas sem o uso das constantes de hidrólise do alumínio e $\log \beta^*$, com a inclusão das constantes de hidrólise, os resultados obtidos estão mostrados na tabela 12. Os arquivos com os dados usados e obtidos nos dois cálculos, sem e com as constantes de hidrólise do alumínio, estão nos apêndices H e I, respectivamente.

Tabela 12: Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cistina na proporção de 1:1, $\mu = 0,01 \text{ M}$ e $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

$\log \beta$	$\log \beta^*$	Complexo
10,54	6,92	ML
1,48	1,34	MHL
1,04	0,91	MH ₂ L
1,65	0,46	MLOH
-5,61	-5,97	ML(OH) ₂
-5,25	-5,22	ML(OH) ₃
$\sigma = 0,029$	$\sigma = 0,324$	

β = cálculos sem as constante de hidrólise do alumínio

β^* = cálculos com as constante de hidrólise do alumínio

Mesmo com o desvio padrão de unidades de pH (σ) obtido para os cálculos usando as constantes de hidrólise do alumínio alto ($\sigma = 0,324$), foram destacados os $\log \beta$ dos complexos predominantes em solução, obtidos com as constantes de hidrólise do alumínio.

Mesmo com a baixa solubilidade da cistina em meio aquoso, obteve-se as constantes de estabilidade dos complexos formados entre o aminoácido e alumínio em solução aquosa.

As espécies existentes em solução, em maior quantidade, nas condições usadas, ou seja, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ e $\mu = 0,01 \text{ M}$, foram, com os respectivos valores do \log da constante de estabilidade:

$$(8) \text{ CiAl} \quad \log \beta^* = 6,92 \pm 0,27$$

$$(12) \text{ CiAl(OH)}_3 \quad \log \beta^* = -5,22 \pm 0,02$$

Estes valores são valores médios de uma série de três cálculos para cada conjunto de 3 titulações.

O diagrama de equilíbrio das espécies, para o sistema cistina:alumínio, está representado na Figura 10 e mostra as espécies predominantes em solução em função do pH.

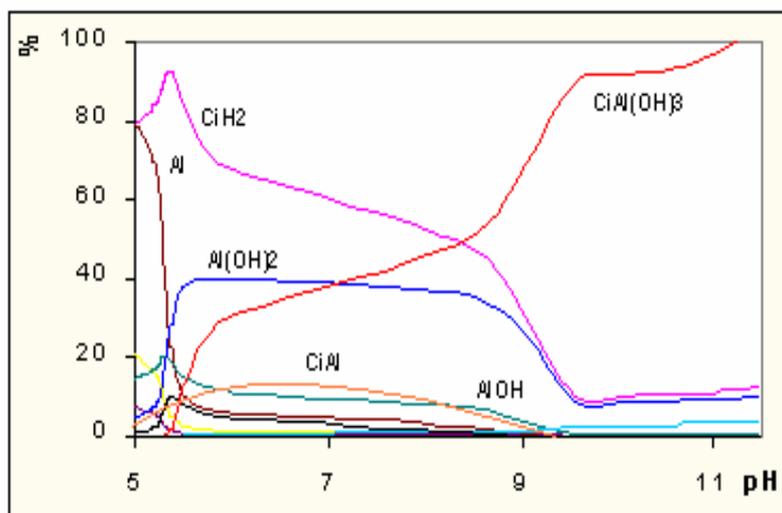


Figura 10: Porcentagem das espécies em solução para uma relação molar 1:1 de cistina/Al, como função do pH, $\mu = 0,01$ M, $T = 25$ °C.

Do diagrama de equilíbrio das espécies formadas entre alumínio e cistina, pode-se observar que acima de pH $\sim 5,5$ a espécie CiAl(OH)_3 é predominante, chegando a um máximo em pH 10,0 e em pH $\sim 6,25$ a espécie CiAl atinge a porcentagem máxima que é de 10,0 % diminuindo lentamente até pH 9,2, ambos os complexos formados são na proporção 1:1 metal:ligante.

Para a cistina, o valor obtido ($\log \beta^* = 6,92$), para a espécie CiAl , é um valor inferior aos valores publicados para complexação

entre cistina e Cu^{2+} ($\log \beta = 8,22$), para a espécie ML [43] e cistina com Cu^{2+} ($\log \beta = 7,0$ a $25\text{ }^\circ\text{C}$ e $\mu = 0,15\text{ M}$), para a espécie CiHCu [90]. Não foi encontrado na literatura valores de $\log \beta$, para complexos de cistina-M, sendo M classificado como um ácido duro segundo a classificação de Pearson (íon Al^{3+}). O Cu^{2+} , foi então usado na comparação, mesmo sendo classificado como um ácido intermediário, segundo a mesma classificação.

A cistina deve estar atuando como um ligante com número de sítios de ligação igual a 2, com a participação de dois grupos dos seus sítios de ligação (dois grupos carboxilato, dois grupos amino e um grupo dissulfeto) no processo de complexação. Rubini *et al.* [30] observaram que o ácido aspártico [Asp, $(\text{COOH})\text{CH}_2\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$] tridentado, contendo dois grupos doadores COO^- e um central NH_2 , é um ligante forte para $\text{Al}(\text{III})$, a estabilidade do complexo 1:1 é cerca de duas ordens de grandeza maior (11,76) do que aqueles de aminoácidos simples, indicando o envolvimento de ambos carboxilatos na ligação com o anel [63].

4.2.1.5 Determinação das constantes de estabilidade dos complexos ornitina-alumínio

A ornitina possui três hidrogênios ionizáveis, três sítios de coordenação, sendo um grupo COO^- e dois $-\text{NH}_2$, todos sujeitos à coordenação com íons metálicos [53].

Para a obtenção das constantes de estabilidade dos complexos formados entre ornitina e alumínio, se procedeu do modo já descrito acima, ou seja, através de dados da titulação potenciométrica de soluções de ornitina com e sem alumínio. Foram obtidas inicialmente as constantes de protonação da ornitina (tabela 13), diagrama de equilíbrio das espécies (apêndice D) e pK_w , e logo após a obtenção das constantes de estabilidade desejadas.

Tabela 13: Constantes de protonação da ornitina ($\log \beta$).

Espécie	Log β	log β^*
HL	10,86	10,76
H ₂ L	20,00	19,41
H ₃ L	22,06	21,35
$\sigma = 0,009$		

β obtido experimentalmente a 25 °C, $\mu = 0,091$ M e $\text{pK}_w = -14,23$

β^* valores tabelados [21].

Usando os dados da titulação potenciométrica de soluções de ornitina e cloreto de alumínio em KCl, mais as constantes de protonação da ornitina, foram montados os arquivos para introdução dos dados, com e sem as constantes de hidrólise do alumínio. Feitos os

cálculos, as constantes de estabilidade ($\log \beta$) foram obtidas sem o uso das constantes de hidrólise do alumínio e $\log \beta^*$, com a inclusão das constantes de hidrólise, os resultados obtidos estão mostrados na tabela 14. Os arquivos com os dados usados e obtidos nos dois cálculos, sem e com as constantes de hidrólise do alumínio, estão nos apêndices J e K, respectivamente.

Tabela 14: Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e ornitina na proporção de 1:1, $\mu = 0,091$ M e $T = 25$ °C.

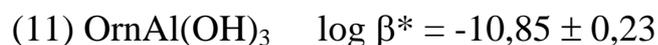
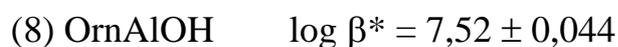
$\log \beta$	$\log \beta^*$	Complexo
6,60	6,84	ML
8,91	6,89	MHL
6,48	6,60	MH ₂ L
7,45	7,52	MLOH
-2,01	-5,18	ML(OH) ₂
-10,73	-10,85	ML(OH) ₃
$\sigma = 0,033$	$\sigma = 0,440$	

β = cálculos sem as constante de hidrólise do alumínio

β^* = cálculos com as constante de hidrólise do alumínio

O desvio padrão de unidades de pH (σ) obtido para os cálculos usando as constantes de hidrólise do alumínio foi alto ($\sigma = 0,440$), os valores dos $\log \beta^*$ dos complexos predominantes em solução, foram considerados os obtidos dos cálculos com as constantes de hidrólise, pois é sabido que o alumínio sofre hidrólise em solução aquosa [9].

As espécies em maior concentração existentes em solução, nas condições usadas, ou seja, $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $\mu = 0,091\text{ M}$, foram, com os respectivos valores do log da constante de estabilidade:



Estes valores são valores médios de uma série de três cálculos para cada conjunto de 3 titulações.

O diagrama de equilíbrio das espécies predominantes nas soluções contendo ornitina e alumínio (1:1), força iônica de 0,091 M e temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, está representado na Figura 11.

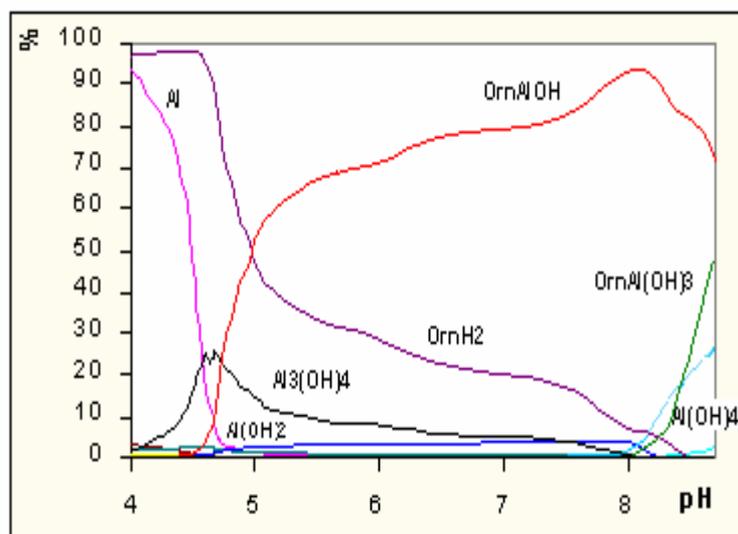


Figura 11: Porcentagem das espécies em solução para uma relação molar 1:1 de ornitina/Al, como função do pH, $\mu = 0,091\text{ M}$, $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Na figura 11 temos o diagrama de equilíbrio das espécies formadas entre alumínio e ornitina com $\mu = 0,091 \text{ M}$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$. Na faixa de pH de 4,5 a 9,0 o complexo formado é OrnAlOH , com uma porcentagem média de 80,0 %, o complexo OrnAl(OH)_3 começa a se formar em $\text{pH} \sim 8,0$ aumentando rapidamente. Todas as espécies formadas são na proporção de 1:1, metal:ligante.

Ornitina-Al poderia formar anéis com 5 ou 7 membros, da mesma forma que o ácido glutâmico pois ambos são tridentados e possuem o mesmo número de carbonos na cadeia lateral. A habilidade de complexação do ácido glutâmico ($\text{Glu},[(\text{COOH})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)(\text{COOH})]$) é muito enfraquecida, devido a baixa estabilidade dos anéis de sete membros, formados com participação do grupo carboxilato terminal. Assim, Glu age como um ligante bidentado, mostrando melhor similaridade como aminoácidos simples. Estes resultados podem sugerir que além do oxigênio doador carregado negativamente, tais como COO^- , alcoólico $-\text{O}^-$, e fenólico, no caso de favorável arranjo estérico, o grupo amino pode também participar da ligação com Al(III) [1].

4.2.1.6 Determinação das constantes de estabilidade dos complexos lisina-alumínio

A lisina, como a ornitina, possui três hidrogênios ionizáveis, três sítios de coordenação, sendo um grupo COO^- e dois $-\text{NH}_2$, todos sujeitos a coordenação com íons metálicos [53].

Para a obtenção das constantes de estabilidade dos complexos formados entre lisina e alumínio, foi adotado o mesmo procedimento usado nos casos anteriores, ou seja, através de dados de titulação potenciométrica de soluções de lisina com e sem alumínio, foram obtidas inicialmente as constantes de protonação da lisina e pK_w , o diagrama de equilíbrio das espécies presentes na solução titulada de lisina (10,0 mM) em KCl 0,1 M está mostrado no apêndice D, e logo após, a obtenção das constantes de estabilidade dos complexos formados, usando o programa computacional BEST, conforme descrito por Martell [65]. Os resultados obtidos para as constantes de protonação da lisina, estão colocados a seguir, na tabela 15.

Tabela 15: Constantes de protonação da lisina ($\log \beta$).

Espécie	$\log \beta$	$\text{Log } \beta^*$
HL	10,14	10,28
H ₂ L	18,44	19,18
H ₃ L	19,91	21,28
$\sigma = 0,009$		

β obtido experimentalmente a 25 °C, $\mu = 0,1$ M e $pK_w = -14,28$

β^* valores tabelados [43].

Foram montados os arquivos para introdução dos dados, com e sem as constantes de hidrólise do alumínio, feitos os cálculos, as constantes de estabilidade dos complexos formados entre lisina e alumínio ($\log \beta$), foram obtidas sem o uso das constantes de hidrólise do alumínio e $\log \beta^*$, com a inclusão das constantes de hidrólise, os resultados obtidos estão mostrados na tabela 16. Os arquivos com os

dados usados e obtidos nos dois cálculos, com o programa computacional BEST, sem e com as constantes de hidrólise do alumínio, estão nos apêndices L e M, respectivamente.

Tabela 16: Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica, usando o programa BEST para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e lisina na proporção de 1:1, $\mu = 0,1$ M e $T = 25$ °C.

log β	log β^*	Complexo
7,68	7,45	ML
18,06	17,70	MHL
13,96	13,92	MH ₂ L
20,95	20,96	M ₂ HL
1,19	2,36	MLOH
4,44	3,90	ML(OH) ₂
$\sigma = 0,031$	$\sigma = 0,023$	

β = cálculos sem as constante de hidrólise do alumínio

β^* = cálculos com as constante de hidrólise do alumínio

O desvio padrão de unidades de pH (σ) obtido para os cálculos usando as constantes de hidrólise do alumínio foi aceitável ($\sigma = 0,023$), mas a computação dos dados foi feita até o pH 5,23 pelo programa BEST, foram destacados os log β^* dos complexos predominantes em solução, obtidos com as constantes de hidrólise.

As espécies predominantes em solução nas condições usadas, ou seja, $T = 25$ °C e $\mu = 0,1$ M, foram, com os respectivos valores do log da constante de estabilidade:

$$(10) \text{ LisAl(OH)}_2 \quad \log \beta^* = 3,90 \pm 0,91$$

$$(9) \text{ LisHAl} \quad \log \beta^* = 17,70 \pm 0,51$$

Estes valores são valores médios de uma série de três cálculos para cada conjunto de 3 titulações.

O diagrama de equilíbrio das espécies presentes em maior quantidade nas soluções contendo lisina e alumínio (1:1), força iônica de 0,1 M e temperatura de 25 °C, está representado na Figura 12.

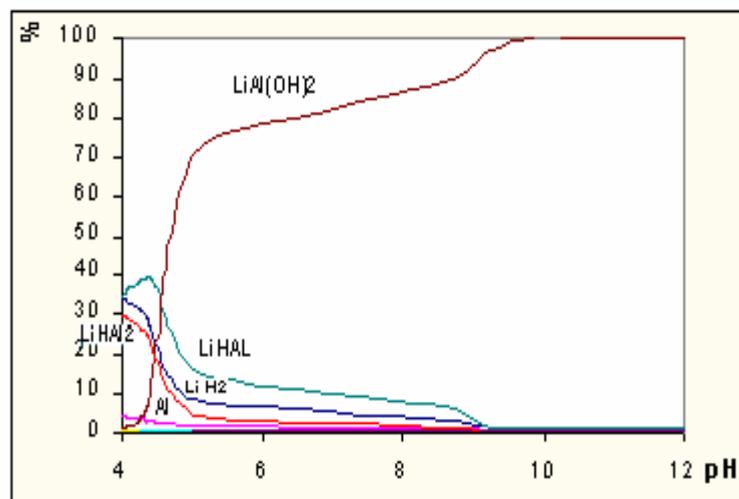


Figura 12: Porcentagem das espécies em solução para uma relação molar 1:1 de lisina/Al, como função do pH, $\mu = 0,1 \text{ M}$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

Na figura 12 pode-se observar que o complexo LisAl(OH)_2 apresenta uma porcentagem média de 80,0% na faixa de pH de 5,0 a 9,0; o complexo LisHAl atinge uma porcentagem máxima 40,0% em pH 4,4, diminuindo gradualmente até pH 9,5. Sendo que estes dois complexos predominantes são 1:1 na proporção metal:ligante.

Dados termodinâmicos obtidos por Conato *et al.* [52], indicam que a lisina complexa cobre como um aminoácido simples, muito provavelmente devido ao comprimento da cadeia lateral, havendo formação de complexo do tipo LisHCu com $\log \beta = 7,54$ (25 °C e $\mu = 0,1$ M).

O valor obtido neste trabalho para a constante de estabilidade ($\log \beta^*$) do complexo predominante em solução, formado entre a lisina e o íon Al(III) é de 3,90; indicando que a lisina nas condições estudadas (25 °C e $\mu = 0,1$ M), pode estar atuando como um aminoácido simples.

Além dos fatores considerados pela teoria de Pearson para explicar a interação entre um íon metálico e um ligante, existem outros relacionados ao processo de complexação, como o arranjo estérico e a capacidade quelante com formação de anéis, onde o número de membros dos anéis formados é um fator determinante da estabilidade do complexo formado.

Nos cálculos e no refino das constantes de estabilidade dos complexos formados entre o íon Al³⁺ e os quatro aminoácidos em estudo, as constantes de hidrólise do alumínio foram incluídas nos arquivos de introdução dos dados, como estão mostrados nos apêndices G, I, K e M, o valor de σ aumentou consideravelmente, como no caso da ornitina que σ passou de 0,03 para 0,44. Mesmo com a grande diferença encontrada entre os valores de σ , para os resultados dos cálculos das constantes de estabilidade dos complexos formados com e sem as constantes de hidrólise do alumínio, os valores obtidos para os mesmos complexos nos dois modos de cálculo, não foram tão

diferentes. O complexo que apresentou a maior diferença entre os $\log \beta$, foi ML para a cistina.

Também foram feitos cálculos envolvendo outras espécies (ML_2 , ML_3). Os valores das constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e os quatro aminoácidos em estudo, com a inclusão das espécies 1:2 e 1:3 (M:L) estão mostrados na tabela do apêndice N, o valor de σ aumentou e as espécies predominantes em solução continuaram sendo 1:1, metal:ligante.

4.3 Estudo da interação do alumínio com os aminoácidos cisteína e cistina através do uso de resinas de troca iônica

Para complementar o estudo da interação entre alumínio-cisteína e alumínio-cistina, devido a natureza dos ligantes, presença de enxôfre na molécula e a afinidade que estes ligantes podem apresentar por íons duros como o Al, foram realizados ensaios com resinas de troca iônica para verificar a distribuição do Al entre uma resina catiônica e a solução contendo o aminoácido. Apesar de não ser prevista pela teoria de Pearson, a ligação entre um ácido duro e uma base mole pode ocorrer, e existem exemplos onde estes complexos se formam. Li e Martell. [71], através de titulação potenciométrica determinaram as constantes de estabilidade dos complexos formados entre íons trivalentes (Ga^{3+} , In^{3+} e Al^{3+}), íons divalentes (Pb^{2+} , Cd^{2+} e Ni^{2+}) e MEA (2-mercaptoetilamina – $HSCH_2CH_2NH_2$). Como se pode observar na tabela 17, as constantes de estabilidade para os íons

trivalentes são até maiores do que para os íons divalentes para os mesmos tipos de complexo formado: ML.

Como neste caso as únicas ligações possíveis são com os grupos tiol e amino, não há dúvidas de que a formação do complexo se dá através da ligação destes dois grupos com os metais

Tabela 17: Logaritmo da constante de estabilidade para complexos formados entre MEA e íons metálicos trivalentes e divalentes medidos potenciometricamente em água a 25 °C e força iônica 0,1 M KCl [71].

Íon metálico (M)	Log K		
	[ML]/[M][L]	[MHL]/[ML][H]	[M(OH)L]/[ML][OH]
Ga ³⁺	14,82	3,67	
In ³⁺	12,25	4,31	
Al ³⁺	11,74	5,86	
Pb ²⁺	10,10	4,22	6,42
Cd ²⁺	9,84	5,78	7,07
Ni ²⁺	9,14		7,46
Zn ²⁺	8,77		6,83

Os resultados obtidos através de titulação potenciométrica, nos mostram que as espécies presentes em maior quantidade em solução aquosa para o sistema cisteína-Al são CysAlOH e CysAl(OH)₂ e para o sistema cistina-Al CiAl e CiAl(OH)₃, indicando o envolvimento de espécies hidrolisadas de Al e aquo íon, uma vez que os complexos existem na faixa de pH, onde as espécies hidrolisadas de Al e aquo íon estão presentes em solução aquosa, na ausência de ligante. O aquo íon

$\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, está representado no diagrama de equilíbrio das espécies para o alumínio por Al^{3+} (apêndice C).

A coordenação entre o alumínio e os ligantes acima não é ainda bem definida, ela pode ser com o aquo íon (Al^{3+}) ou com $\text{Al}(\text{OH})_n^{3-n}$.

4.3.1 Determinação da capacidade de troca da resina

Ensaio envolvendo resina catiônica H^+ em contato com soluções de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, foram feitos para a determinação da capacidade de troca da resina catiônica usada neste trabalho. O gráfico obtido para a quantificação de alumínio trocado pelo contra íon da resina, através de cálculos usando a concentração de alumínio em solução antes e após determinado tempo (135 min.) de contato com a resina, está mostrado na Figura 13.

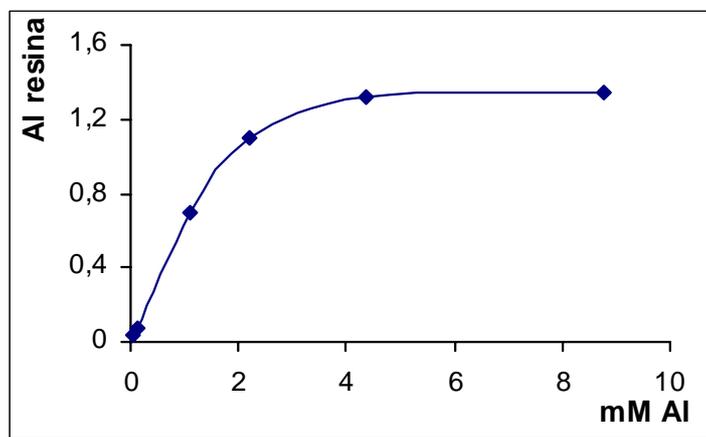


Figura 13: Gráfico do quantidade de alumínio na resina catiônica (mmol/g) versus concentração de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ após 135 minutos de contato resina-solução.

Através da figura 13 pode-se observar que a troca $\text{alumínio}_{\text{solução}} \Rightarrow \text{alumínio}_{\text{resina}}$, aumenta com o aumento da concentração do alumínio em solução. A troca ocorre até a saturação da resina, ou seja, até ser atingido o equilíbrio de troca da resina, chegando-se então a capacidade máxima de troca da resina, que para o sistema em estudo é de 1,35 mmol de Al por grama de resina (1,35 mmol/g).

4.3.2 Interação do alumínio em solução com cisteína e cistina na presença de resinas catiônicas nas formas H^+ e Na^+

A partir dos ensaios feitos usando resina catiônica pôde-se verificar o comportamento do Al^{3+} em solução, na ausência ou presença de cisteína. Os resultados das medidas da concentração de Al em solução e de pH, estão mostrados nas Figuras 14 e 15, respectivamente.

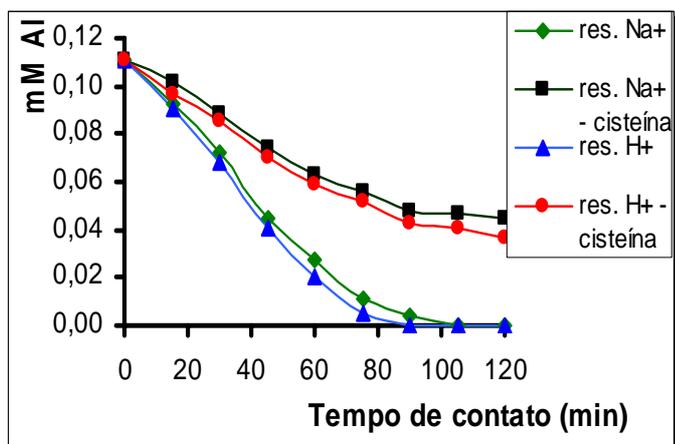


Figura 14: Concentração de Al^{3+} em solução versus tempo de contato da solução de Al^{3+} (0,11 mM), na presença ou não de cisteína 500 mM com resina catiônica Na^+ e H^+ (0,15 g).

Pode-se observar que após 100 min de contato resina-solução, nas soluções sem cisteína todo o alumínio presente na solução passa para a resina, independentemente do contra íon da mesma, enquanto que em solução contendo o aminoácido, há um equilíbrio de troca que é alcançado após ~100 min de contato, permanecendo em solução uma concentração de ~ 0,04 mM de alumínio que corresponde a 36,4 % da concentração inicial de alumínio. Esta quantidade deve estar ligada à cisteína.

Através dos gráficos obtidos pode-se observar, que independentemente do contra-íon da resina a ser trocado pelo íon Al^{3+} em solução, a presença da cisteína dificulta esta troca, comprovando que existe interação entre o alumínio e o aminoácido em estudo.

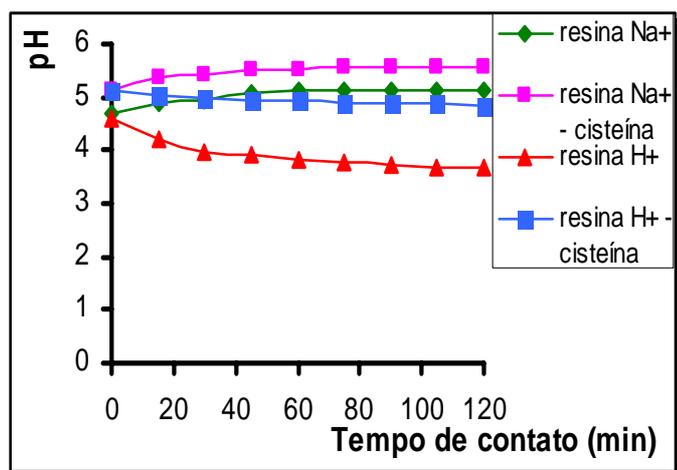


Figura 15: pH da solução versus tempo de contato da solução de Al^{3+} (0,11 mM), na presença ou não de cisteína 500 mM com resina catiônica Na^+ e H^+ (0,15 g).

O diagrama que mostra a variação do pH da solução com o tempo de contato, confirma o colocado acima, mais claramente quando a resina usada foi na forma H^+ , pois a troca é evidenciada pela diminuição do pH da solução em contato com a resina, indicando a substituição do H^+ da resina pelo Al^{3+} da solução, havendo diminuição mais acentuada (~ 30%), ou seja, todo o alumínio da solução passou para a resina, sem a presença de cisteína.

A pequena diminuição do pH com o tempo de contato resina-solução, provavelmente se deve à desprotonação dos aminoácidos em solução aquosa.

As resinas catiônicas nas formas Na^+ e H^+ , não foram usadas para verificar o comportamento do Al^{3+} em solução, na ausência e na

presença de cistina, devido à baixa solubilidade do referido aminoácido.

4.3.3 Interação dos aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina com resina na forma Al^{3+}

4.3.3.1 Interação dos aminoácidos cisteína e cistina com resina na forma Al^{3+}

Os resultados dos ensaios envolvendo resina catiônica na forma Al^{3+} em contato com água, solução de cisteína e cistina (Figura 16), separadamente, mostram que o Al permaneceu ligado à resina, quando a mesma ficou em contato com água, mas quando a resina foi colocada em contato com solução contendo cisteína ou cistina, o Al foi extraído da resina, devido à interação entre alumínio e os aminoácidos em estudo, provavelmente por formação de complexos entre o Al e os aminoácidos: cisteína e cistina.

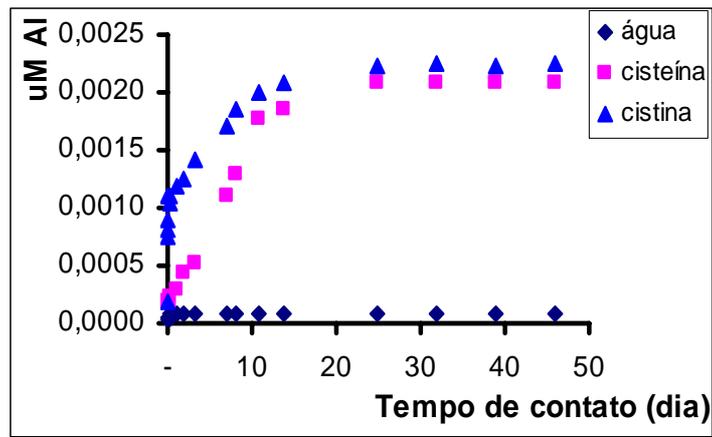


Figura 16: Concentração de Al^{3+} em solução versus tempo de contato da resina catiônica na forma Al^{3+} (0,15 g) com água, solução de cisteína e solução de cistina 0,39 mM, separadamente.

Mesmo sendo baixa a concentração de alumínio extraído da resina, provavelmente devido a baixas concentrações de cisteína e cistina, pode-se constatar que a cistina em solução extrai mais alumínio da resina catiônica.

Os resultados obtidos a partir dos ensaios envolvendo resina de troca iônica (3.9.2.1), foram utilizados para obtenção das isotermas de troca e do diagrama de Scatchard. As isotermas de troca (curvas de saturação) para solução de cisteína e de cistina em contato com resina catiônica na forma Al^{3+} estão mostradas nas Figuras 17 e 19, respectivamente.

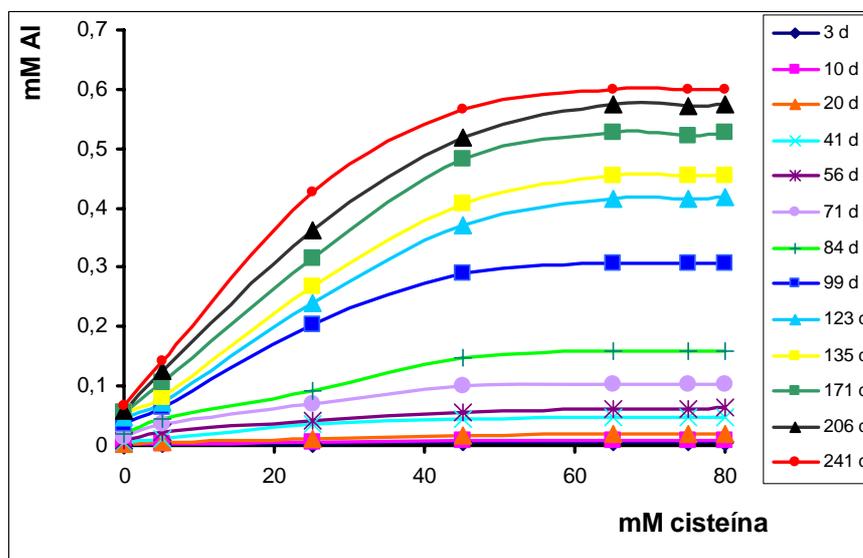


Figura 17: Gráfico de concentração de alumínio em solução (mM) extraído de resina catiônica na forma Al^{3+} (0,1 g) versus concentração de cisteína em solução (mM) em diferentes tempos de contato (dia) resina-solução. (Isoterma de troca)

As isotermas de troca representadas na figura 17 em diferentes tempos (dias) de contato resina-solução de cisteína, mostram que quanto maior o tempo de contato, maior a quantidade de alumínio extraído da resina catiônica.

Dos dados mostrados na figura 17, foram examinadas mais detalhadamente extrações de alumínio da resina catiônica em contato com soluções de cisteína 15 e 35 mM, os resultados estão mostrados na Figura 18.

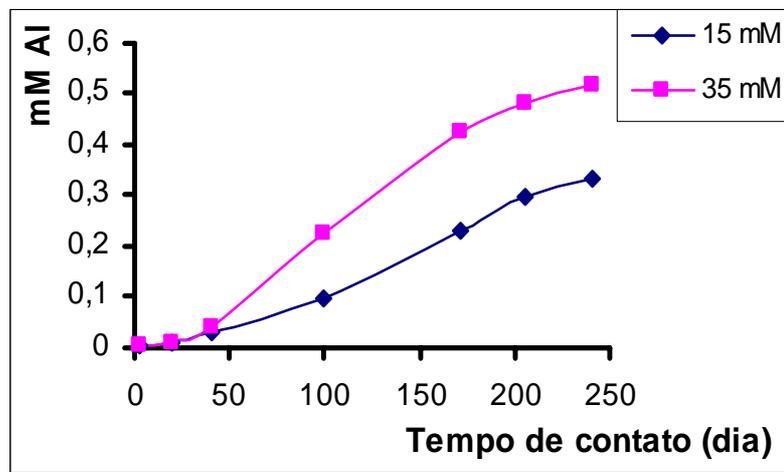


Figura 18: Concentração de alumínio (mM) em solução (50 mL) versus tempo de contato (dia) resina Al^{3+} -solução de duas soluções de cisteína 15 e 35 mM, separadamente.

Observa-se nas curvas da figura 18, que até aproximadamente 50 dias de contato resina-solução, a extração de alumínio pela cisteína em solução é lenta, após este tempo, a extração aumenta rapidamente, comportamento que deve estar associado à oxidação da cisteína em solução, onde grupos tióis da mesma formam ligações dissulfeto [43, 91], resultando na formação cistina em solução, sendo a cistina, um ligante mais efetivo para o alumínio ($\log \beta_{\text{cistina-Al}} > \log \beta_{\text{cisteína-Al}}$).

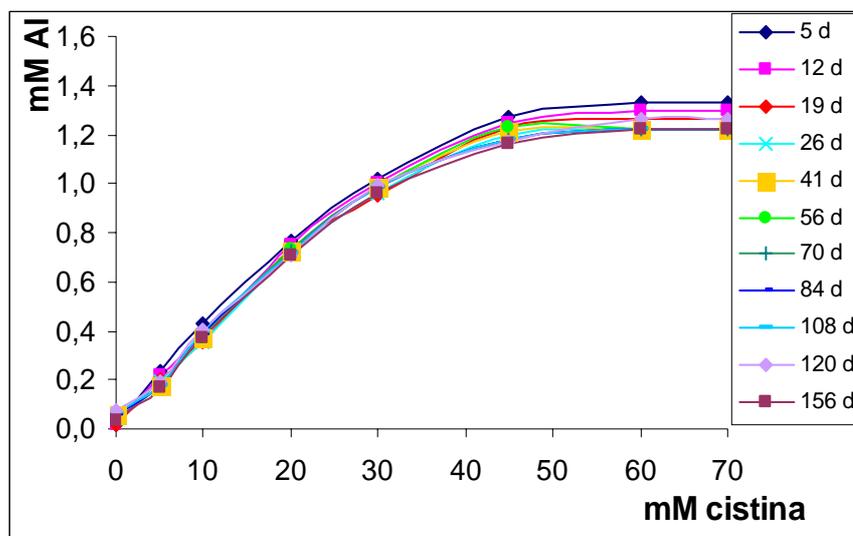


Figura 19: Gráfico de concentração de alumínio em solução (mM) extraído de resina catiônica na forma Al^{3+} (0,1 g) versus concentração de cistina em solução (mM) em diferentes tempos de contato (dia) resina-solução. (Isoterma de troca)

As isotermas de troca obtidas para soluções de cistina em contato com resina catiônica Al^{3+} , mostram que o equilíbrio de troca é atingido rapidamente nas soluções contendo cistina, logo após o contato resina-solução.

Dos dados mostrados na figura 19, foram examinadas mais detalhadamente extrações de alumínio da resina catiônica em contato com soluções de cistina 20 e 40 mM, os resultados estão mostrados na Figura 20.

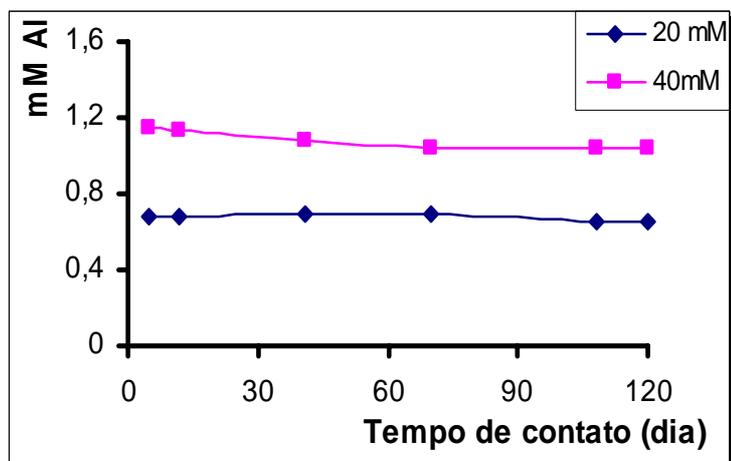


Figura 20: Concentração de alumínio em solução (mM) versus tempo de contato (dia) resina Al^{3+} -solução de duas soluções de cisteína 20 e 40 mM, separadamente.

A figura 20 mostra que a cistina em solução extrai uma quantidade considerável de alumínio da resina no início do contato resina-solução.

As isotermas de troca obtidas para soluções de cisteína (figura 18) e de cistina (figura 20), separadamente, em contato com resina catiônica Al^{3+} , mostram que o equilíbrio de troca é atingido rapidamente nas soluções contendo cistina, para os sistemas contendo cisteína o equilíbrio de troca é atingido lentamente.

4.3.3.2 Interação dos aminoácidos lisina e ornitina com resina catiônica na forma Al^{3+}

Os resultados obtidos no estudo da interação de resina catiônica com os aminoácidos ornitina e lisina, foram colocados, para fins de comparação, junto com os resultados obtidos para os outros dois aminoácidos em estudo e mais ácido fluorídrico e ácido oxálico. O íon Al^{3+} , tem elevada afinidade pelo íon F^- em solução, formando complexos estáveis [9], com este íon. O ácido oxálico foi usado por possui dois grupos carboxila, sendo um ligante bidentado para o alumínio.

Os resultados compilados para troca iônica usando resina catiônica na forma Al^{3+} em contato com soluções aquosas contendo os aminoácidos cisteína, cistina ornitina e lisina , bem como ácido fluorídrico e ácido oxálico, separadamente, estão mostrados nas Figuras 21 e 22.

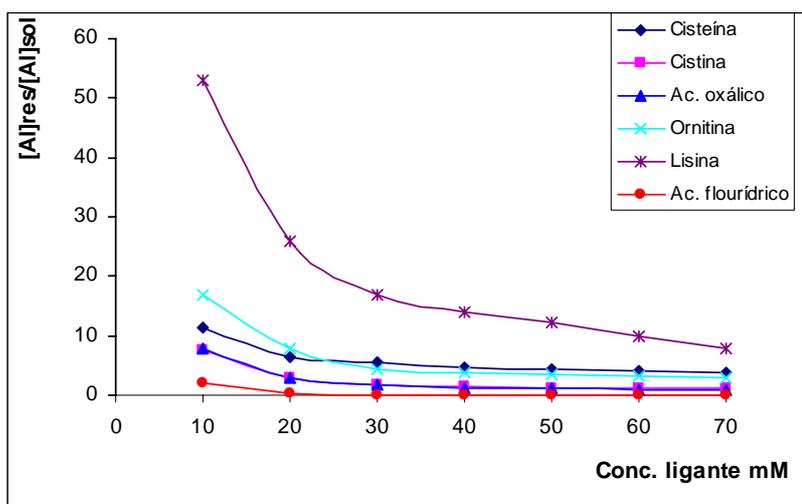


Figura 21: Concentração de alumínio na resina/concentração de alumínio em solução versus concentração do ligante em solução (100 mL) em contato com resina catiônica na forma Al^{3+} (0,15 g).

A figura 21 mostra que a relação $[Al]_{resina}/[Al]_{solução}$ diminui com o aumento da concentração do ligante em solução, independentemente do ligante usado, indicando que o aumento da concentração do ligante em solução, aumenta a concentração de alumínio extraído da resina. O alumínio em solução deve estar complexado com o ligante, e a dimensão da troca para cada ligante usado, está relacionada com a constante de estabilidade do complexo formado em solução, como pode ser visto também na figura 22, que mostra a porcentagem de alumínio extraído da resina versus concentração do ligante em solução.

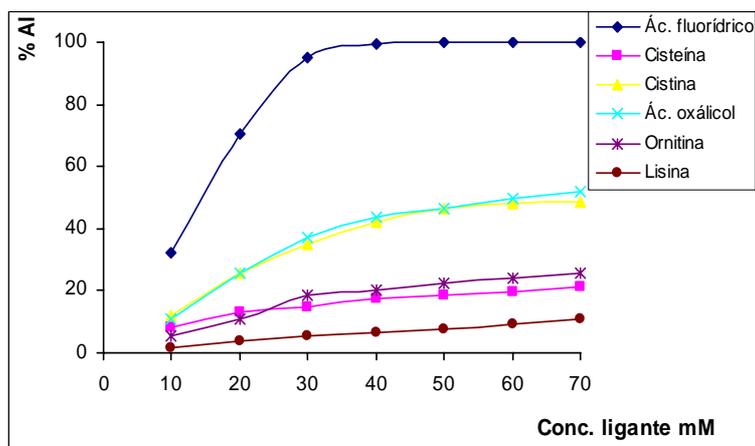


Figura 22: Porcentagem de alumínio em solução versus concentração do ligante (mM) em equilíbrio com resina Al^{3+} .

Pode-se observar através da figura 22 que para os quatro aminoácidos (cisteína, cistina, ornitina e lisina), a porcentagem de alumínio em solução aumenta com o aumento da concentração do ligante, comportamento que é observado também para os outros ligantes em solução (ácido fluorídrico e ácido oxálico). A ordem crescente de troca $alumínio_{resina} \Rightarrow alumínio_{solução}$, é: $lisina < cisteína < ornitina < cistina \sim ácido\ oxálico < ácido\ fluorídrico$. Ordem esta que está de acordo com os valores das constantes de estabilidade obtidas neste trabalho, com exceção da cistina (único ensaio que foi feito em meio ácido), bem como com os valores encontrados na literatura, que estão colocados na tabela 18:

Tabela 18: Constantes de estabilidades de complexos (log β).

Ligante- Al	Log β	Fonte
Ác. fluorídrico	19,70	[20, 36]
Ác. oxálico	9,30	[17]
Ornitina	7,52	Este trabalho
Cistina	6,92	Este trabalho
Cisteína	6,15	Este trabalho
Lisina	3,90	Este trabalho

Com os resultados obtidos para diferentes tempos de contato resina Al^{3+} -solução contendo os quatro aminoácidos em estudo, ácido fluorídrico e ácido oxálico, separadamente, foi construída a Figura 23.

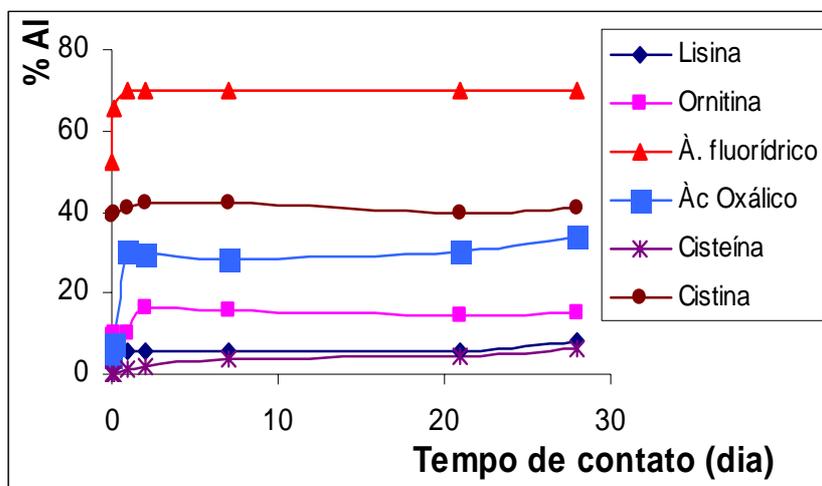


Figura 23: Porcentagem de alumínio em solução versus tempo de contato da resina catiônica Al^{3+} com solução contendo o ligante.

Pode-se observar através da figura 23, que a ordem de troca permanece praticamente a mesma, os ligantes estudados complexam alumínio com diferentes constantes de estabilidade, relacionadas com a quantidade de alumínio extraído da resina e que a troca atinge o equilíbrio com poucos dias de contato resina-solução. Para a cisteína, a porcentagem de alumínio extraído é inferior a dos outros aminoácidos, isto se deve, provavelmente, a baixa cinética de troca apresentada por este aminoácido. A cistina apresenta taxa de extração superior a do ácido oxálico, provavelmente devido ao meio ácido usado no ensaio envolvendo este aminoácido.

4.3.4 Avaliação das constantes de estabilidade dos complexos Al-cisteína e Al-cistina através do método Scatchard

O método de Scatchard tem sido usado para determinação de constantes de estabilidade dos complexos formados entre íons metálicos e substâncias húmicas [92, 93] e principalmente de associações entre fármacos e os constituintes do sangue como as proteínas [94].

Para obter uma constante de equilíbrio, devemos medir as concentrações (na verdade, as atividades) das espécies envolvidas no equilíbrio [22].

Um gráfico da relação entre a concentração da espécie combinada e concentração da espécie livre, versus a concentração da espécie combinada, terá uma inclinação $-K$ (constante de equilíbrio)

e é chamado de diagrama de Scatchard. Ele é muito utilizado para medir as constantes no equilíbrio, especialmente em bioquímica [22].

Para aplicação do método Scatchard na determinação de constantes de estabilidade dos complexos formados entre o íon Al^{3+} os dois aminoácidos em estudo, os resultados trabalhados são correspondentes ao tempo máximo de contato resina-solução estudado, ou seja, quando o equilíbrio de troca foi atingido.

Como foi visto em 4.3.2, sem a presença da cisteína em solução, o alumínio permanece ligado à resina, portanto o alumínio extraído da resina catiônica Al^{3+} pela cisteína, deve estar ligado a mesma, correspondendo a concentração de alumínio em solução à concentração de alumínio combinado com a cisteína (cisteína combinada). Pela diferença de concentração inicial de cisteína obteve-se a concentração de cisteína livre. Dados que estão mostrados nas Figuras 24-A e 24-B. A partir da inclinação da reta mostrada no gráfico 24-B (diagrama Scatchard), obteve-se a constante de estabilidade do complexo cisteína-Al em solução, nas condições do experimento.

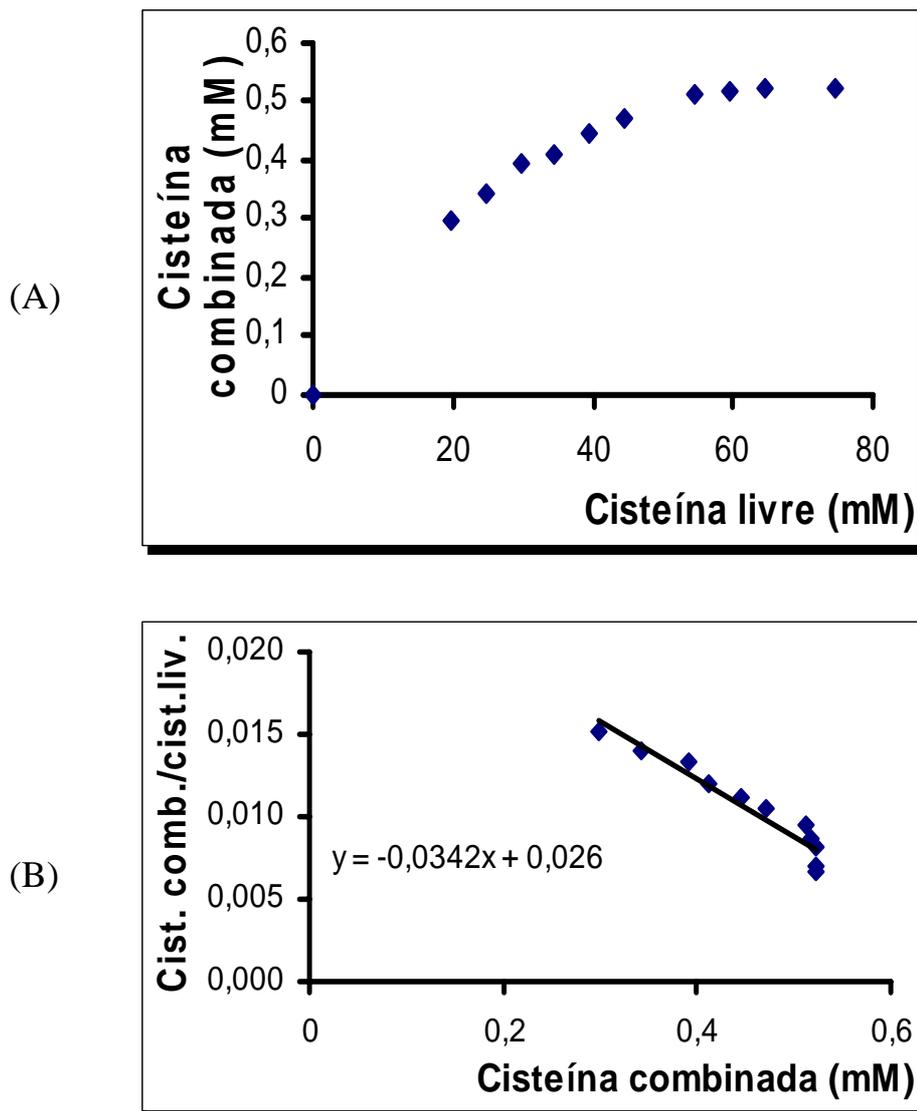


Figura 24: (A) Isotherma de troca iônica para soluções contendo cisteína em diferentes oncentrações em equilíbrio com resina catiônica na forma Al^{3+} (0,1 g). (B) Diagrama de Scatchard para cisteína em solução combinada com Al^{3+} extraído da resina catiônica.

Tratamento semelhante foi dado ao sistema cistina-Al, como mostram as Figuras 25-A e 25-B.

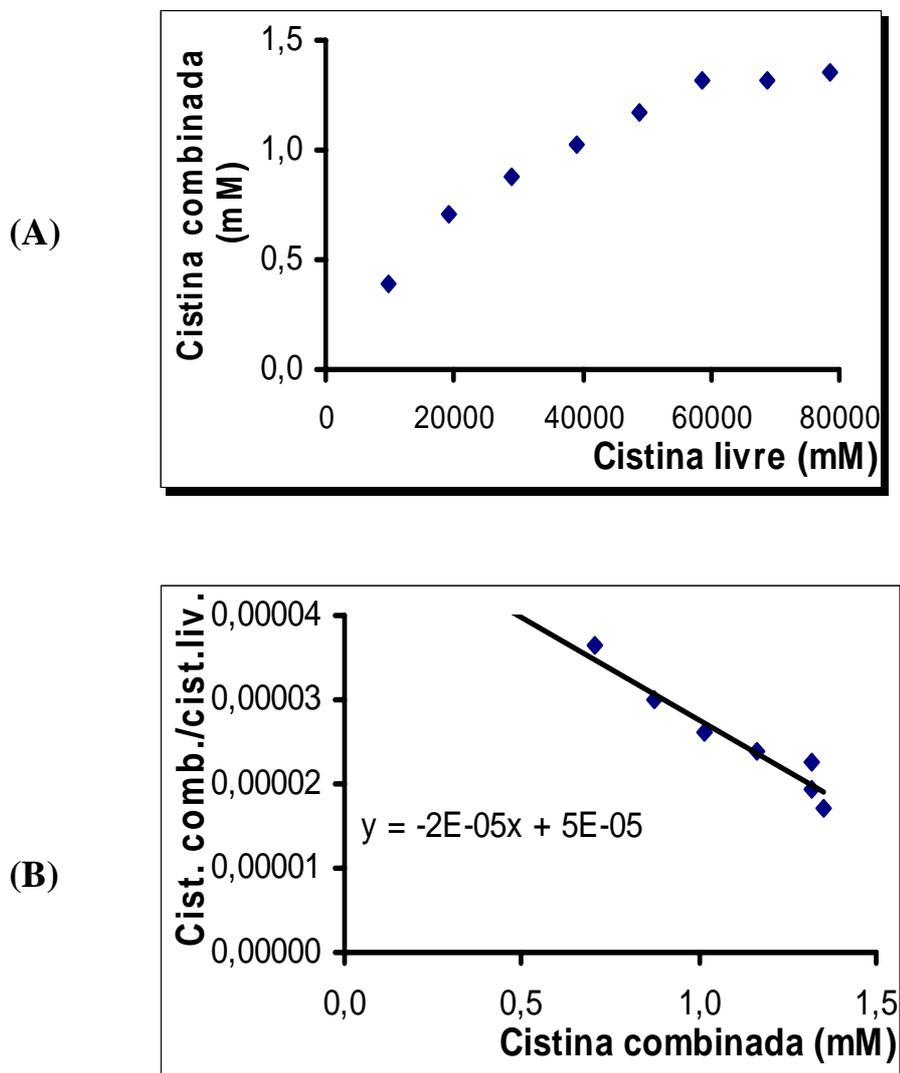


Figura 25: (A) Isotherma de troca iônica para solução contendo cistina em diferentes concentrações em equilíbrio com resina catiônica na forma Al^{3+} (0,1 g). (B) Diagrama de Scatchard para cistina em solução combinada com Al^{3+} extraído da resina catiônica.

Os valores obtidos para $\log \beta$, usando o método Scatchard (resina de troca iônica), a partir do coeficiente angular das curvas 24-B e 25-B, foram:

- Al-cisteína, $\log \beta = -1,50$
- Al-cistina, $\log \beta = -4,70$

Valores estes que são inferiores aos obtidos para as espécies predominantes em solução, usando o programa BEST (titulação potenciométrica), esta divergência nos resultados se deve provavelmente ao método Scatchard, que fornece valores aproximados para constantes de estabilidade [75] e as condições de complexação não serem as mesmas, com o pH que para o estudo envolvendo troca iônica foi $< 5,0$. Este pH propicia a formação de espécies protonadas em solução, que não foram encontradas como espécies predominantes usando titulação potenciométrica, provavelmente devido a faixa de pH trabalhada.

4.4 Estudo da interação do Al com os aminoácidos cistina e cisteína por polarografia

O principal uso da polarografia está na análise quantitativa. Como a corrente de difusão é proporcional à concentração do constituinte em análise, a altura de uma onda polarográfica indica o quanto do constituinte está presente no sistema. Grupos funcionais orgânicos dão origem a ondas polarográficas, que podem ser utilizadas para sua identificação [22].

Métodos polarográficos têm sido usados para o estudo de complexos metálicos sob uma variedade de condições, sendo um método que fornece informações quantitativas sobre o complexo formado. O método está baseado na mudança do potencial de meia onda do íon metálico, devido a presença do agente complexante [95].

Para algumas reações que ocorrem em solução com formação ou consumo de produtos ou reagentes polarograficamente ativos, a polarografia pode ser usada como um meio de acompanhamento cinético da reação [96].

A determinação polarográfica de íons metálicos como o alumínio, que são facilmente hidrolisados pode apresentar problemas em solução aquosa [32]. A determinação do alumínio por técnicas eletroquímicas é difícil também, devido ao potencial de redução do Al(III) ser muito negativo (- 1,75 V) [97]. No presente estudo, utilizou-se a polarografia para medir os sinais polarográficos da cisteína e da cistina, na presença e na ausência de alumínio, com a intenção de verificar se ocorre um deslocamento ou diminuição do sinal do grupo -SH, e do grupo -SS- na presença de íons Al^{3+} .

A polarografia de onda quadrada com eletrodo gotejante de mercúrio (DME), usando KCl 0,1 M como eletrólito suporte, foram utilizados para observação das alterações sofridas no sinal polarográfico da cisteína e da cistina com adições de soluções de $AlCl_3$.

Os compostos, cujas moléculas contém o grupo dissulfeto (-SS-), como a cistina, apresentam sinais polarográficos catódicos, como

resultado da reação de redução dos átomos de enxofre no eletrodo de mercúrio [95].

Com o objetivo de confirmar que o alumínio se liga a cistina, foram monitoradas mudanças no pico apresentado no polarograma de soluções de cistina com adições de soluções de Al^{3+} , como mostra a Figura 26.

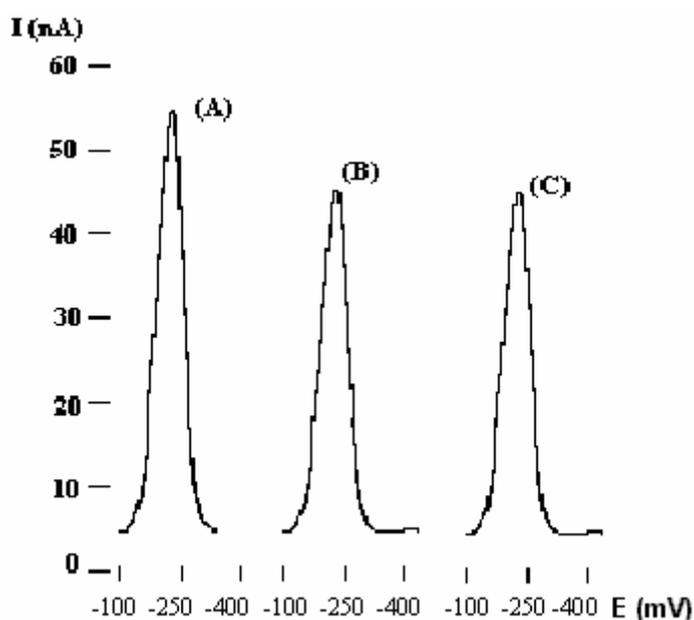
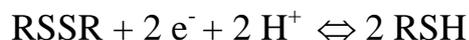


Figura 26: Polarogramas das soluções de cistina 0,125 mM (A) e cistina mais alumínio nas proporções de 1:1 (B) e 1:2 (C), obtidos usando polarografia de onda quadrada no modo de operação com eletrodo gotejante de mercúrio (DME).

O decréscimo no pico da RSSR na presença de Al pode ser atribuído a inacessibilidade do dissulfeto ligado ao Al para redução na superfície do eletrodo, podendo indicar que a interação do Al com

cistina ocorre por ligação dissulfeto, como foi observado por Çakir [50], visto que esta ligação é responsável pela atividade eletroquímica do aminoácido.



As intensidades de corrente dos picos polarográficos da cisteína em solução com e sem alumínio, em diferentes proporções (1:1 e 1:2) estão na tabela 19, a partir da qual foi construída a Figura 27. No apêndice B estão representados os polarogramas obtidos para as soluções de cisteína nas concentrações indicadas na tabela 19.

Tabela 19: Intensidade de corrente do sinal polarográfico para soluções de cisteína com e sem AlCl_3 em diferentes proporções.

Concentração de cisteína (mM)	Concentração de AlCl_3 (mM)	Intensidade do sinal (nA)	Proporção cisteína:Al
0,0098	0,0000	36,5 (\pm 1,54)	-
0,0245	0,0000	87,5 (\pm 1,51)	-
0,0392	0,0000	134,6 (\pm 2,11)	-
0,0098	0,0098	35,4 (\pm 2,14)	1:1
0,0245	0,0245	82,9 (\pm 1,45)	1:1
0,0392	0,0392	129,7 (\pm 2,05)	1:1
0,0098	0,0197	35,2 (\pm 2,31)	1:2
0,0245	0,0489	79,0 (\pm 2,21)	1:2
0,0392	0,0785	125,0 (\pm 1,26)	1:2

Faixa de varredura: -100 a -400 mV.

$E_p = -0,25 \text{ V}$

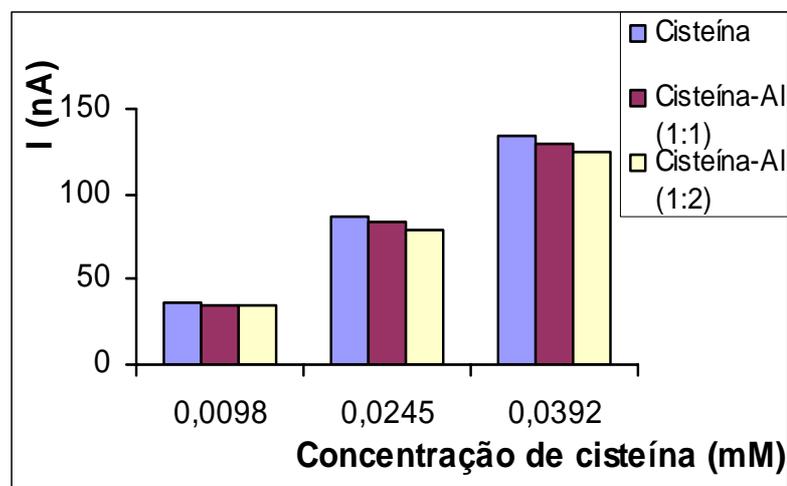
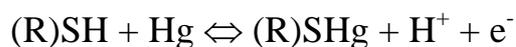


Figura 27: Intensidade de corrente do sinal polarográfico versus concentração de cisteína em água ou solução de AlCl_3 em diferentes proporções.

Moléculas contendo um ou mais grupos tiol (SH), como a cisteína, muitas vezes geram ondas anódicas como resultado da formação de compostos insolúveis com o mercúrio do eletrodo. Genericamente a reação anódica nestes casos, pode ser expressa como sendo [95].



Pode-se observar através da figura 27, que há uma pequena diminuição do sinal polarográfico da cisteína com adição do Al à solução, diminuição esta que independe da proporção metal:ligante. Uma vez que o sinal polarográfico é devido ao grupo tiol, e a diminuição sofrida no mesmo é muito pequena com a adição do

alumínio, pode-se supor que a complexação do alumínio pela cisteína não se dê através do enxofre do grupo tiol.

Para verificar o efeito da adição de solução contendo o íon Al^{3+} sobre o pico polarográfico da cistina, foram obtidos polarogramas de soluções de cistina e soluções de cistina mais solução de AlCl_3 em diferentes concentrações. A variação sofrida na intensidade de corrente dos picos polarográficos estão mostradas na Figura 28.

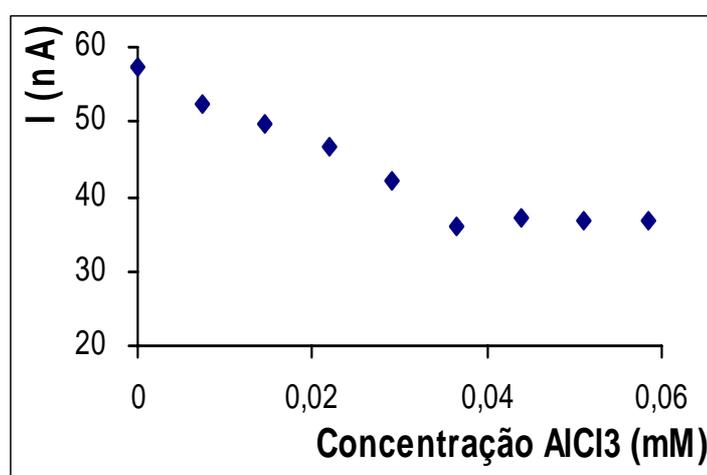


Figura 28: Intensidade de corrente dos picos polarográficos da cistina em solução (0,0408 mM) versus concentração de AlCl_3 (mM).

Pode-se observar na figura 28 que a adição de quantidades crescentes de alumínio às soluções contendo cistina, provoca uma diminuição gradual da intensidade de corrente do pico polarográfico da mesma, aumentando a quantidade de cistina combinada, até atingir a concentração de $\sim 0,03$ mM de AlCl_3 , com uma relação metal:ligante de 1:1, a partir da qual a intensidade de corrente do pico permanece constante, correspondendo $\sim 36\%$ da concentração de

cistina presente em solução. Estudo semelhante foi feito com soluções de cisteína, mas não foi observada variação significativa no sinal polarográfico da mesma.

Na tabela 20 estão os dados obtidos nos polarogramas (intensidade da corrente) de soluções de cistina com e sem alumínio, nas proporções de (1:1) e (1:2). No apêndice B estão representados os polarogramas obtidos para soluções de cistina nas concentrações indicadas na tabela 20.

Tabela 20: Intensidade de corrente do sinal polarográfico para soluções de cistina com e sem AlCl_3 em diferentes proporções.

Concentração de cistina (mM)	Concentração de AlCl_3 (mM)	Intensidade de corrente (nA)	Proporção cistina:Al
0,0416	0,0000	20,0 ($\pm 0,85$)	-
0,0832	0,0000	43,0 ($\pm 0,34$)	-
0,1250	0,0000	54,7 ($\pm 0,90$)	-
0,0416	0,0416	17,0 ($\pm 0,76$)	1:1
0,0832	0,0876	29,4 ($\pm 1,08$)	1:1
0,1250	0,1240	44,4 ($\pm 0,90$)	1:1
0,0416	0,0876	16,7 ($\pm 0,35$)	1:2
0,0832	0,1750	30,0 ($\pm 1,65$)	1:2
0,1250	0,2480	44,3 ($\pm 1,00$)	1:2

Faixa de varredura: -100 a -400 mV.

$E_p = -0,20\text{V}$

A partir dos dados apresentados na tabela 20 foi construída a Figura 29, que mostra a redução sofrida na intensidade de corrente do

pico polarográfico da cistina em solução, com a adição de alumínio em diferentes proporções.

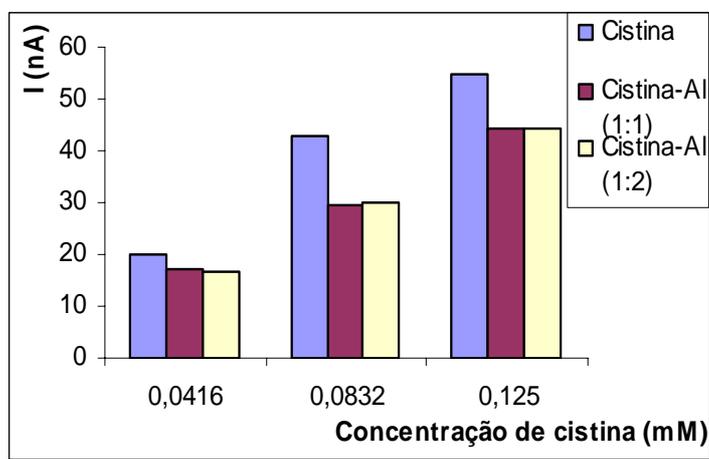


Figura 29: Intensidade de corrente do sinal polarográfico versus concentração de cistina em água ou solução de AlCl_3 em diferentes proporções.

A redução apresentada nos picos polarográficos dos aminoácidos cisteína (figura 27) e cistina (figura 29), independem da proporção empregada, representando, cerca de 5% ($\pm 6,06$) para a cisteína e 20% ($\pm 2,85$) para a cistina, indicando comprometimento do grupo dissulfeto no processo de complexação, o mesmo comportamento não foi observado para o grupo tiol. Observação esta que está de acordo com os resultados obtidos por Çakir [50], para a complexação da cisplatina com cistina.

4.5 Avaliação da estabilidade da cisteína em solução

Como a cisteína pode ser oxidada a cistina, investigou-se a estabilidade das soluções aquosas de cisteína em temperatura ambiente através da reação do grupo tiol com DTNB.

Os alquilíons podem ser convenientemente derivatizados com DTNB, formando dissulfetos de coloração amarela, que podem ser determinados por espectrofotometria [96]. Após a verificação da resposta dos espectros de absorção para soluções de cisteína -DTNB com diferentes concentrações da mesma, foi obtida a Figura 30 que mostra os espectros obtidos para soluções de cisteína na presença de DTNB, os espectros foram obtidos para soluções de cisteína com diferentes tempos (dias) de preparo. Os picos registrados no espectro comprovam a degradação da mesma com o tempo à temperatura ambiente.

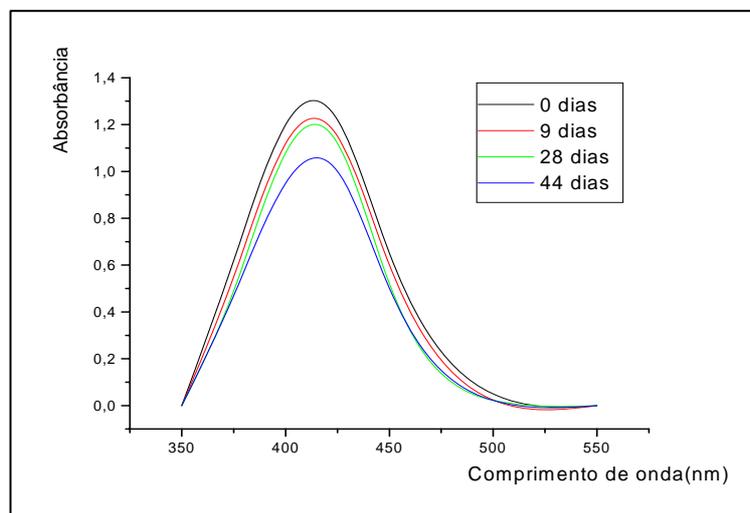


Figura 30: Espectro de absorção de soluções de cisteína (0,10 mM) com DTNB após diferentes dias de preparo à temperatura ambiente.

A partir dos espectros obtidos e mostrados na figura 30, foi calculada a porcentagem de cisteína decomposta em função do tempo, mantida a temperatura ambiente, com mostra a Figura 31, após 45 dias a decomposição da cisteína atinge cerca de 12%.

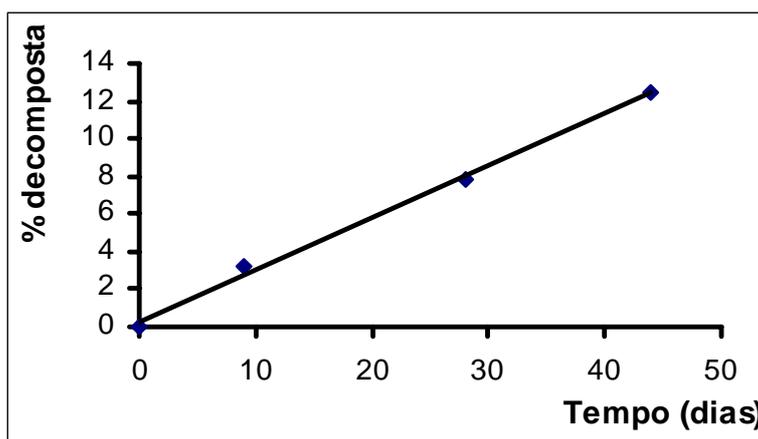


Figura 31: Porcentagem de decomposição da cisteína em solução aquosa em função do tempo (dias) à temperatura ambiente.

A cinética de decomposição da cisteína é relativamente lenta (figura 31), indicando que após 10 dias de preparo da solução aquosa de cisteína, mantida à temperatura ambiente, apresenta uma decomposição de aproximadamente 3%, decomposição esta que não chega a interferir nos valores obtidos para constantes de estabilidade dos complexos formados entre cisteína e Al, visto que, as soluções preparadas de cisteína eram mantidas sob refrigeração e utilizadas num prazo menor do que 10 dias.

5. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A sugestão para dar continuidade ao trabalho desenvolvido até aqui, é a síntese dos complexos formados com obtenção de monocristais em sistemas de reação específicos, envolvendo AlCl_3 (anidro) e os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina, com controle de pH do meio de reação, uma vez que os complexos formados dependem da disponibilidade dos sítios de ligação dos aminoácidos envolvidos no estudo. Uma vez obtidos os cristais, suas estruturas poderão ser determinadas através de difração de raios-X em monocristal (UFSM).

A continuidade proposta envolve um trabalho interdisciplinar, exigindo um estudo analítico dos complexos formados, química de coordenação (química inorgânica) e cristalografia.

Como não existem estruturas definidas para os complexos envolvendo aminoácidos que contém enxôfre e alumínio, bem como com ornitina e lisina, as estruturas propostas, envolvendo as habilidades de complexação do metal e do ligante, são (Figuras 32 e 33):

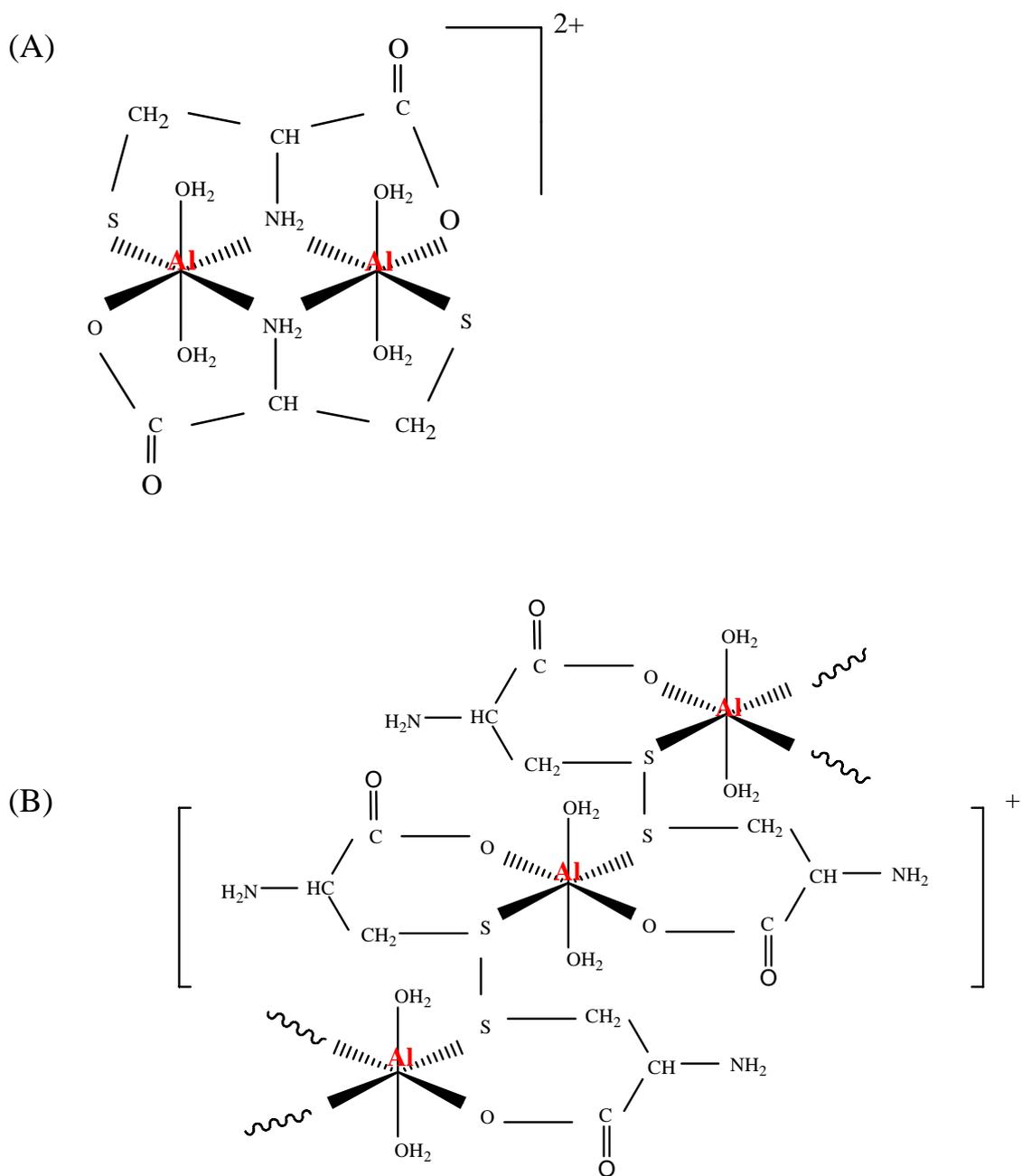


Figura 32: Estruturas esquemáticas propostas das moléculas dos complexos nos sistemas: (A) AlCl_3 (anidro) – cisteína (1:1)

(B) AlCl_3 (anidro) – cistina (1:1)

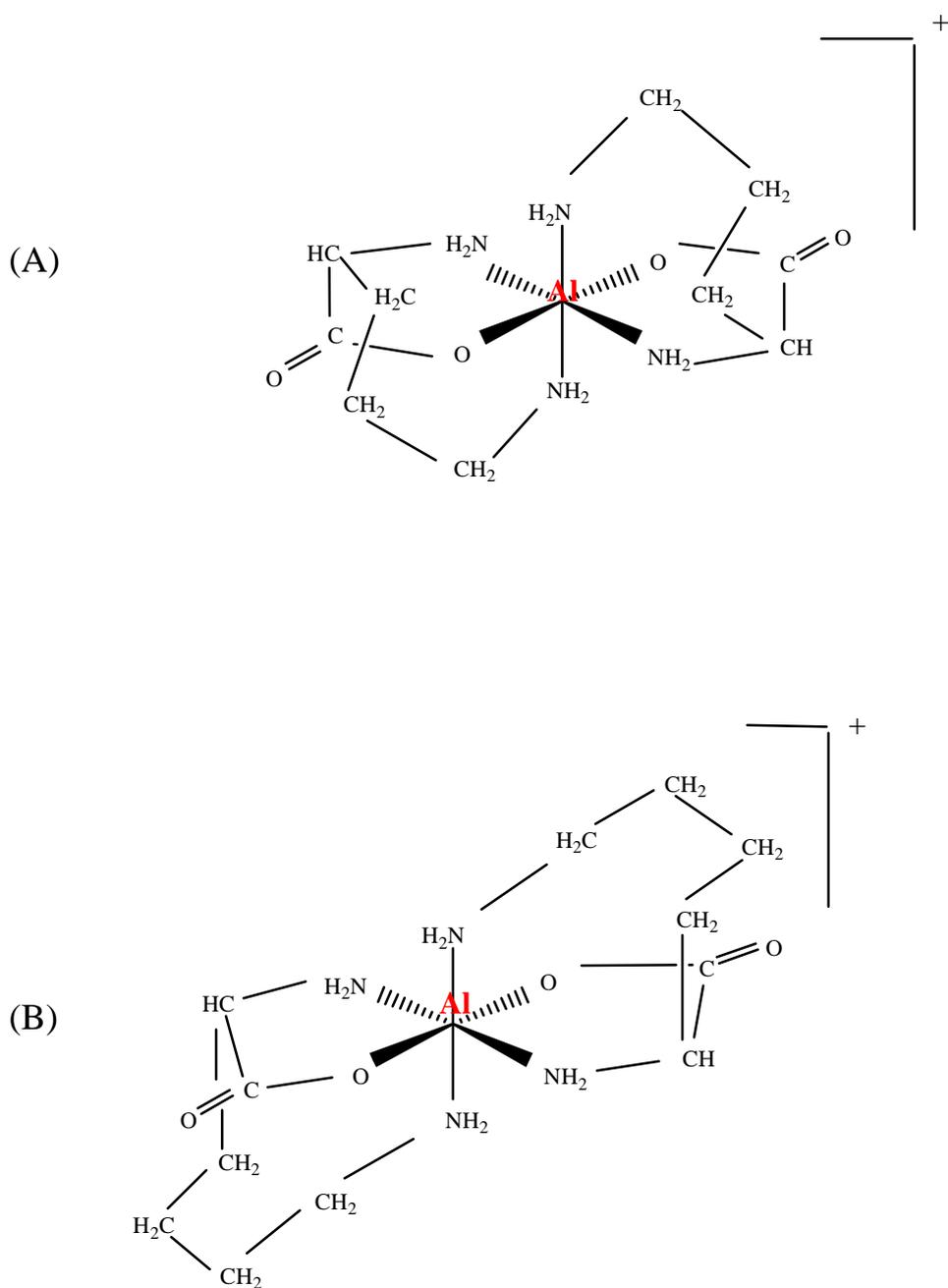


Figura 33: Estruturas esquemáticas propostas das moléculas dos complexos nos sistemas: (A) AlCl_3 (anidro) – ornitina (1:2)

(B) AlCl_3 (anidro) – lisina (1:2)

6. CONCLUSÕES

Através de titulação potenciométrica foi possível obter as constantes de estabilidade ($\log \beta$) dos complexos formados entre os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina, separadamente, com o íon Al^{3+} a 25 °C, usando para o tratamento dos dados o programa computacional BEST, próprio para este cálculo.

Os valores de σ obtidos nos cálculos das constantes estão na faixa de 0,01 a 0,038; sem o uso das constantes de hidrólise do alumínio, valores estes considerados aceitáveis [71]. Os valores destacados como resultado deste trabalho, foram os obtidos com a inclusão das constantes de hidrólise do alumínio nos cálculos, os valores de σ variaram de 0,023 a 0,46. Os valores obtidos para $\log \beta$, indicam que os ligantes estudados atuam como aminoácidos simples no processo de complexação do alumínio em solução aquosa a 25 °C.

Os valores calculados para as constantes de estabilidade dos complexos formados em maior proporção em solução entre o alumínio e os quatro aminoácidos estudados, apresentam a seguinte ordem: lisina < cisteína < cistina < ornitina. Ordem que está de acordo com o observado para a extração de Al^{3+} de resinas catiônicas e também do vidro por soluções contendo os aminoácidos [85], com exceção da cistina que extraiu maior quantidade de Al^{3+} do vidro.

Os estudos envolvendo polarografia e resinas catiônicas mostraram que existe interação entre o íon Al^{3+} e os aminoácidos cisteína e cistina, sendo que em solução a cistina parece interagir mais

efetivamente com o alumínio, o que está de acordo com os valores obtidos para o $\log \beta$.

O método Scatchard foi usado como um método alternativo para determinação de constantes de estabilidade, os valores não coincidem com os valores encontrados usando o programa BEST, provavelmente devido as condições distintas usadas nos dois cálculos de $\log \beta$.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] RUBINI, P.; LAKATOS, A.; CHAMPMARTER, D.; KISS, T. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 228, p. 137, 2002.
- [2] WILLIAMS, R.J.P. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 228, p. 93, 2002.
- [3] ROSSOTTI, H.S. *Talanta*, v. 21, p. 809, 1974.
- [4] ÖHMANN, L.O.; SJÖBERG, S. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 149, p. 33, 1996.
- [5] LOPEZ-QUINTELA, M.A.; KNOCHE, W.; VEITH, J. *J. Chem. Soc., Faraday Trans*, v. 80, p. 2313, 1984.
- [6] DISBUDAK, A.; BEKTAS, S.; PATIR, S.; GENÇ, O.; DENIZLI, A. *Separation and Purification Technology*, v. 26, p. 273, 2002.
- [7] ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de Química: Questionando a Vida Moderna e Meio Ambiente**, Porto Alegre : Boockman, 2001, p. 711.
- [8] POHLMEIER, A.; KNOCHE, W. *Intern. J. Chem. Kinetics*, v. 28, p. 125, 1996.
- [9] MARTELL, A.E.; HANCOCK, R.D.; SMITH, R.M. *Coord. Chem. Reviews*, v. 149, p. 311, 1996.
- [10] YOKEL, R.A. *Coord. Chem. Reviews*, v.228, p. 97, 2002.
- [11] YOKEL, R.A.; McNAMARA, P.J. *Pharmacology & Toxicology*, v. 88, p. 159, 2001.
- [12] BERTHON, G. *Coord. Chem. Reviews*, v. 228, p. 319, 2002.
- [13] SARGAZI, M.; ROBERTS, N.B.; SHENKIN, A. *J. Inorg. Biochem.* V. 87, p. 37, 2001.

- [14] BERTHON, G. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 149, p. 241, 1996.
- [15] MERCERO, J.M.; IRIGORAS, A.; LOPEZ, X.; FOWLER, J.E.; UGALDE, J.M. *J. Phys. Chem. A*, v. 105, p. 7446, 2001.
- [16] DRABEK, O.; BORUVKA, L.; MLADKOVA, L.; KOCAREK, M. *Inorg. Biochem.*, v. 97, p. 8, 2003.
- [17] YOKEL, R.A. *J. Toxicology and Environmental Health*, v. 41, p. 131, 1944
- [18] FISCHER, J.E. **Nutrição Parenteral**, Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1978, p 7, 14.
- [19] WAITABERG, D.L. **Nutrição Enteral e Parenteral na Prática Clínica**, Rio de Janeiro : Atheneu, 1995.
- [20] MARTINS, P.;
- Estudo da Interação entre alumínio e aminoácidos que compõem soluções de nutrição parenteral.
- Dissertação de mestrado, UFSM, 2000.
- [21] GREENSTEIN, J.P.; WINITZ, M. **Chemistry of the Amino Acids**, Florida : Krieger Publishing Company, 1984, p 487.
- [22] HARRIS, D.C. **Química Analítica Quantitativa**, Rio de Janeiro : LTC Editora, 2001, p. 469, 412.
- [23] FIGURA, P.; MCDUFFIE, B. *Analytical Chemistry*, v. 51, p.120, 1979.
- [24] YUCHI, A.; SATO, T.; MORIMOTO, Y.; MIZUNO, H.; WADA, H. *Anal. Chem.*, v. 69, p. 2941, 1997.
- [25] AYAR, A.; PEKACAR, A.I.; MERCIMEK, B. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v. 212, p. 51, 2003.

- [26] PASAVENTO, M.; BIESUZ, R.; GALLORINI, M.; PROFUMO, A. *Anal. Chem.* v. 65, p. 2522, 1993.
- [27] PASAVENTO, M.; BIESUZ, R. *Anal. Chim. Acta*, v. 346, p. 381, 1997.
- [28] PASAVENTO, M.; ALBERTI, G.; BIESUZ, R. *Anal. Chim. Acta*, v. 367, p. 215, 1998.
- [29] PASAVENTO, M.; BIESUZ, R.; PALET, C. *Analyst*, v. 123, p. 1295, 1988.
- [30] PASAVENTO, M.; ALBERTI, G.; PROFUMO, A. *Anal. Chim. Acta*, v. 405, p. 309, 2000.
- [31] MARTI, F.B.; JIMENO, S.A.; CONDE, F.L.; MENDEZ, J.H. **Química Analítica cualitativa**, Espanha : Paraninfo, 1994, p. 23.
- [32] VOGEL, A.I. **Análise Inorgânica Quantitativa**, Guanabara Dois S.A. Editora, 1981, p.195 .
- [33] RINGBOM, A. **Complexation in Analytical Chemistry**, London : Interscience Publishers, 1963, p 7.
- [34] HATI, S.; BOLES, A.R.; ZABORSKE, J.; BERGMAN, B.; POSTO, A.L.; BURKE, D.H. *Chemistry & Biology*, v. 10, p. 1129, 2003.
- [35] COWAN, J.A. **Inorganic Biochemistry : An Introduction**, New York : VCH Editora, 1993, p 7.
- [36] AGUILAR, M.; CORTINA, J.L.; MARTINEZ, M.; MIRALLES, N. **Tablas de constantes de Equilibrio**, Centre Publicacions D'Abast, Barcelona, 1996, p. 53.

- [37] ROSSOTTI, F.J.C.; ROSSOTTI, H. **The Determination of Stability Constants**, New York : McGraw-Hill Book Company, 1961, p 17.
- [38] ÖHMAN, L-O. *Chemical Geology*, v. 151, p. 41, 1998.
- [39] SALVADÓ, V.; ESCODA, M.L.; DE LA TORRE, F. *Polyhedron*, v. 18, p. 3275, 1999.
- [40] LI, N.C.; DOODY, E. *J. Am. Chem.Soc*, v. 76(1), p. 221, 1954.
- [41] ALBERT, B.A. *Biochemical J.*, v. 50, p. 690, 1952.
- [42] BENESCH, R.E.; BENESCH, R. *The J. Am. Chem. Soc.*, v. 77, p. 5877, 1955.
- [43] BERTHON, G. *Pure & Appl. Chem.* v.67(7), p. 1117, 1995.
- [44] GILES, N.M.; GILES, G.I.; JACOB, C. *Biochem. and Res. Commun.*, v.300, p.1, 2003.
- [45] ÇAKIR, S.; ÇAKIR, O.; BIÇER, E. *Electrochemistry Communications*, v. 2, p. 124, 2000.
- [46] KIM, D.H.; SUHAN, M. *Biorg. & Medic. Chem. Letter*, v.13, p. 2543, 2003.
- [47] DOLINSKA, B. *Il Fármaco*, v. 56, p. 737, 2001.
- [48] BERTHON, G. *J. Inorg. Biochem.* v. 20, p. 113, 1984.
- [49] BINOTTO, R.;
- Investigação sobre a origem da contaminação por alumínio em soluções de nutrição parenteral.
- Dissertação de mestrado, UFSM, 2001.
- [50] ÇAKIR S.; BIÇER, E.; ÇAKIR, O. *Electrochemistry Communications*, v. 2, p. 586, 2000.

- [51] WILSON, E.W.Jr.; KASPERIAN, M.H.; MARTIN, R.B. *J. Amer. Chem. Soc.* v. 92(18), p. 5365, 1970.
- [52] CONATO, C.; CONTINO, A.; MACCARRONE, G.; MAGRI, A.; REMELLI, M.; TABBI, G. *Thermochimica Acta*, v. 362, p. 13, 2000.
- [53] BABU, M.S.; RAO, G.N.; RAMANA, K.V.; RAO, M.S.P. *J. Indian Chem. Soc.*, v. 78, p. 280, 2001.
- [54] NIGOVIC, B.; KUJUNDZIC, N. *Polyhedron*, v. 21, p. 1661, 2002.
- [55] BUKIETYNSKA, K.; PODSIADLY, H.; KARWECKA, Z. *J. Inorg. Biochem.* v. 94, p. 317, 2003.
- [56] CONATO, C.; KOZLOWSKI, H.; MLYNARZ, P.; PULIDORI, F.; REMELLI, M. *Polyhedron*, v. 21, p. 1469, 2002.
- [57] NAGYPÁL, I.; FARKAS, E.; GERGELY, A. *J. Inorg. Nuclear Chem.* v. 37(10), p. 2145, 1975.
- [58] CONATO, C.; GAVIOLI, R.; GUERRINI, R.; KOZLOWSKI, H.; MLYNARZ, P.; PASTI, C.; PULIDORI, F.; REMELLI, M. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1526, p. 199, 2001.
- [59] CONATO, C.; FERRARI, S.; KOZLOWSKI, H.; PULIDORI, F.; REMELLI, M. *Polyhedron*, v. 20, p. 615, 2001.
- [60] SHARMA, U. *Thermochimica Acta*, v. 66, p. 369, 1983.
- [61] DAYDÉ, S.; CHAMPMARTIN, D.; RUBINI, P.; BERTHON, G. *Inorg Chim. Acta*, v. 339, p. 513, 2002.
- [62] SARASWATH, M.; MILLER, J.M. *Rapid Comm. Mass Spectrof.*, v. 10, p. 1706, 1996.

- [63] KISS, T.; SÓVÁGÓ, I.; LAVATOS, A.; BERTANI, R.; TAPPARO, A.; BOMBI, G.; MARTIN, R.B. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, p. 1967, 1997.
- [64] SCATCHARD, G. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* v. 51, p.660, 1949.
- [65] MARTELL, A.; MOTEKAITIS, R.J. **Determination and Use of Stability Constants**, New York : Wiley-VCH, 1992.
- [66] MARQUES, A.L.B.; CHIERICE, G.O. *J. Braz. Chem. Soc.* v.9(6), p. 531, 1998.
- [67] ROSE, J. **Advanced Physico-Chemical Experiments**, London : Sir Isaac Pitman and Son Ltda, 1964, p 76.
- [68] TEWARI, B.B. *J. Chromatography A*, v. 962, p. 233, 2002.
- [69] HAVEL, J.; JANOS, P.; JANDIK, P. *J. Chromatography A*, v. 745, p. 127, 1996.
- [70] ABATE, G.; MASINI, J.C. *Química Nova*, v. 22(5), p. 661, 1999.
- [71] LI, Y.; MARTELL, A.E. *Inorg. Chim. Acta*, v. 231, p. 159, 1995.
- [72] CHEN, D.; MARTELL, A.E.; MOTEKAITIS, J.; NIU, S.; MACMANUS, D. *Inorg. Chim. Acta*, v. 293, p. 206, 1999.
- [73] INOUE, M.B.; INOUE, M.; FERNANDO, Q.; VALCIC, S.; TIMMERMANN, B.N.; *J. Inorg. Biochem.*, v. 88, p. 7, 2002.
- [74] GHOLIVAND, M.B.; BAMDAD, F.; GHASEM. *Talanta*, v. 46, p. 875, 1998.
- [75] MOTULSKY, H. **The Graphpad Guide to Analyzing Radioligant Binding Data**, CA, USA : Graphpad Software Ind., 1995-96, p. 5-6.
- [76] ABATE, G.; MASINI, J.C. *Braz. Chem. Soc.*, v. 12(1), p. 109, 2001.

- [77] ABATE, A.; MASINI, J. *Química Nova*, v. 22(5), p. 661, 1999.
- [78] GONZÁLEZ-DÁVILA, M.; SANTANA-CASIANO, J.M.; LAGLERA, L.M. *Marine Chemistry*, v. 70, p. 161, 2000.
- [79] SABOURY, A.A.; SARRI-SARRAF, N.; SAIDIAN, S. *Thermochimica Acta*, v. 381, p. 147, 2002.
- [80] KARAMI-TEHRAMI, F.; SALAMI, S.; MOKARRAM, P. *Clinical Biochemistry*, v. 34, p. 603, 2001.
- [81] NIEROP, K.G.J.; JANSEN, B.; VRUGT, J.A.; VERSTRATEN, J.M.; *Chemosphere*, v.49, p. 1191, 2002.
- [82] BIRUS, M.; BUDIMIR, A.; GABRICEVIC, M. *J. Inorg. Biochem.* v.75, p. 85, 1999.
- [83] LI, Y.J.; MARTELL, A.E. *Inorg. Chim. Acta*, v. 214, p. 103, 1993.
- [84] MERCERA, J.M.; FOWLER, J.E.; UGALDE, J.U. *J. Phys. Chem. A*, v. 102, p. 7006, 1998.
- [85] BOHRER, D.; NASCIMENTO, P.C.; MARTINS, P.; BINOTTO, R. *Analytica Chimica Acta*, v. 459, p. 267, 2002.
- [86] BOHRER, D.; NASCIMENTO, P.C., BINOTTO, R., BECKER, E. *Rev. Bras. de Nutr. Clin.* v.18(2), p. 47, 2003.
- [87] OHLWEILER, O.A. **Química Analítica Quantitativa**, Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2ª edição, v. 2. 1976, p. 519.
- [88] ASSUMPÇÃO, R.M.V.; MORITA, T. **Manual de Soluções, Reagentes e Solventes**, Editora Edgar Blücher Ltda – EDUSP, 1968, p. 357.

- [89] MOTEKAITIS, R.J.; MARTELL, A.E. *Inorg. Chem.*, v. 23, p. 18, 1984.
- [90] HAWKINS, C.J.; PERRIN, D.D. *Inorganic Chemistry*, v.2(4), p. 843, 1963.
- [91] MIMICAR, D.; BEDIQUI, F.; ZAGAL, J.H. *Electrochimica Acta*, v. 48, p.323, 2002.
- [92] ARAUJO, A.B.; ROSA, A.H.; ROCHA, J.C.; RAMOS, L.P.C. *Química Nova*, v. 25(6B), p. 1103, 2002.
- [93] ABATE, G.; MASINI, J.C. *Química Nova*, v. 22(5), p. 661,1999.
- [94] Encontrado no site: www.fst.rdg.ac.vk/courses/fs916.
- [95] KAPOOR, R.C.; AGGARWAL, B.S. **Principles of Polarography**, John Wiley & Sons, New York, p. 24,106, 1991.
- [96] CROW, D.P. **Polarography of Metal Complexes**, London : Academic Press, 1969, p. 162.
- [97] VAN DEN BERG, C.M.G.; MURPHY, K.; RILEY, J.P. *Analytica Chimica Acta*, v.188, p. 177, 1986.
- [98] PILLA, L. **Físico-Química**, Rio de Janeiro:Livros Técnicos e Científicos Editora, v. 2, 1980, p. 799.
- [99] GLASSTONE, S. **Termodinâmica para Químicos**, Madrid:Editora Aguilar, , 1978, p. 490.

Apêndice A

Abaixo está representado um dos gráficos obtidos pela aplicação do método Gran para determinação do grau de contaminação de uma solução de KOH por carbonato. Onde:

$$\phi = (V_0 + V_{\text{KOH}}) \times 10^{\pm R}$$

V_0 = volume inicial

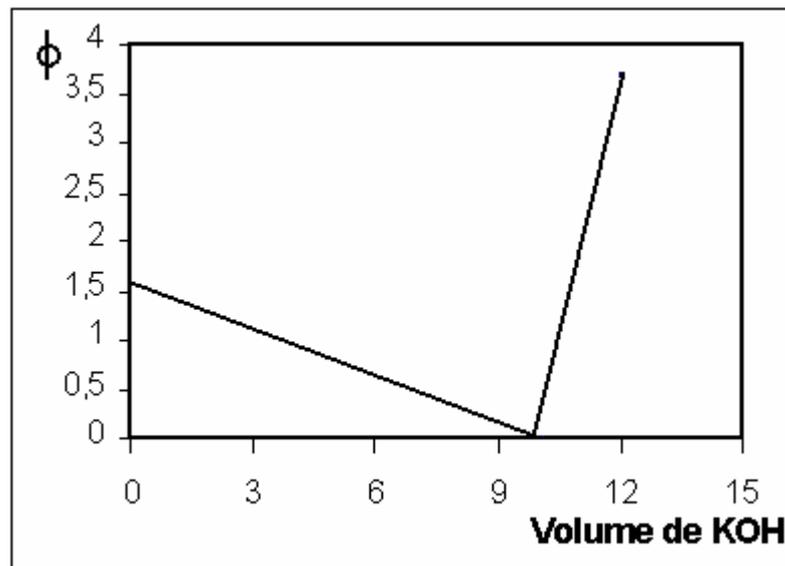
V_{KOH} = volume de KOH adicionado

R = leitura do pHmetro

“-“ = usado na região ácida

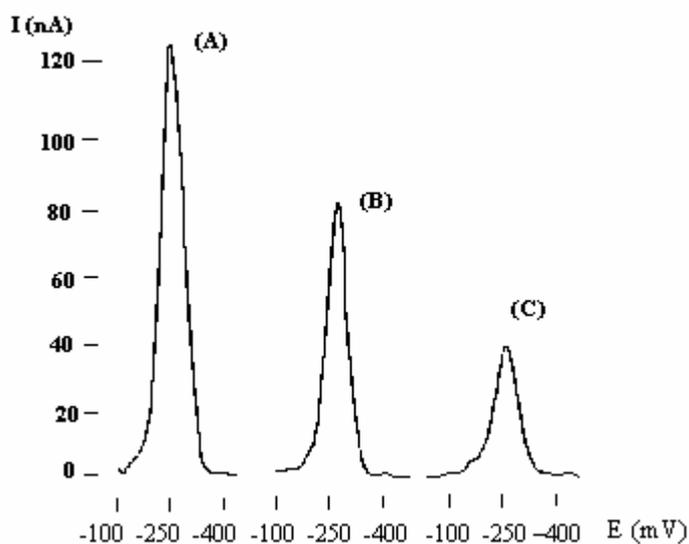
“+” = usado na região alcalina

Gráfico de ϕ versus volume de KOH 0,1 N adicionado a 10 mL de solução de HCl 0,1 N.

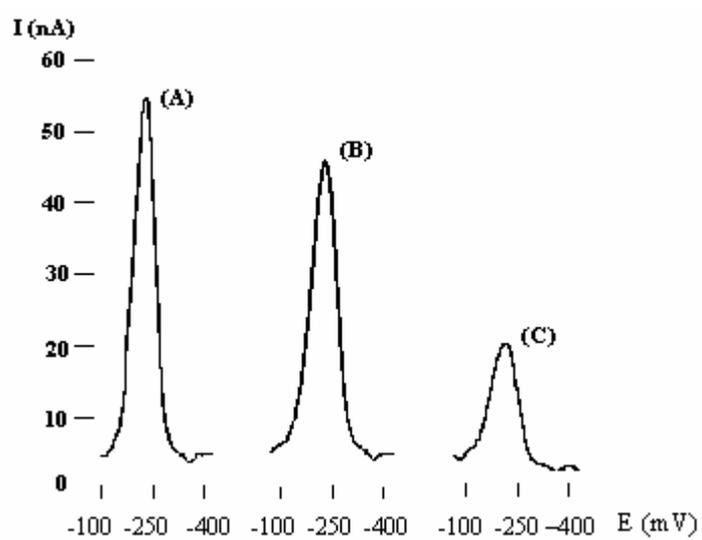


Apêndice B

Polarogramas obtidos usando polarografia de onda quadrada no modo de operação eletrodo gotejante de mercúrio (DME), com velocidade de varredura de 10 mV/s, em soluções aquosas com KCl 0,1 M, como eletrólito suporte para soluções de cisteína e cistina.



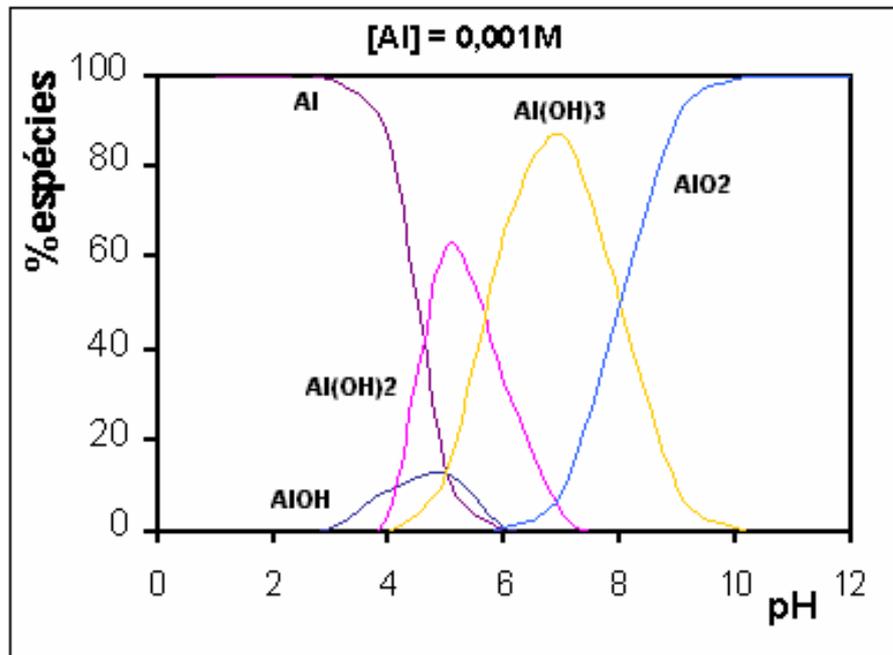
Polarograma de soluções de cisteína nas concentrações de 0,0098 (C); 0,0245 (B) e 0,0392 (A) mM. Não estão mostrados os polarogramas da cisteína mais alumínio, porque a diminuição sofrida no pico polarográfico foi muito pequena.



Polarogramas de soluções de cistina em solução nas concentrações de 0,0416 (C) ; 0,0832 (B) e 0,125 (A) mM.

Apêndice C

Diagrama de equilíbrio de espécies para soluções aquosas de alumínio na concentrações de 0,001 M. As cargas foram omitidas.



Apêndice D

Diagramas de equilíbrio de espécies para os aminoácidos em solução aquosa, obtidos a partir dos dados fornecidos pelo programa computacional BEST, quando foram calculadas as constantes de protonação dos mesmos.

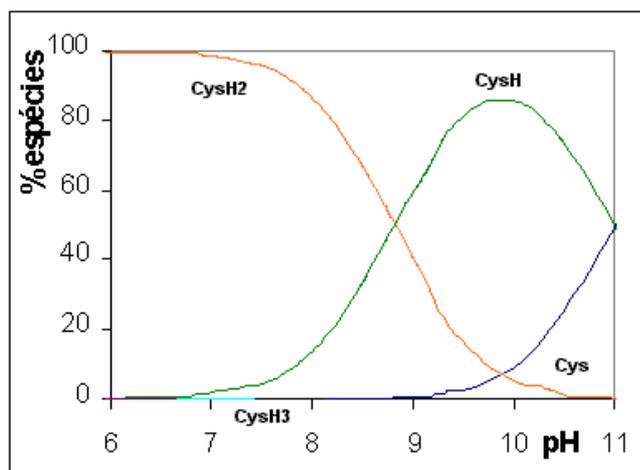


Diagrama de equilíbrio de espécies para cisteína (8,1 mM) em solução aquosa com $\mu = 0,1$ M.

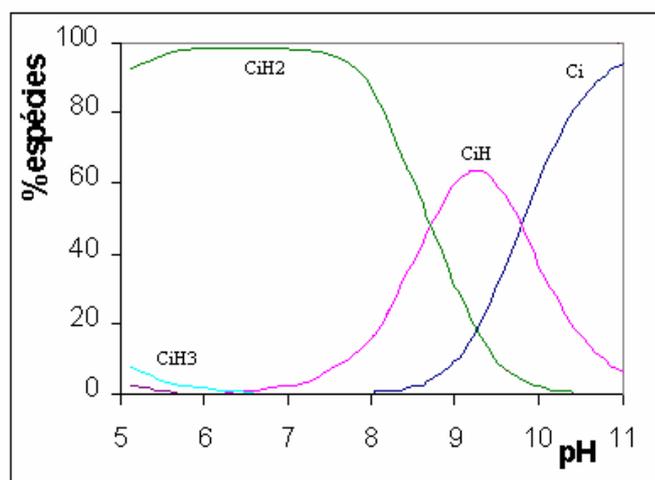


Diagrama de equilíbrio de espécies para cistina (0,353 mM) em solução aquosa com $\mu = 0,01$ M.

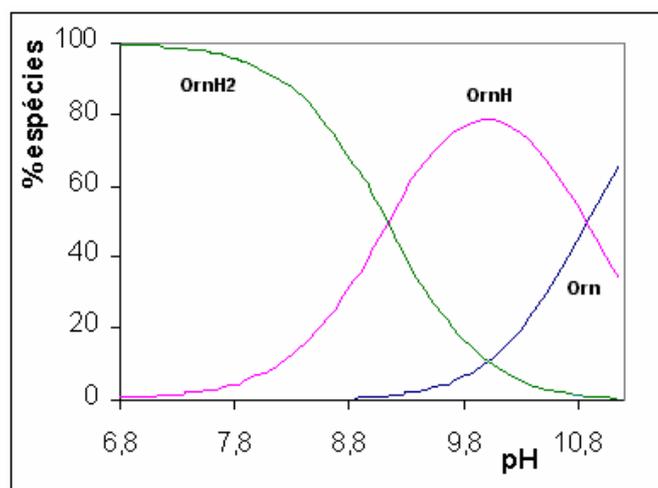


Diagrama de equilíbrio de espécies para ornitina (9,1 mM) em solução aquosa com $\mu = 0,091$ M.

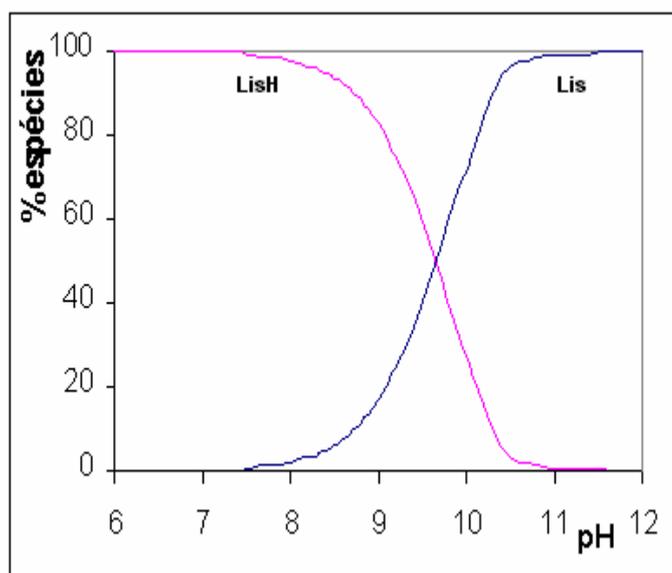


Diagrama de equilíbrio de espécies para lisina (10,0 mM) em solução aquosa com $\mu = 0,1$ M.

Apêndice E

Determinação do produto iônico da água (pKw) [98]

$$K_w = C_{H^+} \cdot C_{OH^-} \cdot \gamma_{\pm}$$

C_{H^+} , C_{OH^-} = concentração dos íons H^+ e OH^- em solução

γ_{\pm} = coeficiente de atividade iônico médio da solução

O valor de C_{H^+} e C_{OH^-} pode ser determinado a partir da condutividade da água a 25 °C.

Para a água do milli-Q : $R = 18,2 \times 10^6 \Omega \cdot \text{cm}$

$$C = 1/R = 5,495 \times 10^{-8} \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} = 5,495 \times 10^{-8} \text{ S/cm}$$

A condutância equivalente para água pura: $\lambda_{H^+} + \lambda_{OH^-} = 548,4 \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2$

$$\frac{5,495 \times 10^{-8}}{548,4} = 1,002 \times 10^{-7} \text{ mols/L}$$

Para solução de KCL 0,1 M, $\gamma_{\pm} = 0,764^{[98]}$, então:

$$K_w = 1,002 \times 10^{-7} \cdot 1,002 \times 10^{-7} \cdot (0,764)^2$$

$$K_w = 5,8603 \times 10^{-15}$$

$$\text{pK}_w = -14,23$$

Para solução de KCL 0,01 M, $\gamma_{\pm} = 0,899^{[99]}$, $\text{pK}_w = -14,09$

Para solução de KCL 0,001 M, $\gamma_{\pm} = 0,776^{[99]}$, $\text{pK}_w = -14,22$

Apêndice F

Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cisteína na proporção de 1:1, $\mu = 0,1 \text{ M}$ e $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Programa BEST versão 10/10/1991

Cisteína

Volume inicial	20,0
Normalidade da base	0,01
Milimoles de ácido	0,0006
Número de pontos da titulação	109
Componentes	
1 cisteína	0,162
2 alumínio	0,162
3 proton	0,324

Log β	Espécies		
1) 0,00	1 cisteína	0 alumínio	0 proton
2) 11,04	1 cisteína	0 alumínio	1 proton
3) 19,79	1 cisteína	0 alumínio	2 próton
4) 22,78	1 cisteína	0 alumínio	3 próton
5) 0,00	0 cisteína	1 alumínio	0 próton
6) 0,00	0 cisteína	0 alumínio	1 próton
7) 7,30	1 cisteína	1 alumínio	0 próton
8) 6,93	1 cisteína	1 alumínio	-1 próton
9) 7,15	1 cisteína	1 alumínio	1 próton
10) -2,00	1 cisteína	1 alumínio	-2 próton
11) -14,67	1 cisteína	1 alumínio	-3 próton
12) -14,23	0 cisteína	0 alumínio	-1 próton

$$\sigma = 0,0116$$

Vb	a	pH experimental	PH calculado
0,00	-0,004	4,350	4,371
0,02	-0,002	4,358	4,374
0,04	-0,01	4,375	4,377
0,06	0,0	4,376	4,381
0,08	0,001	4,377	4,384

0,100	0,002	4,385	4,387
0,120	0,004	4,390	4,39
0,140	0,005	4,395	4,393
0,160	0,006	4,400	4,396
0,180	0,007	4,405	4,399
0,200	0,009	4,406	4,402
0,240	0,011	4,415	4,408
0,260	0,012	4,416	4,411
0,280	0,014	4,420	4,414
0,300	0,015	4,425	4,417
0,320	0,016	4,426	4,420
0,340	0,017	4,427	4,422
0,360	0,019	4,430	4,425
0,380	0,020	4,435	4,428
0,400	0,021	4,440	4,430
0,450	0,024	4,450	4,437
0,500	0,027	4,455	4,443
0,550	0,030	4,460	4,449
0,600	0,033	4,475	4,455
0,650	0,036	4,480	4,461
0,700	0,040	4,490	4,467
0,750	0,043	4,500	4,472
0,800	0,046	4,505	4,483
0,850	0,049	4,510	4,483
0,900	0,052	4,515	4,488
0,950	0,055	4,520	4,493
1,000	0,058	4,530	4,498
1,100	0,064	4,540	4,508
1,200	0,070	4,545	4,517
1,300	0,077	4,555	4,526
1,400	0,083	4,575	4,534
1,500	0,089	4,585	4,542
2,000	0,120	4,600	4,579
2,500	0,151	4,655	4,611
3,000	0,181	4,690	4,639
3,500	0,212	4,715	4,665
4,000	0,243	4,730	4,688

4,500	0,274	4,745	4,709
5,000	0,305	4,755	4,730
5,500	0,366	4,760	4,748
6,000	0,367	4,775	4,766
6,500	0,398	4,785	4,783
7,000	0,428	4,790	4,799
7,500	0,459	4,795	4,815
8,000	0,490	4,805	4,830
0,850	0,521	4,820	4,844
9,000	0,552	4,825	4,858
9,500	0,583	4,830	4,872
10,000	0,614	4,840	4,885
11,000	0,675	4,850	4,911
12,000	0,737	4,860	4,935
13,000	0,799	4,880	4,959
14,000	0,860	4,890	4,982
15,000	0,922	4,900	5,005
16,000	0,984	4,910	5,026
17,000	1,046	4,930	5,048
18,000	1,107	4,940	5,069
19,000	1,169	4,950	5,090
20,000	1,231	4,960	5,111
21,000	1,293	4,975	5,132
22,000	1,354	4,990	5,153
23,000	1,416	5,001	5,173
24,000	1,478	5,025	5,194
25,000	1,540	5,045	5,215
26,000	1,601	5,060	5,237
27,000	1,663	5,075	5,258
28,000	1,725	5,095	5,280
29,000	1,786	5,115	5,032
30,000	1,848	5,140	5,325
31,000	1,910	5,165	5,349
32,000	1,972	5,190	5,373
33,000	2,033	5,220	5,398
34,000	2,095	5,255	5,424
35,000	2,157	5,300	5,451

36,000	2,219	5,355	5,480
37,000	2,280	5,405	5,510
38,000	2,342	5,495	5,543
39,000	2,404	5,650	5,577
40,000	2,465	5,890	5,615
41,000	2,527	6,130	5,656
42,000	2,589	6,430	5,702
43,000	2,651	6,790	5,755
44,000	2,712	7,270	5,817
45,000	2,774	7,545	5,892
46,000	2,836	7,815	5,989
47,000	2,898	8,005	6,125
48,000	2,959	8,155	6,385
49,000	3,021	8,255	7,299
50,000	3,083	8,360	7,885
51,000	3,144	8,430	8,157
52,000	3,206	8,490	8,343
53,000	3,268	8,580	8,492
54,000	3,330	8,665	8,620
55,000	3,391	8,760	8,736
56,000	3,453	8,840	8,845
57,000	3,515	8,935	8,952
58,000	3,577	9,025	9,059
59,000	3,638	9,100	9,169
60,000	3,700	9,155	9,288
61,000	3,762	9,210	9,419
62,000	3,823	9,27	9,570
63,000	3,885	9,32	9,753
64	3,947	9,510	9,986

Apêndice G

Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cisteína, usando nos cálculos as constantes de hidrólise do alumínio, na proporção de 1:1, $\mu = 0,1$ M e $T = 25$ °C.

Programa BEST versão 10/10/1991

Cisteína

Volume inicial	20,0
Normalidade da base	0,01
Milimoles de ácido	0,0006
Número de pontos da titulação	109
Componentes	
1 cisteína	0,162
2 alumínio	0,162
3 proton	0,324

Log β	Espécies		
1) 0,00	1 cisteína	0 alumínio	0 proton
2) 11,05	1 cisteína	0 alumínio	1 próton
3) 19,79	1 cisteína	0 alumínio	2 próton
4) 22,78	1 cisteína	0 alumínio	3 próton
5) 0,00	0 cisteína	1 alumínio	0 próton
6) 0,00	0 cisteína	0 alumínio	1 próton
7) -5,33	0 cisteína	1 alumínio	-1 próton
8) -10,41	0 cisteína	1 alumínio	-2 próton
9) -29,92	0 cisteína	1 alumínio	-3 próton
10) -23,46	0 cisteína	1 alumínio	-4 próton
11) -13,13	0 cisteína	3 alumínio	-4 próton
12) 6,45	1 cisteína	1 alumínio	0 próton
13) 6,15	1 cisteína	1 alumínio	-1 próton
14) 6,38	1 cisteína	1 alumínio	1 próton
15) -15,47	1 cisteína	1 alumínio	-3 proton
16) -2,80	1 cisteína	1 alimínio	-2 proton

17) -14,23

0 cisteína

0 alumínio

-1 próton

$\sigma = 0,459$

Vb	a	pH experimental	PH calculado
0,00	-0,004	4,350	3,925
0,02	-0,002	4,358	3,927
0,04	-0,01	4,375	3,928
0,06	0,0	4,376	3,930
0,08	0,001	4,377	3,931
0,100	0,002	4,385	3,933
0,120	0,004	4,390	3,934
0,140	0,005	4,395	3,936
0,160	0,006	4,400	3,937
0,180	0,007	4,405	3,939
0,200	0,009	4,406	3,940
0,240	0,011	4,415	3,942
0,260	0,012	4,416	3,945
0,280	0,014	4,420	3,946
0,300	0,015	4,425	3,948
0,320	0,016	4,426	3,949
0,340	0,017	4,427	3,951
0,360	0,019	4,430	3,952
0,380	0,020	4,435	3,954
0,400	0,021	4,440	3,955
0,450	0,024	4,450	3,959
0,500	0,027	4,455	3,962
0,550	0,030	4,460	3,966
0,600	0,033	4,475	3,969
0,650	0,036	4,480	3,973
0,700	0,040	4,490	3,976
0,750	0,043	4,500	3,979
0,800	0,046	4,505	3,983
0,850	0,049	4,510	3,986
0,900	0,052	4,515	3,989
0,950	0,055	4,520	3,993
1,000	0,058	4,530	3,996
1,100	0,064	4,540	4,002
1,200	0,070	4,545	4,009

1,300	0,077	4,555	4,015
1,400	0,083	4,575	4,021
1,500	0,089	4,585	4,027
2,000	0,120	4,600	4,056
2,500	0,151	4,655	4,084
3,000	0,181	4,690	4,110
3,500	0,212	4,715	4,135
4,000	0,243	4,730	4,160
4,500	0,274	4,745	4,183
5,000	0,305	4,755	4,207
5,500	0,366	4,760	4,229
6,000	0,367	4,775	4,252
6,500	0,398	4,785	4,274
7,000	0,428	4,790	4,296
7,500	0,459	4,795	4,318
8,000	0,490	4,805	4,340
0,850	0,521	4,820	4,361
9,000	0,552	4,825	4,383
9,500	0,583	4,830	4,406
10,000	0,614	4,840	4,428
11,000	0,675	4,850	4,474
12,000	0,737	4,860	4,521
13,000	0,799	4,880	4,570
14,000	0,860	4,890	4,623
15,000	0,922	4,900	4,680
16,000	0,984	4,910	4,741
17,000	1,046	4,930	4,810
18,000	1,107	4,940	4,886
19,000	1,169	4,950	4,973
20,000	1,231	4,960	5,073
21,000	1,293	4,975	5,183
22,000	1,354	4,990	5,297
23,000	1,416	5,001	5,406
24,000	1,478	5,025	5,503
25,000	1,540	5,045	5,588
26,000	1,601	5,060	5,661
27,000	1,663	5,075	5,726

28,000	1,725	5,095	5,784
29,000	1,786	5,115	5,837
30,000	1,848	5,140	5,885
31,000	1,910	5,165	5,930
32,000	1,972	5,190	5,973
33,000	2,033	5,220	6,013
34,000	2,095	5,255	6,052
35,000	2,157	5,300	6,089
36,000	2,219	5,355	6,124
37,000	2,280	5,405	6,159
38,000	2,342	5,495	6,192
39,000	2,404	5,650	6,225
40,000	2,465	5,890	6,257
41,000	2,527	6,130	6,289
42,000	2,589	6,430	6,321
43,000	2,651	6,790	6,353
44,000	2,712	7,270	6,386
45,000	2,774	7,545	6,419
46,000	2,836	7,815	6,455
47,000	2,898	8,005	6,492
48,000	2,959	8,155	6,531
49,000	3,021	8,255	6,574
50,000	3,083	8,360	6,619
51,000	3,144	8,430	6,668
52,000	3,206	8,490	6,721
53,000	3,268	8,580	6,777
54,000	3,330	8,665	6,838
55,000	3,391	8,760	6,903
56,000	3,453	8,840	6,974
57,000	3,515	8,935	7,051
58,000	3,577	9,025	7,136
59,000	3,638	9,100	7,229
60,000	3,700	9,155	7,329
61,000	3,762	9,210	7,437
62,000	3,823	9,27	7,552
63,000	3,885	9,32	7,672
64	3,947	9,510	7,796

Apêndice H

Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cistina na proporção de 1:1, $\mu = 0,01$ M e $T = 25$ °C.

Programa BEST versão 10/10/1991

Cistina

Volume inicial	20,27
Normalidade da base	0,01
Milimoles de ácido	0,00072
Número de pontos da titulação	52
Componentes	
1 cistina	0,00716
2 alumínio	0,0073
3 proton	0,0144

Log β	Espécies		
1) 0,00	1 cistina	0 alumínio	0 próton
2) 9,80	1 cistina	0 alumínio	1 próton
3) 18,54	1cistina	0 alumínio	2 próton
4) 22,55	1cistina	0 alumínio	3 próton
5) 23,52	1cistina	0 alumínio	4 próton
6) 0,00	0 cistina	1 alumínio	0 próton
7) 0,00	0 cistina	0 alumínio	1 próton
8) 10,28	1 cistina	1 alumínio	0 próton
9) 1,65	1 cistina	1 alumínio	-1 próton
10) 1,48	1 cistina	1 alumínio	1 próton
11) -5,61	1 cistina	1 alumínio	-2 próton
12) -5,22	1 cistina	1 alumínio	-3 próton
13) 1,04	1 cistina	1 alumínio	2 próton
14) -14.20	0 cistina	0 alumínio	-1 próton

$\sigma = 0,029$

Vb	a	pH experimental	PH calculado
0,000	-0,101	4,827	4,883
0,020	-0,073	4,850	4,929

0,040	-0,045	4,897	4,971
0,060	-0,017	4,930	5,007
0,080	0,011	4,967	5,037
0,100	0,039	5,017	5,063
0,120	0,067	5,053	5,860
0,140	0,095	5,080	5,106
0,160	0,123	5,120	5,123
0,180	0,151	5,153	5,139
0,200	0,179	5,172	5,153
0,220	0,207	5,183	5,166
0,240	0,235	5,193	5,178
0,260	0,263	5,210	5,188
0,280	0,291	5,220	5,199
0,300	0,318	5,232	5,208
0,350	0,388	5,247	5,229
0,400	0,458	5,257	5,248
0,450	0,528	5,268	5,264
0,500	0,598	5,278	5,279
0,550	0,668	5,290	5,293
0,600	0,737	5,297	5,306
0,650	0,807	5,310	5,318
0,700	0,877	5,318	5,329
0,800	1,017	5,337	5,350
0,850	1,087	5,347	5,360
0,900	1,156	5,360	5,369
0,950	1,226	5,370	5,378
1,000	1,296	5,378	5,387
1,100	1,436	5,407	5,404
1,200	1,575	5,428	5,421
1,300	1,715	5,460	5,437
1,400	1,855	5,487	5,452
1,500	1,994	5,527	5,467
1,600	2,134	5,577	5,483
1,700	2,274	5,637	5,498
1,800	2,413	5,707	5,513
1,900	2,553	5,840	5,528
2,000	2,693	6,127	5,543

2,500	3,391	8,400	5,628
3,000	4,089	9,047	5,740
3,500	4,788	9,550	5,978
4,000	5,486	10,057	10,409
4,500	6,883	10,530	10,793
5,000	6,883	10,827	10,987
5,500	7,581	11,027	11,117
6,000	8,279	11,163	11,213
6,500	8,978	11,267	11,289
7,000	9,676	11,343	11,351
7,500	10,374	11,420	11,404
8,000	11,073	11,473	11,449

Apêndice I

Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e cistina, usando as constantes de hidrólise do alumínio na proporção de 1:1, $\mu = 0,01$ M e $T = 25$ °C.

Programa BEST versão 10/10/1991

Cistina

Volume inicial	20,27
Normalidade da base	0,01
Milimoles de ácido	0,00072
Número de pontos da titulação	52
Componentes	
1 cistina	0,00716
2 alumínio	0,0073
3 proton	0,0144

Log β	Espécies		
1) 0,00	1 cistina	0 alumínio	0 proton
2) 9,80	1 cistina	0 alumínio	1 próton
3) 18,54	1cistina	0 alumínio	2 próton
4) 22,55	1cistina	0 alumínio	3 próton
5) 23,52	1cistina	0 alumínio	4 próton
6) 0,00	0 cistina	1 alumínio	0 próton
7) 0,00	0 cistina	0 alumínio	1 próton
8) - 5,33	0 cistina	1 alumínio	-1 próton
9) -10,41	0 cistina	1 alumínio	-2 próton
10) -29,92	0 cistina	1 alumínio	-3 próton
11) -23,46	0 cistina	1 alumínio	-4 próton
12) -13,13	0 cistina	3 alumínio	-4 próton
13) 6,92	1 cistina	1 alumínio	0 próton
14) 1,34	1 cistina	1 alumínio	1 próton
15) 0,46	1 cistina	1 alumínio	-1próton
16) 0,91	1 cistina	1 alumínio	2 próton
17) -5,97	1 cistina	1 alumínio	-2 próton
18) -5,22	1 cistina	1 alumínio	-3 proton

19) -14.20		0 cistina	0 alumínio	-1 próton
$\sigma = 0,324$				
Vb	a	pH experimental	PH calculado	
0,000	-0,101	4,827	4,507	
0,020	-0,073	4,850	4,528	
0,040	-0,045	4,897	4,549	
0,060	-0,017	4,930	4,570	
0,080	0,011	4,967	4,590	
0,100	0,039	5,017	4,609	
0,120	0,067	5,053	4,628	
0,140	0,095	5,080	4,647	
0,160	0,123	5,120	4,665	
0,180	0,151	5,153	4,683	
0,200	0,179	5,172	4,700	
0,220	0,207	5,183	4,717	
0,240	0,235	5,193	4,734	
0,260	0,263	5,210	4,750	
0,280	0,291	5,220	4,766	
0,300	0,318	5,232	4,782	
0,350	0,388	5,247	4,821	
0,400	0,458	5,257	4,858	
0,450	0,528	5,268	4,896	
0,500	0,598	5,278	4,933	
0,550	0,668	5,290	4,969	
0,600	0,737	5,297	5,006	
0,650	0,807	5,310	5,044	
0,700	0,877	5,318	5,081	
0,800	1,017	5,337	5,155	
0,850	1,087	5,347	5,192	
0,900	1,156	5,360	5,227	
0,950	1,226	5,370	5,261	
1,000	1,296	5,378	5,293	
1,100	1,436	5,407	5,349	
1,200	1,575	5,428	5,398	
1,300	1,715	5,460	5,439	
1,400	1,855	5,487	5,476	
1,500	1,994	5,527	5,508	

1,600	2,134	5,577	5,538
1,700	2,274	5,637	5,565
1,800	2,413	5,707	5,592
1,900	2,553	5,840	5,617
2,000	2,693	6,127	5,642
2,500	3,391	8,400	5,768
3,000	4,089	9,047	5,936
3,500	4,788	9,550	6,289
4,000	5,486	10,057	0,000
4,500	6,883	10,530	0,000
5,000	6,883	10,827	0,000
5,500	7,581	11,027	0,000
6,000	8,279	11,163	0,000
6,500	8,978	11,267	0,000
7,000	9,676	11,343	0,000
7,500	10,374	11,420	0,000
8,000	11,073	11,473	0,000

Apêndice J

Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e ornitina na proporção de 1:1, $\mu = 0,091$ M e $T = 25$ °C.

Programa BEST versão

10/10/1991

Ornitina

Volume inicial	22,0
Normalidade da base	0,085
Milimoles de ácido	-0,00081
Número de pontos da titulação	68
Componentes	
1 ornitina	1,0
2 alumínio	1,0
3 proton	2,0

Log β	Espécies		
1) 0,00	1 ornitina	0 alumínio	0 próton
2) 10,86	1 ornitina	0 alumínio	1 próton
3) 20,00	1 ornitina	0 alumínio	2 próton
4) 22,06	1 ornitina	0 alumínio	3 próton
5) 0,00	0 ornitina	1 alumínio	0 próton
6) 0,00	0 ornitina	0 alumínio	1 próton
7) 6,60	1 ornitina	1 alumínio	0 próton
8) 7,50	1 ornitina	1 alumínio	-1 próton
9) 8,91	1 ornitina	1 alumínio	1 próton
10) -2,01	1 ornitina	1 alumínio	-2 próton
11) -10,84	1 ornitina	1 alumínio	-3 próton
12) 6,48	1 ornitina	1 alumínio	2 próton
13) -14,23	0 ornitina	0 alumínio	-1 próton

$\sigma = 0,033$

Vb	a	pH experimental	PH calculado
0,000	0,001	3,900	3,880
0,020	0,003	3,903	3,891

0,040	0,004	3,906	3,900
0,060	0,006	3,908	3,909
0,080	0,008	3,910	3,918
0,100	0,009	3,920	3,927
0,200	0,018	3,930	3,964
0,300	0,026	3,960	3,996
0,400	0,035	3,980	4,022
0,500	0,043	4,000	4,046
1,000	0,086	4,080	4,132
1,500	0,128	4,130	4,191
2,000	0,171	4,190	4,237
2,500	0,213	4,270	4,274
3,000	0,256	4,300	4,307
3,500	0,298	4,340	4,336
4,000	0,341	4,380	4,362
4,500	0,383	4,400	4,386
5,000	0,426	4,420	4,408
6,000	0,511	4,450	4,449
7,000	0,596	4,470	4,486
8,000	0,681	4,490	4,520
9,000	0,766	4,520	4,553
10,000	0,851	4,530	4,584
11,000	0,936	4,550	4,613
12,000	1,021	4,570	4,642
13,000	1,106	4,590	4,671
14,000	1,191	4,610	4,699
15,000	1,276	4,630	4,727
16,000	1,361	4,650	4,754
17,000	1,446	4,670	4,782
18,000	1,531	4,690	4,810
19,000	1,616	4,720	4,839
20,000	1,701	4,740	4,868
21,000	1,786	4,770	4,898
22,000	1,871	4,810	4,929
23,000	1,956	4,840	4,962
24,000	2,041	4,880	4,996
25,000	2,126	4,950	5,031

26,000	2,211	4,990	5,070
27,000	2,296	5,080	5,110
28,000	2,381	5,240	5,157
29,000	2,466	5,540	5,207
30,000	2,551	6,050	5,265
31,000	2,636	6,480	5,333
32,000	2,721	7,370	5,418
33,000	2,806	7,690	5,530
34,000	2,891	7,900	5,703
35,000	2,976	8,070	6,142
36,000	3,061	8,190	8,140
37,000	3,146	8,350	8,444
38,000	3,231	8,600	8,600
39,000	3,316	8,720	8,707
40,000	3,401	8,780	8,790
41,000	3,486	8,860	8,860
42,000	3,571	8,910	8,921
43,000	3,656	8,970	8,977
44,000	3,741	8,990	9,028
45,000	3,826	9,080	9,077
46,000	3,911	9,170	9,124
47,000	3,996	9,250	9,171
48,000	4,081	9,320	9,113
49,000	4,166	9,370	9,113
50,000	4,251	9,430	9,113
51,000	4,336	9,500	9,113
52,000	4,421	9,570	9,113
53,000	4,506	9,630	9,113
54,000	4,591	9,690	9,113

Apêndice K

Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e ornitina, usando as constantes de hidrólise do alumínio, na proporção de 1:1, $\mu = 0,091$ M e $T = 25$ °C.

Programa BEST versão 10/10/1991

Ornitina

Volume inicial	22,0
Normalidade da base	0,085
Milimoles de ácido	-0,00081
Número de pontos da titulação	68
Componentes	
1 ornitina	1,0
2 alumínio	1,0
3 proton	2,0

Log β	Espécies		
1) 0,00	1 ornitina	0 alumínio	0 próton
2) 10,86	1 ornitina	0 alumínio	1 próton
3) 20,0	1 ornitina	0 alumínio	2 próton
4) 22,06	1 ornitina	0 alumínio	3 próton
5) 0,00	0 ornitina	1 alumínio	0 próton
6) 0,00	0 ornitina	0 alumínio	1 próton
7) - 5,33	0 ornitina	1 alumínio	-1 próton
8) -10,41	0 ornitina	1 alumínio	-2 próton
9) -29,92	0 ornitina	1 alumínio	-3 próton
10) -23,46	0 ornitina	1 alumínio	-4 próton
11) -13,13	0 ornitina	3 alumínio	-4 próton
12) 6,84	1 ornitina	1 alumínio	0 próton
13) 6,89	1 ornitina	1 alumínio	1 próton
14) 6,60	1 ornitina	1 alumínio	2 próton
15) -10,85	1 ornitina	1 alumínio	-3 próton
16) -5,18	1 ornitina	1 alumínio	-2 próton

20,000	1,701	4,740	5,024
21,000	1,786	4,770	5,090
22,000	1,871	4,810	5,154
23,000	1,956	4,840	5,215
24,000	2,041	4,880	5,275
25,000	2,126	4,950	5,335
26,000	2,211	4,990	5,396
27,000	2,296	5,080	5,459
28,000	2,381	5,240	5,525
29,000	2,466	5,540	5,596
30,000	2,551	6,050	5,674
31,000	2,636	6,480	5,763
32,000	2,721	7,370	5,867
33,000	2,806	7,690	5,998
34,000	2,891	7,900	6,174
35,000	2,976	8,070	6,443
36,000	3,061	8,190	6,979
37,000	3,146	8,350	7,579
38,000	3,231	8,600	7,957
39,000	3,316	8,720	8,205
40,000	3,401	8,780	8,386
41,000	3,486	8,860	8,526
42,000	3,571	8,910	8,642
43,000	3,656	8,970	8,740
44,000	3,741	8,990	8,827
45,000	3,826	9,080	8,905
46,000	3,911	9,170	8,978
47,000	3,996	9,250	9,046
48,000	4,081	9,320	9,112
49,000	4,166	9,370	9,176
50,000	4,251	9,430	9,240
51,000	4,336	9,500	9,305
52,000	4,421	9,570	9,372
53,000	4,506	9,630	9,442
54,000	4,591	9,690	9,518

Apêndice L

Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica, usando o programa BEST para obtenção de constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e lisina na proporção de 1:1, $\mu = 0,1M$ e $T = 25\text{ }^{\circ}C$.

Programa BEST versão 10/10/1991

Lisina

Volume inicial	20,0
Normalidade da base	0,1
Milimoles de ácido	-0,0339
Número de pontos da titulação	66
Componentes	
1 lisina	0,2
2 alumínio	0,2
3 proton	0,3

Log β	Espécies		
1) 0,00	1 lisina	0 alumínio	0 próton
2) 10,14	1 lisina	0 alumínio	1 próton
3) 18,44	1 lisina	0 alumínio	2 próton
4) 19,91	1 lisina	0 alumínio	3 próton
5) 0,00	0 lisina	1 alumínio	0 próton
6) 0,00	0 lisina	0 alumínio	1 próton
7) 7,68	1 lisina	1 alumínio	0 próton
8) 1,19	1 lisina	1 alumínio	-1 próton
9) 17,70	1 lisina	1 alumínio	1 próton
10) 3,90	1 lisina	1 alumínio	-2 próton
11) 13,96	1 lisina	1 alumínio	2 próton
12) 20,95	1 lisina	2 alumínio	1 próton
12) -14,28	0 lisina	0 alumínio	-1 próton

$\sigma = 0,031$

Vb	a	pH experimental	PH calculado
0,000	0,170	3,980	4,063
0,020	0,180	4,000	4,087
0,040	0,190	4,033	4,109

0,060	0,200	4,060	4,129
0,080	0,210	4,083	4,147
0,100	0,220	4,103	4,164
0,120	0,230	4,123	4,180
0,140	0,240	4,153	4,194
0,160	0,250	4,187	4,207
0,18	0,260	4,203	4,219
0,200	0,270	4,227	4,231
0,220	0,280	4,240	4,242
0,240	0,290	4,257	4,252
0,260	0,300	4,267	4,261
0,280	0,310	4,277	4,271
0,300	0,320	4,283	4,279
0,320	0,330	4,293	4,287
0,340	0,340	4,307	4,295
0,360	0,350	4,310	4,303
0,380	0,360	4,323	4,310
0,400	0,370	4,333	4,317
0,420	0,380	4,340	4,324
0,440	0,390	4,343	4,330
0,460	0,400	4,347	4,336
0,480	0,410	4,350	4,342
0,500	0,420	4,357	4,348
0,550	0,445	4,367	4,361
0,600	0,470	4,377	4,374
0,650	0,495	4,383	4,386
0,700	0,520	4,393	4,397
0,750	0,545	4,400	4,407
0,800	0,570	4,407	4,417
0,900	0,619	4,417	4,435
1,000	0,670	4,427	4,452
1,100	0,719	4,433	4,467
1,200	0,770	4,443	4,482
1,300	0,820	4,457	4,495
1,400	0,869	4,467	4,508
1,500	0,920	4,480	4,520
1,700	1,020	4,490	4,542

2,000	1,170	4,523	4,573
2,200	1,270	4,550	4,592
2,500	1,420	4,573	4,619
2,800	1,570	4,593	4,644
3,000	1,670	4,627	4,661
3,200	1,770	4,647	4,678
3,500	1,920	4,693	4,702
4,000	2,170	4,787	4,744
4,500	2,420	4,910	4,788
5,000	2,670	5,260	4,839
5,500	2,920	6,927	4,902
6,000	3,170	8,747	4,993
6,500	3,420	9,247	5,217
7,000	3,670	9,693	11,329
7,500	3,920	9,860	11,329
8,000	4,170	10,090	11,329
8,500	4,420	10,267	11,329
9,000	4,670	10,510	11,329
9,500	4,919	10,723	11,329
10,000	5,169	10,957	11,329
10,500	5,420	11,200	11,329
11,000	5,670	11,440	11,329
11,500	5,920	11,650	11,329
12,000	6,170	11,850	12,582
12,500	6,420	12,027	12,582
13,000	6,67	12,150	12,582

Apêndice M

Resultados da computação dos dados da titulação potenciométrica, usando o programa BEST para obtenção de constante de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e lisina, usando as constantes de hidrólise do alumínio, na proporção de 1:1, $\mu = 0,1M$ e $T = 25\text{ }^{\circ}C$.

Programa BEST versão 10/10/1991

Lisina

Volume inicial	20,0
Normalidade da base	0,1
Milimoles de ácido	-0,0339
Número de pontos da titulação	66
Componentes	
1 lisina	0,2
2 alumínio	0,2
3 proton	0,3

Log β	Espécies		
1) 0,00	1 lisina	0 alumínio	0 próton
2) 10,14	1 lisina	0 alumínio	1 próton
3) 18,44	1 lisina	0 alumínio	2 próton
4) 19,91	1 lisina	0 alumínio	3 próton
5) 0,00	0 lisina	1 alumínio	0 próton
6) 0,00	0 lisina	0 alumínio	1 próton
7) - 5,33	0 lisina	1 alumínio	-1 próton
8) -10,41	0 lisina	1 alumínio	-2 próton
9) -29,92	0 lisina	1 alumínio	-3 próton
10) -23,46	0 lisina	1 alumínio	-4 próton
11) -13,13	0 lisina	3 alumínio	-4 próton
12) 13,92	1 lisina	1 alumínio	2 próton
13) 17,70	1 lisina	1 alumínio	1 próton
14) 2,36	1 lisina	1 alumínio	-1 próton
15) 3,90	1 lisina	1 alumínio	-2 próton
16) 20,96	1 lisina	2 alumínio	1 próton

17) -14,28 $\sigma = 0,023$		0 lisina	0 alumínio	-1 próton
Vb	a	pH experimental	PH calculado	
0,000	0,170	3,980	4,064	
0,020	0,180	4,000	4,088	
0,040	0,190	4,033	4,110	
0,060	0,200	4,060	4,130	
0,080	0,210	4,083	4,148	
0,100	0,220	4,103	4,165	
0,120	0,230	4,123	4,180	
0,140	0,240	4,153	4,194	
0,160	0,250	4,187	4,207	
0,18	0,260	4,203	4,220	
0,200	0,270	4,227	4,231	
0,220	0,280	4,240	4,242	
0,240	0,290	4,257	4,252	
0,260	0,300	4,267	4,262	
0,280	0,310	4,277	4,271	
0,300	0,320	4,283	4,279	
0,320	0,330	4,293	4,288	
0,340	0,340	4,307	4,295	
0,360	0,350	4,310	4,303	
0,380	0,360	4,323	4,310	
0,400	0,370	4,333	4,317	
0,420	0,380	4,340	4,324	
0,440	0,390	4,343	4,330	
0,460	0,400	4,347	4,336	
0,480	0,410	4,350	4,342	
0,500	0,420	4,357	4,348	
0,550	0,445	4,367	4,361	
0,600	0,470	4,377	4,374	
0,650	0,495	4,383	4,386	
0,700	0,520	4,393	4,397	
0,750	0,545	4,400	4,407	
0,800	0,570	4,407	4,417	
0,900	0,619	4,417	4,435	
1,000	0,670	4,427	4,452	

1,100	0,719	4,433	4,467
1,200	0,770	4,443	4,481
1,300	0,820	4,457	4,495
1,400	0,869	4,467	4,508
1,500	0,920	4,480	4,520
1,700	1,020	4,490	4,542
2,000	1,170	4,523	4,573
2,200	1,270	4,550	4,592
2,500	1,420	4,573	4,618
2,800	1,570	4,593	4,644
3,000	1,670	4,627	4,661
3,200	1,770	4,647	4,677
3,500	1,920	4,693	4,702
4,000	2,170	4,787	4,743
4,500	2,420	4,910	4,788
5,000	2,670	5,260	4,838
5,500	2,920	6,927	4,901
6,000	3,170	8,747	4,994
6,500	3,420	9,247	5,229
7,000	3,670	9,693	0,000
7,500	3,920	9,860	0,000
8,000	4,170	10,090	0,000
8,500	4,420	10,267	0,000
9,000	4,670	10,510	0,000
9,500	4,919	10,723	0,000
10,000	5,169	10,957	0,000
10,500	5,420	11,200	0,000
11,000	5,670	11,440	0,000
11,500	5,920	11,650	0,000
12,000	6,170	11,850	0,000
12,500	6,420	12,027	0,000
13,000	6,67	12,150	0,000

Apêndice N

Resultado dos cálculos das constantes de estabilidade dos complexos formados entre alumínio e os aminoácidos cisteína, cistina, ornitina e lisina com inclusão de espécies 1:2 e 1:3 (M:L).

Complexo	cisteína			cistina		
	log β^*	log β'^*	log β	log β^*	log β'^*	log β
ML	6,52	6,45	6,34	6,92	10,61	10,79
MHL	6,68	6,51	6,57	1,45	1,52	1,50
MH ₂ L	5,75	4,43	4,91	0,94	1,02	1,19
MLOH	6,14	5,74	6,51	0,69	0,57	1,17
ML(OH) ₂	-2,09	-0,19	-2,61	-6,05	-6,63	-5,59
ML(OH) ₃	-15,16	-15,31	-11,91	-6,10	-5,37	-5,21
ML ₂	2,00	2,00	2,43	-0,16	-0,94	-0,78
ML ₂ H ₂	0,26	0,25	0,25	0,09	-0,70	-0,85
ML ₂ (OH) ₂	-1,93	-3,12	-2,55	-2,02	-0,66	-0,84
ML ₃	1,10	1,84	2,66	0,06	-0,76	-0,90
	$\sigma = 0,460$	$\sigma = 0,456$	$\sigma = 0,025$	$\sigma = 0,324$	$\sigma = 0,275$	$\sigma = 0,538$
Complexo	ornitina			lisina		
	log β^*	log β'^*	log β	log β^*	log β'^*	log β
ML	6,84	6,89	7,14	8,00	8,26	7,93
MHL	6,89	9,02	9,33	17,69	18,32	18,62
MH ₂ L	6,60	6,50	6,79	13,97	14,12	13,92
MLOH	7,52	8,62	8,28	1,80	3,22	3,30
ML(OH) ₂	-5,18	-1,91	-1,81	3,89	3,70	3,99
ML(OH) ₃	-11,23	-11,30	-11,09	-4,58	-4,60	-4,61
ML ₂	5,00	1,97	-0,18	-0,68	-4,49	-4,58
ML ₂ H ₂	6,68	0,07	-0,11	-0,56	-4,50	-4,56
ML ₂ (OH) ₂	-0,50	-0,32	-0,45	-0,68	-4,50	-4,55
ML ₃	8,62	-0,02	-0,11	0,16	0,07	0,02
	$\sigma = 0,444$	$\sigma = 0,668$	$\sigma = 0,065$	$\sigma = 0,023$	$\sigma = 0,104$	$\sigma = 0,104$

β^* - cálculos feitos considerando as constantes de hidrólise do alumínio, com resultados de titulações potenciométricas na proporção de 1:1 (M:L).

β'^* - cálculos feitos considerando as constantes de hidrólise do alumínio, com resultados de titulações potenciométricas na proporção de 1:2 (M:L).

β - cálculos feitos não considerando as constantes de hidrólise do alumínio, com resultados de titulações potenciométricas na proporção de 1:2 (M:L).