



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química



AVALIAÇÃO E SÍNTESE DE CORANTES FENOTIAZÍNICOS PARA DETERMINAÇÃO
ESPECTROFOTOMÉTRICA DE SULFETO E SULFITO EMPREGANDO SISTEMAS DE
ANÁLISE EM FLUXO

JOSUÉ CARINHANHA CALDAS SANTOS

Orientador: Prof. Dr. Mauro Korn

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade Federal da
Bahia para obtenção de título de Mestre
em Ciências Naturais - Química.

Salvador, BA
2004

Santos, Josué Carinhanha Caldas

Avaliação e síntese de corantes fenotiazínicos para determinação espectrofotométrica de sulfeto e sulfito empregando sistemas de análise em fluxo / Josué Carinhanha Caldas Santos. - Salvador: IQ/UFBA, 2004.
120 f.

Orientador: Prof. Dr. Mauro Korn

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, 2004.

1. Espectrometria - síntese de corantes fenotiazínicos 2. Sistema de análise em fluxo - determinação de sulfeto e sulfito 3. Unidade integradora de operações - difusão gasosa

I. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. II. Korn, Mauro. III. Título.

CDU:543.42

CDD:543.085 8

“Que teu orgulho e objetivo consistam em pôr em seu trabalho algo que se assemelhe a um milagre.”

“O artista que não duvida, consegue pouco.”

Leonardo da Vinci

AGRADECIMENTOS

Estou a escrever os agradecimentos, logo, terminei a dissertação.

Agradeço,

- ❖ À minha família, Dona Arlete, seu Lula, Micael e Nicolas, que souberam entender e apoiar minhas escolhas, mesmo quando estas não pareciam ser as mais acertadas;
 - ❖ Aos amigos que se tornaram ou sempre foram da família, e desta forma não escapam das responsabilidades e méritos quanto a este trabalho: Dona Lourdes no auge dos seus noventa anos, Cleuza, Aída, Mio, Ita e Roque, Luzia, Anginha, Cristina e Chuli. Aos tios da cidade baixa: Valdir, Sérgio, Zé e Gilson.
 - ❖ Aos meus amigos do SONOFia Sivan e Fábio, que contribuíram e ajudaram de forma moral, experimental e alegre nestes anos de convívio. Pegando embalo, a Líliam, Mariângela (e suas comidas jurássicas), Denis (amigo de muitas ocasiões), ao Madson e a galera da iniciação.....
 - ❖ Aos queridos professores e funcionários da UNEB, onde tive uma segunda família.
 - ❖ Ao pessoal do Lab. 102 da UFBA, Manoel, Airam, Jailton, Rodrigo, Val, e os meninos e meninas de IC, os novos amigos que fiz e que tanto ajudaram. Ao Sílvio, que disponibilizou o espaço e deixou Químico Analítico fazer Síntese Orgânica.
 - ❖ Ao Mauro, pela amizade e orientação. Deixou fazer o que eu queria e me mostrou que não se pode tudo.
 - ❖ Ao Prof. José Costa Lima (Universidade do Porto- PT) pelos reagentes concedidos.
 - ❖ A Prof.^a Zênis Novais pelo uso do espectrofotômetro para obtenção dos espectros de IV.
 - ❖ Ao pessoal da Biblioteca da UFBA sempre tão solícitos.
 - ❖ Aos meus avós Geraldo Coni Caldas Santos e Antônio Costa Carinhonha e a Luciano Passos Coni - *in memoriam*.
 - ❖ Ao CNPQ, pelo apoio financeiro concedido.
-

RESUMO

Neste trabalho foram avaliadas sete aminas aromáticas O e N-substituídas em condições reacionais otimizadas para a síntese de corantes fenotiazínicos (CFs) simétricos. Entre estas, o N,N-dimetil *p*-fenilenodiamino (DMPD), N,N- dietil *p*- fenilenodiamino (DEPD), *p*-fenilenodiamino (PPD), *p*-aminofenol (PAP) e o *p*-aminoanisol (PAA) , levando a rendimentos entre 10 e 43%, para diferentes oxidantes (Fe^{3+} ou ClO^-), ácidos (H_2SO_4 ou HBF_4) e contra-íons (ClO_4^- ou BF_4^-). O DMPD apresentou as menores variações nos rendimentos calculados para as diferentes condições reacionais investigadas.

A partir dos resultados obtidos com a síntese dos CFs foi avaliada de forma comparativa a potencialidade do DMPD, DEPD, PPD, PAP e do PAA para determinação espectrofotométrica de sulfeto em sistema de análise em fluxo. Preliminarmente, foram comparados os sinais analíticos gerados pelo espectrofotômetro, em sistema em fluxo, para os corantes fenotiazínicos produzidos a partir das cinco aminas, avaliadas nas mesmas condições. Por apresentarem uma melhor cinética de formação dos respectivos CFs, as aminas DMPD, DEPD e PPD foram selecionadas para investigações mais detalhadas. Os estudos foram realizados empregando planejamento fatorial composto central, visando à otimização das condições em sistema de análise em fluxo. Os parâmetros avaliados foram as concentrações da amina aromática, do oxidante (Fe^{3+}) e do H_2SO_4 na solução da amina. Nas faixas de concentração avaliadas para as 3 variáveis, somente o DMPD pôde ser otimizado, apresentando, também, robustez para pequenas variações nas concentrações dos parâmetros investigados. Mesmo em condições não otimizadas, o DEPD (LD, $18,34 \mu\text{g L}^{-1}$) produziu o corante fenotiazínico com maior absorvidade molar. Nas melhores condições para a determinação de sulfeto o PPD e o DMPD apresentaram limite de detecção de $60,1 \mu\text{g L}^{-1}$ e $71,46 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Adicionalmente, foi investigado um procedimento de análise em fluxo para determinação indireta de sulfito. Este era levado a SO_2 e reduzido em linha a H_2S na presença de ácido e Zn^0 com uma taxa de conversão estimada em 10,31%. Desta forma, foi desenvolvida uma unidade integradora de operações (UIO), na qual a amostra era preparada ($\text{HSO}_3^- \rightarrow \text{SO}_2$), convertida a H_2S , o qual permeava através de membrana de PTFE e reagia com a mistura DMPD e Fe^{3+} para formar azul de metileno. A membrana de PTFE foi seletiva a H_2S frente ao SO_2 , em diferentes condições. Visando pré-concentrar o H_2S produzido na conversão de sulfito, foi desenvolvido um circuito eletrônico para controlar as válvulas solenóides, visando a interrupção do fluxo da solução receptora. As variáveis do sistema foram otimizadas e a recepção em solução de NaOH mostrou-se mais sensível que em DMPD e Fe^{3+} . A utilização de solução transportadora com álcool etílico 15% (v/v) nivelou o efeito do álcool presente nas soluções da amostras de vinho. Para o procedimento em fluxo proposto, o H_2S foi interferente para concentrações $> 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ em condições normais e $> 10 \text{ mg L}^{-1}$ se a amostra for tratada previamente com solução de acetato de zinco. O procedimento analítico em fluxo apresentou faixas de trabalho distintas para sulfito livre e total, apresentando limites de detecção (3σ) inferiores a $0,35$ e $1,2 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. A potencialidade do

processo foi avaliada para a determinação dos teores de sulfito em amostras de sucos e vinhos. Os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos empregando procedimento de referência e apresentaram boa concordância com 95% de confiança.

Palavras chave: síntese de corantes fenotiazínicos, determinação de sulfeto, amins aromáticas, determinação de sulfito, unidade integradora de operações, sistema de análise em fluxo.

ABSTRACT

In this work seven aromatic amines O e N-substituted were evaluated at optimized reaction conditions for symmetric phenothiazinic dyes. DMPD, DEPD, PPD, PAP e PAA were the start reagent, where the yield for phenothiazinic dyes varying from 10% to 43% for different oxidizing (Fe^{3+} or ClO^-), acids (H_2SO_4 or HBF_4) and precipitant agent (ClO_4^- or BF_4^-). The lowest variations for reaction yields at different reaction conditions were obtained with DMPD.

The potential of synthesized dyes were compared for spectrophotometric determination of sulfide by flow injection analysis (FIA). Initially the absorbance obtained with the flow system for phenothiazinium dyes produced by five different amines were evaluated in the same conditions. Since three of evaluated amines (DMD, DEPD and PPD) had shown better reaction kinetics, they were selected for subsequent experiments. The parameters related to the concentration of amine, oxidizing agent (Fe^{3+}) and H_2SO_4 were evaluated. A central composite design was employed for the optimization of reaction conditions by using response surface strategy. In the evaluated concentrations conditions for three investigated parameters, only DMPD showed optimal condition with ruggedness for small variation of the optimized parameters. Even through the DEPD did not attained optimal condition at the experimental ranges it presented the highest molar absorptivity (LD , $18,34 \mu\text{g L}^{-1}$). At the best studied conditions for sulfide determination PPD and DMPD the detection limits (3σ) were calculated for $60.1 \mu\text{g L}^{-1}$ and $71.46 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively.

Notwithstanding a flow system procedure for indirect sulfite determination was proposed. This species was converted to SO_2 and reduced to H_2S in strong acidic medium and in the presence of Zn^0 , in a conversion rate of 10.31%. In this sense an integrator operation device were developed and coupled in the flow system for sample preparation ($\text{HSO}_3^- \rightarrow \text{SO}_2$) following the conversion to H_2S , gas permeation through PTFE membrane and for the reaction with DMPD and Fe^{3+} in order to produce methylene blue. The PTFE membrane was selective to H_2S compared with SO_2 , at different conditions. In order to sampling the H_2S generated with sulfite conversion, an electronic circuit was developed to control a set of solenoid valves and to interrupt the acceptor solution into the integrator device. The system was optimized and NaOH solution acceptor lead to better results in comparison with a solution of DMPD and Fe^{3+} . A carrier solution with 15% (v/v) in ethanol had minimized the matrix effect of wine samples. Interference of H_2S at concentration higher than $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ and higher than 10 mg L^{-1} in the absence and presence of zinc acetate, respectively, were observed for the proposed procedure. The procedure in flow system showed distinct analytical ranges for free and total sulfite with detection limits (3σ) of 0.35 and 1.2 mg L^{-1} , respectively, and it was employed for sulfite determination in juices and wines samples. The results obtained by proposed method were compared with reference method with agreement for 95% confidence level.

Keywords: phenothiazinic dyes synthesis, sulfide determination, aromatics amines, sulfite determination, integrator operation device, flow injection analysis.

SUMÁRIO

Lista de Figuras		iv
Lista de Tabelas		viii
Lista de Abreviaturas		ix
Apresentação		1
Objetivos		4
Capítulo I	Síntese de Corantes Fenotiazínicos Simétricos	6
1.1	Introdução	7
1.1.1	Corantes Fenotiazínicos (CF)	7
1.1.2	Utilização de Sulfeto como Fonte de Enxofre para Formação de CF	9
1.2	Metas	11
1.3	Experimental	12
1.3.1	Equipamentos	12
1.3.2	Reagentes	12
1.3.3	Seleção das aminas	12
1.3.4	Procedimento para Troca do Contra-íon para o AM	13
1.3.5	Procedimento Geral para Síntese dos Corantes Fenotiazínicos	13
1.3.6	Procedimento para Otimização da Reação de Formação do AM	13
1.3.7	Extração e Hidrólise do Paracetamol	14
1.3.8	Reações	14
1.4	Resultados e Discussão	17
1.4.1	Otimização das Condições Reacionais	17
1.4.2	Identificação do Contra-íon Empregado	19
1.4.3	Síntese de Corantes Fenotiazínicos N-substituídos	21
1.4.4	Síntese de Corantes Fenotiazínicos O-substituídos	25
1.4.5	Comparação entre os Rendimentos de Produção de CFs com Aminas O e N-substituídos	26
1.4.6	Caracterização Espectral dos Corantes Fenotiazínicos Sintetizados	27
1.5	Conclusões	40
1.6	Referências	41
Capítulo II	Avaliação em sistema de análise em fluxo de aminas aromáticas p-substituídas para determinação espectrofotométrica de sulfeto	44
2.1	Introdução	45
2.1.1	Reagentes Orgânicos em Análise Química	45

	2.1.2	Compostos de Enxofre com Estado de Oxidação (-2)	48
	2.1.3	Determinação de Sulfeto	49
2.2		Metas	51
2.3.		Experimental	51
	2.3.1.	Reagentes e Soluções	51
	2.3.2	Equipamentos	52
	2.3.3	Procedimentos	52
2.4		Resultados e Discussão	53
	2.4.1	Comparação entre os Reagentes Orgânicos para Determinação Espectrofotométrica de Sulfeto	53
	2.4.2	Uso de Hipoclorito como Oxidante	55
	2.4.3	Otimização Empregando Planejamento Fatorial	55
	2.4.4	Figuras de Mérito	64
2.5		Conclusões	66
2.6		Referências	67
Capítulo III		Desenvolvimento de Sistema em Fluxo para a Determinação de Sulfito pelo Método do Azul de Metileno pela Redução a Sulfeto	70
3.1		Introdução	72
	3.1.1	Compostos de S(IV)	72
	3.1.2	Uso de Compostos de S(IV) em Alimentos	73
	3.1.3	Métodos para Determinação de Sulfito	76
3.2		Metas	79
3.3		Experimental	80
	3.3.1	Reagentes e Soluções	80
	3.3.2	Equipamentos	80
	3.3.3	Procedimentos	86
3.4		Resultados e Discussão	87
	3.4.1	Avaliação da Conversão de SO ₂ a H ₂ S e da Taxa de Permeação	89
	3.4.2	Estudo da Vazão	92
	3.4.3	Alça de Amostragem	94
	3.4.4	Avaliação da Concentração de NaOH na Solução Receptora	95
	3.4.5	Influência do Tipo e Concentração do Ácido	97
	3.4.6	Avaliação da Proporção entre Amostra e Ácido	99
	3.4.7	Percurso Analítico	100
	3.4.8	Avaliação do Teor de Alcoólico do Carregador e nas Soluções de Referência	103
	3.4.9	Parâmetros Otimizados	105
	3.4.10	Avaliação dos Interferentes	105
	3.4.11	Figuras de Mérito	108
	3.4.12	Teste de Recuperação	109

3.4.13	Determinação de Sulfito em Amostras de Vinhos e Sucos	110
3.4.14	Comparação entre o Método Proposto e outros Reportados	112
3.5	Conclusões	113
3.6	Referências	114
	Considerações Finais e Perspectivas	118
	Anexo	120

LISTA DE FIGURAS

Número	Figura	Página
Apresentação		
1	Rota clássica e proposta para síntese de corantes fenotiazínicos N-substituídos	2
Capítulo I		
1.1	Esquema da formação de uma fenotiazina (B) e de um corante fenotiazínico (C)	7
1.2	Rotas sintéticas para corantes fenotiazínicos simétricos	8
1.3	Síntese de 3,7-bis[di(2-propen)amino]fenotiazina com 27% de rendimento (adaptado de Leventis <i>et al.</i> , 1997)	9
1.4	Formação do azul de metileno pela reação do N,N-dimetil-p-fenilenodiamino com H ₂ S	9
1.5	Mecanismo proposto para a formação do azul de metileno pela rota clássica, adaptado de Wieland <i>et al.</i> , 1961	10
1.6	Mecanismo proposto para a formação do azul de metileno pelo procedimento analítico, adaptado de Kuban <i>et al.</i> , 1992	11
1.7	Espectro na região do IV (KBr) para azul de metileno na forma de cloreto (A), perclorato, 2a (B) e tetrafluorborato, 2b (C)	20
1.8	Espectros na região do IV (KBr) de (A) perclorato de 3,7-bis(diamino)fenotiazínio (5a) e (B) do sólido obtido pela oxidação do PPD	22
1.9	Possibilidades de reação do N-acetil-p-fenilenodiamino com Fe ³⁺ e sulfeto em meio ácido	23
1.10	Espectros na região do IV (KBr) para a reação do N-acetil-p-fenilenodiamino com Fe ³⁺ e sulfeto em meio ácido (A) e 5a (B)	24
1.11	Espectro na região do IV (KBr) para o N-fenil-p-fenilenodiamino (A), para o produto da reação do N-fenil-p-fenilenodiamino Fe ³⁺ e sulfeto (B) e sólido obtido após oxidação do N-fenil-p-fenilenodiamino com solução de Fe ³⁺ (C)	25
1.12	Espectro na região do IV (KBr) do paracetamol (10)	29
1.13	Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(diamino)fenotiazínio, 5a	29
1.14	Espectro na região do IV (KBr) do tetrafluorborato de 3,7-bis(diamino)fenotiazínio, 5b	29
1.15	Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio, 7a	30
1.16	Espectro na região do IV (KBr) do tetrafluorborato de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio, 7b	30
1.17	Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(dietilamino)fenotiazínio, 9a	30
1.18	Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(dihidroxi)fenotiazínio, 12a	31
1.19	Espectro na região do IV (KBr) do tetrafluorborato de 3,7-bis(dihidroxi)fenotiazínio, 12b	31
1.20	Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(dimetoxi)fenotiazínio, 14a	31
1.21	Espectro na região do IV (KBr) do tetrafluorborato de 3,7-bis(dimetoxi)fenotiazínio, 14b	32
1.22	Espectro de RMN ¹ H (DMSO-D ₆) do cloreto de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio (Merck)	32
1.23	Espectro de RMN ¹ H (DMSO-D ₆) do perclorato de 3,7-bis(diamino)fenotiazínio, 5a	33
1.24	Espectro de RMN ¹ H (DMSO-D ₆) de 5a :expansão	33
1.25	Espectro de RMN ¹ H (DMSO-D ₆) do perclorato de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio, 7a	34
1.26	Espectro de RMN ¹ H (DMSO-D ₆) de 7a :expansão	34
1.27	Espectro de RMN ¹³ C (DMSO-D ₆) do perclorato de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio, 7a	35

1.28	Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- D_6) de 7a :expansão	35
1.29	Espectro de RMN ^1H (DMSO- D_6) do perclorato de 3,7-bis(dietilamino)fenotiazínio, 9a	36
1.30	Espectro de RMN ^1H (DMSO- D_6) de 9a :expansão	36
1.31	Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- D_6) do perclorato de 3,7-bis(dietilamino)fenotiazínio, 9	37
1.32	Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- D_6) de 9a :expansão	37
1.33	Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(diamino)fenotiazínio (5a) em soluções de H_2SO_4 .	38
1.34	Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(dimelamina)fenotiazínio (7a) em soluções de H_2SO_4 .	38
1.35	Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(dietilamino)fenotiazínio (9a) em soluções de H_2SO_4 .	38
1.36	Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(dihidroxi)fenotiazínio (12a) em soluções de H_2SO_4 .	39
1.37	Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(dimetoxi)fenotiazínio, (14a) em soluções de H_2SO_4 .	39

Capítulo II

2.1	Distribuição das espécies de sulfeto em solução aquosa em função do pH.	49
2.2	Diagrama do sistema de análise em fluxo empregado para avaliação das aminas aromáticas. VR, válvula rotária. x e y confluências de três vias. BP, bomba peristáltica. D, detector. W, descarte.	52
2.3	Perfil dos sinais transientes obtidos para três injeções consecutivas para as diferentes aminas, de acordo com o sistema em fluxo apresentado na Figura 2.2.	54
2.4	Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com [R] e $[\text{Fe}^{3+}]$ para o DMPD.	57
2.5	Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com [R] e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ para o DMPD.	58
2.6	Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ para o DMPD.	59
2.7	Superfície de resposta gerada em função da interação entre o sinal analítico com [R] e $[\text{Fe}^{3+}]$ para o DEPD.	60
2.8	Superfície de resposta relacionando sinal analítico com [R] e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ para o DEPD.	61
2.9	Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ para o DEPD.	61
2.10	Efeito de [R] e $[\text{Fe}^{3+}]$ sobre o sinal analítico para o PPD.	62
2.11	Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com [R] e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ para o PPD.	63
2.12	Superfície de resposta obtida pela variação do sinal analítico com $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ para o PPD.	63

Capítulo III

3.1	Distribuição das espécies de sulfito em solução aquosa em função do pH.	72
3.2	Espécies isoméricas do ácido sulfuroso.	73
3.3	Representação dos equilíbrios de malvidin 3-O-glucosídeo (1) e reação com HSO_3^-	75
3.4	Sistema para a aplicação do método de Monnier-Williams, modificado por Shipton (adaptado de Brasil, 1987).	76
3.5	Reagentes orgânicos empregados para determinação de sulfito. (a) verde de malaquita, (b) verde brilhante, (c) 4,4'-diaminotriphenilmetano (d) p-rosanilina, (e)	79

	p-aminoazobenzeno, (f) 4-nitro-1,2-diaminobenzeno e (g) p-nitroanilina.	
3.6	Diagramas de fluxo empregados para os estudos de pré-concentração com recepção em (A) solução de DMPD e Fe^{3+} em solução de H_2SO_4 1 mol L^{-1} , e (B) solução de NaOH 50 mmol L^{-1} ol L^{-1} .	81
3.7	Esquema da VR, indicando os canais e a alça nas posições de amostragem e injeção.	82
3.8	(A) Vista lateral da haste fixada na VR e as chaves ópticas (CH1 e CH2). (B) Vista frontal da VR em três situações distintas, (1) com a haste em CH1 – posição de amostragem, (2) haste entre CH1 e CH2 - em injeção, e (3) após a injeção.	83
3.9	Diagrama do circuito eletrônico desenvolvido para controle das válvulas solenóides. Em destaque resistor e capacitor responsáveis pelo tempo de interrupção.	84
3.10	Esquema dos sistemas de análise em fluxo sem dispositivos para interrupção do fluxo. (A) Recepção em solução de DMPD e Fe^{3+} em H_2SO_4 1 mol L^{-1} . (B) Recepção em NaOH 50 mmol L^{-1} ol L^{-1} .	85
3.11	Esquema da unidade integradora de operações (UIO).	85
3.12	Efeito do tempo de interrupção de fluxo sob o sinal analítico para solução de sulfito 10 mg L^{-1} com recepção em (A) solução de DMPD + Fe^{3+} (500 μL injetados) e (B) solução de NaOH 50 mmol L^{-1} (250 μL injetados) .	88
3.13	Espectro na região no IV da membrana de PTFE utilizada.	89
3.14	Diagrama de sistema de fluxo sem permeação de H_2S , empregado para estimar a taxa de permeação de H_2S quando o sistema do diagrama da Figura 3.10 foi utilizado.	90
3.15	Diagrama de sistema FIA utilizado para estimar a taxa de permeação de SO_2 (reação direta), quando comparado com os sistemas da Figura 3.10.	90
3.16	Superfície de resposta para a variação da vazão do carregador em função da vazão do DMPD e Fe^{3+} , para amostragem de 250 μL de solução de referência de HSO_3^- 100 mg L^{-1} em meio ácido.	92
3.17	Variação do sinal analítico em função da vazão do carregador e da solução de NaOH 50 mmol L^{-1} no sistema proposto, para amostragem de 125 μL de solução de referência de HSO_3^- 100 mg L^{-1} em meio ácido.	93
3.18	Variação do comprimento da alça de amostragem com recepção em DMPD e Fe^{3+} para (A) 10 mg L^{-1} e (B) 100 mg L^{-1} em HSO_3^-	94
3.19	Variação do tamanho da alça de amostragem com recepção em NaOH 50 mmol L^{-1} , para (A) 10 mg L^{-1} e (B) 100 mg L^{-1} em HSO_3^-	95
3.20	Variação do sinal analítico com a concentração de NaOH na solução receptora, para injeção de 50 μL de solução 100 mg L^{-1} de HSO_3^- em meio ácido.	96
3.21	Variação do sinal analítico com a concentração de NaOH na solução receptora, para injeção de 125 μL de 10 mg L^{-1} em HSO_3^- em meio ácido.	96
3.22	Influência do tipo e concentração do ácido na mistura com 100 mg L^{-1} de HSO_3^- e recepção em DMPD + Fe^{3+} . O volume injetado foi 250 μL da solução de referência em meio ácido.	97
3.23	Influência do tipo e concentração do ácido na mistura com solução de referência de 10 mg L^{-1} de HSO_3^- e recepção em DMPD + Fe^{3+} . O volume injetado foi de 500 μL da solução de referência em meio ácido.	97
3.24	Efeito da concentração de HCl na mistura com solução de referência, para (A) 100 mg L^{-1} e (B) 10 mg L^{-1} em HSO_3^- , com recepção em NaOH 50mmol L^{-1} . Os volumes injetados foram de 100 e 250 μL de solução de referência em meio ácido para (A) e (B), respectivamente.	98
3.25	Efeito da proporção entre volume da amostra (100 mg L^{-1} em HSO_3^-) e de HCl, inseridos no percurso analítico para recepção do H_2S permeado em solução 50 mmol L^{-1} em NaOH e de DMPD + Fe^{3+} . Os volumes das soluções de referência em meio ácido injetados foram de 100 e 500 μL para as respectivas soluções receptoras.	99
3.26	Efeito da proporção entre volume da amostra (10 mg L^{-1} em HSO_3^-) e de HCl,	100

	inseridos no percurso analítico para recepção do H ₂ S permeado em solução 50 mmol L ⁻¹ em NaOH e de DMPD + Fe ³⁺ . Os volumes das soluções de referência em meio ácido injetados foram de 250 e 500 µL para as respectivas soluções receptoras.	
3.27	Varição do sinal analítico com o percurso analítico para parte inferior do sistema de análise em fluxo, (A) recepção em DMPD + Fe ³⁺ e (B) recepção em solução de NaOH 50 mmol L ⁻¹ . Os volumes das soluções de referência em meio ácido injetados seguem os padrões dos testes anteriores	101
3.28	Efeito do percurso analítico da parte superior do sistema de análise em fluxo, para injeção de 100 mg L ⁻¹ de HSO ₃ ⁻ no percurso analítico com recepção em (A) DMPD e Fe ³⁺ e (B) NaOH 50 mmol L ⁻¹ . Os volumes injetados de solução de referência em meio ácido foram de 250 e 100 µL para as respectivas soluções receptoras.	102
3.29	Efeito do percurso analítico para parte superior do sistema de análise em fluxo, para injeção de 10 mg L ⁻¹ de HSO ₃ ⁻ no percurso analítico com recepção em (A) DMPD e Fe ³⁺ e (B) NaOH 50 mmol L ⁻¹ . Os volumes injetados de solução de referência em meio ácido foram de 500 e 250 µL para as respectivas soluções receptoras.	102
3.30	Figura 3.30. Influência do teor de álcool etílico adicionado nas soluções de referência frente aos diferentes teores de álcool no carregador. Injeção de 250 µL de 100 mg L ⁻¹ de HSO ₃ ⁻ em meio ácido com recepção em DMPD e Fe ³⁺ .	103
3.31	Influência do teor de álcool etílico adicionado nas soluções de referência frente aos diferentes teores de álcool no carregador. Injeção de 500 µL de 10 mg L ⁻¹ de HSO ₃ ⁻ em meio ácido com recepção em DMPD e Fe ³⁺ .	104
3.32	Influência do teor de álcool etílico adicionado nas soluções de referência frente aos diferentes teores de álcool no carregador. Injeção de 100 µL de 100 mg L ⁻¹ de HSO ₃ ⁻ em meio ácido com recepção em NaOH 50 mmol L ⁻¹ .	104
3.33	Efeito da interferência de CO ₂ e H ₂ S em solução de HSO ₃ ⁻ 10 mg L ⁻¹ com recepção em DMPD e Fe ³⁺ sendo (A) CO ₂ e (B) HS ⁻ . O volume injetado de solução de referência em meio ácido contendo os possíveis interferentes foi 500 µL.	106
3.34	Estudo da interferência de CO ₂ e H ₂ S em solução de HSO ₃ ⁻ 10 mg L ⁻¹ com recepção em NaOH 50 mmol L ⁻¹ , sendo (A) CO ₂ e (B) HS ⁻ . O volume injetado da solução de referência em meio ácido contendo os possíveis interferentes foi 250 µL.	106
3.35	Avaliação da interferência de H ₂ S para soluções de referência de 10 mg L ⁻¹ em HSO ₃ ⁻ com adição de solução de (CH ₃ CO ₂) ₂ Zn e recepção em NaOH 50 mmol L ⁻¹ . O volume injetado da solução de referência em meio ácido foi de 250 µL.	107
3.36	Efeito da concentração de ácido ascórbico no sinal analítico para 100 mg L ⁻¹ de HSO ₃ ⁻ com recepção em DMPD e Fe ³⁺ . O volume injetado da solução de referência em meio ácido contendo os possíveis interferentes foi 250 µL.	108

LISTA DE TABELAS

Número	Tabela	Página
Capítulo I		
1.1	Estudos e aplicações de corantes fenotiazínicos	8
1.2	Concentração otimizada de ClO^- para a oxidação de diferentes aminas	18
1.3	Rendimentos obtidos para produção de CFs com aminas aromáticas O e N-substituídas	26
1.4	Comprimentos de onda de máxima absorção para os CFs em solução 1 mol L^{-1} em H_2SO_4	28
Capítulo II		
2.1	Alguns reagentes orgânicos empregados em novos procedimentos analíticos.	47/48
2.2	Alguns métodos espectrofotométricos para sulfeto reportados na literatura.	50
2.3	Concentrações dos reagentes no método do azul de metileno em alguns trabalhos reportados na literatura.	50
2.4	λ_{max} para os corantes fenotiazínicos sintetizados e gerados em solução de 1 mol L^{-1} em H_2SO_4 .	53
2.5	Relação das faixas de concentração com os respectivos níveis do planejamento fatorial.	56
2.6	Planejamento fatorial composto central para otimização de $[\text{R}]$, $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ visando a formação dos corantes fenotiazínicos para cada uma das aminas investigadas.	56
2.7	Valores ótimos para o DMPD e melhores condições estabelecidas para DEPD e PPD.	64
2.8	Valores das figuras de mérito avaliadas para três diferentes aminas.	64
Capítulo III		
3.1	Teores máximos de espécies de S(IV) admitidos pela legislação brasileira para alguns alimentos (adaptado de Simão, 1987).	74
3.2	Principais aditivos de S(IV) utilizados no Brasil com seus respectivos INSS (adaptado de ANVISA, 2004).	74
3.3	Comparação das taxas de permeação entre H_2S e SO_2 em diferentes condições.	91
3.4	Dimensões das alças de amostragem em função da faixa analisada e da solução receptora.	95
3.5	Parâmetros otimizados para determinação de sulfito em amostras de vinhos e suco de frutas pelo sistema proposto.	105
3.6	Valores de solubilidade para formação de sulfetos de alguns metais.	107
3.7	Figuras de mérito para o procedimento em fluxo proposto.	109
3.8	Resultados dos testes de recuperação de sulfito para amostras de vinho e sucos de fruta.	109
3.9	Teores de sulfito livre em amostras de vinho branco e tinto.	110
3.10	Teores de sulfito total em amostras de vinho branco e tinto.	111
3.11	Parâmetros para comparação do método proposto e do método de referência	111
3.12	Teores de sulfito em amostras de sucos de frutas.	112
3.13	Comparação de algumas características entre procedimentos em fluxo para determinação espectrofotométrica de sulfito e o processo proposto.	112

LISTA DE ABREVIATURAS

AM – azul de metileno
AOAC – Association Official of Agricultural Chemists
CCD – cromatografia de camada delgada
CF – corante fenotiazínico
CH – chave óptica
CI – circuito integrado
DEPD – N,N- dietil - *p* - fenilenodiamino
DMPD – N,N- dimetil - *p* - fenilenodiamino
DMSO – dimetil sulfóxido
EDTA – ácido etileno diaminotetracético
FIA – flow injection analysis (análise por injeção em fluxo)
IV – infra-vermelho
LD – limite de detecção
LQ – limite de quantificação
PAA - *p*-aminoanisol
PAP – *p*-aminofenol
PF – Ponto de Fusão
PPD – *p*- fenilenodiamino
PTFE - politetrafluoretileno
RMN ¹³C – Ressonância magnética nuclear de carbono
RMN ¹H – Ressonância magnética nuclear de próton
rpm – rotações por minuto
RSD – relative standart deviation (desvio padrão relativo)
UIO – unidade integradora de operações
VR – válvula rotária
VS – válvula solenóide

APRESENTAÇÃO

O uso de corantes fenotiazínicos N-substituídos (**1**) em infecção bacteriana, tuberculose, malária, tratamento sanguíneo, câncer e recentemente em terapia fotodinâmica (Wainwright and Giddens, 2003), demonstram a importância desta classe de compostos. A metodologia clássica de síntese faz uso de duas aminas aromáticas distintas e utiliza dicromato de potássio como agente oxidante (Gatterman *et al.*, 1961), como demonstrado na Figura 1. Variações desta metodologia demonstraram ser versáteis no preparo de derivados de corantes e núcleos fenotiazínicos substituídos (Wileand and Wainwright, 1999). Porém, estas sempre partem de duas aminas distintas como substratos.

Este trabalho apresenta uma proposta de modificação de rota sintética para corantes fenotiazínicos, a qual utiliza apenas uma amina aromática como precursora, além de oxidantes com baixo impacto ambiental.

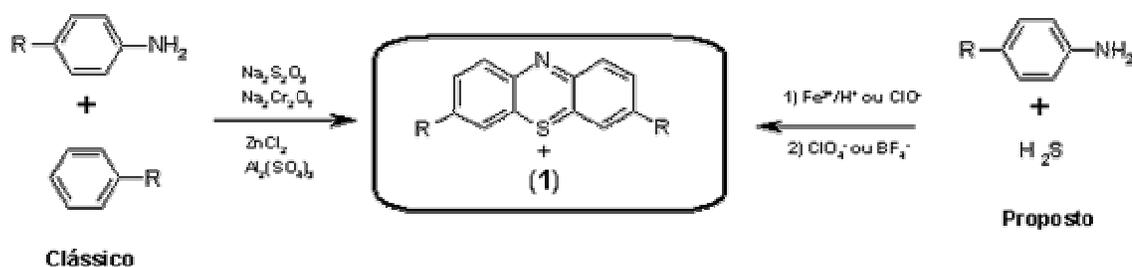


Figura 1. Rota clássica e proposta para síntese de corantes fenotiazínicos N-substituídos.

A nova rota de síntese foi inspirada no método do azul de metileno; um método analítico para determinação de sulfeto em diferentes matrizes (Lawrence *et al.*, 2000). Tradicionalmente o sulfeto reage com N,N-dimetil-p-fenilenodiamino na presença de Fe^{3+} em meio ácido. Na literatura são referenciados derivados de **1** ($\text{R} = \text{N}(\text{Me})_2$, $\text{N}(\text{Et})_2$ e OH), aplicados em metodologias analíticas para determinação de sulfeto e p-aminofenol (Lawrence *et al.*, 2000, Rees *et al.*, 1971 e Mohamed *et al.*, 1997). Porém não há um estudo sistemático da reatividade de aminas aromáticas p-substituídas com sulfeto, o que tornou atraente esta investigação, nas vertentes de aplicação em síntese orgânica e na busca de novos processos analíticos.

De posse dos resultados dos estudos sintéticos para derivados de corantes fenotiazínicos O e N-substituídos, pretende-se estabelecer comparações entre os corantes fenotiazínicos para determinação de sulfeto em sistema de análise em fluxo. O emprego de sistema em fluxo no estudo de reagentes orgânicos para sulfeto também se apresenta como uma alternativa interessante para avaliar o desempenho das diferentes aminas aromáticas para fins analíticos, pois com o emprego destes sistemas ocorre aumento do ritmo analítico, sem comprometer a qualidade das informações químicas obtidas (Reis *et al.*, 1989 e Rocha *et al.*, 2001).

Seguindo a mesma estratégia, existe uma grande variedade de reagentes orgânicos espectrofotométricos, capazes de serem seletivos e sensíveis para diferentes analitos em determinadas

condições experimentais (Ueno *et al.*, 1992). Dentro desta perspectiva, a utilização de um único reagente para determinação de mais de uma espécie foi explorada neste trabalho. Neste contexto, o método espectrofotométrico do azul de metileno, considerado um dos mais sensíveis e seletivos para a quantificação de sulfeto em matrizes diversas, foi explorado visando sua aplicação em procedimento indireto para determinação de sulfito em sistema de fluxo, após redução em linha para sulfeto. Para tanto foi planejada e construída uma Unidade Integradora de Operações (UIO), para integração em um único dispositivo de operações descontínuas temporal e espacialmente.

Referências

LAWRENCE, N.S., DAVIS, J. e COMPTON, R.G.; Analytical strategies for the determination of sulfide: a review; *Talanta*, 52, 771, 2000.

MOHAMED, F.A. ABDALLAH, M.A. e SHAMMAT, S.M., Selective spectrophotometric determination of p-aminophenol and acetaminophen, *Talanta*, 44, 61, 1997.

REES, T.D., GYLLENSPETZ, A.B. e DOCHERTY, A.C., The determination of traces amounts of sulphide in condensed steam with N,N-diethyl-p-phenylenediamine, *Analyst*, 96, 201, 1971.

REIS, B.F., GINÉ, F. e KRONKA, E.A.M., A análise química por injeção em fluxo contínuo, *Química Nova*, 12 (1), 82, 1989.

ROCHA, F.R.P., NÓBREGA, J.A. e FATIBELLO-FILHO, O., Flow analysis to greener analytical chemistry. An overview, *Green Chemistry*, 3, 216, 2001.

UENO, K., IMAMURA, T. e CHENG, K.L., *Handbook of Organic Analytical Reagents*, 2th, CRC Press, Florida, 1992.

WAINWRIGHT, M. e GIDDENS, R.M., Phenothiazinum photosensitisers: choices in synthesis and application, *Dyes and Pigments*, 57, 245, 2003.

WAINWRIGHT, M., GRICE, N.J. e PYE, L.E.C., Phenothiazine photosensitizers: part 2. 3,7-bis(arylamino)phenothiazine, *Dyes and Pigments*, 42, 45, 1999.

WIELAND, E. e GATTERMANN, G., *Die Praxis des organischen Chemikers*, Walter de Gruyter, Berlin, 1961.

OBJETIVOS

-
- Avaliar a potencialidade de nova rota sintética de corantes fenotiazínicos simétricos, baseada na reação de aminas aromáticas p-substituídas com sulfeto;
 - Otimizar as condições sintéticas para corantes fenotiazínicos simétricos variando o tipo de oxidante ($\text{Fe}^{3+}/\text{H}^+$ ou ClO^-), ácido (H_2SO_4 ou HBF_4) e o contra-íon usado para precipitação (ClO_4^- ou BF_4^-);
 - Caracterizar o escopo da reação entre sulfeto e diferentes aminas aromáticas p-substituídas;
 - Avaliar a potencialidade de aplicação de diferentes aminas aromáticas para a determinação de sulfeto em sistema de fluxo;
 - Aplicar e avaliar o método do Azul de Metileno para determinação indireta de sulfito em vinho e suco de frutas em sistema em fluxo;
 - Otimizar e validar sistema em fluxo para determinação de sulfito baseado no método de determinação de sulfeto pela produção do azul de metileno.

CAPÍTULO I

Síntese de Corantes Fenotiazínicos Simétricos

Este capítulo trata da química e principalmente das rotas de síntese de corantes fenotiazínicos (CFs) simétricos, reportando sua importância e utilização. A nova rota de síntese proposta para corantes fenotiazínicos simétricos foi inspirada no método espectrofotométrico para quantificação de sulfeto. Este gera o azul de metileno um corante que possui o núcleo fenotiazínico. Inicialmente foram selecionadas treze aminas, das quais sete foram selecionadas em virtude do resultado positivo no teste de seleção realizado. Destas cinco eram N-substituídas e duas O-substituídas. As condições reacionais foram otimizada quanto à proporção dos reagentes, tipo e concentração do oxidante e do ácido e contra-íons empregados. Foram avaliadas as mudanças nos espectros na região do visível frente aos tipos de substituintes e concentração de H_2SO_4 . Avaliou-se os rendimentos obtidos e as estruturas foram confirmadas através da análise do conjunto de espectros de IV e/ou RMN de ^1H e ^{13}C .

1.1 Introdução

1.1.1 Corantes Fenotiazínicos (CF)

Em 1876, Lauth aqueceu p-fenilenodiamino com enxofre, na presença de solução de HCl e FeCl₃, obtendo um corante púrpura. Caro, no mesmo ano, em reação semelhante com o N,N-dimetil-p-fenilenodiamino, obteve um corante azul, o qual foi posteriormente denominado como azul de metileno (AM) (Howard e Ramage, 1960). Em 1883, Bernthsen, partindo das informações obtidas das reações de Lauth e Caro, conseguiu sintetizar um núcleo fenotiazínico e, a partir de então, a pesquisa e produção de derivados sintéticos, visando aplicações industriais e farmacológicas, ganhou destaque (Massie, 1954). A Figura 1.1 apresenta de forma simplificada os trabalhos dos pesquisadores citados anteriormente.

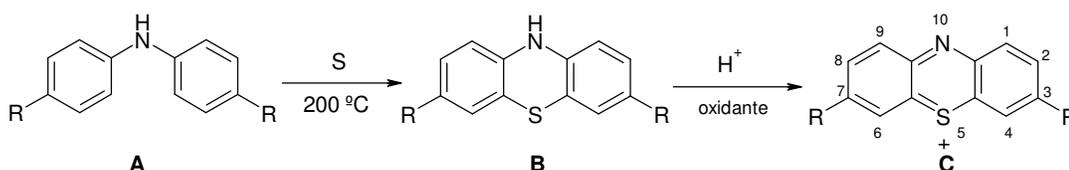


Figura 1.1. Esquema da formação de uma fenotiazina (**B**) e de corante fenotiazínico (**C**).

Os trabalhos de Lauth, Caro e Bernthsen partiram de um mesmo padrão de reação, diferindo na natureza do substituinte **R** e nas etapas que alcançaram. Para os dois primeiros pesquisadores, o produto final obtido foi o núcleo da estrutura **C**, sendo que o substituinte (**R**) nos estudos de Lauth foi um grupo amino, enquanto que Caro usou N,N-dimetil amina. Bernthsen partiu da difenilamina (**R** = H) e chegou até **B**, onde realizou estudos de substituição no nitrogênio, gerando novos análogos.

Atualmente pode ser consultada extensa literatura sobre o núcleo observado em **B**, além de diversas rotas de síntese. Estas apresentam variados padrões de substituição e, de acordo com a natureza dos substituintes, possuem aplicações biológicas e tecnológicas (Sharma *et al.*, 1998; Kramer *et al.*, 2001; Sasmaz *et al.*, 1999 e Kalkanidis *et al.*, 2002).

Os corantes fenotiazínicos apresentam em sua estrutura o núcleo **C**. Dentro desta categoria, o azul de metileno, sintetizado por Caro, é o composto desta classe mais conhecido e estudado (Leventis *et al.*, 1997 e Wainwright e Giddens, 2003). As rotas sintéticas para este tipo de núcleo estão vinculadas ao padrão de substituição e a natureza dos substituintes, além do número de anéis aromáticos associados, formando oligofenotiazinas (Andreani *et al.*, 1991) ou aza e tia-aza fenotiazinas (Okafor, 1985). A grande versatilidade desta classe de compostos vem despertando o interesse da comunidade científica, como os apresentados na Tabela 1.1.

Tabela 1.1. Estudos e aplicações de corantes fenotiazínicos

Estudos e Aplicações	Referências
Desinfecção sanguínea	Wainwright, 2000
Antibactericida	Phoenix e Harris, 2003 e Wainwright <i>et al.</i> , 1998
Interação com DNA e biomoléculas	Tuite e Kelly, 1993.
Terapia fotodinâmica (câncer)	Wainwright <i>et al.</i> , 1999
Mediador em reações orgânicas de oxidação	Chiba <i>et al.</i> , 1998
Síntese orgânica (carbazóis)	Miller e Farmer, 2001
Determinação de antibióticos	Gowda e Gowda, 2000

Estruturas com padrão de substituição 3,7 (Figura 1.1, estrutura **C**), contendo os mesmos substituintes, estão presentes em muitos dos estudos mencionados na Tabela 1.1, principalmente os N-substituídos. Porém, para este padrão de substituição, o número de rotas sintéticas com poucas etapas é limitado. A Figura 1.2 apresenta as rotas reportadas na literatura.

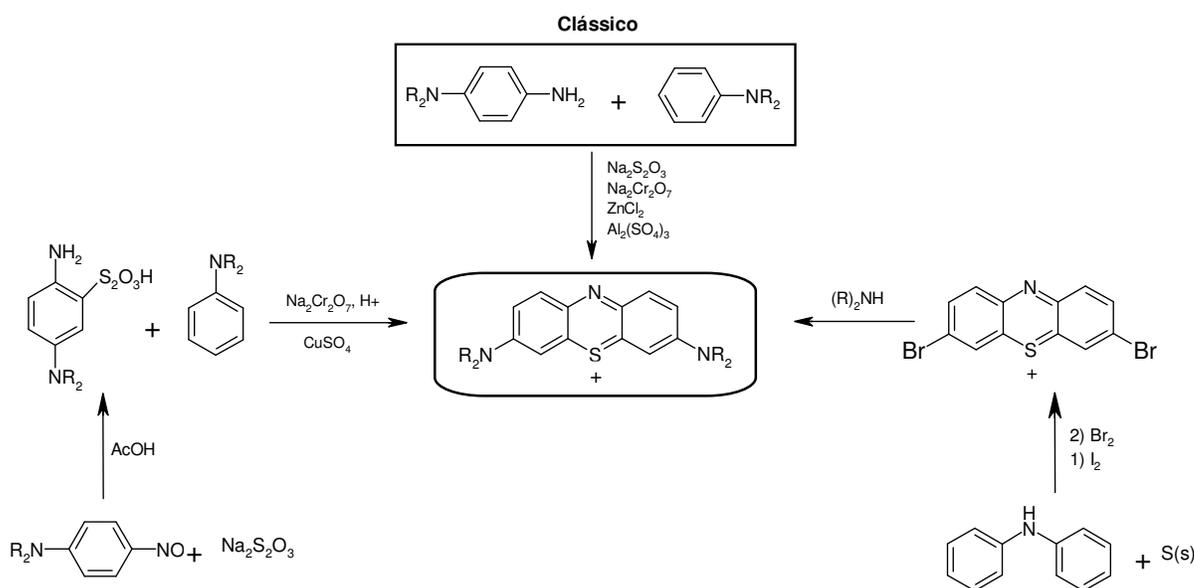


Figura 1.2. Rotas sintéticas para corantes fenotiazínicos simétricos.

Entre as três propostas sintéticas para o padrão de substituição do núcleo requerido (Figura 1.2) foram observadas algumas peculiaridades. Para o método clássico (Wieland e Gattermann, 1961) e aquele que apresenta a 4-nitrosamina (Bogert e Updike, 1927) como um dos reagentes precursores, pode-se notar que ambos utilizam duas aminas diferentes como substratos e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ como oxidante. A fonte de enxofre para os dois casos é o $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ e ambos os procedimentos acusam processo de purificação do produto. Por outro lado, a terceira rota (Andreani *et al.*, 1991) parte da formação de uma fenotiazina ou utiliza esta como composto de partida. O processo é caracterizado por duas substituições eletrofílicas e uma oxidação, levando ao produto desejado. Porém, este processo, além de exigir purificação em cromatografia em coluna do produto, está condicionado a uma série de etapas, como ilustrado de forma simplificada na Figura 1.3.

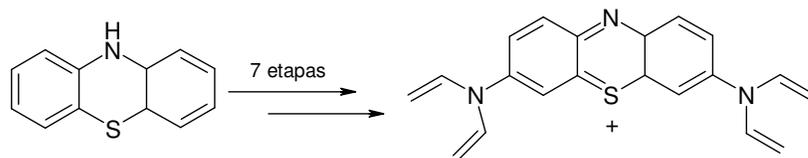


Figura 1.3. Síntese de 3,7-bis[di(2-propen)amino]fenotiazina com 27% de rendimento (adaptado de Leventis *et al.*, 1997).

Visto que as rotas propostas utilizam pelo menos duas aminas e oxidantes com impacto ambiental ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) ou de difícil manipulação (Br_2), é interessante o desenvolvimento de rotas sintéticas que possam compensar as desvantagens dos procedimentos anteriormente reportados na literatura.

1.1.2 Utilização de Sulfeto como Fonte de Enxofre para Formação de CF

O azul de metileno, como já mencionado, é o corante fenotiazínico mais empregado e estudado. E. Fischer, em 1886, o recomendava para a identificação de sulfeto, pela reação deste com N,N-dimetil-p-fenilenodiamino em meio ácido e após a adição de Fe^{3+} (Almy, 1925). O esquema da reação é apresentado na Figura 1.4.

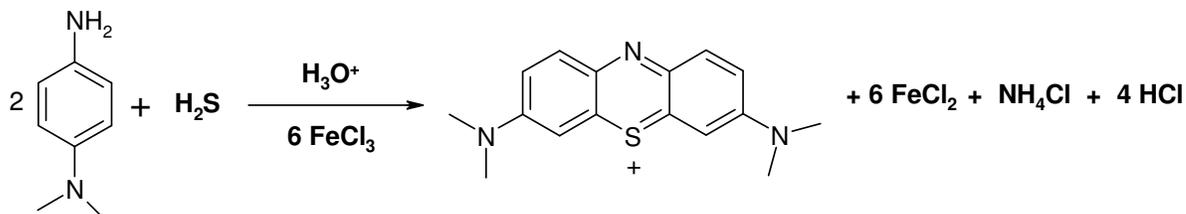


Figura 1.4. Formação do azul de metileno pela reação do N,N-dimetil-p-fenilenodiamino com H_2S .

O mesmo padrão de reação, apresentado na Figura 1.4, pôde ser observado para fins analíticos com derivados 3,7 di-amino (Boltz e Howell, 1978), N,N-etil (Rees *et al.*, 1971) e di-hidroxi (Mohamed *et al.*, 1997). Observou-se que a não inclusão deste procedimento como rota sintética para obtenção de corantes fenotiazínicos simétricos era uma possibilidade de estudo atraente, visando superar as limitações das rotas já conhecidas, visto que a reação tem como reagente de partida uma única amina e o oxidante empregado não é contaminante ambiental ou necessita de maiores cuidados na manipulação. Considerando que as reações paralelas são limitadas, desde que as condições sejam otimizadas (Gustafsson, 1960), é de extrema valia considerar possíveis alterações no perfil da reação em função de uma nova proporção entre os reagentes, visto que nos procedimentos analíticos a quantidade de sulfeto a ser determinada em diferentes amostras pode variar em uma ampla faixa de concentração.

Segundo trabalhos reportados na literatura a formação do azul de metileno a partir de H₂S apresenta aspectos mecanísticos distintos para uma variação da rota clássica e para sua geração em condições analíticas. As Figuras 1.5 e 1.6 apresentam os mecanismos para a rota clássica e para o método analítico, respectivamente.

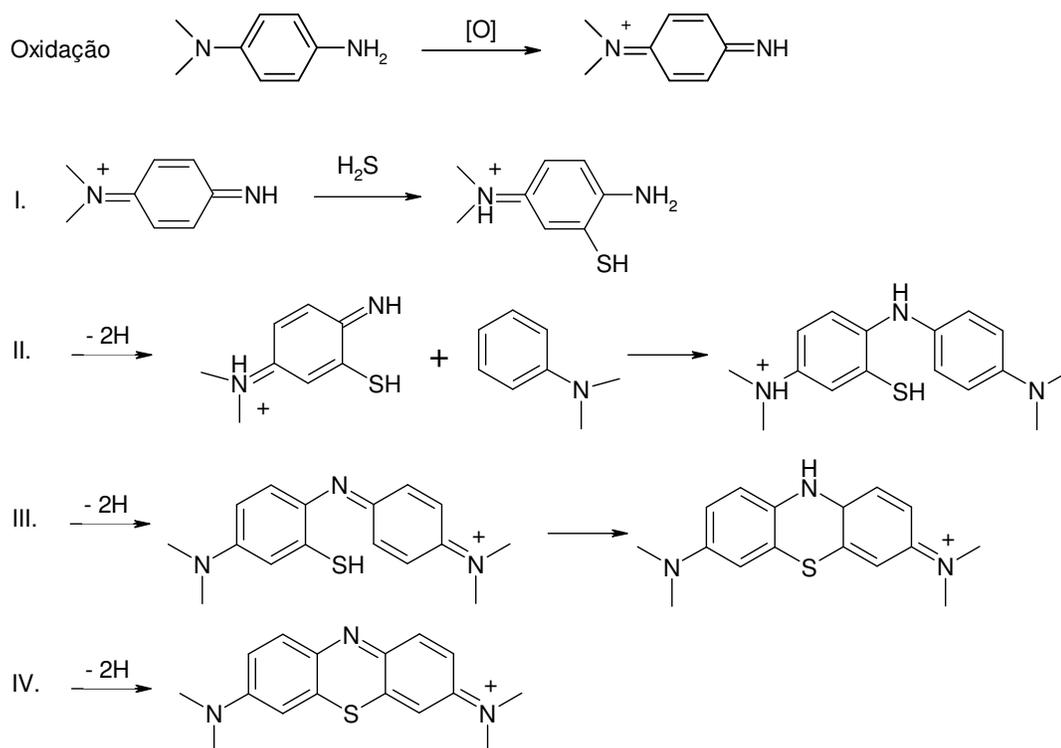


Figura 1.5. Mecanismo proposto para a formação do azul de metileno pela rota clássica, adaptado de Wieland e Gattermann, 1961.

A principal diferença entre as duas propostas, levando em conta que as condições reacionais são distintas, é a etapa de ciclização para formação do núcleo fenotiazínico. A primeira proposta leva em conta que a ciclização tem início com o ataque do nitrogênio à segunda molécula da amina (etapa II, Figura 1.5) e após duas oxidações, ocorre o fechamento do anel. A formação do azul de metileno partindo somente do DMPD leva primeiramente à formação de um cátion radicalar quinonadiimina o qual reage com o sulfeto presente no meio (etapa II, Figura 1.6) e leva à formação de um intermediário semelhante ao formado na primeira etapa da rota clássica. Diferente da rota clássica a ciclização tem início após uma dimerização com a formação de um sulfeto (etapa III, Figura 1.6), o qual, após sofrer oxidação, forma azul de metileno.

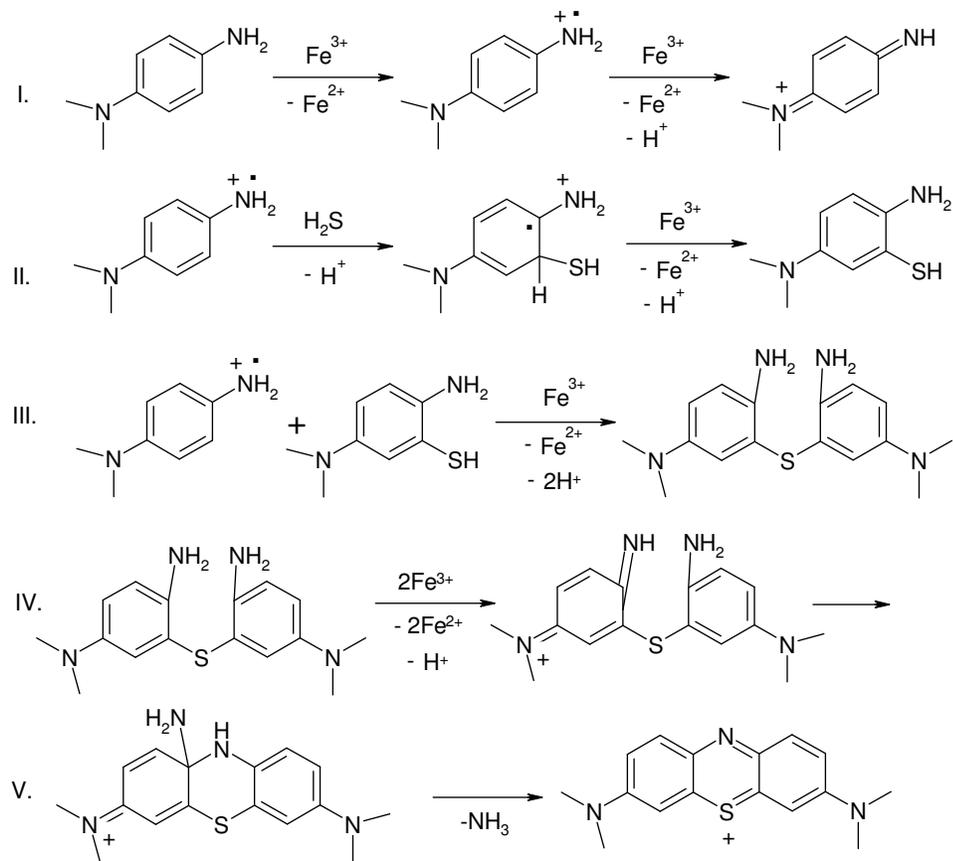


Figura 1.6. Mecanismo proposto para a formação do azul de metileno pelo procedimento analítico, adaptado de Kuban *et al.*, 1992.

Desta forma, é pertinente avaliar a reatividade de outras aminas aromáticas frente ao perfil desta reação para definir o escopo reacional e avaliar as principais vantagens e desvantagens da nova rota sintética para corantes fenotiazínicos simétricos frente as propostas anteriormente reportadas na literatura.

1.2 Metas

De acordo com os objetivos desta dissertação, as principais metas deste trabalho são:

- Avaliação das potencialidades e limitações da reação entre sulfeto e aminas aromáticas p-substituídas para síntese de corantes fenotiazínicos simétricos;
- Otimização das condições reacionais considerando a proporção entre os reagentes, tipos de oxidantes e contra-íons utilizados;

1.3 Experimental

1.3.1 Equipamentos

Os pontos de fusão (PF) foram medidos em aparelho da Microquímica (modelo MQAPF-301) e os resultados foram expressos em °C. Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos com espectrofotômetro ABB Bomen série MB, com as frequências de absorção expressas em cm^{-1} , utilizando-se pastilhas de KBr (Merck). Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos no equipamento Gemini 300, Varian, e os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (δ), tendo como padrão interno tetrametilsilano (^1H -RMN) ou $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ (^1H -RMN e ^{13}C -RMN). Os espectros foram tabulados seguindo a seguinte ordem: número de núcleos, multiplicidade (s, singleto; d, dubleto; t, tripleto; q, quarteto; m, multipletto; sl, sinal largo) e constante de acoplamento, em Hz. Os espectros na região do VIS foram obtidos no espectrofotômetro de feixe duplo UV-VIS-NIR Cary 5E, Varian, equipado com duas cubetas de vidro com 10-mm de caminho óptico.

1.3.2 Reagentes

Foram investigadas treze aminas aromáticas p-substituídas para a produção de corante fenotiazínico na reação com sulfeto: p-fenilenodiamina - **PPD** (Merck), N,N-dietil-p-fenilenodiamina - **DEPD** (Fluka), N,N-dimetil-p-fenilenodiamino - **DMPD** (Merck), N-fenil-p-fenilenodiamino (Fluka), N-acetil-p-fenilenodiamino (Fluka), p-metoxianilina - **p-aminoanisol** (Aldrich), p-aminotiofenol (Fluka), ácido p-aminobenzóico (Merck), p-aminonitrila (Fluka), p-cloroanilina (Fluka), p-nitroanilina (Merck), p-aminoacetofenona (Fluka). O p-aminofenol (**PAP**) foi produzido *in situ* e será posteriormente discutido.

Os outros reagentes utilizados foram: cloreto de azul de metileno (Merck), H_2SO_4 , HCl, KClO_4 , KIO_3 , $\text{Na}_2\text{S}\cdot n\text{H}_2\text{O}$, NaOH, NaBiO_3 , $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ todos da Merck e HBF_4 48% (Vetec).

As placas utilizadas em CCD foram preparadas com gel de sílica 60 PF₂₅₄₊₃₆₆ (Merck). Para eluição foi empregada, acetonitrila, ácido acético (Synth) e água, numa proporção 4:5:1 (v/v).

Para extração de paracetamol dos respectivos excipientes foi utilizado acetato de etila (Synth).

Como fonte de NaClO foi utilizada água sanitária, admitindo-se concentração de 2,25% (m/v) como teor médio em hipoclorito.

1.3.3 Seleção das Aminas

Foram preparadas soluções contendo 1 mmol de cada uma das 13 aminas em solução de H_2SO_4 a 0,5 e 1 mol L^{-1} . A 5 mL destas foram adicionados 5 mL de solução 20 mmol L^{-1} de Fe^{3+} em H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} e 2 mL de uma solução de NaOH 25 mmol L^{-1} (branco) ou 2 mL de uma solução 10 mg L^{-1} de sulfeto em NaOH 25 mmol L^{-1} . As soluções eram mantidas em repouso por 30 min na capela. A mudança da coloração

da solução na qual era adicionado sulfeto quando comparada ao branco, foi o indicativo da ocorrência de reação e conseqüentemente, para seleção da amina visando a síntese do respectivo corante fenotiazínico (CF).

1.3.4 Procedimento para Troca do Contra-Íon para o AM

O procedimento empregado para a substituição do Cl^- presente no AM comercial pelo ClO_4^- foi realizado, dissolvendo, em béquer de 200 mL, 200 mg (0,626 mmol) de cloreto de azul de metileno em 20 mL de água destilada, seguida da adição de 30 mL de solução aquosa saturada com KClO_4 . Pôde ser observada a imediata precipitação. A mistura foi deixada em repouso por 1 h quando era filtrada a vácuo. O sólido azul escuro obtido foi seco ao ar durante 24 h.

Para a troca do Cl^- pelo BF_4^- , seguiu-se o mesmo procedimento anteriormente descrito, substituindo-se a solução saturada de ClO_4^- por 30 mL de HBF_4 48%.

1.3.5 Procedimento Geral para Síntese dos Corantes Fenotiazínicos

Para obtenção dos CFs a partir das aminas selecionadas no teste preliminar, tendo como contra-íon o ClO_4^- e Fe^{3+} como oxidante foi seguido um procedimento geral. Em um balão de 500 mL, contendo 3 g de KClO_4 foram adicionados 50 mL de solução 1,0 mmol da amina aromática e 50 mL de solução 2,0 mmol em $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ambas preparadas em H_2SO_4 1 mol L^{-1} . A mistura era deixada sob agitação magnética por 1 min. A seguir, 100 mL de solução 2 mmol de Na_2S preparada em NaOH 25 mmol L^{-1} era adicionada, à vazão de 1 gota por segundo. A solução reacional adquiria coloração característica, a qual aumentava de intensidade com o aumento do intervalo de tempo. Após 20 min de reação, já era possível observar a formação de precipitado. O sistema ficava por ~1,5 h sob agitação e, após este período, era feita a filtração a vácuo. O sólido era separado e seco, ao ar, durante 24 h.

Na síntese dos corantes fenotiazínicos, tendo como contra-íon o BF_4^- e preservando-se o Fe^{3+} como oxidante as soluções eram preparadas em HBF_4 10% (v/v), logo era alterado o tipo de ácido, tendo geração *in situ* do contra-íon.

Para utilização do ClO^- como oxidante e do ClO_4^- como contra-íon seguiu-se o mesmo procedimento geral, substituindo a solução de Fe^{3+} pela de ClO^- (50 mL) em concentrações otimizadas. Procedimento semelhante era adotado quando do emprego de HBF_4 , porém a solução da amina era preparada em solução de HBF_4 20% (v/v).

1.3.6 Procedimento para Otimização da Reação de Formação do AM

Para avaliar a proporção ótima entre DMPD e sulfeto, deixou-se constante a razão molar (proporção) entre a amina e oxidante (Fe^{3+}) em 1 mmol, solubilizando-se as massas correspondentes em

50 mL de H₂SO₄ 1 mol L⁻¹. A quantidade de matéria correspondente ao sulfeto variou entre 0,5 e 5 mmol, sendo esta dissolvida em 100 mL de solução 25 mmol L⁻¹ em NaOH.

Após otimização da proporção entre DMPD e sulfeto, foi avaliada a quantidade de Fe³⁺, variando esta entre 0,1 e 5 mmol, seguindo procedimento de preparo anteriormente descrito. Foram avaliados os efeitos resultantes do tipo e da concentração de HCl (1 e 2 mol L⁻¹), H₂SO₄ (0,5 – 2 mol L⁻¹) e HBF₄ (5 e 10% (v/v)) no preparo das soluções da amina e de Fe³⁺. Todos os parâmetros foram avaliados, seguindo o procedimento geral de síntese (item 1.3.5).

A concentração de ClO⁻ foi otimizada nos vários ensaios, a partir da diluição adequada da solução estoque (água sanitária comercial). A diluição otimizada foi aquela que gerou a coloração mais intensa após a adição de 5 mL da solução de ClO⁻ diluída em 5 mL de uma solução contendo 1 mmol da amina solubilizada em 50 mL de H₂SO₄ 1 mol L⁻¹ e posterior adição de 2 mL de uma solução 1 mg L⁻¹ de sulfeto em NaOH a 25 mmol L⁻¹. O bismutato de sódio foi testado como oxidante para faixa entre 0,1 e 0,5 mmol, dissolvidos em 50 mL de HCl 1 mol L⁻¹.

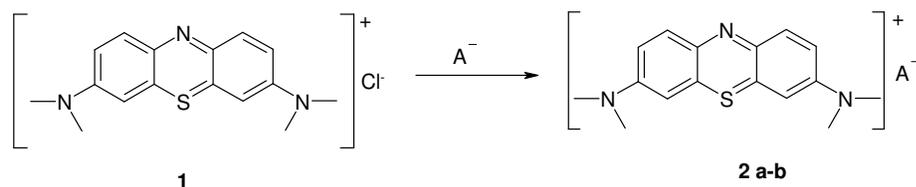
O critério utilizado para avaliação das condições ótimas foi baseado nos melhores resultados de rendimento do corante isento de impurezas.

1.3.7 Extração e Hidrólise do Paracetamol

A extração de paracetamol (**10**) a partir de comprimidos de Tylenol® seguiu o procedimento proposto por Baptistella e colaboradores em 2003. Obteve-se 55% de rendimento e o paracetamol extraído foi caracterizado através de seu ponto de fusão e espectro na região do IV. Sendo PF 166 –168 °C e IV (KBr) ν cm⁻¹: 3332, 3157, 1655, 1609, 1513,1367,1254,1012,831, 682 (Figura 1.12). As soluções de PAP foram preparadas a partir da hidrólise de massa apropriada de paracetamol (comercial) em 20 mL de H₂SO₄ 20% (v/v), aquecendo-se a 80 °C por 30 min e diluindo, com água, até atingir a concentração desejada, segundo Mohamed *et al.*,1997.

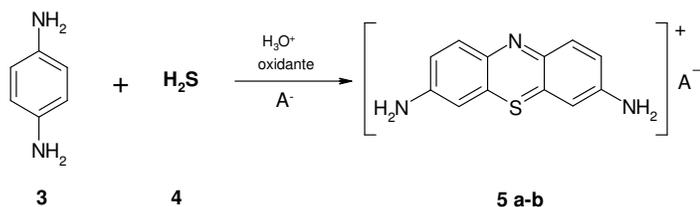
1.3.8 Reações

1) Reação de troca do contra-íon para o azul de metileno (A⁻ = ClO₄⁻ ou BF₄⁻)



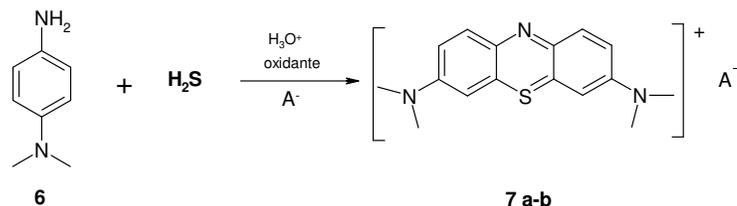
DADOS	2a, [AM] ⁺ [ClO ₄] ⁻	2b, [AM] ⁺ [BF ₄] ⁻
Rendimento	85%	76%
PF	200 – 205 °C	194 -195 °C
IV (KBr) ν (cm ⁻¹)	1600, 1488, 1395, 1351, 1087 (ClO ₄ ⁻) e 884	1600, 1490, 1398, 1359, 1082 (BF ₄ ⁻) e 883

2) Reação entre p-fenilenodiamino e H₂S



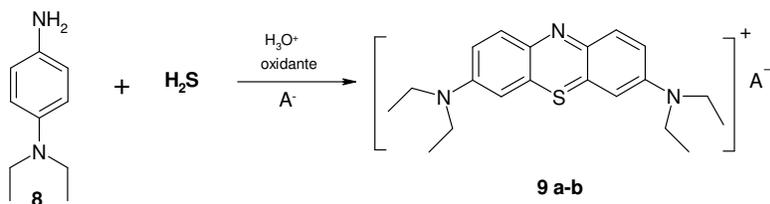
DADOS	5a (ClO ₄ ⁻)	5b (BF ₄ ⁻)
Rendimento	40% (Fe ³⁺) e 19% (ClO ⁻)	35% (Fe ³⁺) e 23% (ClO ⁻)
PF	148,3 - 153,6 °C	136,2-140,8°C
IV(KBr) v (cm ⁻¹)	3323, 3153, 1600, 1489, 1387, 1308, 1218, 1117 (ClO ₄ ⁻) e 847	3393, 3213, 1614, 1484, 1389, 1294, 1078 (BF ₄ ⁻) e 812
RMN ¹ H (DMSO – D ₆)	7,88 (2H,d,8,82 Hz), 7,21 (2H,d,8,80 Hz) e 7,11(2H,s) ppm. O NH ₂ não apareceu	Não realizado

3) Reação entre N, N-dimetil-p-fenilenodiamino e H₂S



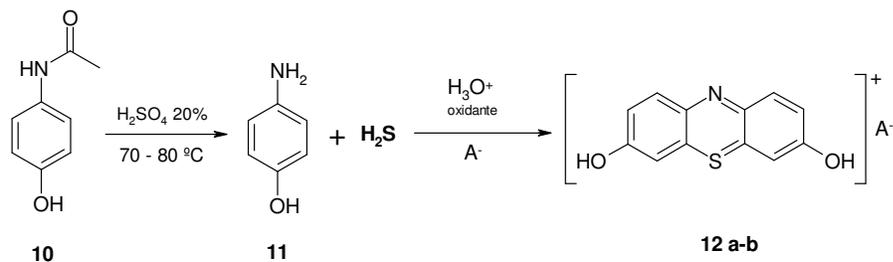
DADOS	7a (ClO ₄ ⁻)	7b (BF ₄ ⁻)
Rendimento	43% (Fe ³⁺) e 33% (ClO ⁻)	42% (Fe ³⁺) e 31% (ClO ⁻)
PF	206 - 210°C	192 - 196°C
IV(KBr) v (cm ⁻¹)	1594,1490,1388,1326,1274,1089 (ClO ₄ ⁻) e 872	1605, 1497, 1401, 1357, 1084 (BF ₄ ⁻) e 887
RMN ¹ H (DMSO – D ₆)	7,9 (2H,d, 9,23 Hz), 7,48 (4H, m) e 3,43 (12H,s) ppm	Não realizado
RMN ¹³ C (DMSO – D ₆)	118,86(CH),106,63(CH),134,83(Co),133,36(CH),137,65 (Co), 153,7 (Co) e 40,92 (CH ₃) ppm	Não realizado

4) Reação entre N, N-diethyl-p-fenilenodiamino e H₂S



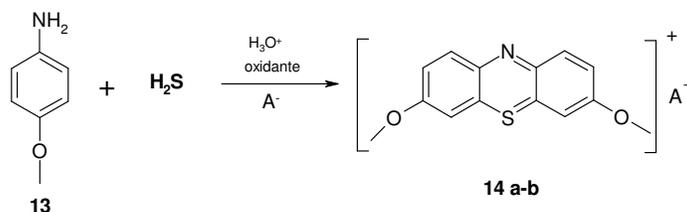
DADOS	9a (ClO ₄ ⁻)	9b (BF ₄ ⁻)
Rendimento	41% (Fe ³⁺) e 36% (ClO ⁻)	traços (Fe ³⁺) e 10% (ClO ⁻)
PF	150,0-162,0°C	Não realizado
IV(KBr) v (cm ⁻¹)	1594,1486, 1393, 1326, 1248, 1083(ClO ₄ ⁻) e 872	Não realizado
RMN ¹ H (DMSO – D ₆)	7,9 (2H,d,9,05Hz), 7,48 (4H,m), 3,72 (4H,q,13,7Hz) e 1,24 (6H,t,13,3Hz)	Não realizado
RMN ¹³ C (DMSO – D ₆)	118,81(CH),106,27 (CH), 134,86 (Co),134,02 (CH), 138,12 (Co),152,3 (Co), 45,7 (CH ₂) e 12,74 (CH ₃) ppm	Não realizado

5) Reação entre p-aminofenol gerado *in situ* e H₂S



DADOS	12a (ClO ₄ ⁻)	12b (BF ₄ ⁻)
Rendimento	36% (Fe ³⁺) e 21% (ClO ⁻)	>3% em 1,5 h e 28% para 48h (Fe ³⁺) Não realizado com ClO ⁻
PF	172,0-181,0°C	145 – 155 °C
IV(KBr) ν (cm ⁻¹)	3330 – 3072, 1594, 1490, 1429, 1212 (ClO ₄ ⁻), 1120, 1071 e 841	3379-3219, 1593, 1483, 1433, 1202 (BF ₄ ⁻), 1125, 1081 e 816

6) Reação entre p-aminoanisol e H₂S



DADOS	14a (ClO ₄ ⁻)	14b (BF ₄ ⁻)
Rendimento	28% (Fe ³⁺) e 23% (ClO ⁻)	25% (Fe ³⁺) e > 3% (ClO ⁻)
PF	197,5-200,0°C	130,0-135,0°C
IV(KBr) ν (cm ⁻¹)	1595, 1493, 1426, 1289, 1212 (ClO ₄ ⁻), 1120, 1120 e 844	1589, 1491, 1414, 1218, 1218 (BF ₄ ⁻), 1084, 1022 e 816

Nos dados referentes aos espectros na região do IV foram omitidas as absorções na região de 3100 – 3500 cm⁻¹, quando julgou-se que seriam relacionadas a H₂O presente na amostra.

1.4 Resultados e Discussão

O teste de seleção foi realizado com treze aminas aromáticas p-substituídas, sendo estas : p-fenilenodiamino (**PPD**), N,N-dietil-p-fenilenodiamino (**DEPD**), N,N-dimetil-p-fenilenodiamino (**DMPD**), N-fenil-p-fenilenodiamino, N-acetil-p-fenilenodiamino, p-aminoanisol (**PAA**), p-aminotiofenol, ácido p-aminobenzóico, p-aminonitrila, p-cloroanilina, p-nitroanilina, p-aminoacetofenona e o p-aminofenol (**PAP**). Dentre estas, as que mostraram melhores potenciais para síntese dos respectivos CFs foram: PPD, DEPD, DMPD, PAA, PAP, N-fenil-p-fenilenodiamino e N-acetil-p-fenilenodiamino. Os parâmetros da reação foram otimizados, visando proceder a síntese dentro das melhores condições reacionais.

1.4.1 Otimização das Condições Reacionais

Como o padrão de reação era o mesmo e a variação no produto dependia somente da amina precursora, foram padronizadas as condições reacionais para todos os sistemas, tomando como referência a reação de formação do azul de metileno. Isto se deu visto o maior nível de conhecimento da reação de produção do azul de metileno, bem como dos parâmetros analíticos inerentes a ela. Ressalta-se que para as reações que não responderam adequadamente ao padrão de otimização encontrado, foram avaliados os fatores pertinentes e ajustou-se as condições, visando o máximo rendimento.

Nas condições de análise, a reação de formação do azul de metileno terá maior rendimento quanto maior for a resposta analítica. Desta forma, as quantidades da amina, no caso do DMPD, e do oxidante, geralmente Fe^{3+} , encontram-se em excesso em relação ao analito, o sulfeto. Realizar os ensaios em condição de excesso dos reagente é aconselhável para que o sulfeto esteja em um ambiente onde a reação de formação do produto, o azul de metileno, seja favorecida. Contudo, quando busca-se rendimentos sintéticos como foi um dos objetivos deste trabalho, tentou-se evidentemente manter este pressuposto, na etapa de síntese dos corantes fenotiazínicos.

As sínteses dos CFs foram otimizadas, levando em conta os seguintes parâmetros: a proporção dos reagentes (amina e sulfeto), tipo e concentração do ácido, oxidante e contra-íon empregado.

De acordo com o procedimento geral, quando a solução de sulfeto preparada em meio alcalino foi adicionada a uma solução fortemente ácida, parte do sulfeto presente foi evoluído do meio, na forma de H_2S . Porém, o aumento indiscriminado da concentração de sulfeto para compensar as perdas do H_2S evoluído, levou a formação e precipitação de um sólido amarelo. Assim, a melhor condição encontrada no intervalo avaliado foi de 2 mmol em sulfeto, posto que acima deste valor podia ser observada a produção de um sólido amarelo, o qual poderia ser $\text{S}(0)$, originário da oxidação do H_2S pelo Fe^{3+} (Sienko e Plane, 1974).

Visto que a reação de formação de CF depende da oxidação da amina (Boltz e Howell, 1978), foi necessário avaliar a influência da concentração de Fe^{3+} sobre o perfil da reação. Inicialmente tentou-se diminuir drasticamente a concentração do oxidante. Porém, nesta condição, a reação se processava nos instantes iniciais, devido a presença de Fe^{3+} , mas depois de poucos minutos podia ser observada

diminuição na intensidade da coloração. Por outro lado, com o aumento da concentração de Fe^{3+} no meio pôde ser observada a produção de S(0). Desta forma, a melhor condição encontrada foi para a quantidade de Fe^{3+} igual a 2 mmol.

Além do Fe^{3+} para oxidação são reportados na literatura processos empregando Cr_2O_7^- , Ce^{4+} e Br_2 para esta reação (Kuban *et al.*, 1992 e Marczenko, 1976). Neste sentido foram testados dois oxidantes: NaBiO_3 e NaClO . O NaBiO_3 oxidou o DMPD, visto que ocorria alteração de coloração no meio para esta amina oxidada. Porém, ao ser adicionada a solução de sulfeto, ocorria precipitação, provavelmente de Bi_2S_3 ($K_{ps} = 1,0 \times 10^{-96}$), inviabilizando seu emprego nesta reação. Em contrapartida, o NaClO mostrou-se capaz de oxidar o DMPD e, com adição de solução de sulfeto gerou um composto de coloração azulada - o azul de metileno. O emprego de ClO^- em substituição ao Fe^{3+} mostrou ser extremamente atraente, considerando fatores como: (i) custo, uma vez que a fonte de ClO^- utilizada foi água sanitária comercial; e, (ii) possibilidade de implementar o uso de geração sonoquímica do oxidante (ClO^-) *in situ* (Borges e Korn, 2002). A concentração ótima de ClO^- , diferentemente do observado para o Fe^{3+} , variou com a natureza da amina. A Tabela 1.2 apresenta as concentrações de ClO^- selecionadas para as aminas investigadas, visando a produção dos corantes fenotiazínicos.

Tabela 1.2. Concentração otimizada de ClO^- para a oxidação de diferentes aminas .

Amina	ClO^- (% m/v)
DMPD	1
DEPD	1
PPD	0,1
PAP	0,2
PAA	0,15

Como observado, a reação de formação do azul de metileno depende da acidez do meio. Assim, foram avaliados três ácidos distintos em diferentes faixas de concentração para a produção dos corantes fenotiazínicos. O uso de HCl levou à uma cinética mais lenta que o H_2SO_4 . Quando a reação se processava com os reagentes preparados em HCl podia ser observada, primeiramente, uma coloração esverdeada e, após alguns minutos, a mesma ia mudando para o azul habitual. Em meio sulfúrico, a transição da coloração para o azul era direta e ocorria logo após a adição de sulfeto. Para menores concentrações de ambos os ácidos (HCl e H_2SO_4), a intensidade de coloração era diminuída e, geralmente, podia ser observada a precipitação de S(0). Desta forma optou-se por realizar os experimentos sempre com ácidos em concentrações mais elevadas, visando a obtenção de produtos mais puros. Os melhores resultados com H_2SO_4 foram obtidos para concentração de 1 mol L^{-1} , enquanto que para HCl as melhores condições foram obtidas para concentração de 2 mol L^{-1} . Contudo, em virtude da cinética da reação ser maior com H_2SO_4 , optou-se por este.

O HBF_4 não é um ácido forte ($K_a = 0,5$), como os anteriormente testados. Porém não pode ser considerado como um ácido fraco, devido ao alto valor de sua constante de ionização. A maior virtude da utilização do HBF_4 foi a geração *in situ* de BF_4^- que formava um par iônico com o corante fenotiazínico

sintetizado, evitando a adição de outra espécie para a precipitação do corante produzido. Para o HBF_4 , as melhores condições foram atribuídas para concentração de 10% (v/v), visto que levava a excesso de BF_4^- e tornava o meio suficientemente ácido para a produção dos CFs.

O contra-íon mais utilizado para formação de par iônico, visando a extração dos corantes fenotiazínicos, é o ClO_4^- . Alternativamente, são reportados o uso de SCN^- e picrato (Mohamed *et al.*, 1997). A formação do par iônico com o azul de metileno apresentou melhores resultados quando o ClO_4^- estava em solução durante toda a produção do corante em um excesso de, pelo menos, 10.000 vezes (Marczenko, 1976). Desta forma optou-se por acrescentar o KClO_4 à mistura entre a amina e o oxidante.

1.4.2 Identificação do Contra-íon Empregado

Após obtenção dos CFs precipitados, na forma de ClO_4^- e BF_4^- , foi preciso caracterizar os compostos orgânicos sintetizados para confirmar a presença dos ânions empregados como contra-íon. Para tanto, era preciso a seleção de um método que garantisse de forma indubitável a presença deste dois ânions. Devido ao fato do ClO_4^- e o BF_4^- possuírem bandas de estiramento Cl – O e B – F características na região do IV estes contra-íons puderam ser identificados.

Primeiramente foi realizada a troca do cloreto no azul de metileno pelos respectivos ânions, já que estes formam um par iônico insolúvel com o azul de metileno em meio aquoso. Os compostos gerados **2a** (ClO_4^-) e **2b** (BF_4^-) apresentaram rendimento acima de 75% na reação de troca do ânion. O rendimento do composto **2a** foi superior ao de **2b**, provavelmente pela fonte de BF_4^- ter sido seu respectivo ácido, solubilizando em parte o produto formado ou, solvatando o produto de forma mais eficaz que em solução aquosa. A Figura 1.7 apresenta os respectivos espectros na região do IV para o azul de metileno comercial, **2a** e **2b**.

Pela Figura 1.7 podem ser observadas bandas na região acima de 3000 cm^{-1} , características de estiramento O – H dos resíduos de água sempre presentes nas amostras sintetizadas, em decorrência das sínteses terem sido realizadas em meio aquoso e pelo fato dos compostos geralmente possuírem água de cristalização.

Os espectros de IV obtidos para o azul de metileno comercial (Figura 1.7 A) mostraram que as absorções mais intensas correspondiam a faixa de 1609 a 1347 cm^{-1} , indicando estiramentos C=C característicos de compostos aromáticos. Porém, além das absorções observadas para o azul de metileno na forma cloreto, pôde ser observado para **2a** (1087 cm^{-1}) e **2b** (1082 cm^{-1}), absorções intensas na região de 1080 cm^{-1} , características para ClO_4^- e BF_4^- (Nakamoto, 1979). Desta forma, absorções entre 1250 e 1050 cm^{-1} nos espectros de IV dos respectivos CFs sintetizados serviram de parâmetro para confirmação da presença de ClO_4^- ou BF_4^- .

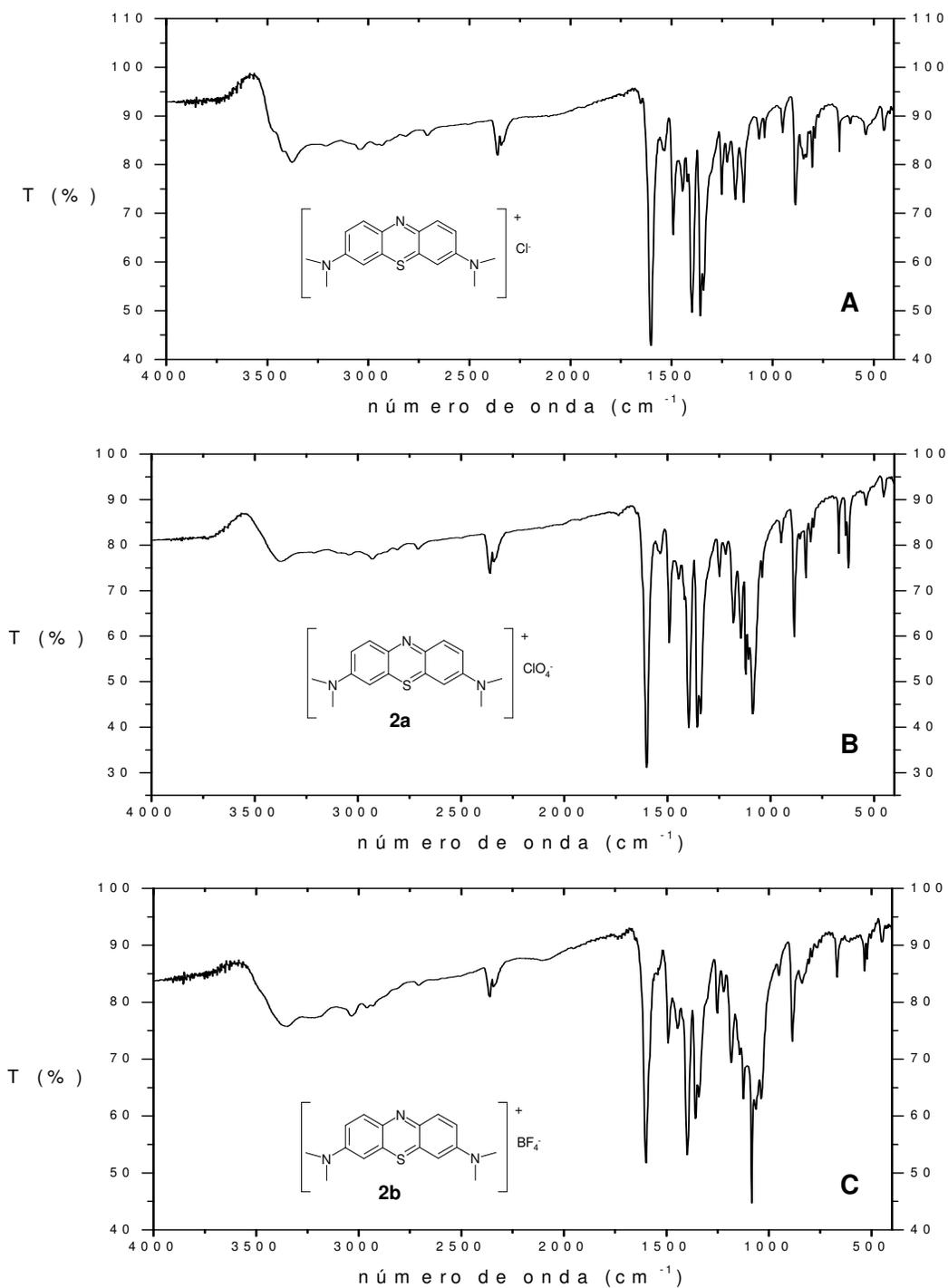


Figura 1.7. Espectro na região do IV (KBr) para azul de metileno na forma de cloreto (**A**), perclorato, **2a** (**B**) e tetrafluorborato, **2b** (**C**).

1.4.3 Síntese de Corantes Fenotiazínicos N-substituídos

De acordo com a Figura 1.6, a primeira etapa da reação para produção do azul de metileno foi a formação do cátion radicalar quinodiiimina. Para o sucesso desta reação, o cátion deve ser estabilizado para evitar possíveis reações paralelas. Substituintes que possuam características relaxadoras de elétrons podem estabilizar eletronicamente o cátion radicalar favorecendo a produção do respectivo CF.

Considerando as setes aminas selecionadas, cinco são aminas N-substituídas e duas O-substituídas. Para ambos os casos o(s) substituinte(s) dos respectivos heteroátomos guiaram a reatividade destas, bem como o padrão de ativação do anel aromático.

A síntese dos respectivos CFs com substituintes 3,7 nitrogenados foi iniciada fazendo uso das aminas: PPD, DMPD e DEPD, para avaliar a influência da substituição no átomo de nitrogênio por grupos alquila. Assim, avaliou-se a reatividade da amina precursora com os seguintes substituintes na posição 4 do anel: NH_2 (PPD, reação 2 item 1.3.8), $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ (DMPD, reação 3 item 1.3.8) e $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ (DEPD, reação 4 item 1.3.8). Foram seguidos todos os parâmetros reacionais anteriormente otimizados com o DMPD.

Os ensaios realizados permitiram observar que o PPD era facilmente oxidado pelo O_2 atmosférico e, portanto, mostrou-se menos estável que o DMPD e DEPD, os quais não sofriam a oxidação na mesma proporção observada para o PPD. Por este motivo foi necessário efetuar uma recristalização do PPD com tolueno antes da síntese.

Para as oxidações com Fe^{3+} e precipitação do CF produzido na forma de ClO_4^- , não foi observada diferença significativa do rendimento obtido para as aminas aromáticas avaliadas. Nestas condições foram obtidos rendimentos da produção de corantes fenotiazínicos de 40, 43 e 41%, respectivamente, para o PPD, DMPD e DEPD, mantendo padrão de reatividade semelhante com o emprego destas aminas.

Nos ensaios realizados com HBF_4 e mantendo o Fe^{3+} como oxidante, foram concomitantemente variados o ácido e o contra-íon. Nestas condições, foram observados rendimentos semelhantes de produção dos CFs com PPD e DMPD, 35 e 42%, respectivamente, enquanto que o DEPD apresentou rendimentos inferiores a 3%. Estes dados sugeriram que a reatividade do PPD e DMPD eram realmente semelhantes frente à oxidação com Fe^{3+} , independentemente do ácido e contra-íon empregados no processo. Considerando que a mudança de ácido altera o potencial de redução padrão do Fe^{3+} , o baixo resultado obtido com o DEPD poderia estar relacionado com a possível influência do HBF_4 sobre a oxidação desta amina. Contudo, deve ser salientado que para procedimentos analíticos envolvendo a produção de CFs para a determinação de sulfeto, as concentrações de Fe^{3+} devem ser maiores caso a amina empregada seja o DEPD (Sing *et al.*, 2000 e Rees *et al.*, 1971).

A utilização do NaClO para a oxidação das aminas foi outro parâmetro reacional investigado. Apesar de ambos os oxidantes atuarem por mecanismos radicalares (Kuban *et al.*, 1992 e Borges e Korn, 2002), eles se diferenciam em virtude do primeiro (Fe^{3+}) constituir um par redox reversível e o ClO^- ser convertido a Cl_2 em meio ácido, sendo este último efetivamente o oxidante em questão. O teor médio admitido para ClO^- na água sanitária manipulada foi de 2,25% (m/v) em NaClO . A produção de CFs com DMPD e DEPD

apresentaram os melhores rendimentos para concentrações de NaClO a 1% (v/v), enquanto que para o PPD a concentração ótima foi de ~0,1% (v/v). Quando a solução de PPD foi tratada com concentrações superiores a 0,1% (v/v), foi observada a formação de um sólido branco (PF 96 - 97,5°C). Para avaliar se este sólido também estava sendo formado no momento da síntese do respectivo CF, foram comparados os espectros na região do IV usando perclorato de 3,7-bis(dihidroxi)fenotiazíneo, **5a**, e o sólido obtido produzido na oxidação do PPD com hipoclorito. A comparação espectral é apresentada na Figura 1.8.

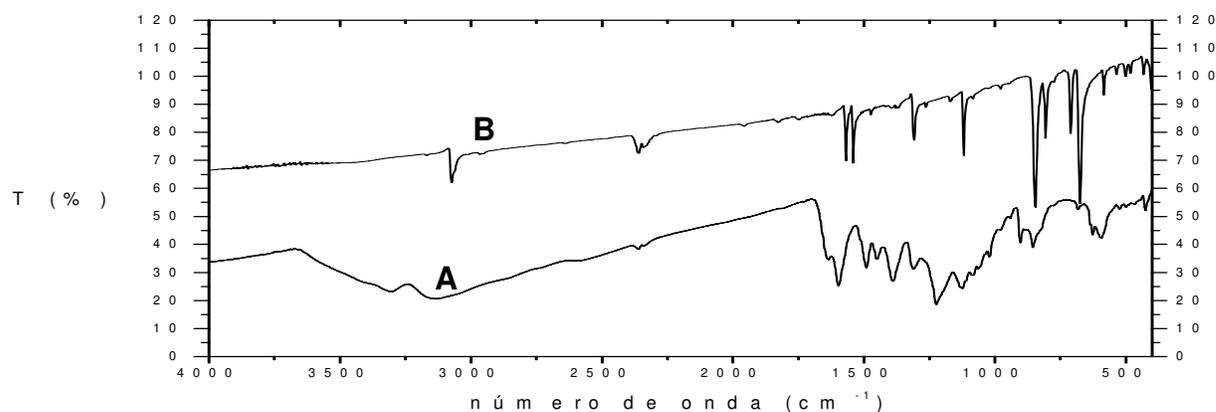


Figura 1.8. Espectros na região do IV (KBr) de (A) perclorato de 3,7-bis(diamino)fenotiazíneo (**5a**) e (B) do sólido obtido pela oxidação do PPD.

Pela análise dos espectros de IV (Figura 1.8), pode-se acreditar que o composto gerado em função da oxidação do PPD não possui ligação N–H, devido a ausência de banda estreita e de intensidade média na região entre 3300 e 3400 cm^{-1} (Lambert *et al.*, 1987), referente ao estiramento desta ligação. Também, puderam ser observadas bandas de absorção em 3078 cm^{-1} , característica de ligações C – H de anéis aromáticos (Figura 1.8 B); e, para o espectro da Figura 1.8 A, as bandas entre 3350 e 3200 cm^{-1} , relacionadas aos estiramentos simétrico e assimétrico do NH_2 presente em **5a**. A comparação entre as outras bandas de absorção e os perfis de ambos espectros, além das diferenças nos PFs obtidos, levaram a concluir que o sólido branco produzido durante a oxidação com excesso de ClO^- e o produto da reação entre o PPD, ClO^- e sulfeto eram compostos distintos.

A baixa concentração de ClO^- presente nas soluções de PPD necessárias para que não ocorresse a produção do sólido branco, levou a rendimentos menores na produção do corante fenotiazínico, quando comparado ao DEPD e DMPD. Este efeito pode estar relacionado às maiores concentrações de oxidante adicionadas no procedimento de síntese dos CFs com DMPD e DEPD. Ainda nos estudos com hipoclorito, os rendimentos calculados, quando os CFs foram precipitados na forma de perclorato, foram 19, 33 e 36% para o PPD, DMPD e DEPD, respectivamente. O emprego de HBF_4 associado ao ClO^- não mostrou grandes variações para o PPD e DMPD (23 e 31%), mas para o DEPD o rendimento foi consideravelmente menor (~10%).

Nota-se que a natureza do substituinte a variações no comportamento frente ao HBF_4 e ao tipo de oxidante empregado. Porém, o emprego de Fe^{3+} e ClO_4^- foi a condição que levou a maior uniformidade, não sendo possível perceber diminuição do rendimento com o aumento da cadeia alquílica da amina aromática N-substituída, contradizendo o reportado pela metodologia clássica (Toei e Fujii, 1977). Em todas as condições reacionais avaliadas – variação do ácido, oxidante e contra-íon – os rendimentos obtidos com o DMPD foram aqueles menos sujeitos a variações.

De acordo com os testes de seleção, os outros compostos que apresentaram resultados dentro do padrão de resposta considerado como adequado foram o N-acetil-p-fenilenodiamino e N-fenil-p-fenilenodiamino. Contudo, a carbonila conjugada ao nitrogênio aromático no composto N-acetil-p-fenilenodiamino provavelmente desativaria a molécula para o padrão de reação proposto. Porém, nos testes preliminares ocorreu mudança lenta de coloração, diferentemente do constatado para as outras aminas. Assim, foram avaliadas duas possíveis reações da amina com sulfeto na presença de Fe^{3+} em meio ácido (Figura 1.9). A primeira possibilidade seria a ocorrência da reação, com produção do composto **15**. Contudo, levando em conta a estrutura da amina precursora poderia ocorrer hidrólise e posterior produção de **5a**, o que justificaria um maior tempo de reação. Para tanto procedeu-se à reação e obteve-se um sólido de coloração vinho intensa, que apresentou valores de PF próximos aos de **5a**. Para garantir que a estrutura obtida realmente era **5a** recorreu-se ao espectro no IV, para comprovar as suspeitas levantadas pela similaridade dos valores de ponto de fusão. Caso o espectro apontasse bandas de absorção entre 1680 e 1660 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$, amida) e 3440 e 3420 cm^{-1} (NH , amida), estaria confirmada a estrutura **15**. Porém se o espectro revela-se absorção de estiramento de NH_2 na região de 3350 – 3200 cm^{-1} , levaria a fortes indicativos que o composto formado teria a estrutura **5a**. Na Figura 1.10 são apresentados os espectros na região do IV obtidos do produto da reação do N-acetil-p-fenilenodiamino com Fe^{3+} e sulfeto em meio ácido e do corante **5a**.

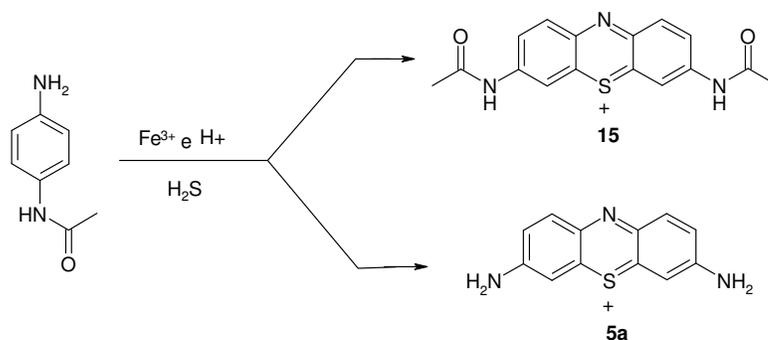


Figura 1.9. Possibilidades de reação do N-acetil-p-fenilenodiamino com Fe^{3+} e sulfeto em meio ácido.

Como pode ser observado na Figura 1.10, os perfis dos espectros obtidos para ambos os compostos foram idênticos, indicando que a reação do N-acetil-p-fenilenodiamino com sulfeto na presença de íons férricos em meio ácido levava à produção de **5a**, pela hidrólise da amina e geração *in situ* de PPD.

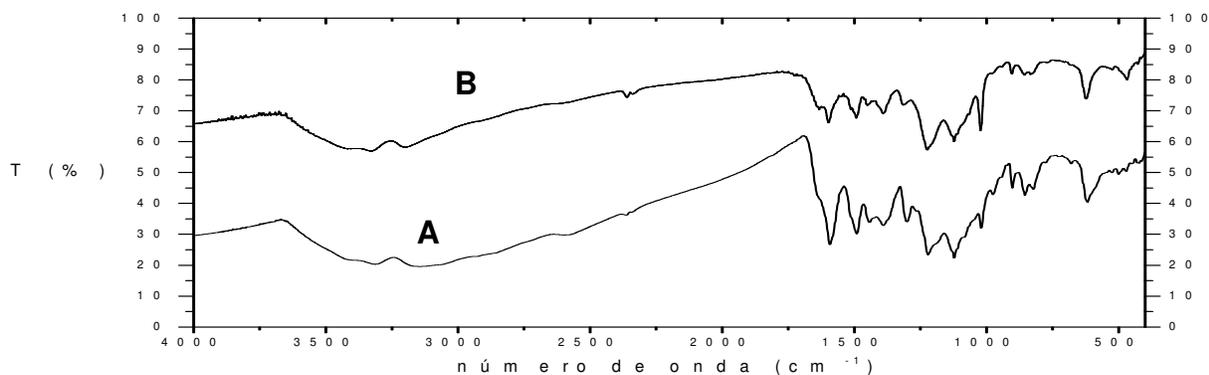


Figura 1.10. Espectros na região do IV (KBr) para a reação do N-acetil-p-fenilendiamino com Fe^{3+} e sulfeto em meio ácido (**A**) e **5a** (**B**).

Nas reações efetuadas com o N-fenil-p-fenilendiamino observou-se que este era facilmente oxidado pelo Fe^{3+} e ClO^- . Para concentrações muito baixas de oxidante era percebida uma coloração azulada após adição de sulfeto à solução da amina. Porém, nas condições reacionais gerais, o N-fenil-p-fenilendiamino produzia um sólido esverdeado após a adição de qualquer dos oxidantes avaliados. Para avaliar se o produto da oxidação poderia reagir com sulfeto, o produto obtido pelo procedimento geral com o sólido obtido pela adição do oxidante (Fe^{3+} ou ClO^-) foi submetido a uma bateria de testes. Comparando-se o número de manchas e o fator de retenção (Rf) em CCD para os dois produtos pôde ser constatado que os resultados eram semelhantes, indicando uma mancha do reagente e mais duas manchas. Para ambos, os PFs encontrados foram superiores a 350°C , indicando que as estruturas formadas deveriam possuir uma alta massa molar ou terem alta estabilidade térmica.

Contudo, as informações obtidas com a CCD e os PFs não eram conclusivas e suficientemente confiáveis para afirmar que a reação havia ocorrido sem, gerar o respectivo CF. Desta forma, comparou-se os espectros na região do IV para o N-fenil-p-fenilendiamino puro (**A**) e os produtos derivados destes na presença e ausência de sulfeto (**B** e **C**). Os respectivos espectros são apresentados na Figura 1.11. Na análise dos espectros da Figura 1.11 ficou evidente a transformação do N-fenil-p-fenilendiamino em outra espécie química, em função do desaparecimento das bandas de absorção relativas aos estiramentos N – H de amina primária e secundária (espectros **B** e **C**) na região de 3350 a 3500 cm^{-1} . Os espectros **B** e **C** apresentaram perfis semelhantes, diferindo apenas na absorção do ClO_4^- em 1087 cm^{-1} (Figura 1.11, espectro **B**). Assim, considerando a tendência de polimerização deste tipo de amina na presença de oxidantes (Sidgwick, 1945) e a concordância entre os espectros na região do IV, além das informações obtidas sobre os PFs e perfis de separação nas placas de CCD, pode ser sugerido que o sólido obtido pelo procedimento padrão e pela oxidação do Fe^{3+} corresponderia ao mesmo produto.

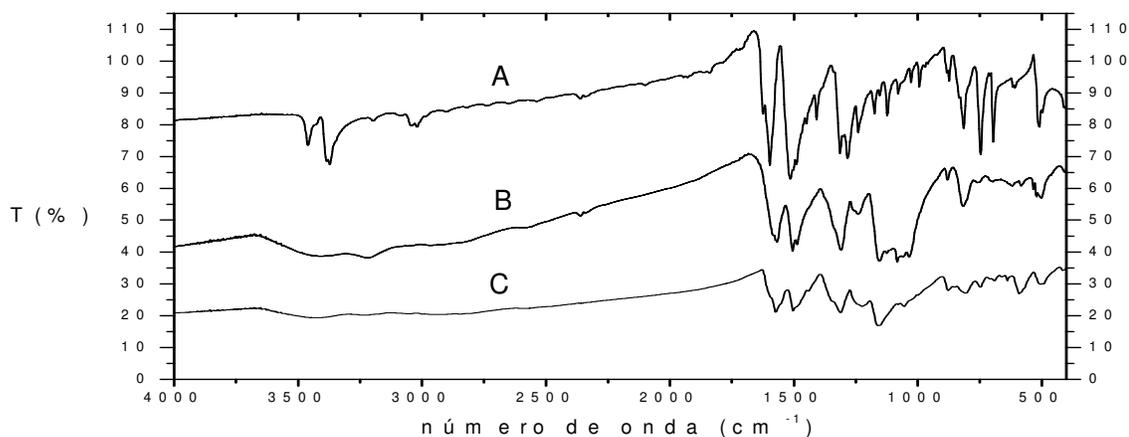


Figura 1.11. Espectro na região do IV (KBr) para o N-fenil-p-fenilenodiamino (A), para o produto da reação do N-fenil-p-fenilenodiamino Fe^{3+} e sulfeto (B) e sólido obtido após oxidação do N-fenil-p-fenilenodiamino com solução de Fe^{3+} (C).

Assim, baseado nas informações químicas obtidas com os diferentes ensaios e testes realizados, entre as aminas N-substituídas investigadas, apenas DMPD, PPD e DEPD apresentaram resultados satisfatórios para a produção, na reação com sulfeto, dos correspondentes corantes fenotiazínicos pela rota proposta.

1.4.4 Síntese de Corantes Fenotiazínicos O-substituídos

Na química dos CFs não são comuns derivados hidroxilados, mesmo por que a maioria dos estudos recentes que envolvem estes compostos preconizam o uso dos derivados N-substituídos (Wainwright e Giddens, 2003). Desta forma as metodologias citadas como clássicas deixam uma lacuna que poderá ser preenchida na proposta de síntese que se tentou implementar neste trabalho.

O p-aminofenol (PAP), como muitas aminas aromáticas, é facilmente oxidado pelo oxigênio atmosférico, gerando uma mistura complexa e de difícil purificação (Sidgwick, 1945). Mais facilmente oxidado que o PPD, o PAP é extremamente sensível e apresenta um laborioso processo de purificação. O método de purificação consistia na recristalização em álcool etílico realizada em atmosfera de N_2 , para posterior tratamento em cromatografia em coluna (Williamson, 1999). Desta forma, visando burlar uma limitação técnica, decidiu-se produzir o PAP *in situ* pela hidrólise ácida do paracetamol (Mohamed *et al.*, 1997), o qual foi extraído de comprimidos adquiridos no comércio (Baptistella *et al.*, 2003). Os resultados obtidos com o PAP foram comparados com o análogo direto – o PAA.

Considerando o mecanismo proposto na Figura 1.6 para a produção do azul de metileno em solução, há a formação, como intermediário, do cátion radicalar quinonadiimina, sendo que este padrão de reação pode ser sugerido para outras aminas aromáticas N-substituídas com grupamento alquílico. Se o padrão se repetir para o PAP, amina aromática O-substituída, deveria ser formado, como intermediário, o cátion radicalar quinona. Desta forma, o PAA que possui um grupo metoxila na posição 4 do anel aromático,

também poderia apresentar mecanismo semelhante aos das amins N-subsbtuídas. Porém, o oxigênio não acomoda uma carga positiva de forma tão eficaz como o nitrogênio, mesmo que substituintes alquila estejam ligados ao oxigênio. Assim, menores rendimentos para a produção de CF são esperados caso a reação com sulfeto seja realizada com PAA.

Os rendimentos dos respectivos CFs para o PAP e o PAA apresentaram valores próximos (36 e 28%, respectivamente), empregando Fe^{3+} como oxidante e ClO_4^- como contra-íon. Para avaliar o efeito do HBF_4 como ácido e gerador do contra-íon na reação com PAP, o paracetamol foi hidrolizado em solução HBF_4 48%, mantendo-se o mesmo procedimento empregado para o H_2SO_4 . Após 1,5 h de reação pôde ser observada a produção do respectivo CF, com rendimento inferior a 3%. Porém, o rendimento aumentou para 28% após 48 h de reação. Desta forma, pôde-se concluir que a força relativa do HBF_4 influenciou diretamente no rendimento obtido para o CF derivado do PAP. Em contraposição, para o PAA foi observado rendimento de 25%, não muito diferente do anterior (28%), para o mesmo intervalo de tempo de reação. Logo, não foi percebida influência na reatividade do PAA com o tipo de ácido e de contra-íons empregados para a produção de corantes fenotiazínicos, empregando Fe^{3+} como oxidante.

Para os estudos realizados com ClO^- e ClO_4^- foram obtidos rendimentos de 25 e 23% para o PAP e PAA, respectivamente. A discreta diminuição nos valores calculados para os rendimentos na reação com hipoclorito pode ser relacionada com a menor concentração de oxidante presente no meio. O uso do HBF_4 associado ao ClO^- apresentou rendimentos inferiores a 3% para o PAA e não foi empregado para o PAP em virtude de sua lenta cinética de hidrólise do paracetamol.

1.4.5 Comparação entre os Rendimentos de Produção de CFs com Amins O e N-substituídos

De acordo com os valores de rendimentos calculados em relação a variação do substituinte **R** (Figura 1.1) nas posições 3 e 7 apresentados na Tabela 1.3, notou-se que a condição que apresentou os melhores resultados foi quando se empregou Fe^{3+} como oxidante e ClO_4^- como contra-íon. As amins N-substituídas apresentaram valores de rendimento maiores que os derivados O-substituídos. Este fato deve estar relacionado a melhor estabilização do cátion radicalar formado, quando substituído por grupos nitrogenados.

Tabela 1.3. Rendimentos obtidos para produção de CFs com amins aromáticas O e N-substituídas

R	Rendimento (%)			
	Condição (oxidante /contra-íon)			
	$\text{Fe}^{3+}/\text{ClO}_4^-$	$\text{Fe}^{3+}/\text{BF}_4^-$	$\text{ClO}^-/\text{ClO}_4^-$	$\text{ClO}^-/\text{BF}_4^-$
NH_2	40	35	19	23
$\text{N}(\text{CH}_3)_2$	43	42	33	31
$\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	41	> 3%	36	10
OH	36	> 3%(1,5h) e 28% (48h)	25	Não realizado
OCH_3	28	25	23	> 3%

Porém, os valores de rendimentos calculados não ultrapassaram 43%, o que deve estar relacionado a volatilidade do H₂S em meio ácido, impedindo melhores resultados. Todavia, os respectivos CFs sintetizados mostraram-se puros (apenas uma macha em CCD), exceto o derivado **5a**, como observado no respectivo espectro de RMN ¹H.

1.4.6 Caracterização Espectral dos Corantes Fenotiazínicos Sintetizados

A fim de garantir que os produtos obtidos nas reações efetuadas correspondiam efetivamente aos CFs sintetizados foi necessária uma caracterização de forma a deixar clara as estruturas sugeridas. Para tanto, utilizou-se os sinais característicos produzidos por este núcleo nos espectros correspondentes na região do IV e de RMN de ¹H e ¹³C.

Os espectros na região do IV e de RMN de ¹H (CDCl₃) do azul metileno na forma de cloreto (Merck) foram utilizados como referência em relação aos sinais obtidos para os outros CFs sintetizados, de acordo com as variações em decorrência do grupo funcional presente.

Os espectros na região do IV mostraram claramente (Figura de 1.13 a 1.21) que a maioria dos sinais estavam localizados na região entre 1600 e 850 cm⁻¹. Estes sinais correspondiam aos respectivos estiramentos e deformações angulares da ligação C-H presente no núcleo fenotiazínico. Notou-se que para os compostos **5a**, **12a** e **14a** ocorreu uma variação na absorção característica do íon ClO₄⁻ da faixa de 1080 para 1220 cm⁻¹ associado ao alargamento das bandas de absorção, isto provavelmente em função de interações mais efetivas deste íon com os grupos amino, hidroxila e metóxila. Normalmente foi observado que os espectros na região do IV apresentavam estiramento O-H, mesmo quando as amostras foram secas por 2 h (70 °C). Isto foi um indicativo da presença de H₂O de cristalização. O padrão dos espectros de absorção para os CFs sintetizados mantiveram-se concordantes com estruturas de natureza similar reportadas na literatura (Leventis *et al.*, 1997; Andreani *et al.*, 1991 e Okafor, 1995).

Os espectros de RMN de ¹H para os compostos **5a**, **7a** e **9a** (Figuras de 1.22 a 1.32) apresentaram sinais característico na região entre 7 e 8 ppm, referente aos hidrogênios aromáticos (Crews *et al.*, 1998). O espectro de **5a** apresentou o padrão de acoplamento esperado (item 1.3.8, reação 2), porém foram observados sinais de menor intensidade relativo a impurezas presentes na amostra. A presença de impurezas foi atribuída a facilidade de oxidação do PPD pelo oxigênio atmosférico. Os espectros de RMN ¹H referentes aos compostos **7a** (item 1.38, reação 3) e **9a** (item 1.38, reação 4) repetiram os acoplamentos anteriormente observados. Para estes compostos foi observada uma proporção próxima de 1:2 (**7a**) e 3:10 (**9a**) entre os hidrogênios aromáticos e alifáticos, corroborando com a estrutura esperada. Em todos os espectros de RMN de ¹H foi percebido um pico referente a presença de H₂O, provavelmente de cristalização, como já constatado nos espectros de IV. Os espectros de RMN ¹³C realizados para **7a** e **9a** apresentaram um padrão muito semelhante para os sinais obtidos, diferindo somente em um sinal adicional para **9a**, referente ao carbono metilênico do grupo etila. O padrão dos espectros de RMN ¹H e ¹³C sintetizados foram concordantes com estruturas de natureza similar reportadas na literatura (Leventis *et al.*, 1997)

Para os compostos **12a** e **14a** não foram obtidos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , sendo suas estruturas sugeridas a partir da concordância entre os espectros na região do IV, máximos de absorção na região do VIS relatados na literatura (Mohamed *et al.*, 1997) e ausência de produtos gerados nas mesmas condições reacionais sem a presença de sulfeto.

Os CFs apresentaram colorações características em função da natureza eletrônica do grupo substituinte, visto que para todos os compostos sintetizados o padrão de substituição no respectivo núcleo foi mantido. Desta forma, foram avaliadas as respectivas diferenças nos espectros de absorção na região do VIS para os CFs sintetizados. Os espectros na faixa entre 400 e 800 nm foram obtidos em soluções de 0,1, 1 e 3 mol L⁻¹ em H₂SO₄ para avaliar o efeito da concentração do ácido presente no meio e no perfil espectral, além de possíveis deslocamentos nos λ_{max} . A Tabela 1.4 apresenta os λ_{max} encontrados para a dissolução dos corantes em 1 mol L⁻¹ em H₂SO₄.

Tabela 1.4. Comprimentos de onda de máxima absorção molecular para os CFs em H₂SO₄ 1 mol L⁻¹.

CF	λ_{max} , nm
5a	550
7a	664
9a	677
12a	545
14a	510

Analisando-se a Tabela 1 pode-se observar que a substituição no átomo de nitrogênio leva a deslocamentos batocrômicos com relação aos derivados. N-substituídos. Percebeu-se que a substituição por grupos alquila no nitrogênio deve levar a absorção de uma menor quantidade de radiação para que ocorram as transições eletrônicas na molécula do CF. Os espectros de absorção molecular são apresentados nas Figuras 1.33 a 1.37. Os respectivos coeficientes de absorvidade molar não foram calculados pois não foi observada solubilização total de nenhum CF, desta forma era provável que as concentrações molares fossem distintas.

Para os compostos O-substituídos, **12a** e **14a** foi observado efeito hipsocrômico com a inclusão do grupo metila. O composto **12a** tem a possibilidade de formar estrutura tipo quinona em função do efeito de deslocamento da carga na molécula (ressonância), diferente do composto **14a**, onde o oxigênio teria que acomodar uma carga positiva, o que não leva a estabilização da molécula.

O aumento da concentração do ácido levou a efeito batocrômico seguido de efeito hipsocrômico para os derivados N-substituídos, sendo observado de forma mais crítica para os CFs **7a** e **9a**. Isto ocorreu em função da formação de mais um centro positivo na molécula do CF, como já reportado por Kuban *et al.*, 1992. Para os CFs **12a** e **14a** foi observado efeito inverso, provavelmente em função de uma melhor estabilização eletrônica na molécula possibilitando aumento da capacidade de absorver radiação eletromagnética.

Os respectivos espectros na região do IV, de RMN de ^1H e ^{13}C são apresentados a seguir. O primeiro espectro de IV da série corresponde a confirmação do paracetamol extraído (item 1.3.7)

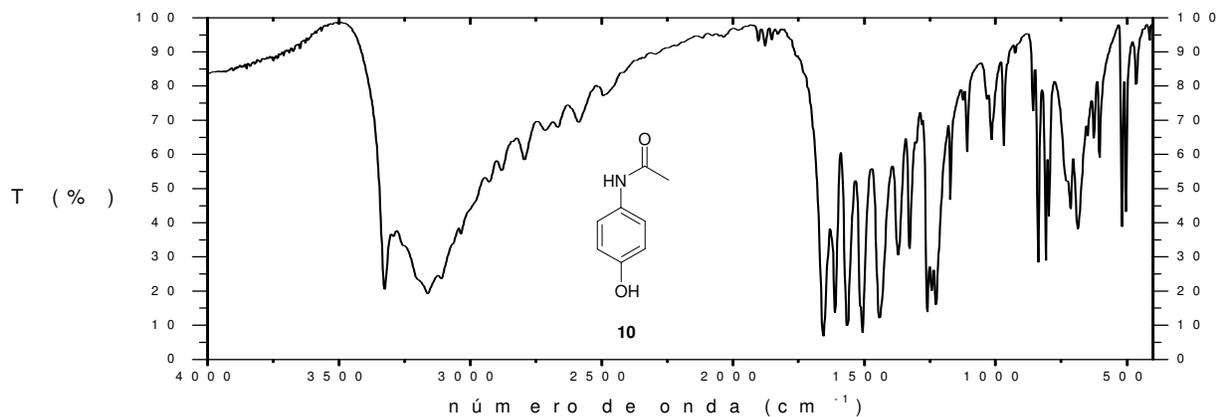


Figura 1.12. Espectro na região do IV (KBr) do paracetamol (10).

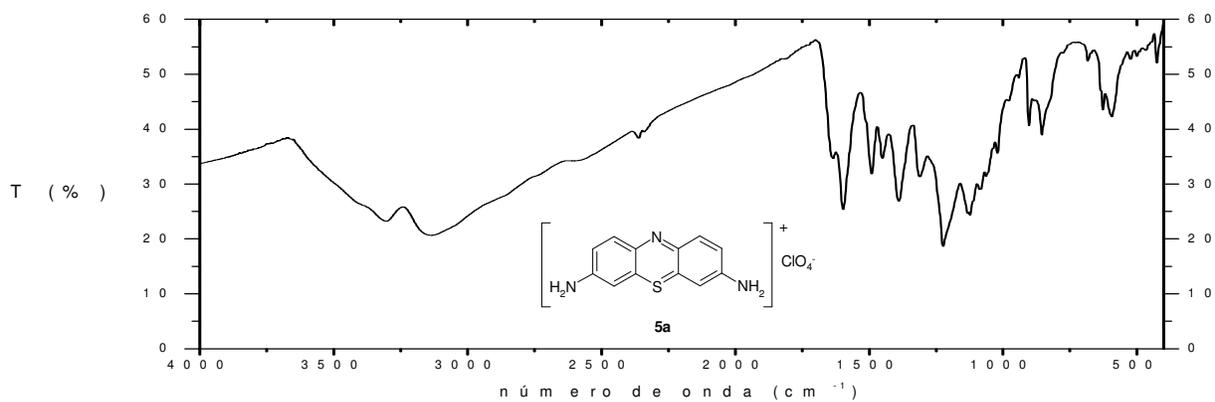


Figura 1.13. Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(diamino)fenotiazínio, **5a**.

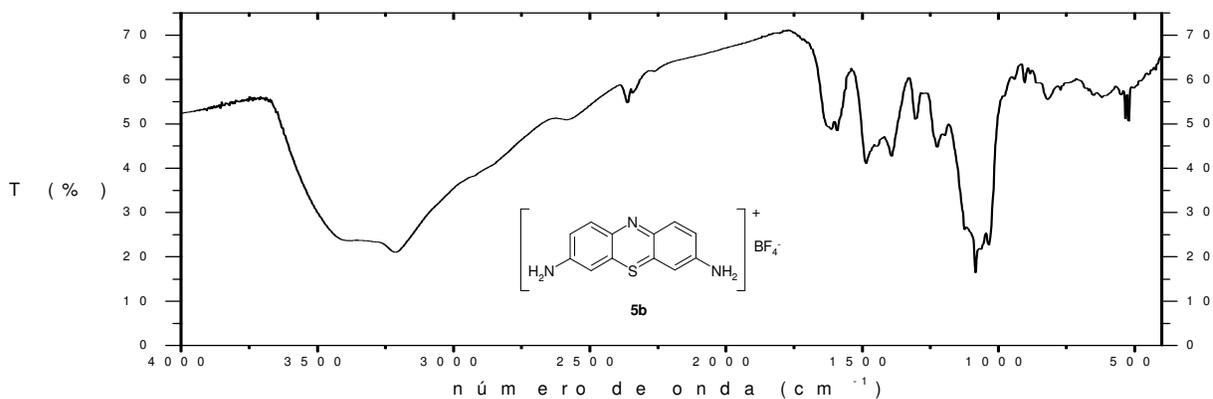


Figura 1.14. Espectro na região do IV (KBr) do tetrafluorborato de 3,7-bis(diamino)fenotiazínio, **5b**.

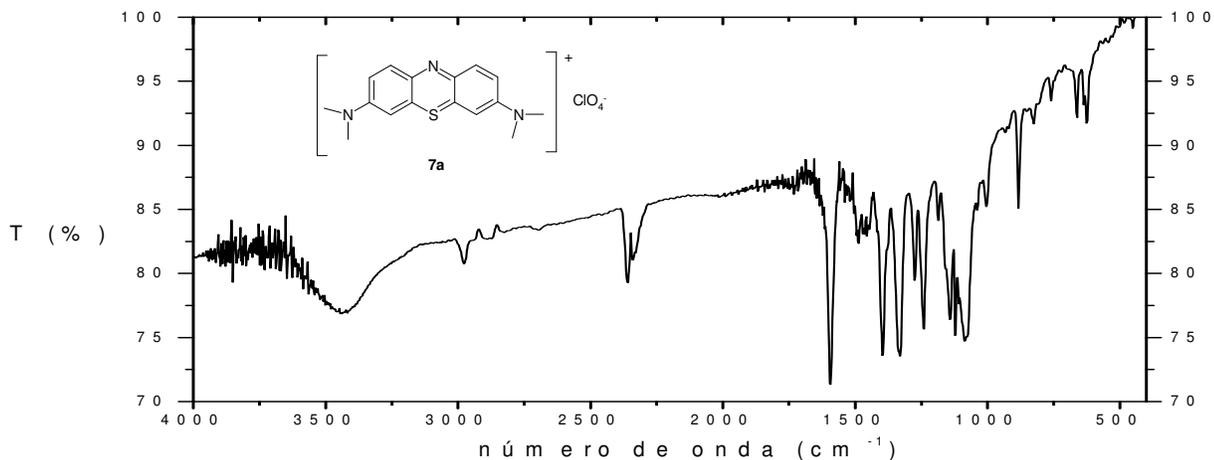


Figura 1.15. Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio, **7a**.

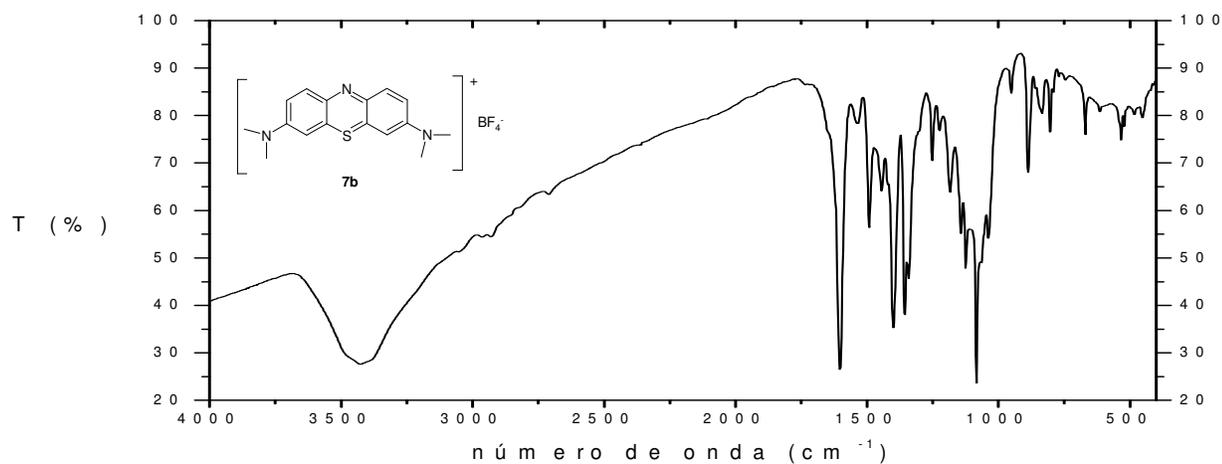


Figura 1.16. Espectro na região do IV (KBr) do tetrafluorborato de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio, **7b**.

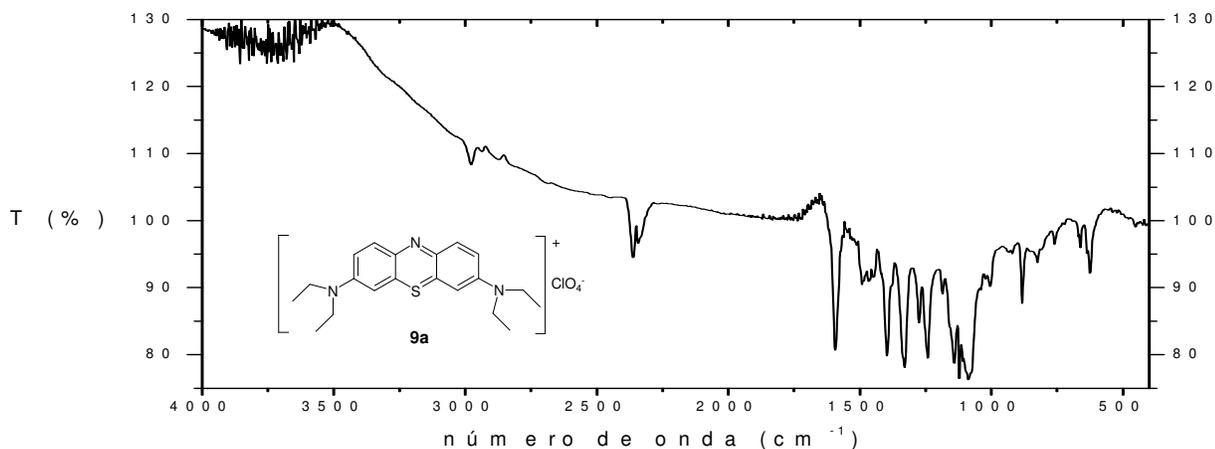


Figura 1.17. Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(diethylamino)fenotiazínio, **9a**.

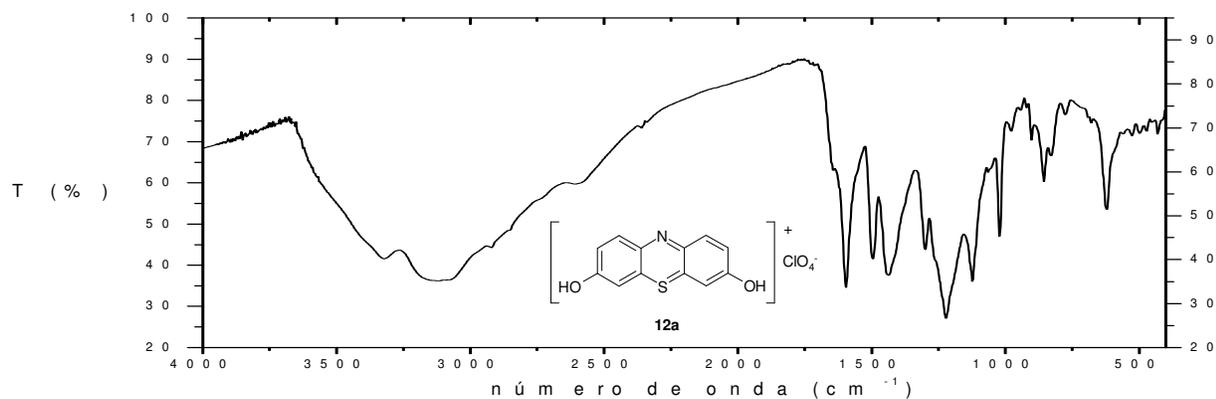


Figura 1.18. Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(dihidroxi)fenotiazíneo, **12a**.

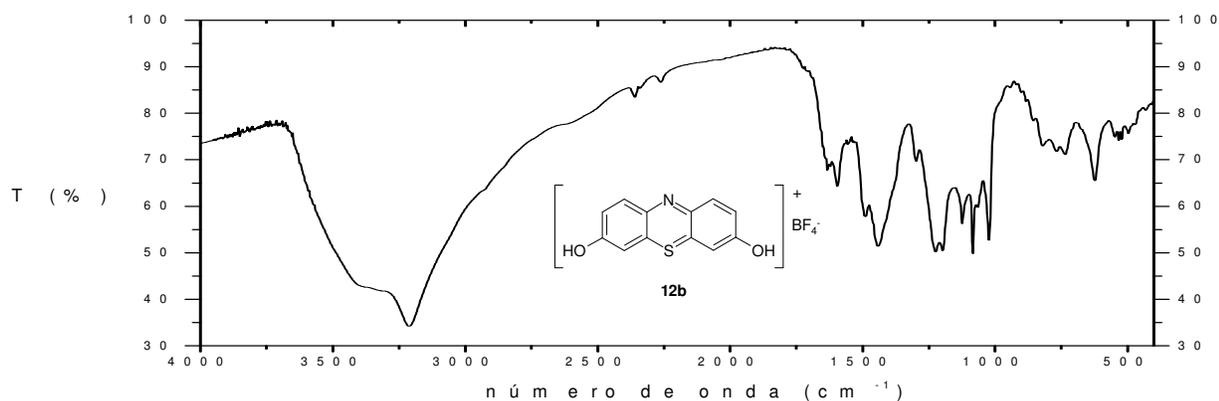


Figura 1.19. Espectro na região do IV (KBr) do tetrafluorborato de 3,7-bis(dihidroxi)fenotiazíneo, **12b**.

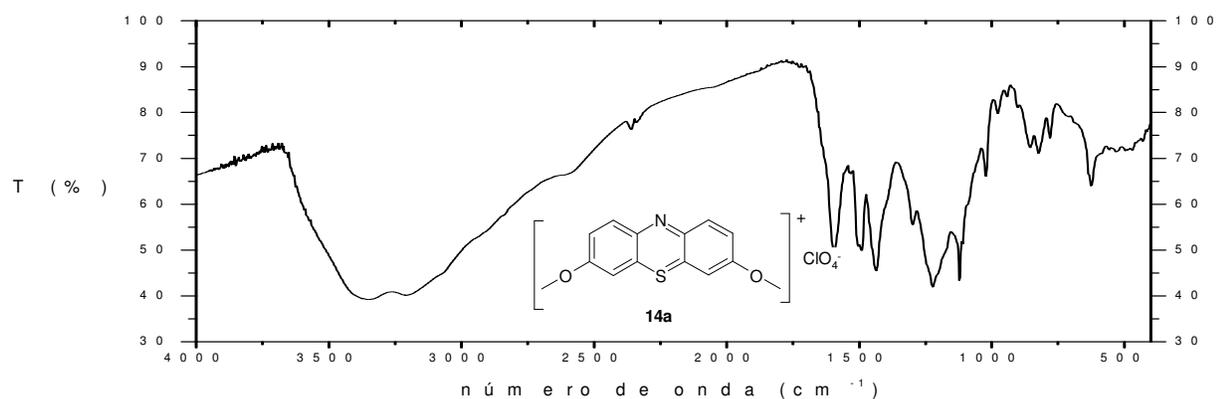


Figura 1.20. Espectro na região do IV (KBr) do perclorato de 3,7-bis(dimetoxi)fenotiazíneo, **14a**.

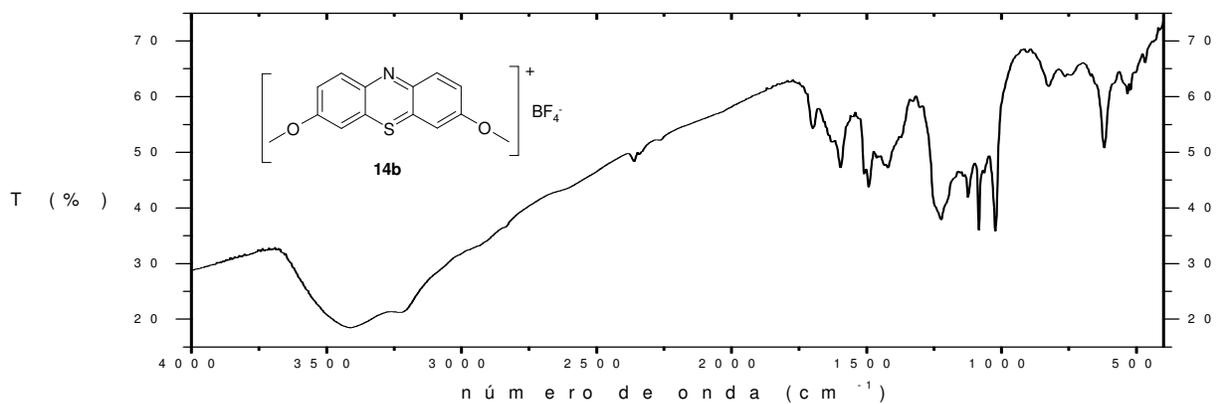


Figura 1.21. Espectro na região do IV (KBr) do tetrafluorborato de 3,7-bis(dimetoxi)fenotiazínio, **14b**.

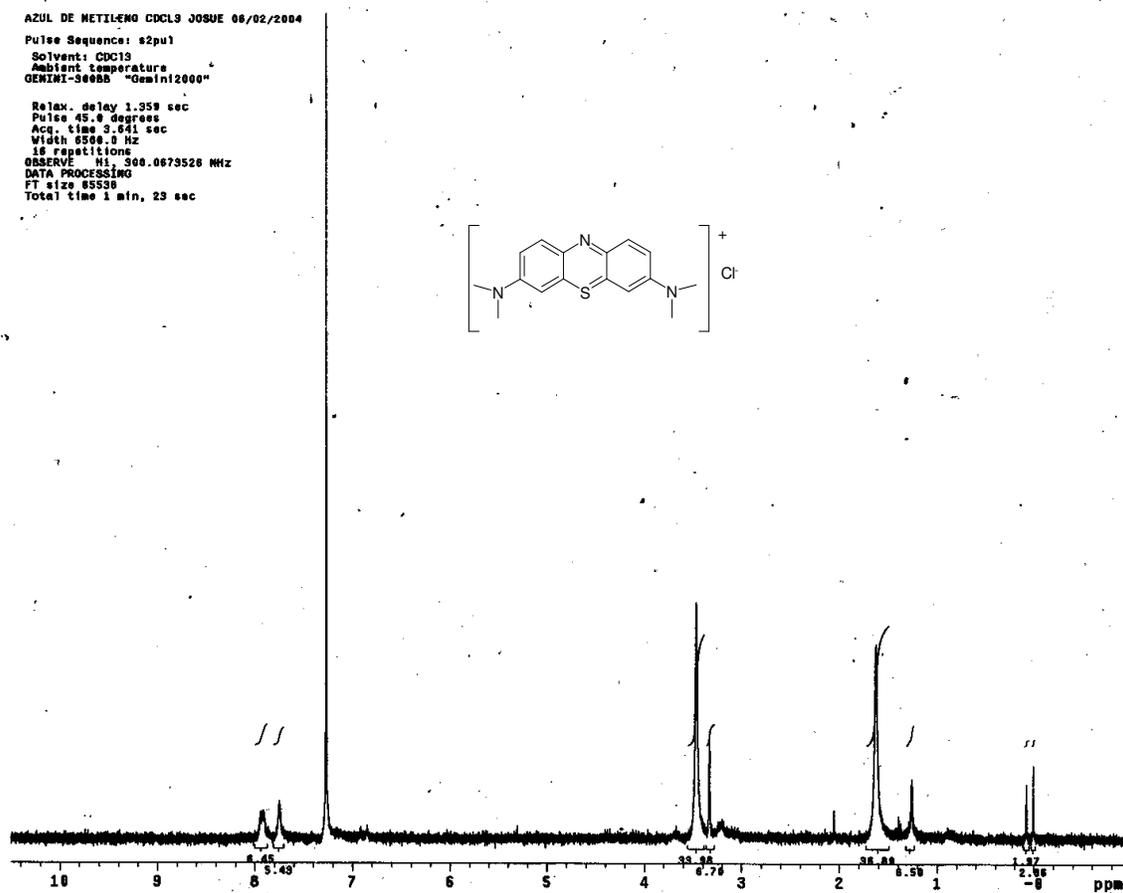


Figura 1.22. Espectro de RMN ^1H (DMSO- D_6) do cloreto de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio (Merck)

RJC-32 DMSO JOSUE 01/03/2004
 Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: DMSO
 Temp: 26.8 C / 299.1 K
 GEMINI-30000 "gemin12000"
 Relax. delay 1.359 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 3.643 sec
 Width 4500.5 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0607774 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 1 min, 22 sec

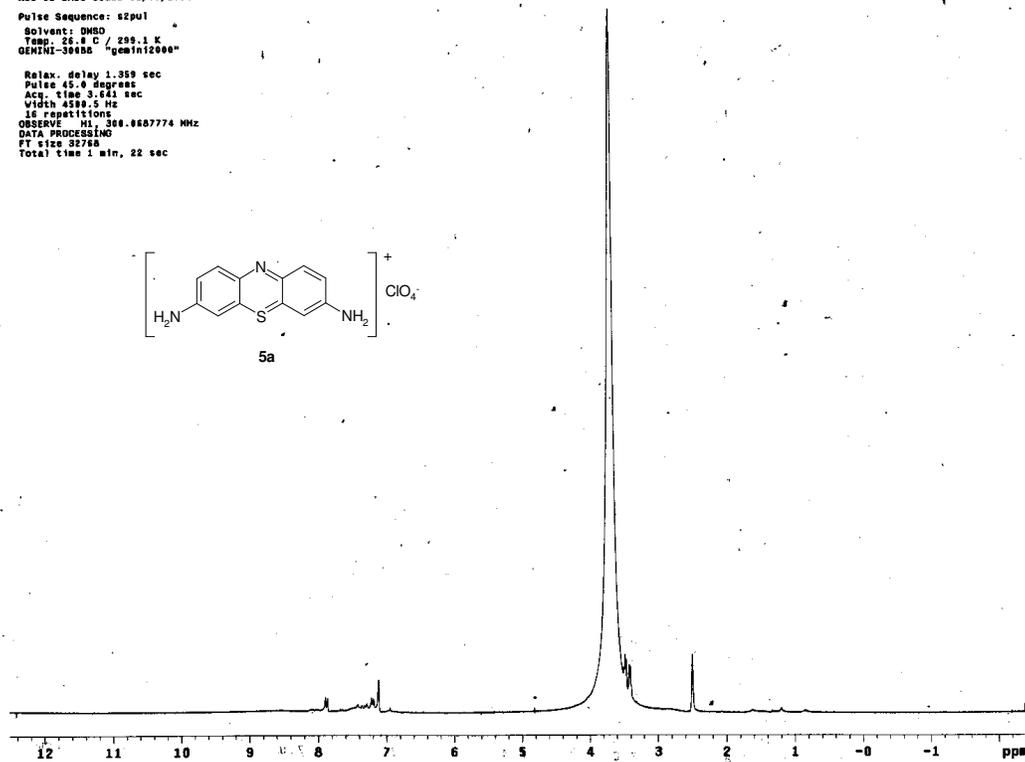
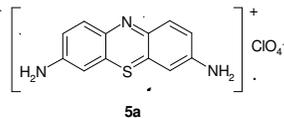


Figura 1.23. Espectro de RMN ^1H (DMSO- D_6) do perclorato de 3,7-bis(diamino)fenotiazíno, **5a**

RJC-32 DMSO JOSUE 01/03/2004
 Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: DMSO
 Temp: 26.8 C / 299.1 K
 GEMINI-30000 "gemin12000"
 Relax. delay 1.359 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 3.643 sec
 Width 4500.5 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0607774 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 1 min, 22 sec

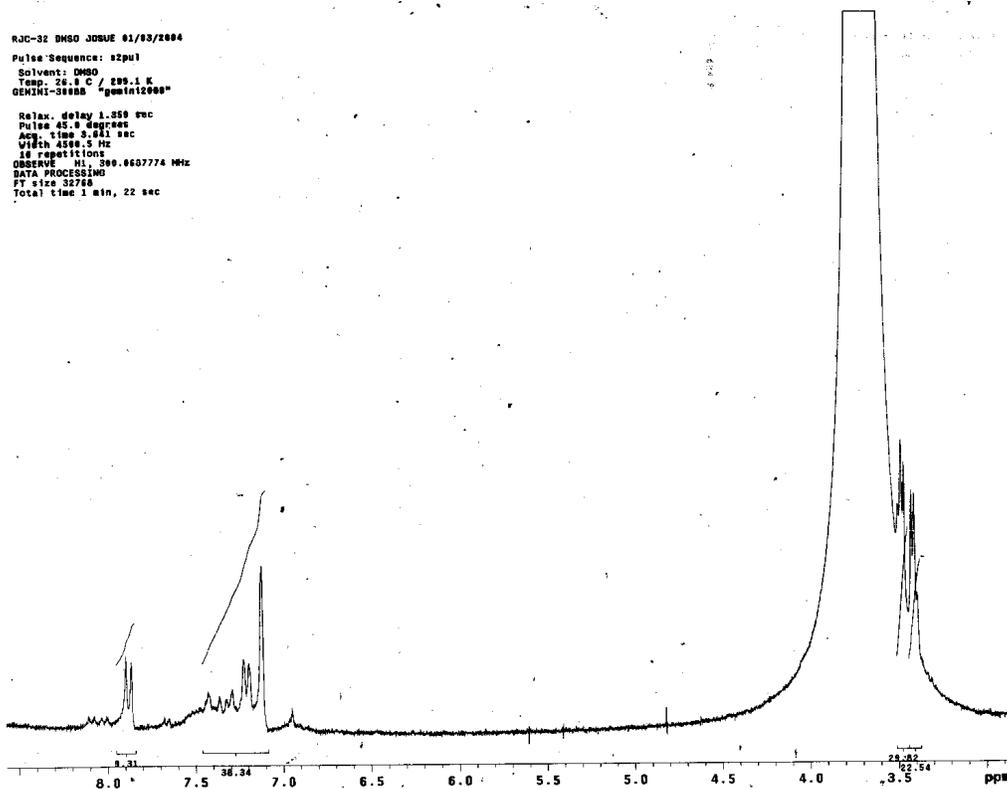


Figura 1.24. Espectro de RMN ^1H (DMSO- D_6) de **5a** :expansão

RJC-22 DMSO Josue 19/02/2004
 Pulse Sequence: e2pul
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 GEMINI-30000 "geminiz000"
 Relax. delay 1.350 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 3.410 sec
 Width 6550.0 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0007760 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 65536
 Total time 1 min, 23 sec

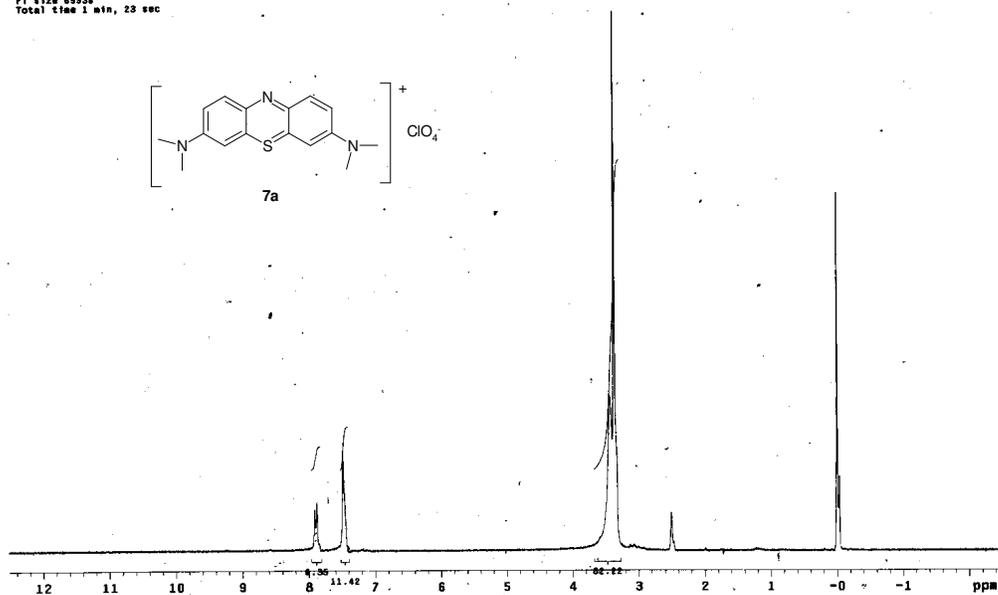
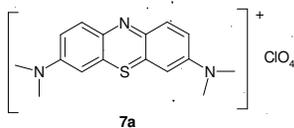


Figura 1.25. Espectro de RMN ¹H (DMSO-D₆) do perclorato de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio, **7a**

RJC-22 DMSO Josue 19/02/2004
 Pulse Sequence: e2pul
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 GEMINI-30000 "geminiz000"
 Relax. delay 1.350 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 3.340 sec
 Width 6550.0 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0007760 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 65536
 Total time 1 min, 23 sec

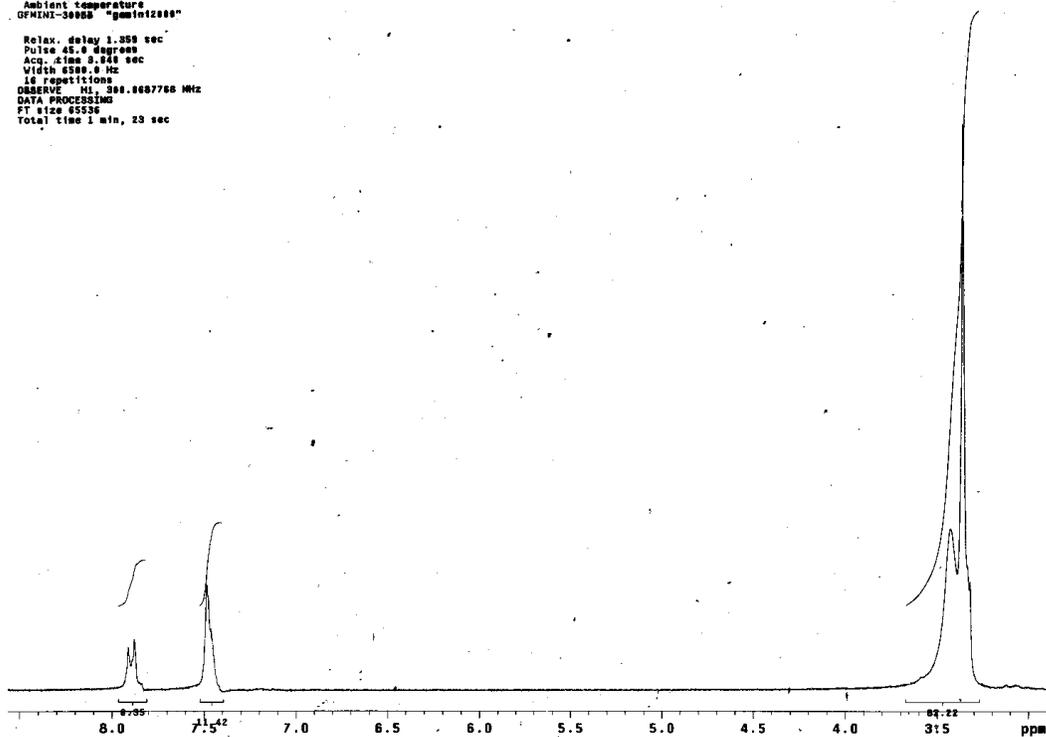


Figura 1.26. Espectro de RMN ¹H (DMSO-D₆) de **7a** :expansão

RJC-22 DMSO JOSUE 18/02/2004
 Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 GEMINI-30285 "gemin2000"
 Relax. delay 8.277 sec
 Pulse 45.3 degrees
 Acq. time 1.729 sec
 Width 12064.8 Hz
 3818 repetitions
 OBSERVE Ch: 75.4523886 MHz
 DECOUPLE H1: 301.6782831 MHz
 Power 37 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 65536
 Total time 4 hr, 59 min, 57 sec

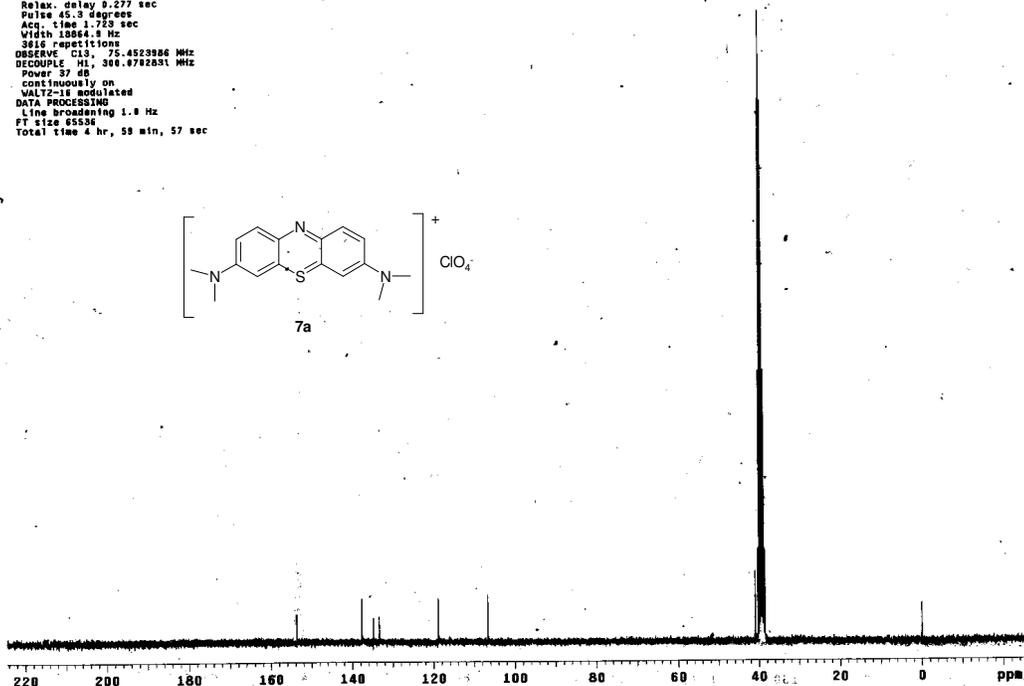
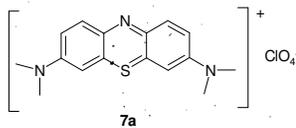


Figura 1.27. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- D_6) do perclorato de 3,7-bis(dimetilamino)fenotiazínio, 7a

RJC-22 DMSO JOSUE 18/02/2004
 Pulse Sequence: s2pul

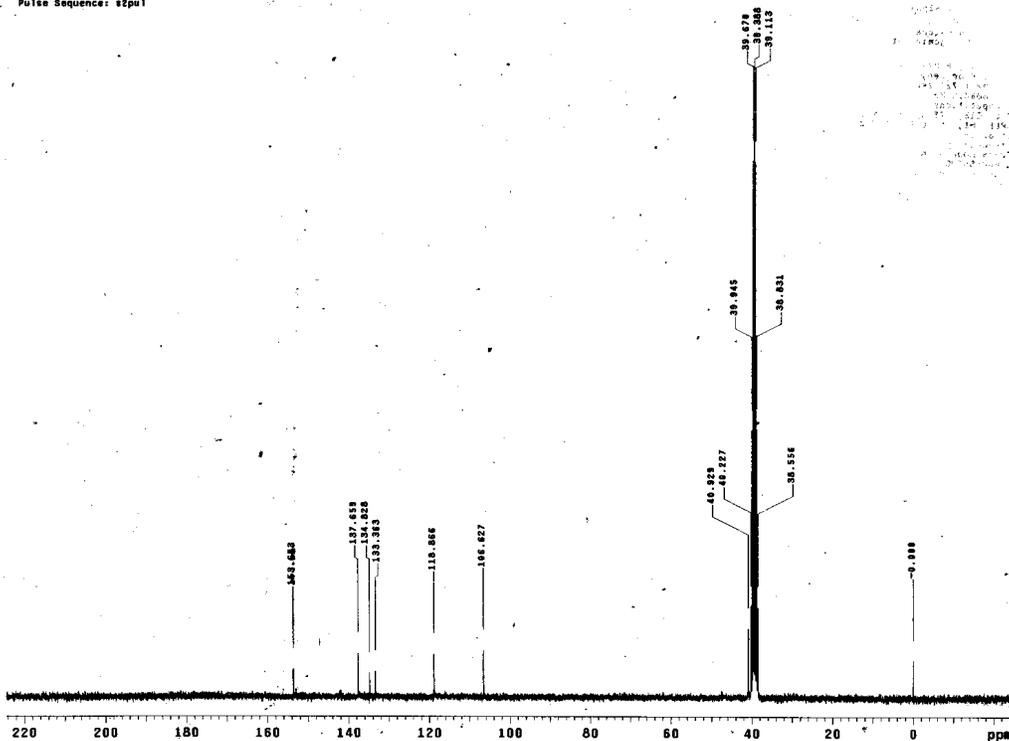


Figura 1.28. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- D_6) de 7a :expansão

RAC-27 DMSO JOBUE 19/02/2004
 Pulse Sequence: s2pu1
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 OBSVIX-30000 "gemin2000"
 Relax. delay 1.359 sec
 Pulse 45.8 degrees
 Acq. time 3.543 sec
 Width 6589.5 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0687782 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 32750
 Total time 1 min, 22 sec

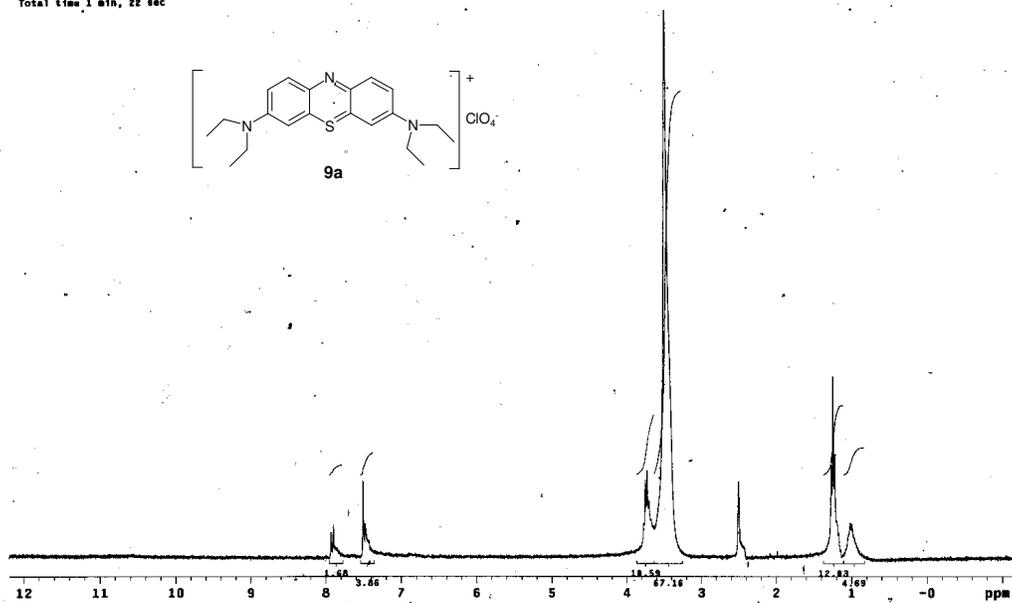
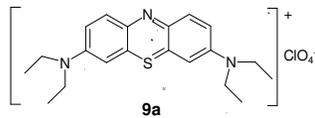


Figura 1.29. Espectro de RMN ¹H (DMSO-D₆) do perclorato de 3,7-bis(diethylamino)fenotiazínio, **9a**

RAC-27 DMSO JOSUE 27/02/2004
 Pulse Sequence: s2pu1
 Solvent: DMSO
 Temp. 26.0 C / 299.1 K
 OBSVIX-30000 "gemin2000"
 Relax. delay 1.359 sec
 Pulse 45.8 degrees
 Acq. time 3.648 sec
 Width 6589.0 Hz
 16 repetitions
 OBSERVE H1, 300.0687782 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 65536
 Total time 1 min, 23 sec

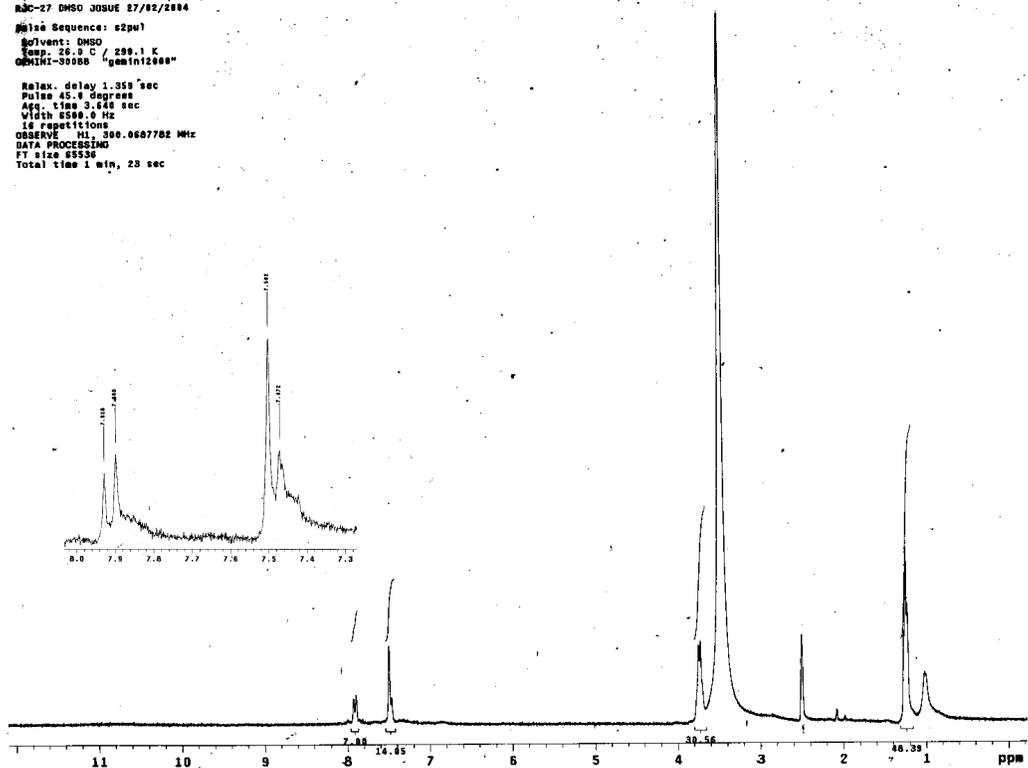


Figura 1.30. Espectro de RMN ¹H (DMSO -D₆) de **9a** :expansão

RJC-27 DMSO JOSUE 27/02/2004
 Pulse Sequence: e2pul
 Solvent: DMSO
 Temp: 26.0 C / 299.1 K
 GEMINI-30086 "geminiz888"
 Relax. delay 0.277 sec
 Pulse 45.3 degrees
 Acq. time 1.728 sec
 Width 18864.0 Hz
 3920 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4523559 MHz
 DECOUPLE H1, 300.8702831 MHz
 Power 37 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 85536
 Total Time 4 hr, 59 min, 57 sec

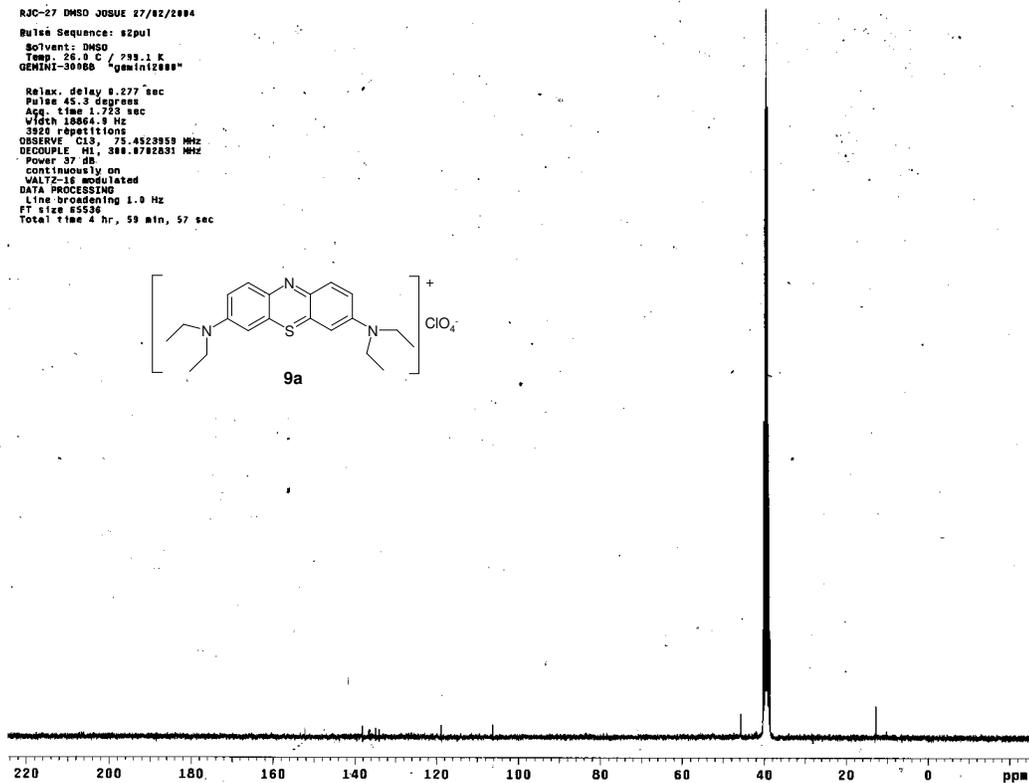
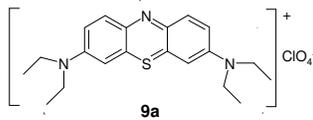


Figura 1.31. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- D_6) do perclorato de 3,7-bis(diethylamino)fenotiazíno, **9a**

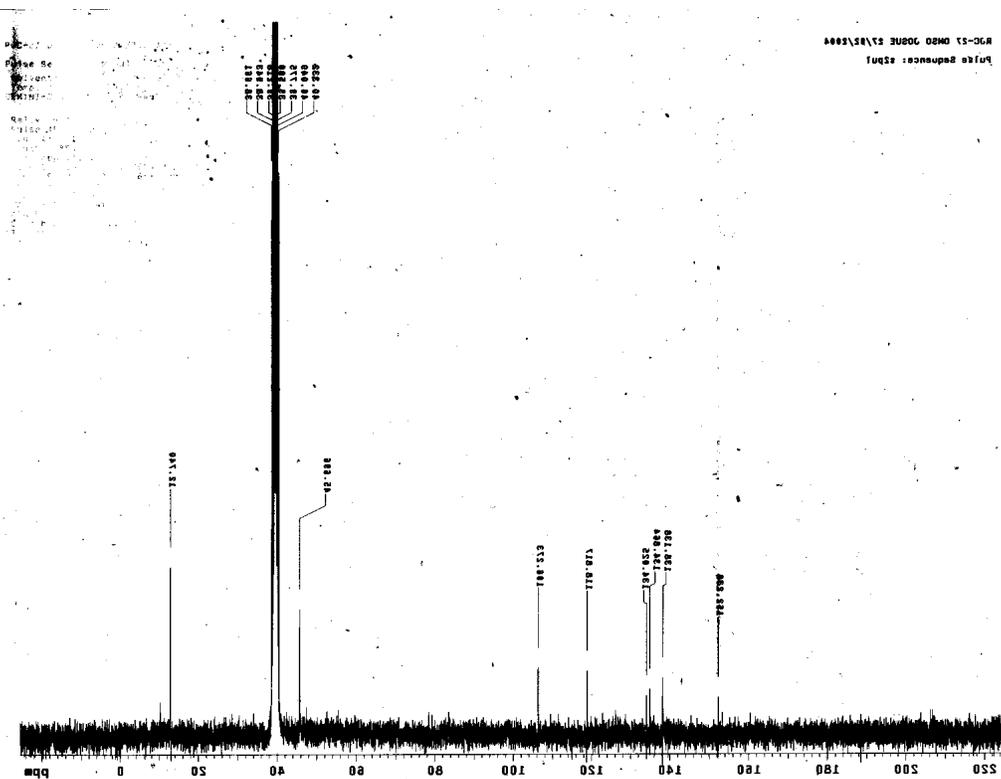


Figura 1.32. Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- D_6) de **9a** :expansão

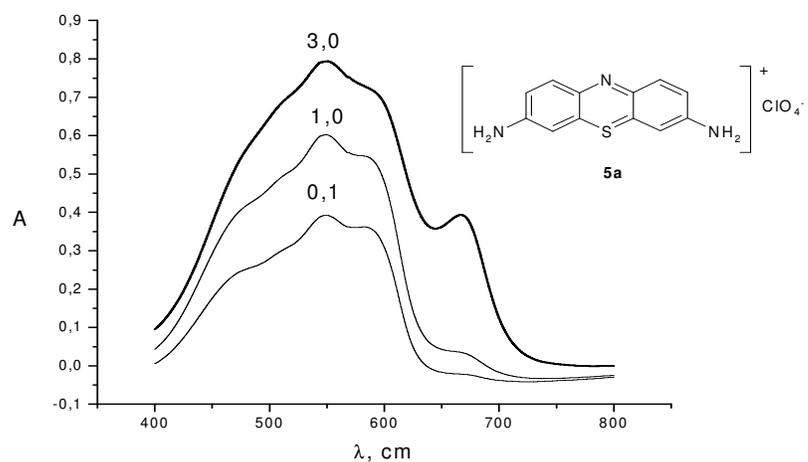


Figura 1.33. Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(diamino)fenotiazínio (**5a**) em solução de H₂SO₄.

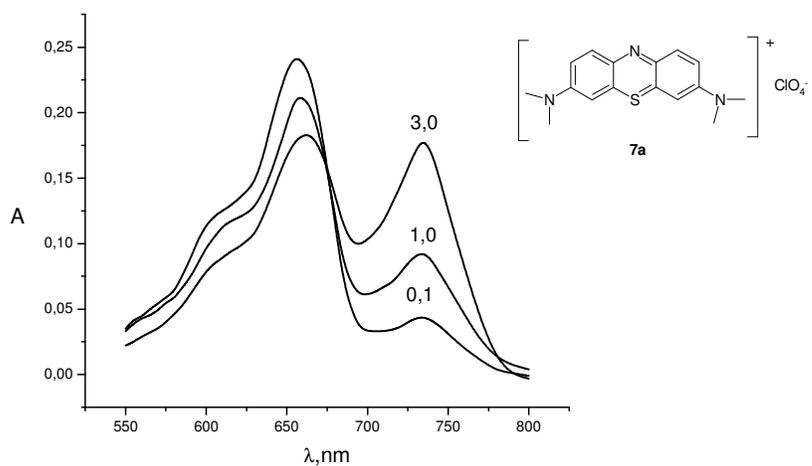


Figura 1.34. Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(dimelamina)fenotiazínio (**7a**) em soluções de H₂SO₄.

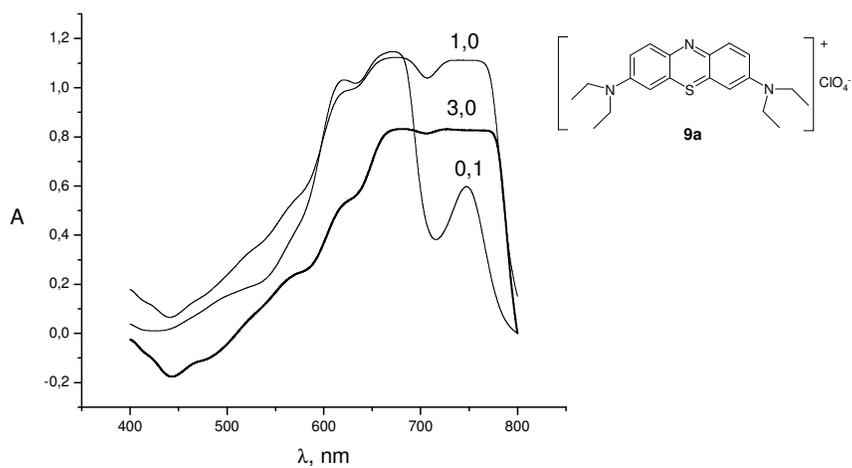


Figura 1.35. Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(dietilamino)fenotiazínio (**9a**) em soluções de H₂SO₄.

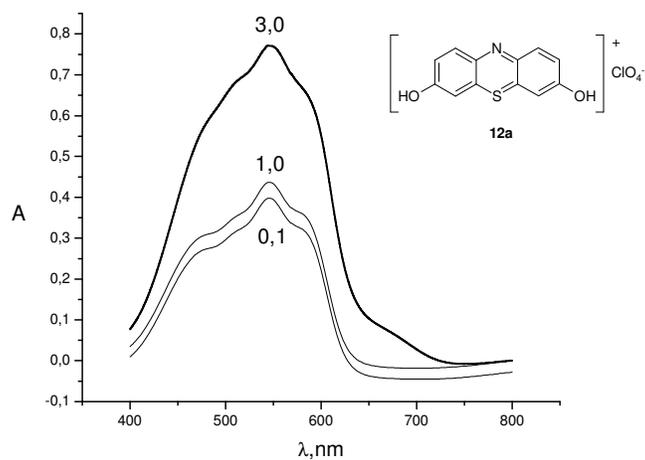


Figura 1.36. Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(dihidroxi)fenotiazínio (**12a**) em soluções de H₂SO₄.

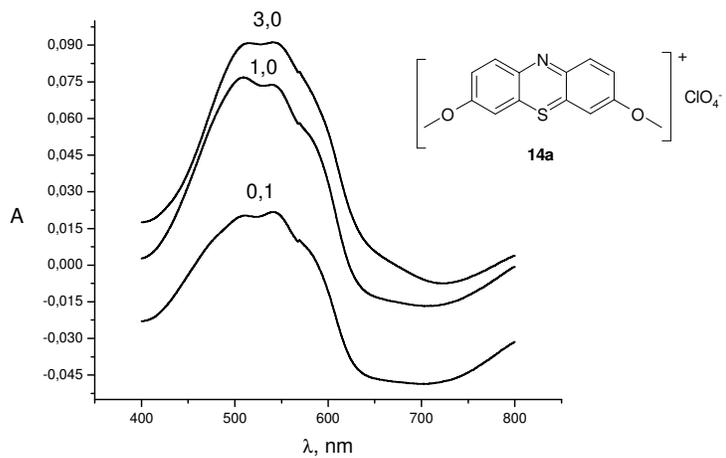


Figura 1.37. Espectro de absorção do perclorato de 3,7-bis(dimetoxi)fenotiazínio (**14a**) em soluções de H₂SO₄.

1.5 Conclusões

A partir dos testes realizados e resultados obtidos, pôde-se concluir:

- (i) dentre as sete aminas selecionadas apenas cinco possibilitaram a síntese dos respectivos CFs nas condições reacionais utilizadas;
- (ii) a utilização de Fe^{3+} como oxidante e ClO_4^- como contra-íon levaram aos melhores rendimentos dentre as aminas investigadas;
- (iii) o hipoclorito apresentou restrições quanto ao uso em concentrações superiores a 1% (v/v) para todas as aminas avaliadas;
- (iv) as aminas N-substituídas apresentaram os melhores rendimentos em comparação as O-substituídas;
- (v) o DMPD apresentou os rendimentos mais uniformes para as diferentes condições avaliadas;
- (vi) a nova rota de síntese proposta mostrou-se eficiente na obtenção de derivados de CFs simétricos sem a utilização de processos de purificação.

1.6 Referências

- ALMY, L.H., A method for the estimation of hydrogen sulfide in proteinaceous food products, *Journal of the American Chemical Society*, 47, 1381, 1925.
- ANDREANI, F. BOZZARRI, P.C., CASA, C.D., FIORINI, M. e SALATELLI, Ladder oligophenothiazines by direct thionation of N-arylanilino derivatives, *Journal Heterocyclic Chemistry*, 28, 295, 1991.
- BAPTISTELLA, L.H.B., GIACOMINI e IMAMURA, P.M., Síntese dos analgésicos paracetamol e fenacetina e do adoçante dulcina: um projeto para química orgânica experimental, *Química Nova*, 26(2), 284, 2003.
- BOGERT, M.T. e UPDIKE, I.A., Researches on thiazoles. XIII. The synthesis of 2-aryl 6-dimethylamino-benzothiazoles from 2-amino-5-dimetiyanilina thiosulfuric acid and aromatic aldehydes, *Journal of the American Chemical Society* 49, 1373, 1927.
- BOLTZ, D.F. e HOWELL, J.A., *Colorimetric determination of nonmetals*, 2ª edition, John Wiley & Sons, NY, 1978.
- BORGES, S.S. e KORN, M., Geração sonoquímica de oxidantes em solução aquosa saturada de tetracloreto de carbono. *Química Nova*, 25, 558, 2002.
- CHIBA, K., YAMAGUCHI, Y. e TADA, M., Synthesis of Chromans by photosensitized electrochemical oxidation of sulfides mediated by methylene blue, *Tetrahedron Letters*, 39, 9035, 1998.
- CREWS, P. RODRIGUEZ, J. e JASPARES, M., *Organic Structure Analysis*, Oxford University Press, NY, 1998.
- GOWDA, A.T. e GOWDA, N.M.M., Application of Azure A in the Spectrophotometric Determination of Penicillin Drugs, *Transactions of the Illinois State Academy of Science*, 93, 39, 2000.
- GUSTAFSSON, L., Determination of ultramicro amounts of sulphate as methylene blue – I, The colour reaction, *Talanta*, 4, 227, 1960.
- HOWARD, H.T. e RAMAGE, G.R., *Chemistry of Carbon Compounds – A modern comprehensive treatise*, Vol. VI part C. Heterocyclic Compounds, Elsevier Publishing Company, 1960.
- KALKANIDIS, M., KLONIS, N., TILLEY e DEADY, L.W., Novel phenothiazine antimalarials: synthesis, antimalarial activity, and inhibition of formation of β -haematin, *Biochemical Pharmacology*, 63, 833, 2002.
- KRAMER, C. ZEITLER, S., K. e MULLER, T.J.J., First synthesis and electronic properties of (hetero)aryl bridged and directly linked redox active phenothiazinyl dyads and triads, *Tetrahedron Letters*, 42, 8619, 2001.
- KUBAN, V., DASGUPTA, P.K. e MARX, J.N., Nitroprusside and methylene blue methods for silicone membrane differentiated flow injection determination of sulfide in water and wastewater, *Analytical Chemistry*, 64, 36, 1992.
- LAMBERT, J.B., SHURVELL, H. F., LIGHTNER, O. e COOKS, R.G., *Introduction to Organic Spectroscopy*, MacMillan, NY, 1989.
- LEVENTIS, N., CHEN, M. e LEVENTIS, C.S., Synthesis of substituted phenothiazine analogous to methylene blue by eletrophilic and nucleophilic aromatic substitutions in tandem. A Mechanistic perspective, *Tetrahedron*, 53 (29), 10083, 1997.

-
- MARCZENKO, Z., Spectrophotometric determination of elements, Ellis Horwood Limited, NY, 1976.
- MASSIE S.P., The chemistry of phenothiazine, *Chemical Reviews*, 54, 79, 1954.
- MILLER, R.B. e FARMER S.C., Modified Methods for the synthesis of Carbazole from Phenothiazine, *Molecules*, 6, 668, 2001.
- MOHAMED, F.A. ABDALLAH, M.A. e SHAMMAT, S.M., Selective spectrophotometric determination of p-aminophenol and acetaminophen, *Talanta*, 44, 61, 1997.
- MULLER, T.J.J., First synthesis and electronic properties of ring-alkynylated phenothiazines, *Tetrahedron Letters*, 40, 6563, 1999.
- NAKAMOTO, K., *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds*, 3^a edition, John Wiley & Sons, NY, 1979.
- OKAFOR, C.O., New Phenothiazine Dyes and Pigments, *Dyes and Pigments*, 6, 405, 1985.
- OKAFOR, C.O., The first branched benzoxazinophenothiazine ring system and its aza-analogues, *Tetrahedron*, 44(4), 1187, 1988.
- PHOENIX, D.A. e F. HARRIS, Phenothiazinium-based photosensitizers: antibacterials of the future?, *TRENDS in Molecular Medicine*, 9(7), 283, 2003.
- REES, T.D., GYLLENSPETZ, A.B. e A.C. DOCHERTY, The determination of traces amounts of sulphide in condensed steam with N,N-diethyl-p-phenylenediamine, *Analyst*, 96, 201, 1971.
- SASMAZ, S., AGAR, E. e AGAR, A., Synthesis and characterization of phthalocyanines containing phenothiazine moieties, *Dyes and Pigments*, 42, 137, 1999.
- SHARMA, N., GUPTA, R., KUMAR, M. e GUPTA, R.R., Synthesis of fluorophenothiazines via Smiles rearrangement and their conversion into sulfones, *Journal of Fluorine Chemistry*, 98, 153, 1998.
- SIDGWICK, N.V., *Organic Chemistry of Nitrogen*, Clarendon Press, Oxford, 1945.
- SIENKO, M.J. e PLANE, R.A., *Química*, 4^a edição, Companhia Editora Nacional, São Paulo, 1974.
- SINGH, V., GOSAIN, S., MISHRA, S., JAIN, A. e VERMA, K.K., Solid-phase extraction and spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in air and water utilizing ethylene blue formation, *Analyst*, 125, 1185, 2000.
- TOEI, K. e FUJII, H., Spectrophotometric determination of traces of anionic surfactants with methylene blue derivatives, *Analytica Chimica Acta*, 90, 319, 1977.
- TUITE, E.M. e KELLY, J.M., Photochemical interactions of methylene blue and analogues with DNA and other biological substrates, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 21, 103, 1993.
- WAINWRIGHT, M. e GIDDENS, R.M., Phenothiazinium photosensitisers: choices in synthesis and application, *Dyes and Pigments*, 57, 245, 2003.
- WAINWRIGHT, M., GRICE, N.J. e PYE, L.E.C., Phenothiazine photosensitizers: part 2. 3,7-bis(arylamino)phenothiazine, *Dyes and Pigments*, 42, 45, 1999.
- WAINWRIGHT, M., Methylene blue derivatives - suitable photoantimicrobials for blood product disinfection?, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16, 381, 2000.

-
- WAINWRIGHT, M., PHOENIX, D.A., LAYCOCK, S.L., WAREING, D.R.A. e WRIGHT, P.A., Photobactericidal activity of phenothiazinium dyes against methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*, *FEMS Microbiology Letters*, 160, 177, 1998.
- WAINWRIGHT, M., PHOENIX, D.A., MARLAND, J., WAREING, D.R.A. e BOLTON, F.J., A study of photobactericidal activity in the phenothiazinium series, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 19, 75, 1997.
- WIELAND, E. e GATTERMANN, G., *Die Praxis des organischen Chemikers*, Walter de Gruyter, Berlin, 1961.
- WILLIAMSON, K.L., *Macroscale and microscale – Organic Experiments*. 3^a edition, Houghton Mifflin, Boston, 1999.

CAPÍTULO II

Avaliação em sistema de análise em fluxo de aminas aromáticas p-substituídas para determinação espectrofotométrica de sulfeto

Neste capítulo é apresentado um breve histórico sobre a importância dos reagentes orgânicos em análises químicas. Para a determinação de sulfeto, são apresentados alguns métodos reportados na literatura com maior ênfase para os métodos e reagentes espectrofotométricos. Em função dos resultados obtidos na síntese dos corantes fenotiazínicos discutidos no Capítulo I, foram selecionadas as cinco aminas aromáticas p-substituídas que apresentaram melhores resultados na síntese de CFs (DMPD, DEPD, PPD, PAP e p-aminoanisol, PAA), para avaliação de suas potencialidades para a determinação espectrofotométrica de sulfeto em sistema de análise em fluxo. As condições de determinação de sulfeto para três destas aminas (DMPD, DEPD e PPD), as quais apresentaram velocidades de reação adequadas, foram otimizadas para emprego em sistema de análise em fluxo. Para comparação em condições de igualdade, recorreu-se à otimização da concentração da amina, do oxidante (Fe^{3+}) e de H_2SO_4 nas soluções das aminas, utilizando-se planejamento fatorial composto central. Em função das informações obtidas, foram avaliadas as figuras de mérito para as três aminas, visando à determinação espectrofotométrica de sulfeto.

2.1 Introdução

2.1.1 Reagentes Orgânicos em Análise Química

Desde dos primórdios da Química Analítica, reagentes orgânicos têm sido utilizados para viabilizar a detecção e determinação de espécies químicas. Estes reagentes rapidamente ganharam popularidade e extensivo uso em procedimentos, devido a sua alta sensibilidade e especificidade, quando comparados a reagentes de natureza inorgânica e, também, devido a maior versatilidade de uso em procedimentos analíticos (Welcher, 1947). Apesar do inadequado uso do termo especificidade, quando o mais sensato seria seletividade, no primeiro parágrafo do prefácio da obra de Frank J. Welcher sobre Organic Analytical Reagents, nota-se que houve uma estreita dependência do desenvolvimento de métodos analíticos e a evolução da Química Orgânica Sintética. Novos métodos e estratégias empregados na Química Orgânica foram estendidos e corroboraram na produção, estudo e entendimento de reagentes orgânicos aplicados a análise química.

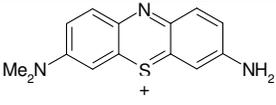
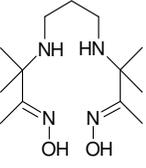
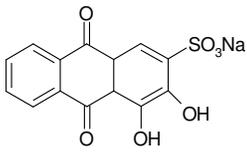
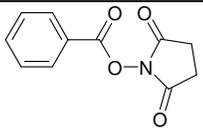
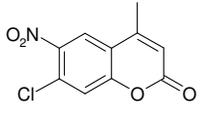
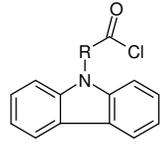
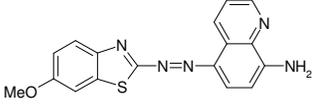
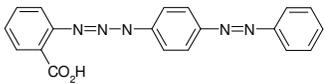
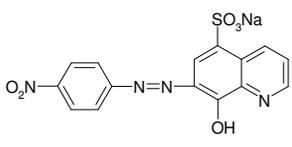
A aplicação de reagentes orgânicos em análises químicas está diretamente relacionada com o desenvolvimento instrumental. Nas primeiras décadas, o principal emprego era restrito a análises gravimétricas e volumétricas, onde os reagentes orgânicos eram usados como agentes precipitantes ou como indicadores do ponto final de titulações. Por volta de 1870, Boyle fez uso de extratos vegetais para a indicação do ponto final. Porém, o avanço da síntese orgânica proporcionou as primeiras aplicações de indicadores sintéticos (Szabadvary, 1966). A partir de 1950, já no período da Química Analítica Moderna (Valcárcel *et al.*, 2000), a utilização destes reagentes sintéticos pôde ser principalmente vinculada aos métodos fotométricos de análise, pela potencialidade destes métodos poderem ser empregados para determinações em níveis de concentração mais baixos que os métodos clássicos (da ordem de $\mu\text{g mL}^{-1}$). Neste sentido, a pesquisa no campo de reagentes orgânicos ganhou destaque, incrementando a busca por reagentes que garantissem alta sensibilidade e seletividade aos procedimentos analíticos. Os estudos que visavam relacionar a afinidade de analitos (principalmente metais) com grupos funcionais; cinética; além da síntese de reagentes para extração e pré-concentração, técnicas de especiação, fluorescência e quimioluminescência, foram essenciais para estimular o desenvolvimento da pesquisa na linha de reagentes orgânicos (Ueno *et al.*, 1992).

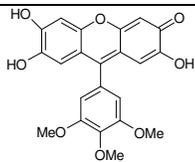
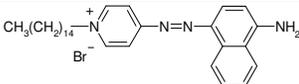
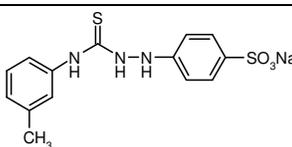
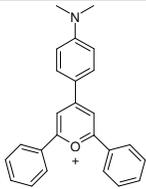
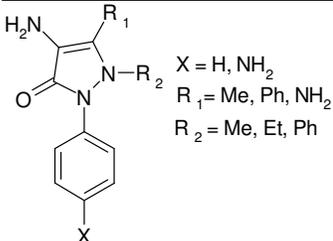
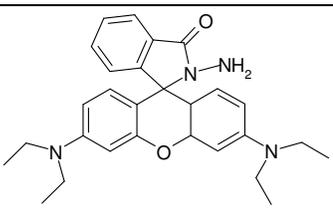
O desenvolvimento de reagentes para novas reações, visando a melhoria da seletividade requer muita intuição e profundo conhecimento da estrutura dos reagentes e de seus grupamentos funcionais para se obter a ativação de ligações locais. Neste contexto, serve de inspiração e motivação o brilhante trabalho do Prof. Feigl no desenvolvimento de "spot tests", além de conceitos pioneiros em química, como o de mascaramento e desmascaramento, e a diferenciação entre seletividade e especificidade, suportados em suas pesquisas com reagentes orgânicos (Espinola, 2004).

O processo de desenvolvimento de reagentes orgânicos em análise química está relacionado a três aspectos. O primeiro faz uso do conhecimento sobre a natureza eletrônica, reacional e cinética do analito, a fim de projetar/ sintetizar compostos orgânicos estruturalmente e funcionalmente seletivos e sensíveis a(s) espécie(s) químicas de interesse. O segundo aspecto é fundado em processos de semi-síntese, geralmente associados a mudanças e variações no padrão de funcionalização de reagentes já conhecidos, visando à ativação/desativação de propriedades inerentes à forma original da molécula. Finalmente, o terceiro aspecto usa compostos já sintetizados, tentando concernir a este uma nova aplicação analítica, alterando o analito e os procedimentos. Na Tabela 2.1 são apresentados alguns reagentes orgânicos selecionados na literatura nos últimos cinco anos, os quais têm em comum a designação de “**novo reagente**” para o(s) respectivo(s) analito(s).

Nota-se pela Tabela 2.1 e em consulta extensiva à literatura, a evidente supremacia de reagentes orgânicos para a detecção e/ou determinação de metais e, conseqüentemente um restrito número de opções de reagentes para análises de ânions (Ueno *et al.*, 1992, Marczenko, 1976, Boltz e Howoll, 1978 e Welcher, 1947). O desenvolvimento no campo de reagentes orgânicos geralmente está restrito a um único analito (Lobinski e Marczenko, 1992). Desta forma, é interessante a procura de reagentes que possuam grupos funcionais versáteis, podendo ser empregados na determinação de uma série de analitos (respeitando critérios como seletividade e sensibilidade) e, se possível, que o produto da reação não seja considerado como resíduo, mas que possa ser (re)utilizado como reagente ou bloco de construção para moléculas com aplicações mais nobres.

Tabela 2.1. Alguns reagentes orgânicos empregados em novos procedimentos analíticos

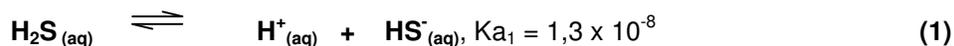
Reagente	Origem ^a	Analito	Técnica ^b	Referência
	CO	Penicilina G e V	EP	Gowda e Gowda, 2000
	SI	Cu (II)	EP	Karabocek <i>et al.</i> , 2000
	CO	Clotrinazol e Cetoconazol	EP	Farhadi e Maleki, 2002
	SI	Aminas alifáticas	CG - EM e FID	Zhao <i>et al.</i> , 2003
	SI	Aminas	FL	Noe <i>et al.</i> , 2003
 R = CH ₂ , CH ₂ CH ₂	SI	Aminoácidos	CL-F	Fan <i>et al.</i> , 1998
	SI	Co (II) e Ni (II)	EP	Zhao <i>et al.</i> , 1999
	SI	Hg (II)	EP	Charterjee <i>et al.</i> , 2002
	SI	Zn (II)	EP	Korn <i>et al.</i> , 1999

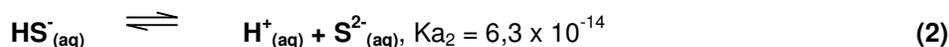
	SI	Ge (IV)	EP	Zaijun <i>et al.</i> , 2001
	SI	Sabões	EP	Shimaishi <i>et al.</i> , 2001
	SI	Pt (IV)	EP	Ma <i>et al.</i> , 2001
	SI	H ₂ S	EP	Jiménez <i>et al.</i> , 2003
	SI	Fenol	CL-EP	Fiamegos <i>et al.</i> , 2002
	SI	SO ₃ ⁼	FL	Yang <i>et al.</i> , 2002

a: CO (Comercial) e SI (Sintetizado). b: EP (Espectrofotometria UV/VIS), CG (Cromatografia Gasosa), FL (Fluorimetria), CL-F (Cromatografia líquida com detecção fluorimétrica) e CL-EP (Cromatografia líquida com detecção espectrofotométrica UV/VIS).

2.1.2 Compostos de Enxofre com Estado de Oxidação (-2)

O H₂S é um gás incolor, fétido e mesmo em pequenas concentrações pode paralisar os centros nervosos que controlam a respiração (Quagliano e Vallarino, 1973). O H₂S se dissolve em água sendo um ácido diprótico fraco e seus sais correspondentes são os hidrogeno sulfeto (HS⁻) e os sulfetos (S²⁻). Em solução aquosa o H₂S apresenta os seguintes equilíbrios (Skoog *et al.*, 1997):





Como qualquer ácido fraco, a distribuição das espécies derivadas do H_2S em meio aquoso varia com o pH do meio, como pode ser observado pelas curvas das frações (α) de cada espécie apresentada na Figura 2.1.

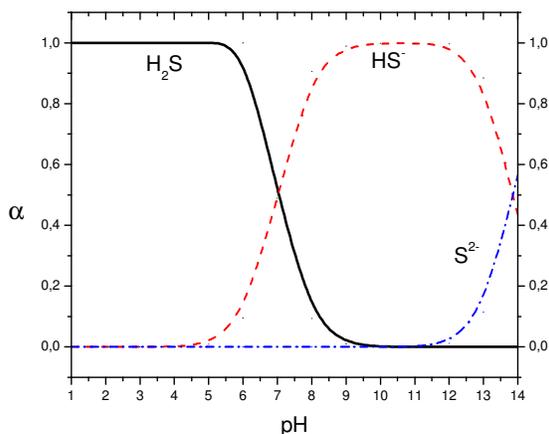


Figura 2.1. Distribuição das espécies de sulfeto em solução aquosa em função do pH.

2.1.3 Determinação de Sulfeto

O H_2S é um sub-produto de muitos processos industriais e forma-se durante a putrefação de substâncias contendo proteínas sulfuradas (Puacz e Szahun, 1995). Sua detecção está associada a sua toxicidade e os riscos causados quando da exposição humana ao H_2S (Lawrence *et al.*, 2000). A necessidade de quantificar o sulfeto em diferentes matrizes levou ao estudo e desenvolvimento de métodos visando sua determinação.

Na literatura são reportados vários procedimentos para determinação de sulfeto em diferentes matrizes e em várias faixas de concentração. Os métodos freqüentemente relatados são: volumétricos (APHA, 1995) espectrofotométricos (Boltz e Howoll, 1978), catalítico (Puacz e Szahun, 1995 e Mousavi e Shamsipur, 1992), cromatografia líquida (Hurse e Abeydeera, 2002), cromatografia iônica (Casela *et al.*, 2000) cromatografia gasosa (Mestres *et al.*, 2000), fluorescência (Eroglu *et al.*, 2000), quimioluminescência (Du *et al.*, 2001), potenciométrico (Vallejo *et al.*, 2001) e eletroquímico (Lawrence *et al.*, 2000).

Diferente dos cátions onde os métodos espectrofotométricos geralmente são baseados em reações de complexação com ligantes orgânicos e existe uma grande variedade de métodos, nota-se que para os ânions são reduzidas as opções de métodos espectrofotométricos. Isto está condicionado ao padrão de reação que acontece com os ânions e a distribuição das espécies em função da variação do pH (Ueno *et*

al., 1992). A Tabela 2.2 apresenta alguns métodos espectrofotométricos para determinação de sulfeto reportados na literatura.

Tabela 2.2. Alguns métodos espectrofotométricos para sulfeto reportados na literatura.

Método e/ou reagente empregado	Referência
Azul de metileno	Marczenko,1976 e Boltz e Howoll, 1978
Azul de etileno	Sing <i>et al.</i> , 2000
Nitroprussiato	Kuban <i>et al.</i> , 1992
Cloroanilato de mercúrio	Humphrey e Hinze, 1971
Verde brilhante	Ensafi,1992

Entre os métodos apresentados (Tabela 2.2), o método do azul de metileno é o mais comumente empregado para a determinação de sulfeto em diferentes matrizes. Preconizado por Emil Fischer, em 1886, (Lawrence *et al.*, 2000), o método do azul de metileno teve uma das primeiras aplicações analíticas em 1925, em trabalho executado por H. L. Almy, sobre o estado de putrefação de alimentos com alto teor de proteínas.

Pôde ser notado que apesar do método que utiliza o DMPD como amina de partida ser bastante empregado, não existe concordância no que se refere às concentrações dos reagentes e ao tipo e concentração dos ácidos empregados. A Tabela 2.3 apresenta alguns dados de concentração e forma de preparo dos reagentes nos respectivos ácidos, visando a determinação de sulfeto pelo método do azul de metileno.

Tabela 2.3. Concentrações dos reagentes no método do azul de metileno em alguns trabalhos reportados na literatura.

Matriz	[DMPD] (g L ⁻¹)	[Fe ³⁺] (mmol L ⁻¹)	[Ácido]	Método *	Referência
alimentos	0,4	20	HCl 6 M para DMPD e Fe ³⁺	B	Almy, 1925
ar	1,0	23	HCl 5,5 M DMPD e 1,2 M Fe ³⁺	B	Fogo e Popowsky, 1949
geral	1,0	250	HCl 6 M DMPD e 1 M Fe ³⁺	B	Marczenko,1976
geral	2,0	14	H ₂ SO ₄ 1,9 M para DMPD e 1 M para Fe ³⁺	FIA	Leggett <i>et al.</i> , 1981
água	2,0	16	H ₂ SO ₄ 9 M para DMPD e 0,1 M para Fe ³⁺	FIA	Kuban <i>et al.</i> , 1992
água	1,0	50	HCl 3 M DMPD e 0,2 M Fe ³⁺	B	APAH, 1995
água	1,0	20	H ₂ SO ₄ 2 M para DMPD e Fe ³⁺	FIA	Cassela <i>et al.</i> , 2000
água	0,5	19	HCl 1,1 M para DMPD e Fe ³⁺	SIA	Silva <i>et al.</i> , 2003

* B (batelada), FIA (análise por injeção em fluxo) e SIA (análise por injeção seqüencial)

Alternativamente, o DEPD tem sido empregado em substituição ao DMPD como reagente espectrofotométrico para determinação de sulfeto. Este forma um análogo di-etil do azul de metileno denominado de azul de etileno (Rees *et al.*, 1971 e Sing *et al.*, 2000). Um trabalho isolado de 1954 faz menção ao uso do PPD (Boltz e Howoll, 1978) para determinação de sulfeto, além da determinação de PAP utilizando o mesmo padrão de reação (Mohamed *et al.*, 1997). Desta forma, foi percebido que não existe um

estudo comparativo entre estas aminas visando a determinação espectrofotométrica de sulfeto, o que possibilita ao método original um número maior de opções de reagentes.

Desde o trabalho pioneiro de Ruzicka em 1975 que os sistemas de análise em fluxo têm sido empregados de formas distintas. Estes são versáteis, econômicos e possibilitam uma resposta integrada em relação ao tempo quando comparados com sistemas similares em batelada (Ruzicka e Hansen, 1988). Desta forma, proceder uma comparação das aminas que apresentaram resultados para síntese dos corantes fenotiazínicos em sistema de análise em fluxo é de grande interesse visando a determinação espectrofotométrica de sulfeto.

2.2 Metas

De acordo com os objetivos desta dissertação, as principais metas nesta etapa foram:

- Avaliação comparativa das cinco aminas aromáticas (DEPD, DMPD, PPD, PAP e PAA) para determinação espectrofotométrica de sulfeto em sistema de análise em fluxo;
- Definição das condições ótimas para reação de cada uma das três aminas que apresentaram melhores características para a determinação de sulfeto em sistema de análise em fluxo (DEPD, DMPD e PPD) em função de suas concentrações, da concentração do oxidante e da concentração de H_2SO_4 na solução das aminas;
- Avaliação das figuras de mérito após a definição das melhores condições reacionais para as aminas aromáticas selecionadas.

2.3. Experimental

2.3.1. Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados apresentaram grau analítico de pureza e suas soluções foram preparadas com água (condutividade $< 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$) obtidas a partir de purificador EasyPure RF D7031.

Soluções de $0,5$ a $1,5 \text{ g L}^{-1}$ de DMPD (Merck), DEPD (Fluka), PPD (Merck), PAA (Aldrich) foram preparadas a partir da dissolução de uma massa adequada do reagente em 100 mL de soluções de $0,2$ a 1 mol L^{-1} em H_2SO_4 (Merck). As soluções de $0,5$ a $1,5 \text{ g L}^{-1}$ de PAP foram preparadas a partir da hidrólise de massa apropriada de paracetamol (comercial) em 20 mL de H_2SO_4 20% (v/v), aquecendo-se a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 min e diluindo, com água, até atingir as concentrações desejadas. Soluções de 20 a 140 mmol L^{-1} em Fe^{3+} foram preparadas dissolvendo uma massa adequada de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Vetec) em 100 mL de solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções da amina e de Fe^{3+} eram inseridas isoladamente no sistema de fluxo para a produção do respectivo corante fenotiazínico.

Em todas as situações, água foi sempre usada como carregador no sistema de análise em fluxo.

A solução estoque de sulfeto era diariamente preparada, dissolvendo 0,07 g de $\text{Na}_2\text{S}\cdot\text{nH}_2\text{O}$, 35% em Na_2S (Merck) em 1 L de solução de NaOH $0,025 \text{ mol L}^{-1}$, como proposto por Cassela *et al.*, 2000. As soluções de referência de sulfeto foram preparadas, diluindo apropriadamente a solução estoque pouco antes de serem utilizadas nos experimentos, visando evitar a oxidação do sulfeto.

2.3.2 Equipamentos

Para medida dos espectros de absorção foi empregado espectrofotômetro Femto 700 Plus, equipado com cubeta de borossilicato com 10-mm de caminho óptico.

Em geral, para a avaliação das aminas em sistema de análise em fluxo foi feito uso do espectrofotômetro Femto 700 Plus, equipado com cubeta de fluxo de $200 \mu\text{l}$ e caminho óptico de 10 mm; computador equipado com interface PCL 711S (Advantech) para aquisição de dados a uma frequência de 20 Hz; de bomba peristáltica MiniPuls 3, Gilson, de quatro vias, para a propulsão dos líquidos; válvula rotária Rheodyne 5020 de 6 portas, para a amostragem e injeção de amostra no percurso analítico; linhas de transmissão em polietileno (diâmetro interno de 0,8 mm); e, tubos peristálticos de Tygon®. O diagrama do sistema de análise em fluxo empregado é apresentado na Figura 2.2.

2.3.3 Procedimentos

Para avaliação das aminas aromáticas foi utilizado o sistema de análise em fluxo, cujo diagrama é apresentado na Figura 2.2. Para todos os experimentos realizados foram injetados $200 \mu\text{L}$ das soluções de referência de sulfeto no percurso analítico. O sistema apresentou uma frequência de 50 injeções h^{-1} . A configuração do sistema de análise em fluxo foi a mesma para todos os experimentos realizados.

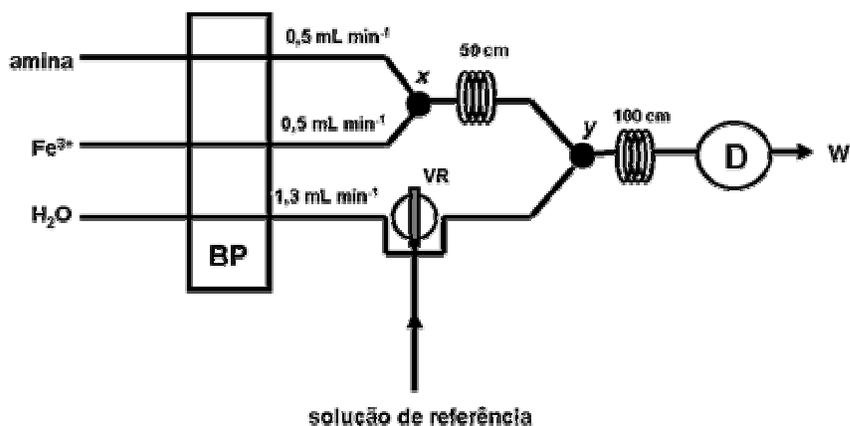


Figura 2.2. Diagrama do sistema de análise em fluxo empregado para avaliação das aminas aromáticas. VR, válvula rotária. x e y confluências de três vias. BP, bomba peristáltica. D, detector. W, descarte.

Para realização da avaliação comparativa entre as cinco aminas foram utilizadas as mesmas condições. Estabeleceu-se como condição de referência: Fe^{3+} como oxidante a 20 mmol L^{-1} e soluções 1 g L^{-1} de cada amina aromática em H_2SO_4 1 mol L^{-1} . Para formação do respectivo corante fenotiazínico utilizou-se solução de HS^- $1,0 \text{ mg L}^{-1}$.

Os dados gerados em função do planejamento fatorial foram tratados no programa Statistica 6.0 (StatSoft), gerando superfícies de respostas correspondentes à interação da variável dependente (absorbância) e duas variáveis independentes.

Os limites de detecção (3σ) foram calculados em função dos desvios obtidos para dez injeções consecutivas da solução do branco. Os limites de quantificação (10σ) foram também calculados considerando os mesmos desvios (Segundo e Rangel, 2001).

2.4 Resultados e Discussão

2.4.1 Comparação entre os Reagentes Orgânicos para Determinação Espectrofotométrica de Sulfeto

Em função do perfil de reação observado para a síntese dos corantes fenotiazínicos pela rota proposta neste trabalho, foram eleitas cinco aminas aromáticas p-substituídas, para avaliação comparativa de seus desempenhos na determinação espectrofotométrica de sulfeto em sistema de análise em fluxo.

O primeiro critério de avaliação foi o sinal produzido para um mesmo tempo de reação. Para tanto, era necessário avaliar se o comprimento de onda do máximo de absorção (λ_{max}) sofreu variação para o corante sintetizado e aquele produzido em solução.

No estudo espectral dos corantes fenotiazínicos gerados em solução e sintetizados observou-se ligeiras diferenças nos λ_{max} . A possível causa para estas diferenças pode estar relacionada às interações dos corantes com o íon ClO_4^- , presente na soluções dos corantes sintetizados. A Tabela 2.4 apresenta os resultados obtidos nesta etapa da investigação.

Tabela 2.4. λ_{max} para os corantes fenotiazínicos sintetizados e gerados em solução de 1 mol L^{-1} em H_2SO_4 .

Corante fenotiazínico ¹	λ_{max} (nm)	
	Em solução	Sintetizado ²
5a	590	550
7a	655	664
9a	665	677
12 a	550	545
14a	520	510

¹ Numeração referente ao Capítulo I ² As razões pertinentes aos deslocamentos entre os corantes foram discutidas no Capítulo I.

Uma vez definidos os λ_{max} para os corantes fenotiazínicos produzidos em solução, foi realizado o estudo comparativo destes no sistema de análise em fluxo (Figura 2.2). Para tanto, foram preparadas soluções das aminas nas mesmas condições reacionais e medidos os sinais produzidos no sistema em

fluxo, visando avaliar a intensidade dos sinais transientes produzidos para um mesmo tempo de reação. O perfil e a magnitude dos sinais transientes podem ser observados na Figura 2.3.

Para a configuração do sistema de análise em fluxo na qual foram realizados os ensaios, não foram observados sinais diferentes da linha base quando o PAA foi empregado como reagente. Isto porque o corante produzido apresentou, nos testes em batelada, cinética de formação lenta, atingindo, naquelas condições, estabilidade no sinal medido somente após 9 min de efetuada a mistura dos reagentes com sulfeto. Nos testes com PAA, em batelada, a intensidade do sinal obtido foi comparável ao obtido para o PPD no sistema de análise em fluxo. Salienta-se que as soluções das aminas na concentração de 1g L^{-1} empregadas no teste preliminar apresentavam concentrações molares distintas. Porém, a diferença não foi considerada significativa em função da proximidade do peso molecular dos compostos.

Como pode ser observado na Figura 2.3, entre as aminas aromáticas avaliadas e que apresentaram variação no sinal analítico, os menores sinais obtidos correspondiam ao PAP. Este comportamento pôde ser também justificado pela cinética de formação lenta de seu respectivo corante fenotiazínico, aumentando as evidências para ausência de sinal do PAA, visto que este é um derivado direto. Comportamento análogo havia sido observado por Mohamed e colaboradores em 1997 que recomendavam 15 min de espera para a estabilização do sinal, utilizando o mesmo padrão de reação para determinação de PAP em amostra do analgésico paracetamol.

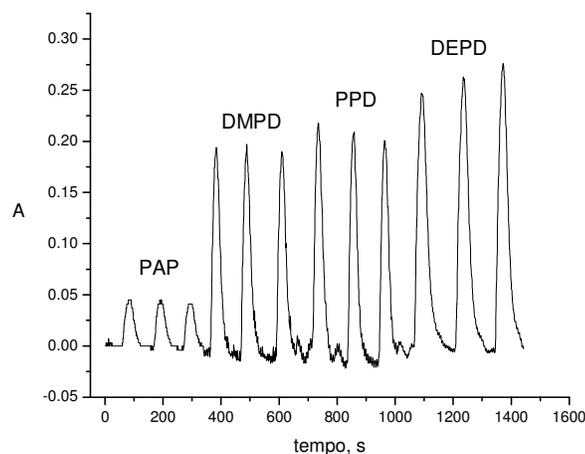


Figura 2.3. Perfil dos sinais transientes obtidos para três injeções consecutivas para as diferentes aminas, de acordo com o sistema em fluxo apresentado na Figura 2.2.

As outras aminas utilizadas para a produção de corantes fenotiazínicos apresentaram intensidade do sinal analítico transiente pelo menos quatro vezes maiores que o obtido para o PAP. Dentre estas, o DMPD, tradicionalmente utilizado no método do azul de metileno (Lawrence *et al.*, 2000), e o DEP e PPD, como reagentes alternativos ao DMPD para a determinação de sulfeto.

As condições reacionais em que foram realizados os ensaios comparativos não haviam sido otimizadas. Logo, os resultados obtidos serviam apenas como indício da potencialidade de cada amina aromática estudada como reagente para determinação espectrofotométrica de sulfeto em sistema de

análise em fluxo. Desta forma, a otimização das condições reacionais para o DMPD, DEPD e PPD foi realizada empregando planejamento fatorial composto central.

A lenta velocidade de formação dos respectivos corantes fenotiazínicos utilizando PAP e PAA foi uma limitação para a utilização destes na determinação espectrofotométrica de sulfeto em sistema em fluxo. A exploração destes associados ao conceito de interrupção de fluxo (“stop flow”) poderia ser uma alternativa para contornar as limitações da cinética observadas com estes reagentes. Assim como, a possibilidade de determinação espectrofotométrica de sulfeto, em batelada, onde se pode aguardar o tempo necessário para a estabilização do sinal analítico.

2.4.2 Uso de Hipoclorito como Oxidante

Quando foram sintetizados os corantes fenotiazínicos, pôde ser observado que o ClO^- poderia ser empregado como oxidante em substituição ao Fe^{3+} , desde de que sua concentração fosse otimizada. Em princípio, o emprego de ClO^- , em substituição ao Fe^{3+} , aparentava ser extremamente atraente, considerando fatores como: (i) custo, já que a fonte de ClO^- utilizada na síntese dos corantes foi água sanitária comercial, e (ii) a possibilidade de geração sonoquímica do oxidante (ClO^-) *in situ*, a partir de resíduos de solventes organo-clorados (Borges e Korn, 2002).

No sistema em fluxo empregado não foi testada a potencialidade da utilização de ClO^- para oxidação das aminas, em virtude da produção de Cl_2 , levando à produção de bolhas. Porém, a incorporação, no percurso analítico de sistema de análise em fluxos, de um dispositivo para retirar bolhas viabilizaria o uso de ClO^- como oxidante. Portanto, o hipoclorito pode ser empregado como oxidante se as determinações de sulfeto fossem realizadas em sistema estático (batelada).

2.4.3 Otimização Empregando Planejamento Fatorial

A reação de formação de corantes fenotiazínicos está condicionada a fatores que influenciam decisivamente sobre sua cinética e no rendimento da reação (Leventis *et al.*, 1997). A natureza da amina aromática, a acidez, seguida da concentração e do tipo de oxidante, são fatores que foram investigados por afetarem as reações de produção de corantes fenotiazínicos.

Visto as variações entre os dados apresentados na Tabela 2.3 e o reduzidíssimo número de trabalhos publicados utilizando DEPD e PPD para a determinação de sulfeto, foi necessário investigar e otimizar a concentração dos reagentes para a determinação espectrofotométrica de sulfeto em sistema de análise em fluxo, comparando os dados obtidos em condições de melhor resposta. Visando a redução do número de experimentos, foi elaborado um planejamento fatorial para avaliação da influência da concentração do reagente ($[\text{R}]$), de Fe^{3+} ($[\text{Fe}^{3+}]$) e da concentração de H_2SO_4 no reagente ($[\text{H}_2\text{SO}_4]$), permanecendo inalterada a concentração de H_2SO_4 nas soluções de Fe^{3+} ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$).

O planejamento composto central mostrou ser o mais adequado para atender o perfil da otimização requerida, em função de, mesmo reduzindo o número de experimentos, cobrir uniformemente o domínio experimental, permitindo a obtenção de superfície de resposta com parâmetros quadráticos (Neto *et al.*, 2003).

Com a definição das variáveis foram também estabelecidas as faixas de concentração que seriam estudadas. Para a aplicação do planejamento composto central, foram estabelecidos 3 níveis distintos para cada uma das variáveis. Desta forma, as concentrações avaliadas das amins foram de 0,5, 1 e 1,5 g L⁻¹; para Fe³⁺, 20, 80 e 140 mmol L⁻¹; e para a concentração de H₂SO₄ no reagente, 0,2, 0,6 e 1 mol L⁻¹.

Para o planejamento composto central foi estabelecida a designação de +1 para as maiores concentrações, -1 para as menores e 0 (zero) para as concentrações intermediárias, gerando um total de 15 experimentos. A Tabela 2.5 apresenta os respectivos valores dos intervalos das variáveis frente a designação adotada para os níveis avaliados e a Tabela 2.6 apresenta os experimentos realizados.

Tabela 2.5. Relação das faixas de concentração com os respectivos níveis do planejamento fatorial.

Nível	Variáveis		
	[R], g L ⁻¹	[Fe ³⁺], mmol L ⁻¹	[H ₂ SO ₄], mol L ⁻¹
-1	0,5	20	0,2
0	1	60	0,6
+1	1,5	140	1

Tabela 2.6 Planejamento fatorial composto central para otimização de [R], [Fe³⁺] e [H₂SO₄] visando a formação dos corantes fenotiazínicos para cada uma das amins investigadas.

Experimento	Variáveis		
	[R]	[Fe ³⁺]	[H ₂ SO ₄]
1	+1	+1	+1
2	+1	+1	-1
3	+1	-1	+1
4	+1	-1	-1
5	-1	+1	+1
6	-1	+1	-1
7	-1	-1	+1
8	-1	-1	-1
9	0	0	-1
10	0	0	+1
11	0	-1	0
12	0	+1	0
13	-1	0	0
14	+1	0	0
15	0	0	0

Os dados gerados pelo planejamento fatorial composto central foram avaliados após tratamento matemático com o programa Statistica 6.0, considerando a absorbância (A) como variável dependente e as concentrações do reagente, do Fe³⁺ e do H₂SO₄ no reagente, como variáveis independentes. Para cada

reagente avaliado, foram geradas três superfícies de resposta, correspondendo as interações da absorvância com [R] e $[\text{Fe}^{3+}]$, [R] e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ e com $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$.

Uma vez que a concentração de H_2SO_4 nas soluções de Fe^{3+} foi mantida em $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para todos experimentos, a concentração de H_2SO_4 final dependeu da mistura entre o reagente e Fe^{3+} em linha, logo concentrações muito altas ou baixas poderiam mascarar o efeito real do ácido nas soluções das aminas aromáticas.

Após a realização dos experimentos eram avaliadas se as variáveis independentes selecionadas e suas interações eram significativas para um nível de confiança de 95%. Para todos reagentes as variáveis e suas interações mostraram-se significativas dentro do domínio experimento estipulado.

As superfícies geradas para a otimização do DMPD são apresentadas nas Figuras 2.4 a 2.6.

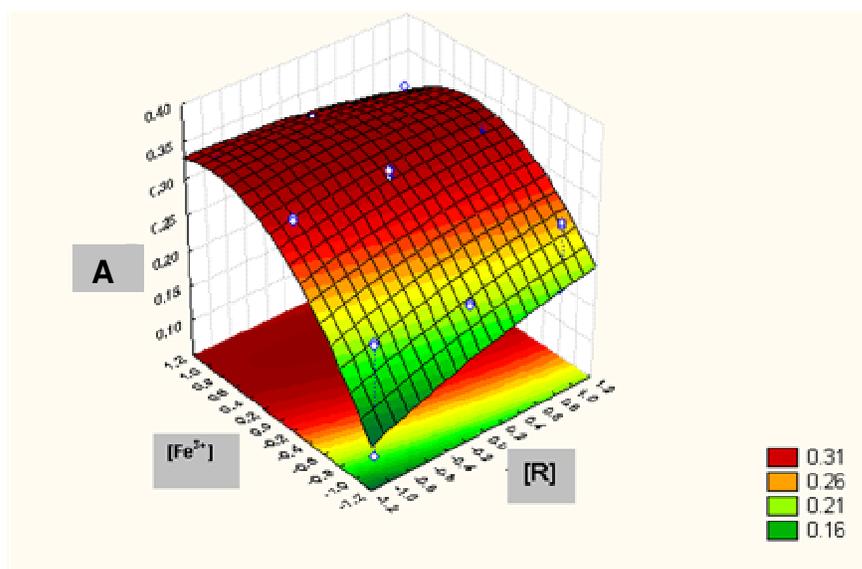


Figura 2.4. Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com [R] e $[\text{Fe}^{3+}]$ para o DMPD.

As interações observadas entre [R] e $[\text{Fe}^{3+}]$, apresentadas na Figura 2.4, indicaram que os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou maiores concentrações de Fe^{3+} e da amina (DMPD). Como o estudo foi realizado em sistema de análise em fluxo, o sinal obtido não correspondia à extensão completa da reação. Assim, com o aumento das concentrações de DMPD e Fe^{3+} pôde ser observado aumento na produção de azul de metileno, devido, possivelmente, a maior produção da espécie intermediária (amina oxidada). Nota-se na Tabela 2.3 que a concentração de Fe^{3+} normalmente empregada para esta reação é consideravelmente menor que a concentração ótima estabelecida pela análise da superfície de resposta.

Quando avaliada as interações entre [R] e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ no reagente (Figura 2.5) foi observado que um aumento da [R] leva à aumento do sinal analítico. A tendência de aumento da concentração de DMPD, [R]

foi acompanhada pela tendência de diminuição da $[H_2SO_4]$ no reagente. Este comportamento pode ser justificado considerando duas alternativas: (i) o aumento da $[H_2SO_4]$ influenciou a extensão da protonação da amina e, por conseqüência, alterou seu perfil e cinética de oxidação; e/ou (ii) pela predominância do sulfeto em solução na forma de H_2S , onde seu acoplamento com a amina seria desfavorecido. O primeiro fator deve ser o de maior importância, sustentado no trabalho de Kuban e colaboradores em 1992, onde as soluções de DMPD e Fe^{3+} foram preparadas com H_2SO_4 $9,0 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Foi observada a diminuição da taxa de reação e alteração do λ_{max} de 665 para 740 nm, posto que o azul de metileno estaria protonado (com duas cargas positivas), como já discutido no Capítulo I.

Todavia, para a faixa de concentração avaliada no sistema de análise em fluxo não foram observadas grandes variações do sinal analítico com $[H_2SO_4]$, quando a concentração de DMPD foi aumentada. Logo, para esta interação ($[R] \times [H_2SO_4]$), as condições reacionais apresentaram robustez.

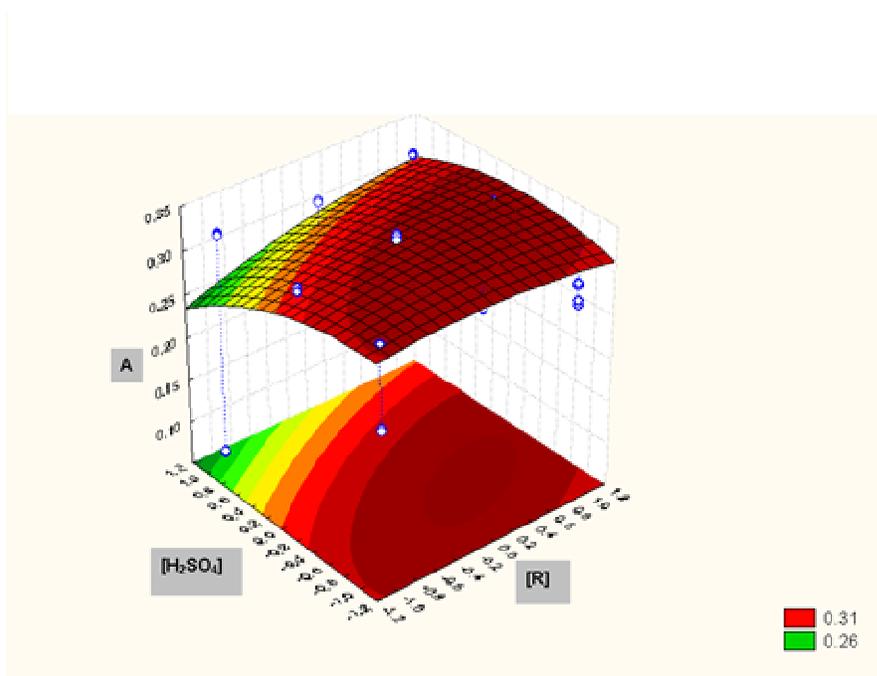


Figura 2.5. Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com $[R]$ e $[H_2SO_4]$ para o DMPD.

As interações observadas entre $[Fe^{3+}]$ e $[H_2SO_4]$ (Figura 2.6) concordaram com as informações anteriormente discutidas. Os melhores resultados foram encontrados para as maiores concentrações de Fe^{3+} e menores de H_2SO_4 .

Numa análise geral dos experimentos realizados, pôde ser observado que, para as interações entre $[R]$ e $[Fe^{3+}]$ e $[Fe^{3+}]$ e $[H_2SO_4]$, os melhores resultados obtidos estavam localizados em regiões centrais das superfícies de respostas geradas (Figuras 2.4 e 2.5). Isto indicou que a máxima resposta estava contida na região estudada. Os valores ótimos serão apresentados posteriormente.

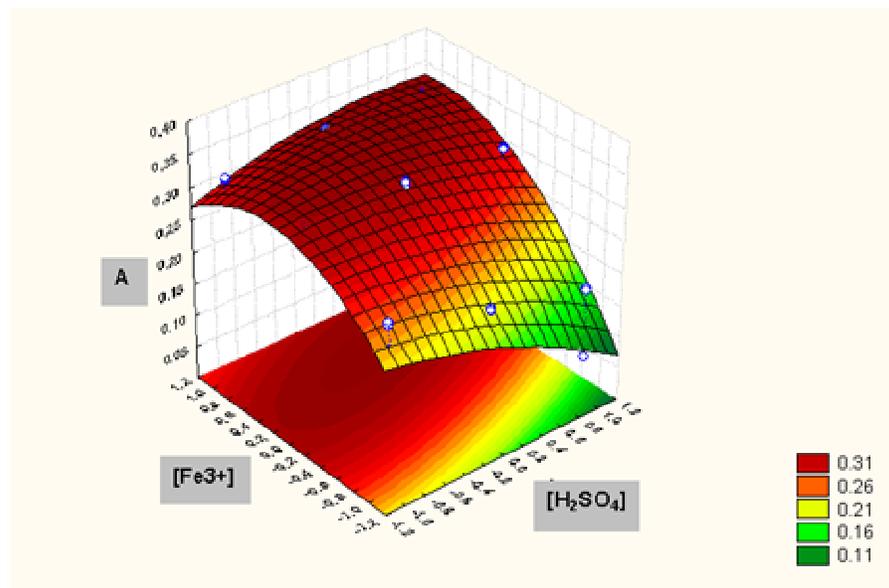


Figura 2.6. Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$ para o DMPD.

Para avaliação do DEPD foram seguidos os mesmos testes realizados com o DMPD, gerando as superfícies de respostas das Figuras 2.7 a 2.9. As tendências quanto às interações das variáveis dependentes seguem comportamento similar ao DMPD, porém com perfis distintos.

As relações do sinal analítico com $[\text{R}]$ e $[\text{Fe}^{3+}]$, apresentadas na Figura 2.7, mostraram que o aumento das concentrações de ambos parâmetros favoreciam a produção do corante. A superfície de resposta gerada indicou que as faixas de concentração avaliadas não foram as melhores para a reação de sulfeto com DEPD, uma vez que a região do máximo não pôde ser plenamente observada.

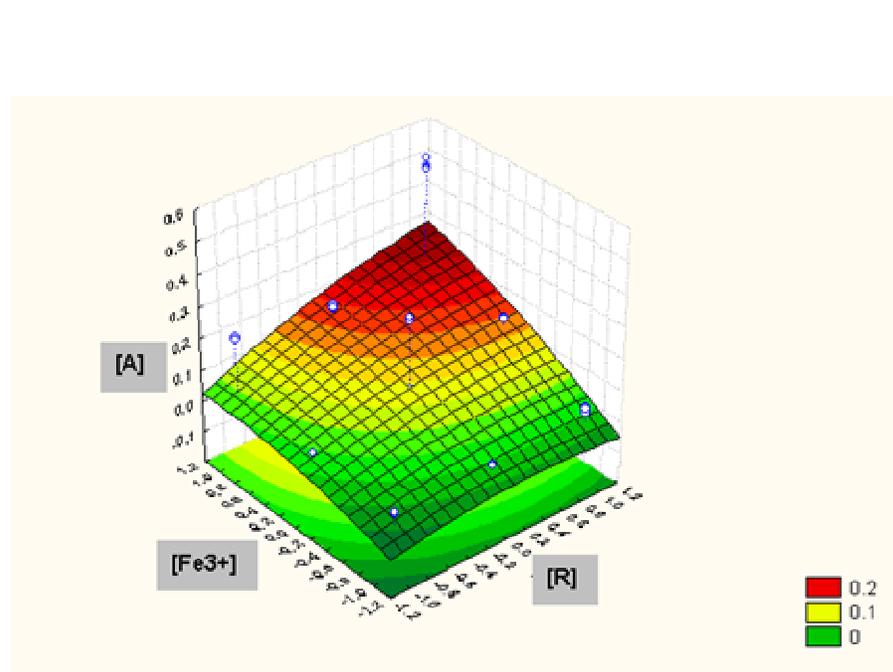


Figura 2.7. Superfície de resposta gerada em função da interação entre o sinal analítico com [R] e $[\text{Fe}^{3+}]$ para o DEPD.

A tendência expressa pela superfície de resposta (Figura 2.8) para a interação de [R] com $[\text{H}_2\text{SO}_4]$, para o DEPD, concordou com a obtida para o DMPD. Assim, pôde ser constatado que a reação era favorecida com diminuição de $[\text{H}_2\text{SO}_4]$. Este comportamento do DEPD era esperado, visto que esta amina aromática possui um nitrogênio di-etil substituído e a protonação deste nitrogênio pôde ser melhor estabilizada que para o DMPD, em função do aumento da cadeia alquílica contribuindo mais efetivamente na deslocalização de elétrons e estabilização da carga. Assim, o efeito da concentração de ácido no meio seria compensado pelo aumento das concentrações da amina e Fe^{3+} . Esta afirmação pode ser melhor ilustrada, observando os espectros de absorção dos corante derivados do DPMD e DEPM em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 , apresentados no Capítulo I.

As relações $[\text{R}] \times [\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{R}] \times [\text{H}_2\text{SO}_4]$ com o sinal analítico pra o DEPD, foram avaliadas aquém da região ótima, ficando evidente que os melhores resultados estavam em maiores valores de concentrações da amina e menores concentrações do ácido. Como a condição ótima não foi alcançada, foram empregadas as condições dos melhores resultados dentro dos intervalos avaliados. Este critério foi utilizado para outros casos em que não foi atingida a condição ótima para [R], $[\text{Fe}^{3+}]$ e $[\text{H}_2\text{SO}_4]$, quando avaliado o desempenho dos procedimentos em sistema de análise em fluxo.

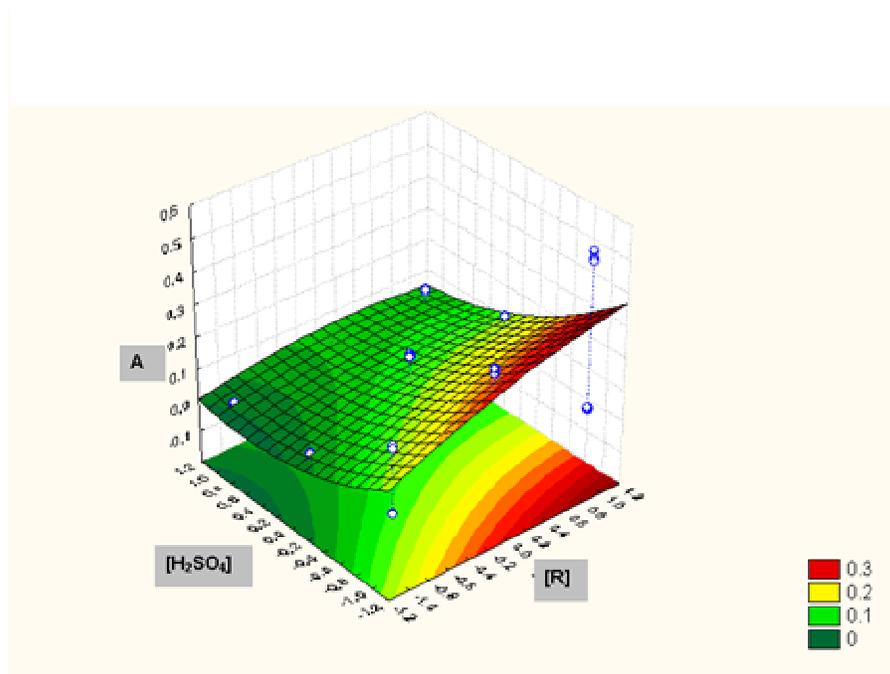


Figura 2.8. Superfície de resposta relacionando sinal analítico com [R] e [H₂SO₄] para o DEP.

A interação entre [Fe³⁺] e [H₂SO₄], apresentada na superfície de resposta obtida nos estudos com DEP (Figura 2.9), confirmou a tendência anteriormente verificada e, conseqüentemente, os valores de concentração estavam fora da região ótima.

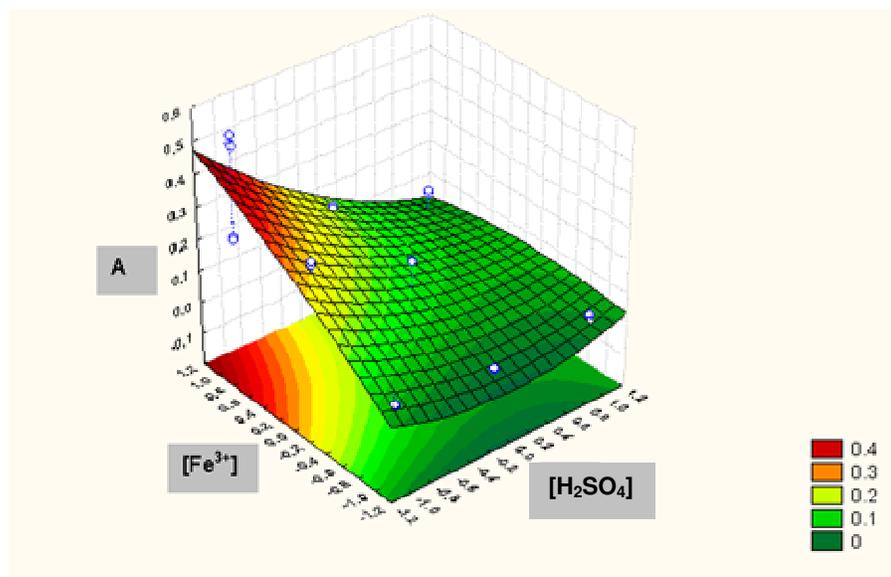


Figura 2.9. Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com [Fe³⁺] e [H₂SO₄] para o DEP.

De acordo com a análise das três interações para o DEPD escolheu-se os valores que apresentaram os melhores resultados dentro deste planejamento fatorial, apesar da condição ótima não ter sido atingida. Estes valores serão apresentados posteriormente de forma comparativa com as outras aminas.

Nos estudos com o PPD para a produção de corante fenotiazínico também foram geradas três superfícies de respostas (Figuras 2.10 a 2.12). As variáveis independentes nas melhores condições de análise para o PPD seguiram comportamento similar ao apresentado para DEPD e DMPD. Pela interação entre $[R]$ e $[Fe^{3+}]$, apresentada na superfície de resposta da Figura 2.10, pôde ser observado que o aumento das concentrações de PPD e do oxidante favoreciam a reação. Esta mesma tendência pôde ser também observada para DEPD e DMPD, indicando que no sistema em fluxo utilizado (Figura 2.2) o aumento de $[R]$ e $[Fe^{3+}]$ levaram a maiores valores de absorbância dos sinais transientes e, portanto, garantiram condições mais sensíveis.

A tendência observada de aumento de $[Fe^{3+}]$ para a oxidação do PPD aparentemente não era esperada, já que este possui o menor potencial de redução frente às outras aminas – PPD (+0,139 V), DMDP (+0,185 V) e DEPD (+0,173 V) (White *et al.*, 2001). Porém, estes potenciais são referentes para uma mesma concentração molar, e as aminas foram avaliadas nas mesmas concentrações em $g L^{-1}$, onde as respectivas concentrações molares eram distintas, devido as diferentes massas molares dos referidos compostos. Para efeito comparativo, essas aminas em concentração igual a $1g L^{-1}$, correspondiam a $9,26 mmol L^{-1}$ em PPD, $7,35 mmol L^{-1}$ em DMPD e $6,1 mmol L^{-1}$ para o DEPD. Assim, uma vez que PPD possuía uma concentração molar ~25% maior que o DMPD e ~50% maior que a DEPD, o aumento da concentração do oxidante estaria relacionada ao aumento da concentração molar da amina nas soluções, quando comparada com o DEPD e DMPD.

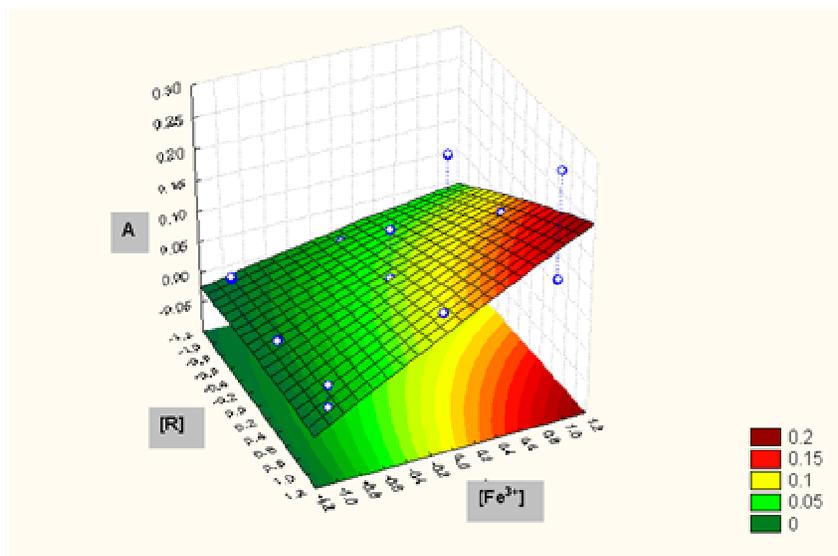


Figura 2.10. Efeito de $[R]$ e $[Fe^{3+}]$ sobre o sinal analítico para o PPD.

Para as demais relações avaliadas para a reação de PPD com sulfeto, [R] e [H₂SO₄] e [Fe³⁺] e [H₂SO₄], apresentadas nas Figuras 2.11 e 2.12 foram observadas as mesmas tendências. Assim, os sinais analíticos mais intensos foram obtidos para concentrações de ácido mais baixas, independentemente da amina. Isto condiciona os procedimentos de preparo das soluções das aminas, visto que para menores concentrações de ácido, elas são menos solúveis, sendo necessário ~1 h para adquirir condições adequadas de uso.

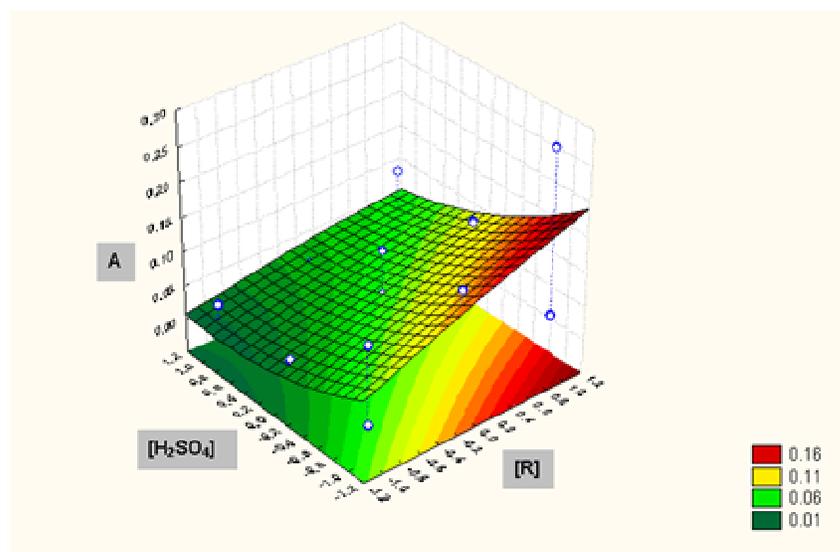


Figura 2.11. Superfície de resposta gerada em função da interação do sinal analítico com [R] e [H₂SO₄] para o PPD.

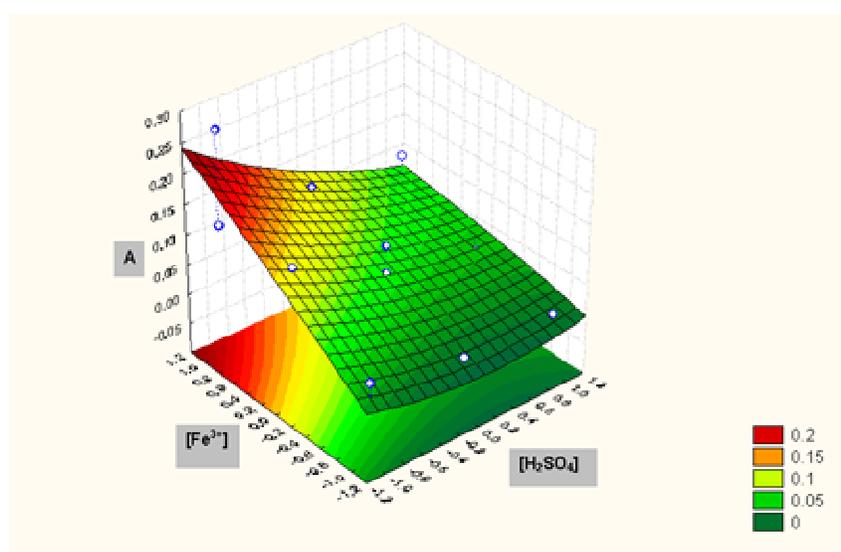


Figura 2.12. Superfície de resposta obtida pela variação do sinal analítico com [Fe³⁺] e [H₂SO₄] para o PPD.

Os perfis das superfícies para o PPD se assemelharam àqueles obtidos para o DEPD. Assim, para estas aminas os valores ótimos das variáveis estudadas não estavam contidos nas faixas avaliadas. Para as avaliações posteriores foram considerados os valores de concentração que apresentaram os melhores resultados no planejamento fatorial composto central. Estes valores encontram-se apresentados na Tabela 2.7.

Tabela 2.7. Valores ótimos para o DMPD e melhores condições estabelecidas para DEPD e PPD.

Amina	[R] (g L ⁻¹)	[Fe ³⁺] (mmol L ⁻¹)	[H ₂ SO ₄] (mol L ⁻¹)
DMPD	1,0	115	0,6
DEPD	1,5	140	0,2
PPD	1,5	140	0,2

2.4.4 Figuras de Mérito

Uma vez estabelecidas as melhores condições para a determinação de sulfeto com as aminas aromáticas investigadas (DMPD, DEPD e PPD), foram avaliadas as figuras de mérito para cada amina no sistema de análise em fluxo. Sabendo-se que o DEPD e o PPD não foram otimizados quanto à concentração da amina, do Fe³⁺ e do H₂SO₄ na solução da amina, os valores obtidos para suas figuras de mérito ainda podem ser melhorados, mas são um indicativo da potencialidade destes reagentes para a determinação de sulfeto. A Tabela 2.8 apresenta os valores obtidos correspondente a injeções de 200 µL das soluções de referência de sulfeto no diagrama de análise em fluxo mostrado na Figura 2.2, onde todos os experimentos conservaram os valores das vazões estabelecidas.

Tabela 2.8. Valores das figuras de mérito avaliadas para três diferentes aminas.

Amina	Faixa Linear (mg L ⁻¹)	Equação (r)	LD (3σ), µg L ⁻¹	LQ, µg L ⁻¹	RSD (%)
DMPD	0,25 – 4,0	A = 0,018 + 0,23C (0,9998)	71,46	164,36	1,7
DEPD	0,25 – 2,5	A = 0,050 + 0,45C (0,9995)	18,34	82,52	1,8
PPD	0,25 – 3,0	A = 0,037 + 0,25C (0,9992)	60,9	152,25	2,1

Os valores de LD e LQ observados na Tabela 2.8 para o DEPD concordaram com os resultados apresentados na Figura 2.3 indicando esta amina como aquela que leva a formação do corante fenotiazínico com maior absorvidade molar. Apesar da ausência na literatura de um estudo comparativo entre as aminas aromáticas para a produção de corantes fenotiazínicos pela reação com sulfeto, trabalhos anteriores já indicavam a elevada sensibilidade do procedimento empregando o DEPD para a determinação espectrofotométrica de sulfeto (Sing *et al.*, 2000). Por consequência, apresentou a menor faixa linear de trabalho, o que pode ser corrigido com a mudança do “design” do sistema de análise em fluxo, com o aumento da vazão dos reagentes e/ou da solução transportadora, aumentando o percurso analítico ou, pela injeção de alíquotas com menores volumes da amostra ou deste reagente no percurso analítico.

O PPD mostrou ser a segunda amina mais sensível para a determinação espectrofotométrica de sulfeto (Tabela 2.8). Apesar de ter mostrado bons LD e LQ, os valores foram muito altos quando comparados com aqueles obtidos pelo DEPD. Porém, a proximidade entre os valores obtidos para o PPD e aqueles relacionados com o DMPD, não deve ser considerada como indicativo de que as sensibilidades para ambos os procedimentos sejam próximas ou equivalentes, pois o PPD não foi utilizado como reagente para a determinação de sulfeto em sistema em fluxo em condições otimizadas, como ocorreu para o DMPD.

O DMPD, apesar de ter apresentado os maiores LD e LQ em relação ao DEPD e PPD, mostrou a maior faixa linear, sendo o mais versátil para a determinação de sulfeto em sistema de análise em fluxo. Adicionalmente, os baixos desvios padrões relativos calculados, quando o DMPD foi utilizado com soluções de referência de sulfeto, foi um indicativo favorável para seu uso em estudos que serão posteriormente apresentados.