

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

COMPLEXOS DE GLUCOSE , FRUTOSE E
SACAROSE COM COBRE NUM MEIO ALCA-
LINO ALCOÓLICO.

José Iván Márquez Salomón
Engenheiro Químico

Orientador:

Prof.Dr. Frederick Carl Strong III

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrí-
cola da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do
título de Mestre em Ciências de Alimentos.

-1976-

A MI MADRE

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor FREDERICK CARL STRONG III, pela valiosa co laboração e orientação brindada.

À Organização dos Estados Americanos, pelo apôio econômico.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas, pelas facilidades oferecidas durante a realização deste trabalho.

Aos colegas, amigos e a todas as pessoas que colaboraram direta ou indiretamente.

ÍNDICE

	página
ÍNDICE DE QUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMO	v
SUMMARY	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
3. MATERIAL E MÉTODOS	4
3.1. Amostras utilizadas	4
3.2. Reagentes	4
3.3. Equipamentos	4
3.4. Preparação das amostras	5
3.5. Determinação de Cobre	5
3.6. Determinação de Carbonato	6
4. RESULTADOS	7
4.1. Determinação das condições de trabalho	7
4.2. Comportamento das soluções dos complexos com a lei de Beer	17
4.3. Análise dos complexos	29
5. CÁLCULOS	31
5.1. Cálculos da determinação de Cobre	31
5.2. Cálculos da determinação de Carbonato	32
5.3. Absortividade dos complexos	33
6. DISCUSSÃO	34
6.1. Escolha do procedimento	34
6.2. Reação da solução alcoólica alcalina com os açúcares	35

	página
6.3. Comportamento das soluções dos comple_xos com respeito à lei de Beer.	36
6.4. Determinação de cobre e carbonato.	37
6.5. Discussão geral.	38
7. CONCLUSÕES	42
8. BIBLIOGRAFIA	43

ÍNDICE DE QUADROS

		página
QUADRO	1. Absorbâncias dos complexos para diferentes tempos de reação.	7
QUADRO	2. Absorbâncias dos complexos para diferentes concentrações da solução alcoólica alcalina.	9
QUADRO	3. Absorbâncias dos complexos para diferentes concentrações de álcool isopropílico.	12
QUADRO	4. Lei de Beer para os complexos em solução alcoólica de 0,10 N.	17
QUADRO	5. Lei de Beer para os complexos em solução alcoólica de 0,50 N.	19
QUADRO	6. Lei de Beer para os complexos em solução alcoólica de 1,10 N.	21
QUADRO	7. Lei de Beer para os complexos de misturas dos açúcares em solução de 0,10 N.	23
QUADRO	8. Lei de Beer para os complexos de misturas dos açúcares em solução de 0,50 N.	25
QUADRO	9. Lei de Beer para os complexos de misturas dos açúcares em solução de 1,10 N.	27
QUADRO	10. Absorção atômica dos brancos e soluções dos complexos.	29
QUADRO	11. Absorção atômica das soluções padrões para determinação de cobre.	30
QUADRO	12. Volumes de CO_2 liberado pelos complexos na reação com HCl.	30
QUADRO	13. Relação de mol de açúcar por mol de cobre e mol de carbonato.	38

ÍNDICE DE FIGURAS

	página
FIGURA 1. Absorbâncias dos complexos para diferentes tempos de reação.	8
FIGURA 2. Absorbâncias dos complexos para diferentes concentrações da solução alcoólica alcalina.	10
FIGURA 3. Efeito da presença do álcool isopropílico na solução.	11
FIGURA 4. Espectro de Glucose em solução alcoólica alcalina de 0,10 N.	13
FIGURA 5. Espectro de Frutose em solução alcoólica alcalina de 0,50 N.	14
FIGURA 6. Espectro de Sacarose em solução alcoólica alcalina de 0,50 N.	15
FIGURA 7. Espectro de Glucose em solução alcoólica alcalina de 1,10 N.	16
FIGURA 8. Lei de Beer para os complexos em solução alcoólica alcalina de 0,10 N.	18
FIGURA 9. Lei de Beer para os complexos em solução alcoólica alcalina de 0,50 N.	20
FIGURA 10. Lei de Beer para os complexos em solução alcoólica alcalina de 1,10 N.	22
FIGURA 11. Lei de Beer para os complexos de misturas dos açúcares em solução de 0,10 N.	24
FIGURA 12. Lei de Beer para os complexos de misturas dos açúcares em solução de 0,50 N.	26
FIGURA 13. Lei de Beer para os complexos de misturas dos açúcares em solução de 1,10 N.	28

RESUMO

Os complexos de açúcar com cobre em soluções alcalinas na ausência de amônia tem sido muito pouco estudados, e quase não existem referências na literatura.

Complexos deste tipo, foram obtidos com carbonato básico de cobre em soluções de NaOH, com trinta por cento (30%) de álcool-isopropílico. O efeito do álcool é aumentar a estabilidade dos complexos, provavelmente pela formação de semiacetais com os açúcares redutores. Foram estudadas as absorvâncias na faixa visível, obtendo-se absorvâncias máximas na faixa de 645 até 665 nm. Fixou-se 660 nm como referência, para poder fazer comparações. Os complexos foram estudados para diferentes concentrações de NaOH, desde zero (água - álcool) até 1,20 N. Encontraram-se algumas concentrações apropriadas para estabilizar estes complexos, as quais foram fixadas para dar absorvância máxima. Estas concentrações foram: 0,50 N para a frutose e sacarose e 0,10 N para a glucose.

Fixou-se também o tempo de reação por meio de um estudo de diferentes tempos e foi escolhido aquele que apresentou uma máxima-absorvância e com boa estabilidade. Esse tempo de reação foi fixado em quatro minutos.

Foram estudadas as composições destes complexos e encontrou-se que para cada mol de açúcar (Glucose, Frutose ou Sacarose) obteve-se uma relação de 3 moles de cobre (Cu^{2+}). Determinou-se o cobre por absorção atômica, comparando-se as soluções dos complexos com soluções padrões de $\text{Cu Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Ao estudar a formação dos complexos com misturas de açúcares ,

observaram-se certas anomalias possivelmente pela interação de açúcares no meio , que apresentaram um comportamento caprichoso, já que a absorbância pode ter alterações independentes das concentrações dos complexos, provavelmente para formação de reações de condensação.

A glucose, quando se encontra em soluções de 1,10 N, apresenta um complexo de 1,5 mol de cobre por mol de açúcar. Mas devido a alta concentração alcalina do meio, os complexos são facilmente reduzidos, apresentando dificuldades para trabalhar nessa concentração.

Em soluções iguais ou menores de 0,10 N de NaOH, os três açúcares, tanto individualmente como em misturas, cumprem perfeitamente a lei de Beer. Fora desta faixa a lei somente se cumpre para açúcares individuais, pelo que esta concentração tem possibilidade de aplicação em análise.

As soluções dos complexos foram analisadas para carbonato, pelo aparelho de Orsat e deu uma proporção de um carbonato para cada três moles de cobre, depois de subtrair o conteúdo de carbonato e cobre no branco. Existe a possibilidade do carbonato ser liberado por reação do carbonato básico com o açúcar ou então ligado ao complexo.

SUMMARY

The formation of copper sugar complexes in alkaline solutions in the absence of ammonia has not been studied and there are scarcely any references in the literature.

Complexes of this type were obtained with basic copper carbonate and solutions of NaOH in thirty per cent (30%) isopropanol. The effect of the alcohol is to increase the stability of the complexes, probably through formation of hemiacetals with reducing sugars. Absorbances were studied in the visible range and showed maximum absorbance in the range 645 to 665 nm. A wavelength of 660 nm was fixed in order to obtain comparisons. The complexes were studied for different NaOH concentrations, from zero (water-alcohol) to 1,20 N. The concentrations that gave maximum absorbances with each sugar determined: these were 0,50 N for fructose and sucrose and 0,10 N for glucose. By studying different reaction times, the one that yielded maximum absorbance and good stability, was selected in all cases, this was four minutes.

The composition of these complexes was also studied and it was found that, for each mole of sugar (glucose, fructose or sucrose), there resulted a ratio of three moles of copper (Cu^{2+}). Copper was determined by atomic absorption, comparing the solutions of the complexes with standard solutions of $\text{Cu Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

In a study of the formation of complexes with mixtures of sugars, some anomalies were observed probably due to sugar interactions in the medium.

In 1,10 N NaOH solution, glucose a complex of 1,5 moles of copper per mole of sugar was indicated. Because of the high alkali concentration, the complex was easily reduced causing

difficulties in the use of this concentration.

In solutions less or equal to 0,10 N in NaOH the three sugars, individually or in mixtures obeyed Beer's Law. Above this concentration Beer's Law is valid only for individual sugar. This a concentration of 0,10 N NaOH has more general application in analysis.

The complex solution was analysed for carbonate with Orsat apparatus and resulted in a relation of one mol of carbonate for each three moles of copper, after subtracting the carbonate and copper content of the blank. This relation of carbonate to copper could have resulted from dissolution when the copper reacted with the sugar, or could be due to actual attachment of carbonate to copper in the complex.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As soluções coloridas dos complexos de cobre em meios alcalinos, foram observadas, pela primeira vez no século passado (13).

Em 1914 RIEGLER usou estas propriedades na estimação do conteúdo proteico em fluídos biológicos (18), empregando soluções alcalinas de hidróxido de potássio 0,05 N.

O emprego de carbonato básico de cobre em pó como fonte de cobre, foi feito por JOHNSON e CRONEY (9). Outra fonte empregada na síntese destes complexos de carboidratos é o hidróxido cúprico (5).

DEACON (4) utilizou soluções de hidróxidos de sódio 0,5 M, contendo álcool isopropílico, na determinação de proteínas em amostras de soja. Alguns alcoóis como o metanol são utilizados para isolamento de complexos (15).

A reação de cobre com carboidratos é muito conhecida. Assim a reação de cobre amoniacal com celulose é empregada na indústria para preparar rayon (6).

A capacidade dos carboidratos para formar complexos tem sido muito estudada, e os complexos com cobre e ferro tem recebido um trato especial (1) (3), mas a maioria destes complexos são preparados com sais de amonia (11) (20).

A cinética de redução dos alcalis para os complexos de açúcar-cobre, foram estudadas por KISHMA (12). Também a transformação de açúcares em soluções amoniacais e o efeito da temperatura (17).

As atividades óticas dos complexos são bem conhecidas como as

trocas que apresentam devido ao solvente (11) (20).

Os complexos açúcar-cobre apresentam um campo muito extenso para a pesquisa, já que ficam ainda muitas coisas por estudar, como condições de estabilidade, suas estruturas e suas aplicações práticas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostras utilizadas.

3.1.1. Sacarose, anidra, A.C.S. (Fisher Scientific Co.).

3.1.2. Glucose, anidra, A.C.S. (Fisher Scientific Co.).

3.1.3. Frutose, anidra (Sigma Chemical Co.).

3.2. Reagentes.

3.2.1. Solução alcoólica alcalina. Dissolver em água a quantidade necessária de hidróxido de sódio (Reagentes Ecibra) para obter-se a concentração desejada (de zero até 1,20 N), agregar 300 ml de álcool isopropílico (Carlo Erba) e diluir a 1000-ml.

3.2.2. Carbonato básico de cobre A.C.S. (Fisher Scientific Co.).

3.2.3. Ácido clorídrico concentrado 12 M (Carlo Erba).

3.2.4. Solução aquosa de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Qeel) de 1 até 10 p.p.m.

3.3. Equipamentos.

3.3.1. Espectrofotômetro UV-visível. Perkin-Elmer 402.

3.3.2. Espectrofotômetro M4QIII com indicador PMQ11-Carl Zeiss.

3.3.3. Centrífuga Modelo B - 20 A- International Equipment Company.

3.3.4. Agitador mecânico Modelo V- New Brunswick Scientific Co., Inc.

3.3.5. Espectrofotômetro de absorção atômica. UNICAM SP 90 A Series 2.

3.3.6. Aparelho de Orsat.

3.3.7. Cronômetro joguet.

3.3.8. Outros equipamentos de uso comum no laboratório , como balança analítica, termômetro, erlenmeyers , tubos de ensaio, pipetas volumétricas, balões esmerilhados, provetas, beckers, etc.

3.4. Preparação das amostras.

Pesou-se as amostras de glucose, frutose e sacarose ou misturas delas em beckers de 250 ml. Fez-se o tratamento individual adicionando 0,50 g de carbonato básico de cobre e 50 ml de solução alcoólica alcalina (3.2.1.).

Submeteu-se a agitação no agitador mecânico (3.3.4.) à temperatura ambiente para diferentes tempos. Fez-se centrifugação (3.3.3.).

Tomou-se do líquido sobrenadante a alíquota necessária para fazer-se as leituras no espectrofotômetro (3.3.1 e 3.3.2).

As medições foram feitas usando como branco a água ou a mistura de carbonato básico de cobre e solução alcoólica alcalina na concentração que trabalhava-se. Foram feitas medições à diferentes comprimentos de onda para obter espectros.

Todas as determinações foram realizadas em duplicata ou triplicata, ao comprimento de onda de 660 n.m.

3.5. Determinação de cobre.

Preparou-se as amostras conforme o método 3.4., com 100 mg de cada açúcar. Tomou-se 10 ml de cada amostra e fez-se tratamento individual com 5 ml de HCl e diluição a 100 ml. Estas soluções foram diluídas a 100 para os brancos e 1000 para as amostras.

As leituras foram feitas no espectrofotômetro de absorção atô

mica (3.3.5), conforme as especificações do catálogo do aparelho (CuI). As leituras foram comparadas com as feitas com as soluções padrões.

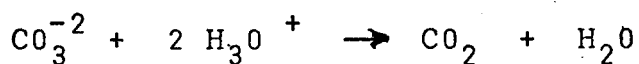
Condições instrumentais para cobre.

comprimento de onda	324,8 nm.
largura da fenda	0,1 mm.
gás	10 cm acetileno
observação de altura	1,0 cm.
combustível	Pressão 0.7 Bar, fluxo 1000 cm ³ /mt.
ar	Pressão 2.1 Bar, fluxo 5l/mt.

3.6. Determinação de carbonato.

Preparou-se as amostras conforme método 3.4, com 100 mg de cada açúcar. Tomou-se 50 ml de cada amostra e fez-se tratamento individual com 10 ml de HCl para as amostras com solução alcoólica alcalina de 0,50 N, e 20 ml para as amostras com solução alcoólica alcalina de 1,10 N.

O tratamento foi feito num balão ligado a um aparelho de Orzat, onde foram feitas a 25°C as medições dos volumes de CO₂ liberado na reação de carbonato com HCl.



4. RESULTADOS

4.1. Determinação das condições de trabalho.

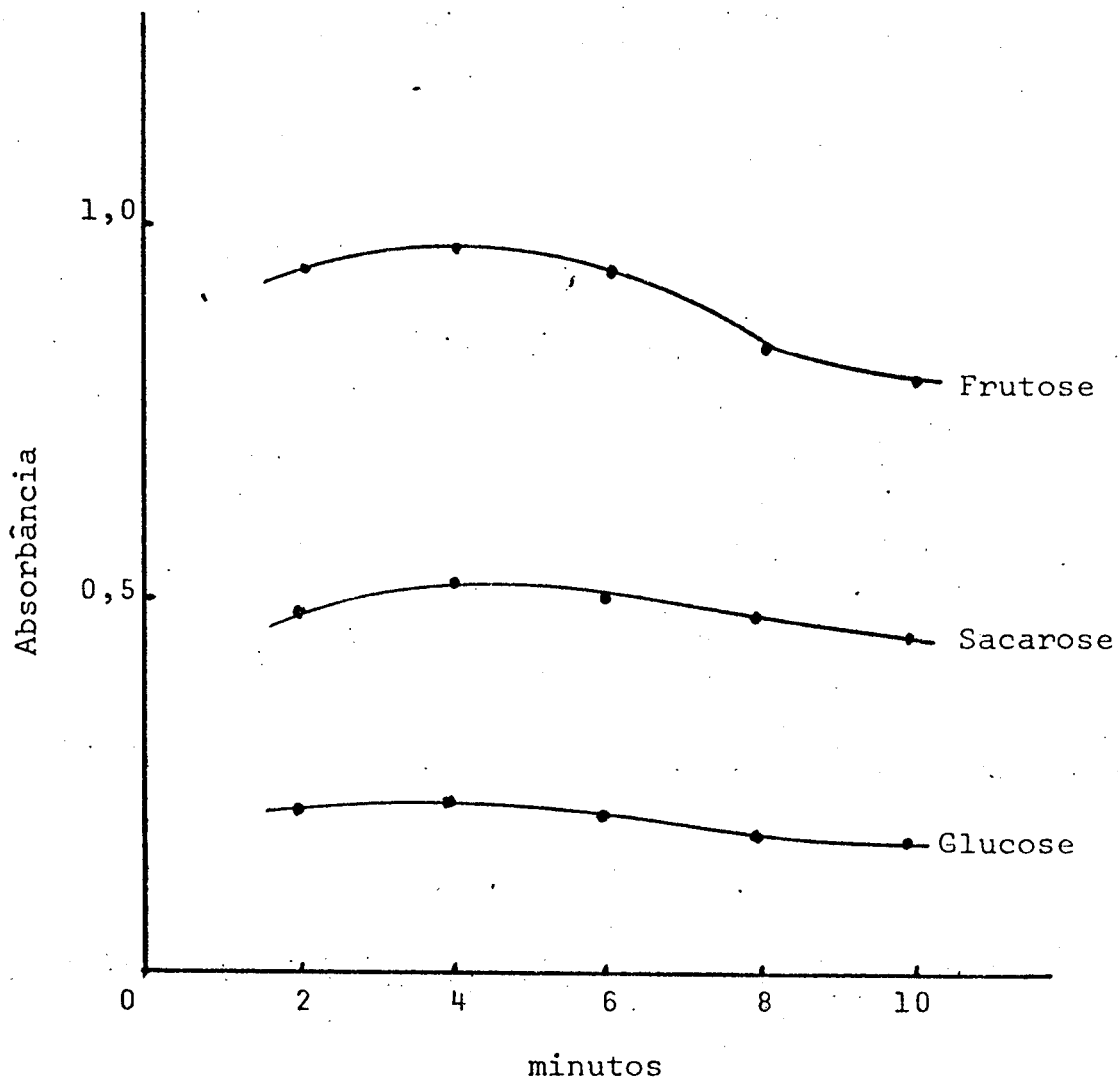
4.1.1. Tempo de agitação.

Num estudo de absorvâncias versus tempo de agitação, pretende-se escolher o tempo que apresente absorvâncias-máximas e boa estabilidade.

QUADRO 1. Encontram-se as absorvâncias dos complexos (100 mg do açúcar), em solução alcoólica alcalina 0,50 N, para vários tempos de reação. Realizado conforme método 3.4.

Açúcar	Tempo (minutos)	ABSORVÂNCIAS
Glucose	2	0,208
	4	0,215
	6	0,201
	8	0,185
	10	0,178
Frutose	2	0,932
	4	0,950
	6	0,930
	8	0,825
	10	0,802
Sacarose	2	0,475
	4	0,511
	6	0,502
	8	0,480
	10	0,452

FIGURA 1. Absorbâncias dos complexos a vários tempos de reação, conforme Quadro 1.



4.1.2. Concentração de NaOH.

Pretende-se fixar aquelas concentrações onde os complexos apresentam picos de absorbância.

QUADRO 2. Encontram-se as absorbâncias dos complexos (100 mg do açúcar) a várias concentrações da solução alcoólica alcalina, a quatro minutos de reação.

Concentração da Solução Alcoólica	ABSORBÂNCIAS		
	Glucose	Frutose	Sacarose
0,00	0,023	0,091	0,031
0,05	0,781	-	-
0,10	1,02	0,779	0,316
0,15	0,135	-	-
0,20	0,065	0,890	0,484
0,35	0,092	0,901	0,494
0,50	0,215	0,950	0,511
0,60	0,245	0,908	0,488
0,70	0,361	0,822	0,452
0,80	0,478	0,775	0,438
0,90	0,591	0,752	0,508
1,00	0,769	0,729	0,541
1,10	0,781	0,701	0,532
1,20	0,762	0,696	0,464

4.1.3. Efeito da presença do álcool isopropílico.

Este experimento foi feito com o objetivo de verificar que o álcool pode fazer mudanças nos resultados obtidos. (Ver Fig. 3.)

FIGURA 2. Absorbâncias dos complexos a várias concentrações da solução alcoólica, conforme Quadro 2.

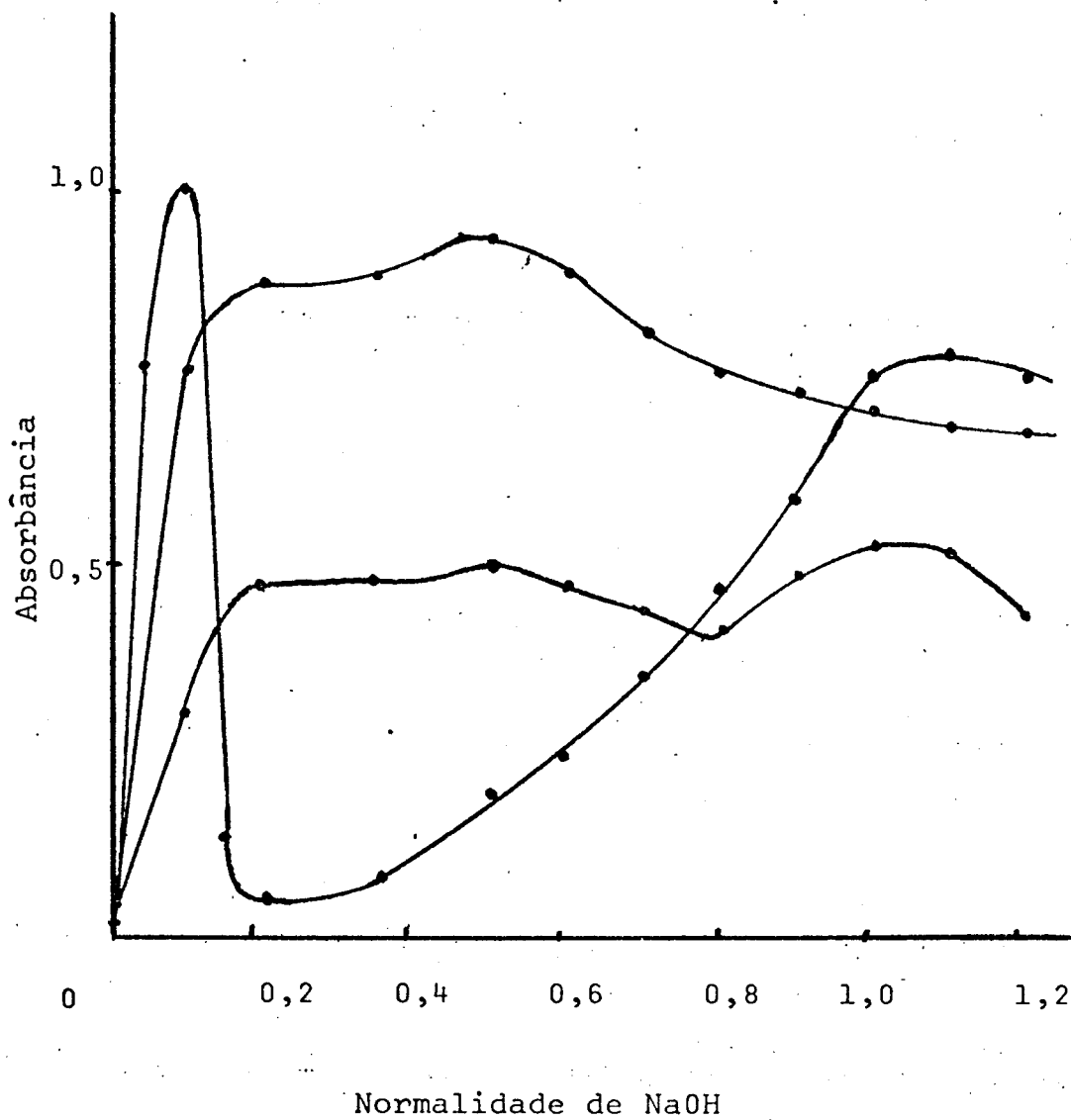
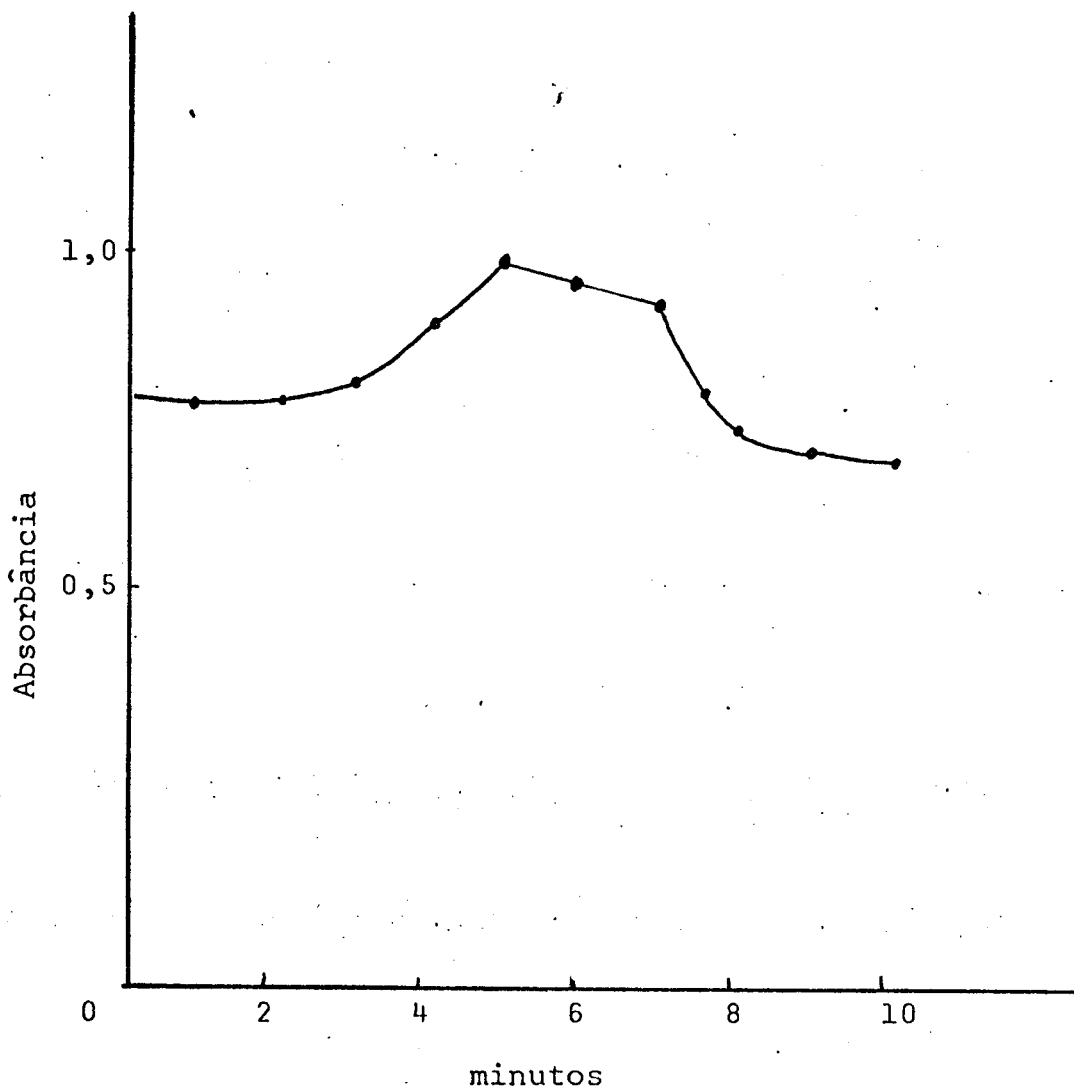


FIGURA 3. Encontram-se as absorbâncias do complexo de glucose. O complexo preparou-se da seguinte forma:

Pesou-se 100 mg de glucose, fez-se o tratamento com solução alcoólica adicionando 50 ml desta (1,10 N) e submeteu-se a agitação à temperatura ambiente para diferentes tempos, logo após esta agitação, agregou-se 0,50 g de carbonato básico de cobre e submeteu-se novamente a 4 minutos de agitação. Fez-se centrifugação.



4.1.4. Concentração do álcool isopropílico (AIP).

Pretende-se estudar as concentrações do álcool que apresentam as leituras máximas e mais constantes.

QUADRO 3. Encontram-se as absorvâncias dos complexos (100 mg do açúcar), para várias concentrações de álcool, para a concentração de 0,50 N de NaOH, a quatro minutos de reação.

Açúcar	% AIP	ABSORVÂNCIAS			
Glucose	25	0,198	0,207	0,191	0,200
	28	0,197	0,212	0,201	0,921
	30	0,215	0,215	0,214	0,214
	32	0,213	0,207	0,198	0,191
	35	0,206	0,211	0,200	0,192
	40	0,199	0,190	0,213	0,203
Frutose	25	0,945	0,927	0,908	0,950
	28	0,948	0,946	0,951	0,945
	30	0,950	0,949	0,950	0,951
	32	0,910	0,927	0,932	0,902
	35	0,906	0,922	0,918	0,931
	40	0,925	0,946	0,903	0,938
Sacarose	25	0,479	0,482	0,495	0,488
	28	0,492	0,515	0,485	0,500
	30	0,510	0,511	0,512	0,509
	32	0,462	0,475	0,450	0,470
	35	0,416	0,422	0,428	0,412
	40	0,433	0,413	0,404	0,425

4.1.5. Comprimento de onda.

Obtiveram-se os espectros dos complexos para ter uma idéia em que comprimentos de onda obtinham-se máximas absorvâncias.

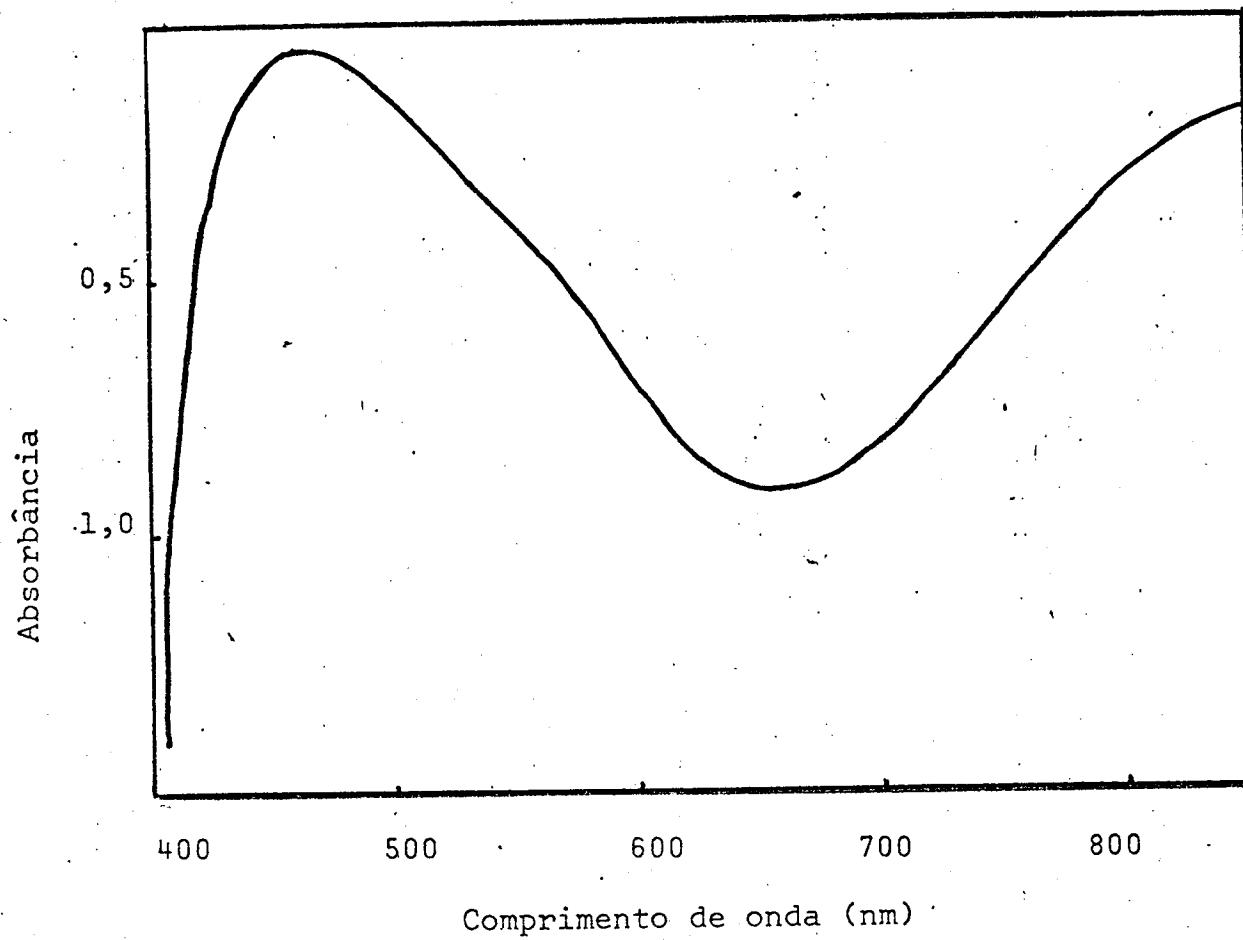


FIGURA 4. Espectro no visível do complexo de glicose em solução alcoólica alcalina de 0,10 N.

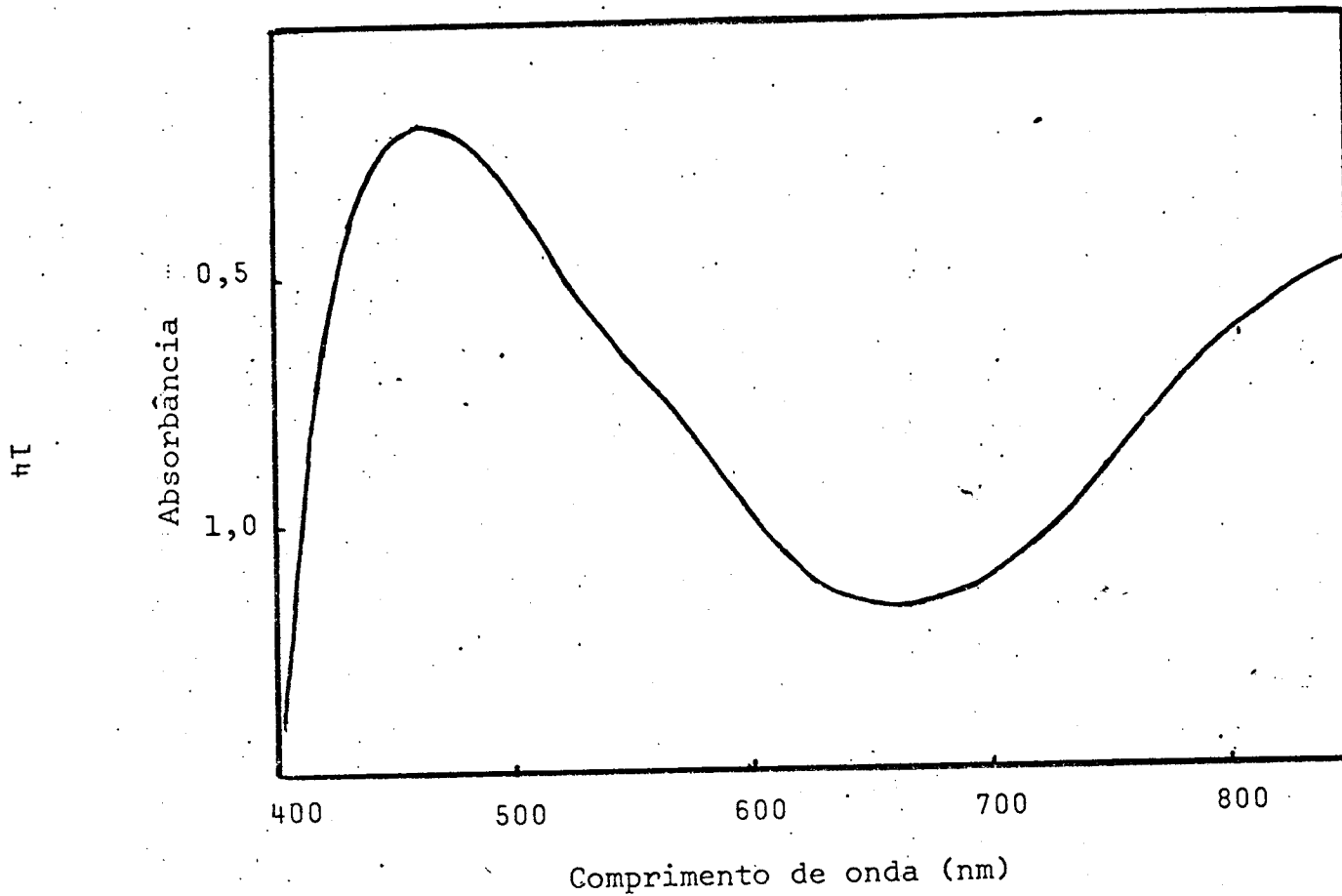


FIGURA 5. Espectro no visível do complexo de frutose em solução alcoólica alcalina de 0,50 N.

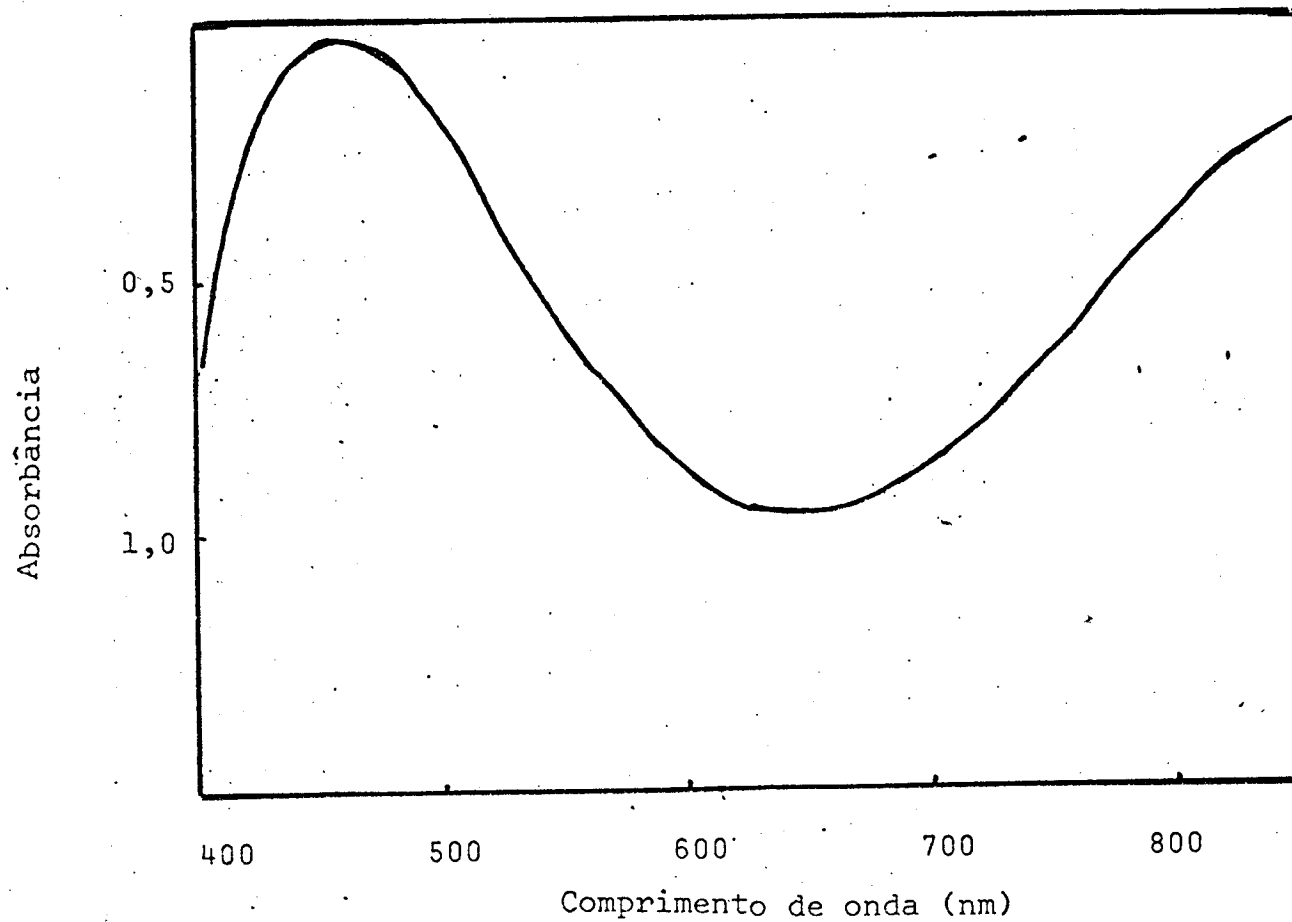


FIGURA 6. Espectro no visível do complexo de sacarose em solução alcoólica alcalina de 0,50 N.

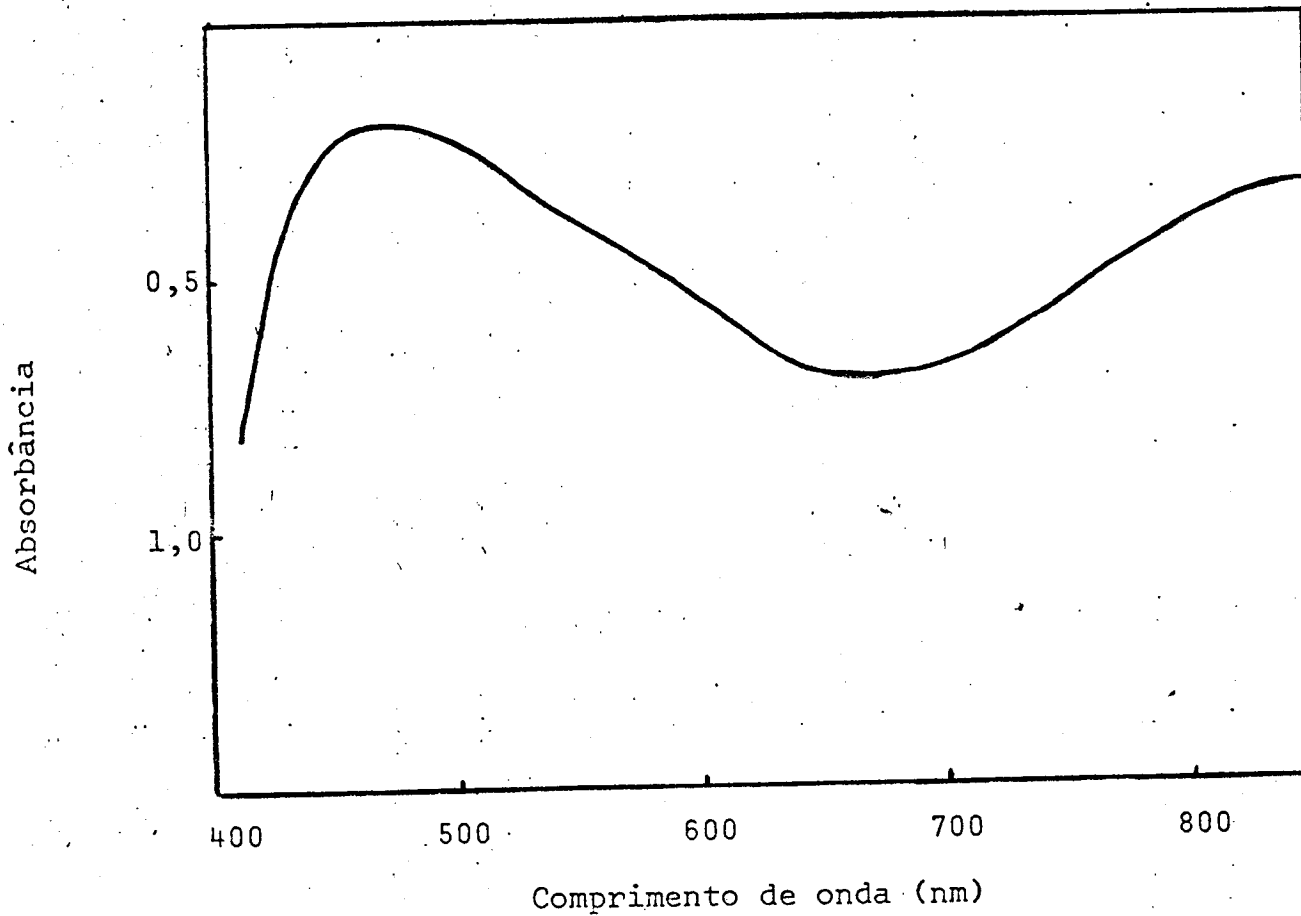


FIGURA 7. Espectro no visível do complexo de glucose em solução alcoólica alcalina de 1,10 N.

4.2. Comportamento das soluções dos complexos com a lei de Beer.

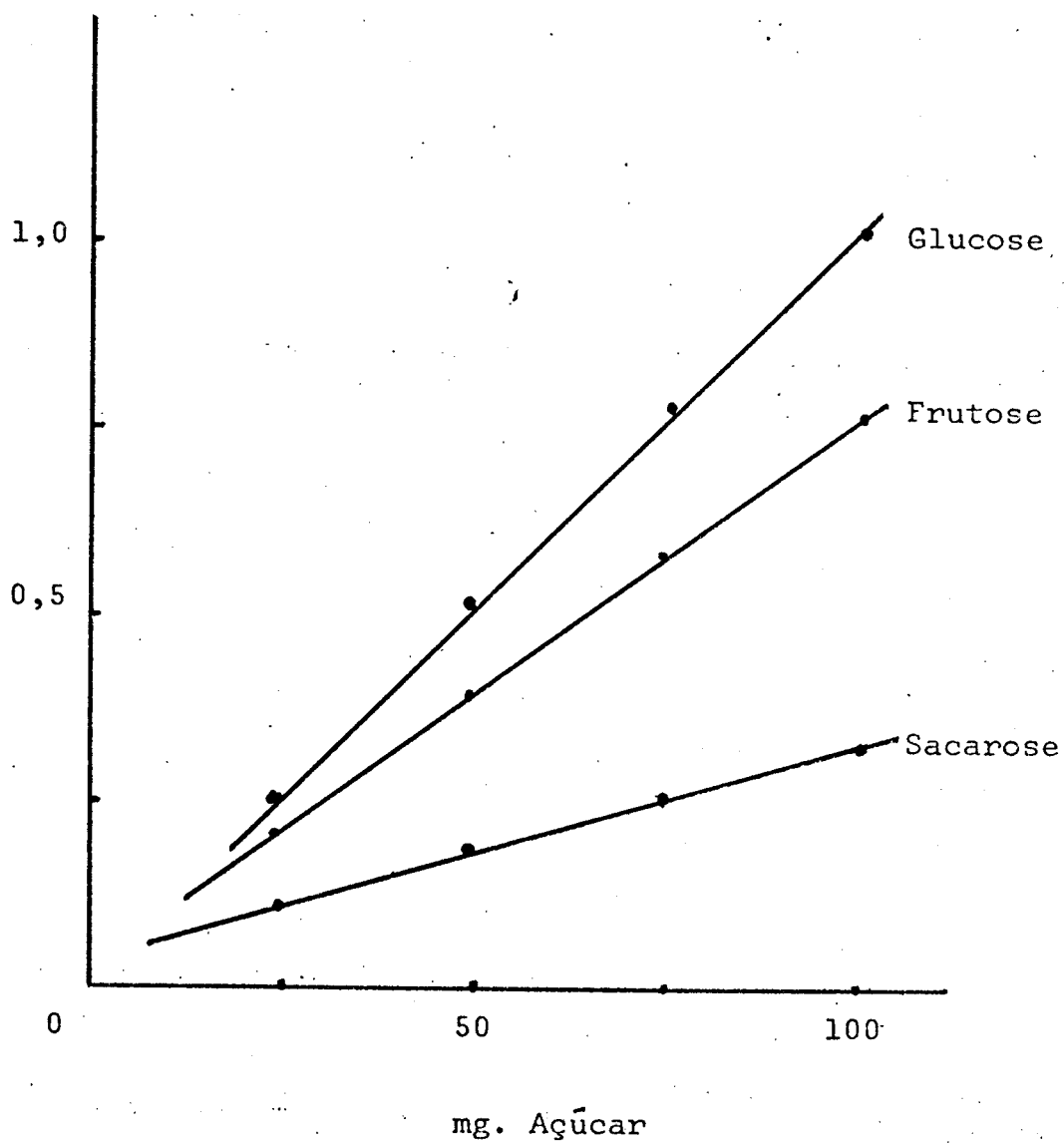
O estudo foi feito para encontrar concentrações da solução alcoólica alcalina, onde as soluções dos complexos (individuais e misturas) cumpriram com a lei de Beer.

4.2.1. Açúcares individuais.

QUADRO 4. Encontram-se as absorbâncias dos complexos, para diferentes concentrações dos açúcares, em solução alcoólica alcalina de 0,10 N, a quatro minutos de reação.

Açúcar	Quantidade (mg)	ABSORBÂNCIAS
Glucose	25,0	0,244
	50,0	0,507
	75,0	0,767
	100,0	1,02
Frutose	25,0	0,202
	50,0	0,384
	75,0	0,570
	100,0	0,766
Sacarose	25,0	0,091
	50,0	0,185
	75,0	0,245
	100,0	0,318

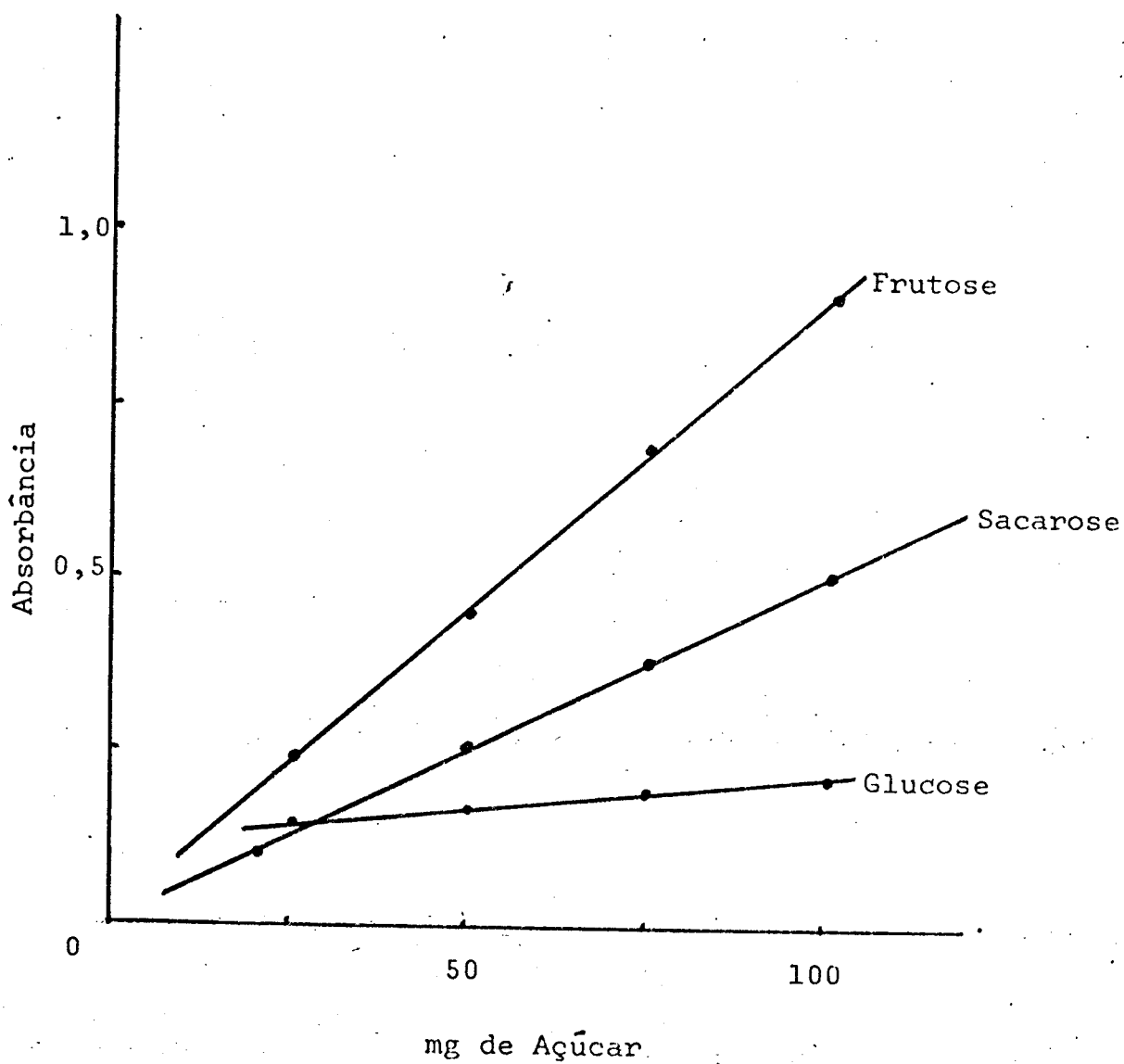
FIGURA 8. Absorbâncias dos complexos, para diferentes concentrações dos açúcares, solução alcoólica 0,10 N, conforme Quadro 4.



QUADRO 5. Encontram-se as absorvâncias dos complexos, para diferentes concentrações dos açúcares, em solução alcoólica alcalina de 0,50 N, a quatro minutos de reação.

Açúcar	Quantidade (mg)	ABSORVÂNCIAS
Glucose	25,5	0,144
	50,4	0,165
	75,2	0,192
	99,8	0,215
Frutose	20,5	0,242
	50,5	0,450
	75,1	0,689
	100,0	0,950
Sacarose	25,8	0,109
	50,2	0,269
	75,5	0,392
	100,0	0,511

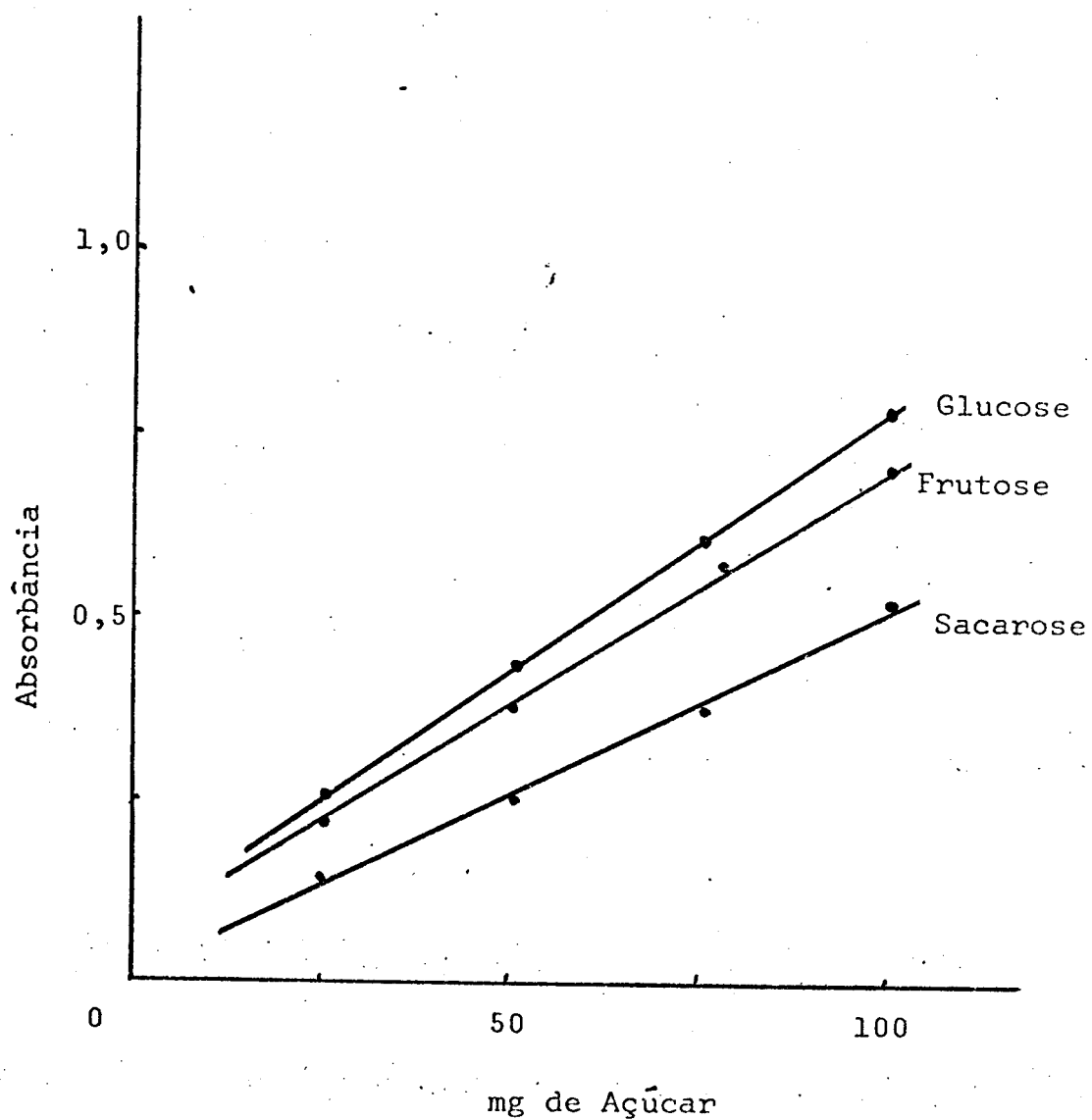
FIGURA 9. Absorbâncias dos complexos para diferentes concentrações dos açúcares, solução alcoólica 0,50 N, conforme Quadro 5.



QUADRO 6. Encontram-se as absorbâncias dos complexos para diferentes concentrações dos açúcares, em solução alcoólica alcalina de 1,10 N, a quatro minutos de reação.

Açúcar	Quantidade (mg)	ABSORBÂNCIAS
Glucose	25,2	0,242
	50,1	0,424
	75,6	0,594
	99,5	0,780
Frutose	25,0	0,208
	50,1	0,364
	75,4	0,596
	100,0	0,701
Sacarose	25,2	0,153
	50,5	0,336
	75,2	0,466
	100,0	0,532

FIGURA 10. Absorbâncias dos complexos para diferentes concentrações dos açúcares, solução alcoólica alcalina 1,10 N, conforme Quadro 6.

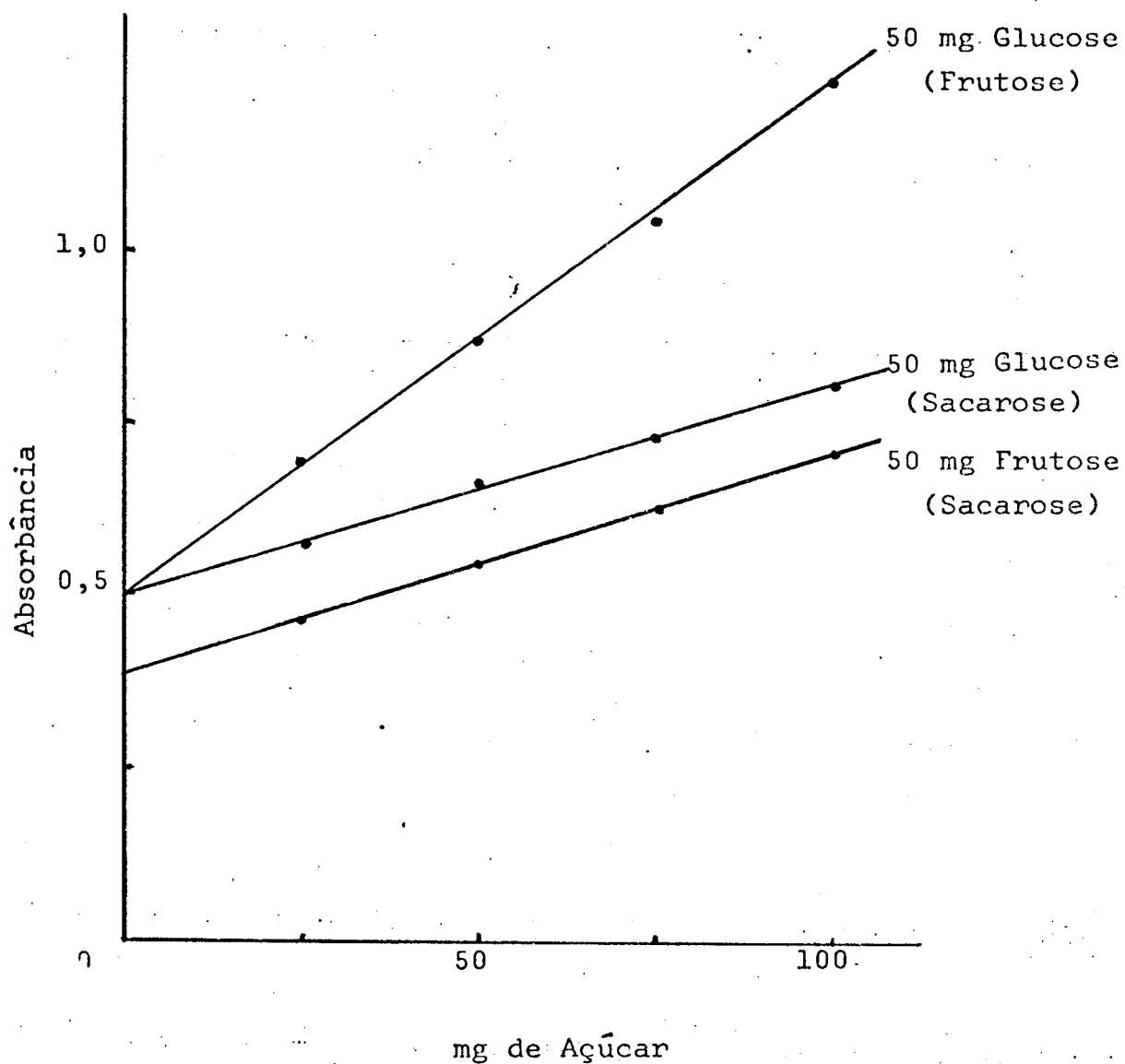


4.2.2. Mistura de açúcares.

QUADRO 7. Encontram-se as absorvâncias dos complexos das misturas de glucose (G), frutose e sacarose (S), em solução alcoólica alcalina de 0,10 N, a quatro minutos de reação.

Componentes das misturas (mg)	ABSORVÂNCIAS
50 G	0,496
50 G + 25 S	0,582
50 G + 50 S	0,682
50 G + 75 S	0,725
50 G + 100 S	0,808
50 G + 25 F	0,700
50 G + 50 F	0,873
50 G + 75 F	1,05
50 G + 100 F	1,25
50 F	0,384
50 F + 25 S	0,473
50 F + 50 S	0,568
50 F + 75 S	0,632
50 F + 100 S	0,705

FIGURA 11. Absorbâncias dos complexos de misturas dos açúcares, em solução alcoólica alcalina de 0,10 N, conforme Quadro 7.

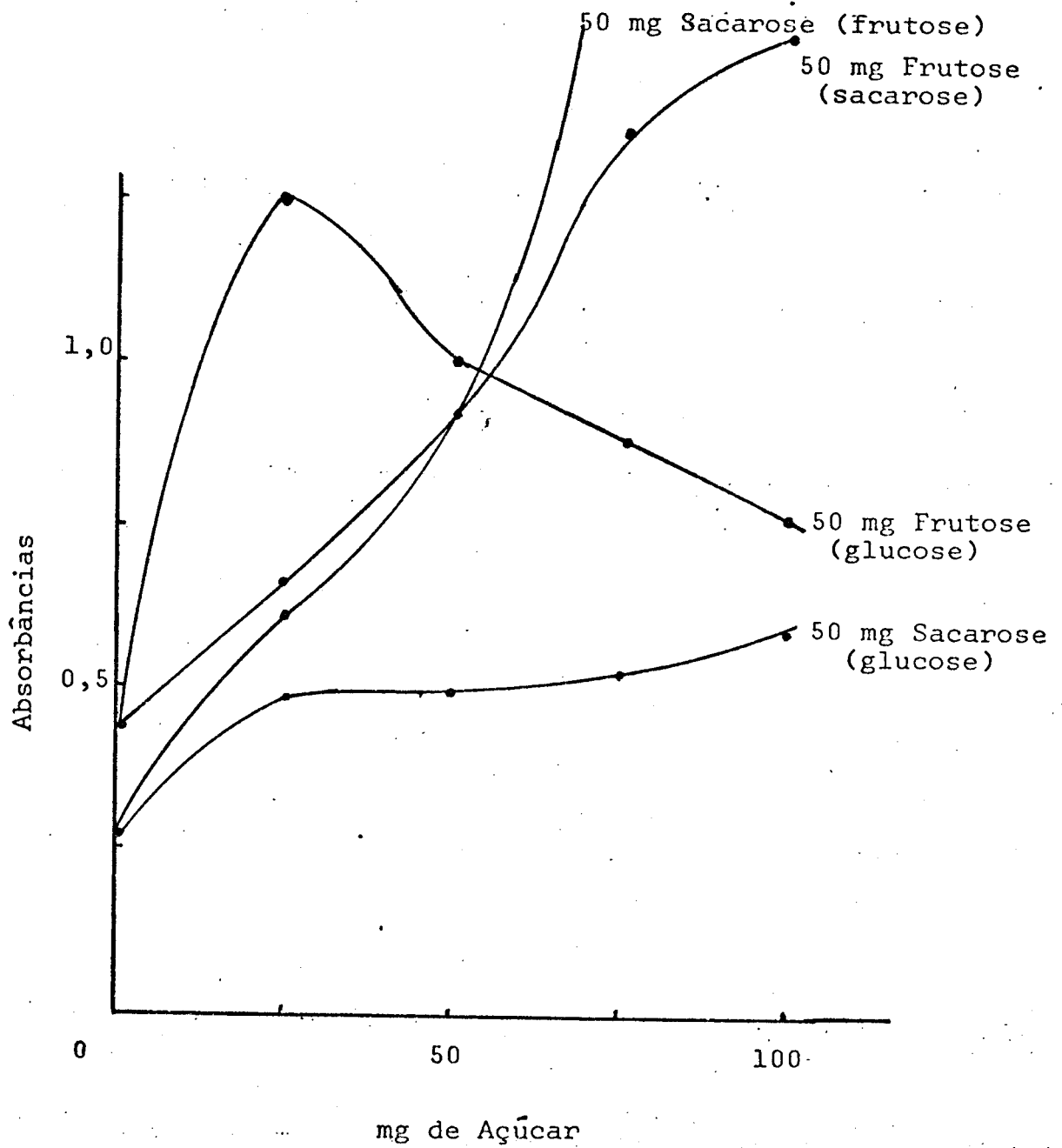


QUADRO 8. Encontram-se as absorvâncias dos complexos de misturas dos açúcares, em solução alcoólica alcalina de 0,50 N, a quatro minutos de reação.

Componentes das misturas (mg)	ABSORVÂNCIAS
50 S	0,268
50 S + 25	0,483
50 S + 50	0,500
50 S + 75	0,526
50 S + 100	0,596
50 S + 25	0,610
50 S + 50	0,925 (*)
50 S + 75	1,85 (*)
50 S + 100	+2,00 (*)
50 F	0,436
50 F + 25	1,25 (*)
50 F + 50	1,01 (*)
50 F + 75	0,896 (*)
50 F + 100	0,679 (*)
50 F + 25	0,661
50 F + 50	0,925 (*)
50 F + 75	1,36 (*)
50 F + 100	1,50 (*)

(*) - Observou-se reação na solução com apresentação de turvidez.

FIGURA 12. Absorbâncias dos complexos de misturas dos açúcares, em solução alcoólica alcalina de 0,50 N, conforme Quadro 8.

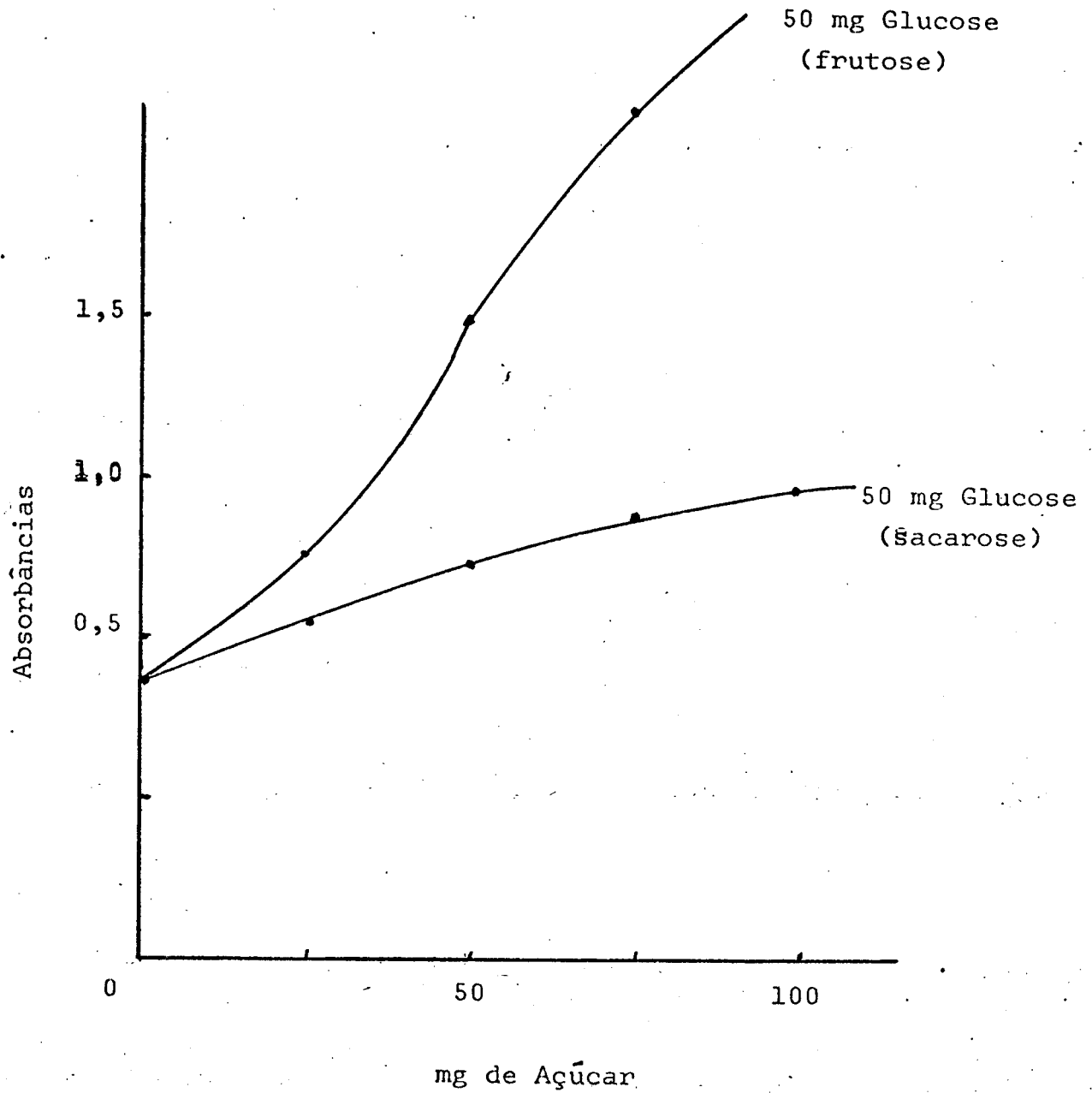


QUADRO 9. Encontram-se as absorbâncias dos complexos de misturas dos açúcares em solução alcoólica alcalina de 1,10 N, a quatro minutos de reação.

Componentes das misturas (mg)	ABSORBÂNCIAS
50 G	0,424
50 G + 25 S	0,539
50 G + 50 S	0,619
50 G + 75 S	0,698
50 G + 100 S	0,725
50 G + 25 F	0,635
50 G + 50 F	1,07 (*)
50 G + 75 F	1,34 (*)
50 G + 100 F	1,63 (*)

(*) - Observou-se reação no meio com apresentação de turvidez.

FIGURA 13. Absorbâncias dos complexos de misturas dos açúcares, em solução alcoólica alcalina de 1,10 N, conforme Quadro 9.



4.3. Análise dos complexos.

Este estudo foi feito para encontrar as possíveis estruturas que podem ter os complexos.

4.3.1. Determinação de cobre.

QUADRO 10. Encontram-se os dados obtidos na determinação de cobre, realizado conforme o método 3.5.

Solução	Absorção Atômica
Branco (0,50 N)	0,028
Branco (1,00 N)	0,166
Branco (1,10 N)	0,172
Glucose (0,10 N)	0,213
Glucose (1,10 N)	0,125
Frutose (0,50 N)	0,215
Sacarose (0,50 N)	0,115
Sacarose (1,00 N)	0,129

QUADRO 11. Encontram-se as absorvâncias obtidas das amostras padrões (3.2.4.), para a determinação de cobre.

Solução Padrão (P.P.M.)	Absorção Atômica
1	0,10
2	0,20
3	0,30
4	0,40
5	0,50
6	0,60
7	0,70
8	0,80
9	0,90
10	1,0

4.3.2. Determinação de carbonato.

QUADRO 12. Encontram-se os dados obtidos da determinação de carbonato, realizada conforme método 3.6.

Solução	Volumes de CO ₂				
	Determinações	1	2	3	Por meio
Branco (0,50N)		45	46	46	45,7
Branco (1,10N)		47	46	46	46,3
Glucose		53	53	53	53,0
Frutose		58	59	59	58,7
Sacarose		52	53	53	52,5

5. CÁLCULOS

5.1. Cálculos da determinação de cobre.

$$\frac{\text{absorção do complexo em solução}}{\text{absorção do branco da solução}} \times 1000 = \frac{\text{absorção do complexo}}{\text{absorção do branco da solução}} \times 100 = \text{absorção do complexo}$$

$$\text{absorção do complexo} \times 10^* = \text{p.p.m. de cobre}$$

(*) - O fator dez obtém-se do fato que a concentração de cobre é dez vezes maior que a absorção (ver Quadro 11 com dados de calibração).

$$\text{p.p.m.} \times \text{volume inicial} = \text{mg cobre}$$

$$\frac{\text{mg} \times 50 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = \text{mg cobre}$$

$$\frac{\text{m.mol de cobre}}{\text{m. mol do açúcar (em 100 mg)}} = \text{relação de mol de cobre por mol do açúcar}$$

Nos cálculos foram efetuadas correções dos brancos, para tirar a pequena quantidade de cobre que é solúvel na solução -

alcoólica alcalina.

Açúcar	Normalidade da solução	Relação de moles de cobre por mol do açúcar
Glucose	0,10	3,02
Glucose	1,10	0,50
Frutose	0,50	3,01
Sacarose	0,50	3,02
Sacarose	1,00	3,03

5.2. Cálculos da determinação de carbonato como foi descrito no método, o que determinou-se foi a quantidade de CO_2 que libera-se da reação de carbonato com HCl . Segundo a reação o número de moles de CO_2 liberado, é igual ao número de moles de carbonato presentes, pelo que os cálculos podem ser feitos com os dados obtidos com CO_2 .

$$\begin{array}{l} \text{ml de } \text{CO}_2 \text{ na} \\ \text{solução } 2 \text{ do} \\ \text{complexo} \end{array} - \begin{array}{l} \text{ml de } \text{CO}_2 \text{ na} \\ \text{solução } 2 \text{ do} \\ \text{branco} \end{array} = \begin{array}{l} \text{ml } \text{CO}_2 \text{ liberado} \\ \text{pelo complexo} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \text{número de moles} \\ \text{de } \text{CO}_2 \end{array} = N = \frac{VP}{RT} = \begin{array}{l} \text{moles de } \text{CO}_2 \end{array}$$

V = volume liberado

P = 1 atmosfera

T = 25°C

R = constante dos gases

Não foram feitas correções de solubilidade do CO_2 na água, já que é muito pequena (7).

Açúcar	Normalidade da Solução	Relação de moles de carbonato por mol de açúcar
Glucose	1,10	0,494
Frutose	0,50	0,959
Sucrose	0,50	0,779

5.3. Absortividade molar dos complexos.

A partir da lei geral de Beer calculou-se as absortividades por mol de açúcar de cada complexo nos comprimentos de onda que apresentam as máximas absorbâncias; estes dados foram obtidos dos espectros dos complexos.

Lei de Beer

$$A = \epsilon b c$$

$$\epsilon = \frac{A}{b \cdot c}$$

A = absorbância

ϵ = absortividade

b = largura da cubeta (l cm)

c = concentração (m mol/ml)

Açúcar	Comprimento de onda	Concentração	Absorbância	Absortividade
Glucose	660	0,010	0,92	92,0
Frutose	660	0,011	1,01	91,8
Sacarose	645	0,011	0,97	88,2

6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

6.1. Escolha do Procedimento.

Na estabilização das soluções dos complexos começou-se a trabalhar com soluções aquosas de NaOH, mais após passado um certo tempo apresentava-se um precipitado de óxido cuproso - pela descomposição do complexo. Este fato foi superado com o uso de soluções alcoólicas que estabilizavam o complexo, já que os alcoóis podem reagir com os grupos aldeídicos e cetônicos para formar semi-acetais, os quais são mais estáveis em soluções alcalinas (19).

A presença do álcool isopropílico introduzia uma nova variável com as já existentes num total de três, que são: tempo de agitação, concentração de NaOH e concentração do álcool isopropílico. Para poder fazer um estudo das condições ideais na estabilização, foi preciso fixar algumas delas.

6.1.1. Tempo de agitação.

O tempo de agitação determinou-se fixando arbitrariamente as concentrações de NaOH em 0,50 N, já que apresentou melhores resultados quando se trabalhava em soluções aquosas; o álcool isopropílico em 30% que é o empregado no método de Biureto (4) na determinação de proteínas por complexos de cobre.

Estes resultados encontram-se no Quadro 1 e na Figura 1, nos quais pode-se observar claramente, que ao redor de quatro minutos obtêm-se absorvâncias altas e muito constantes, pelo que o tempo de agitação foi fixado em quatro minutos.

6.1.2. Concentração de NaOH.

Com o tempo de agitação em quatro minutos e mantendo sempre a concentração do álcool isopropílico em 30%, traba

lhou-se em absorbâncias contra concentrações de NaOH. Estes resultados encontram-se no Quadro 2 e na Figura 2, onde observa-se que a glucose apresenta picos de absorbância em 0,10 N e 1,10 N, a frutose em 0,50 N, a sacarose em 0,50 N e 1,00 N. Estas concentrações de NaOH onde apresentam-se estes picos de absorbâncias foram fixados para o estudo dos complexos.

6.1.3. Concentração do álcool isopropílico.

Fixadas as variantes de tempo de agitação e concentrações de NaOH, resta estudar a influência da concentração do álcool isopropílico. Para isto empregaram-se concentrações de álcool isopropílico desde 25% até 40%, como pode-se observar no Quadro 3, onde 30% apresenta absorbâncias mais constantes, pelo que fixou-se como concentração ótima.

6.1.4. Comprimento de onda.

O comprimento de onda foi fixado a partir das Figuras 4, 5, 6 e 7, onde encontram-se os espectros dos complexos de glucose (0,10 N), frutose (0,50 N), sacarose (0,50 N) e glucose (1,10 N) respectivamente.

Estes complexos apresentam absorbâncias máximas na faixa de 645 nm até 665 nm, sendo ao redor de 660 nm o ponto onde encontram-se a maioria delas, pelo que este ponto fixou-se como referência, para fazer comparações.

6.2. Reação da solução alcoólica com os açúcares.

Na Figura 3 pode-se observar que a glucose apresenta diferentes absorbâncias, quando realiza-se uma agitação prévia com a solução alcoólica de NaOH a diferentes tempos para logo adicionar o carbonato básico de cobre. Este fato pode-se explicar com a possível reação dos alcoóis com os grupos aldeídicos e cetônicos da glucose e frutose respectivamente, formando semiacetais, os mais estáveis em soluções alcalinas (16). Este fato pode também explicar que a presença do álcool -

isopropílico aumenta a estabilidade dos complexos, retardando a aparição do óxido cuproso o qual provém dos grupos aldeídicos e cetônicos, já que são os mais fáceis de degradar (16).

6.3. Comportamento das soluções dos complexos com respeito à lei de Beer.

Um objetivo do trabalho foi tentar aplicar as soluções coloridas destes complexos em análises espectrofotométricas na determinação de misturas dos açúcares com que se trabalhou. Para isto tanto as soluções de complexos com açúcares individuais ou misturas delas tem que obedecer a lei de Beer.

6.3.1. Comportamento dos açúcares individuais.

Os Quadros 4, 5, 6 e as Figuras 8, 9 e 10 apresentam dados de absorbância contra concentrações dos complexos dos açúcares em soluções alcoólicas alcalinas em concentrações de 0,10, 0,50 e 1,10 respectivamente.

Os resultados obtidos estão de acôrdo com a lei de Beer, com pequenas variações, as quais não trazem problema no método, com exceção da que apresenta-se na glucose em concentração de 0,50 N. Nesta concentração não se cumpre a lei de Beer, mas este comportamento anormal também observa-se na Figura 2, já que a glucose apresenta um pico negativo de absorbância nas concentrações depois de 0,10 N até perto de 0,90 N, ao contrário dos outros açúcares.

6.3.2. Comportamento das misturas dos açúcares.

Os Quadros 7, 8 e 9 e as Figuras 11, 12 e 13 apresentam dados de absorbância dos complexos das misturas dos açúcares; (glucose, frutose e sacarose) em soluções alcoólicas alcalinas de 0,10, 0,50 e 1,10 respectivamente.

Dos resultados obtidos observa-se que somente quando se trabalha na concentração de 0,10 N, onde inclusive com misturas de três açúcares pode-se obter uma linha reta.

Nas outras concentrações apresenta-se problemas com turbidez, fato que é observado na literatura (8) para outros complexos em solução. Esta turbidez algumas vezes impossibilita obter leituras no espectrofotômetro.

Um outro problema que apresenta-se é a instabilidade dos complexos formados pelas misturas dos açúcares. Esta instabilidade poderá ser explicada pela ocorrência de uma reação de condensação entre os açúcares, formando-se um produto novo e diferente aos formados pelos açúcares individuais.

Um fato muito importante é a reação que acontece quando trabalha-se na preparação dos brancos em concentrações abaixo de 0,10 N. O carboneto básico de cobre reage no meio formando-se um precipitado preto possivelmente óxido cúprico, e um aumento da concentração de carbonato.



A importância deste fato, é que somente nesta faixa de concentração é que a lei de Beer cumpre-se para açúcares individuais e misturas destes.

6.4. Determinação de cobre e carbonato.

Nas determinações de cobre e carbonato nos complexos, obtiveram-se resultados proporcionais deles. Embora a ligação do carbonato ao complexo seja um fato que não foi comprovado, existe uma grande possibilidade que aconteça. Se analisarmos os dados obtidos destas determinações e o Quadro 13 para observar de uma forma melhor a relação que tem as diferentes partes determinadas, temos:

QUADRO 13.

	Normalidade de NaOH	mol de açúcar	mol de cobre	mol de carbonato	Relação $\text{CO}_3^{2-} / \text{Cu}^{2+}$
Glucose	0.10	1	3	-	-
Glucose	1,10	1	1,5	0,5	1/3
Frutose	0,50	1	3	1	1/3
Sacarose	0,50	1	3	1	1/3

A relação de carbonato e cobre é uma constante, o que aumenta a possibilidade de que o carbonato esteja ligado ao complexo.

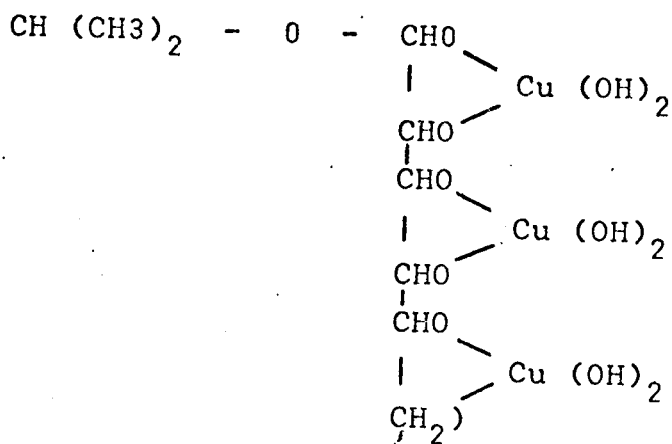
6.5. Discussão geral.

Para que formem-se os semiacetais, os açúcares (glucose e frutose) reagem com o anel aberto, já que esta configuração forma os grupos aldeídicos e cetônicos. São com estes grupos que o álcool reage. Além disso, a estrutura apresenta seis grupos oxidrila (-OH) onde podem-se ligar três átomos de cobre, mediante ligações covalentes ou iônicas. Estes últimos podem resultar devido que alguns hidrogênios são mais ácidos que outros, pelas diferentes atrações electrostáticas que exercem sobre eles.

Em nosso caso os enlaces iônicos, já que trabalha-se em um meio alcalino forte, os hidrogênios dos grupos oxidrilas serão

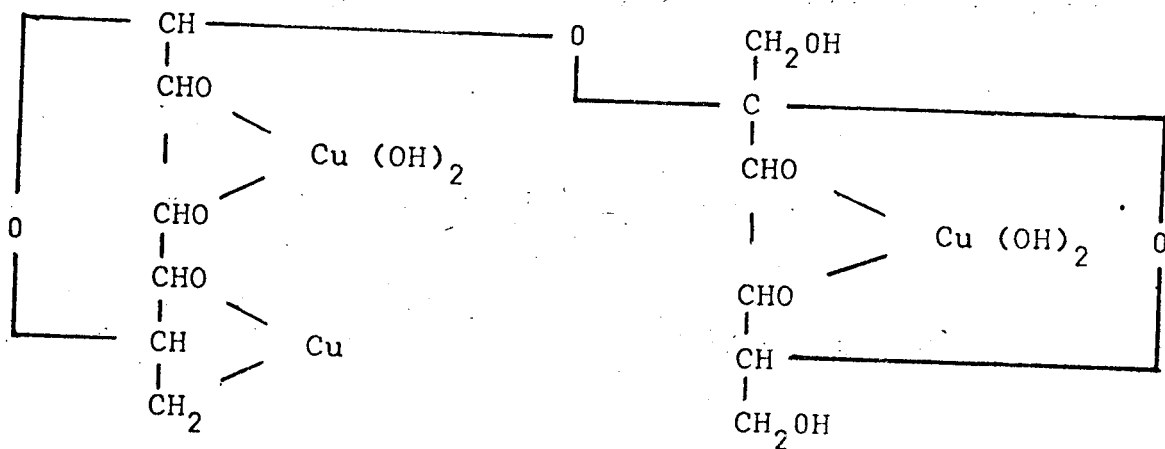
facilmente perdidos.

Dos fatos mencionados podem-se propôr possíveis estruturas para os complexos destes açúcares, assim para a glucose pode-se propôr a seguinte estrutura:



Para a frutose também podem-se propôr estruturas similares.

Com a sacarose, temos um caso diferente, já que a sua estrutura não apresenta a possibilidade de formar semiacetais ou seja, que o álcool funciona de uma maneira diferente porque o fato de aumentar a estabilidade do complexo também acontece. A literatura apresenta uma possível estrutura do complexo da sacarose (14).



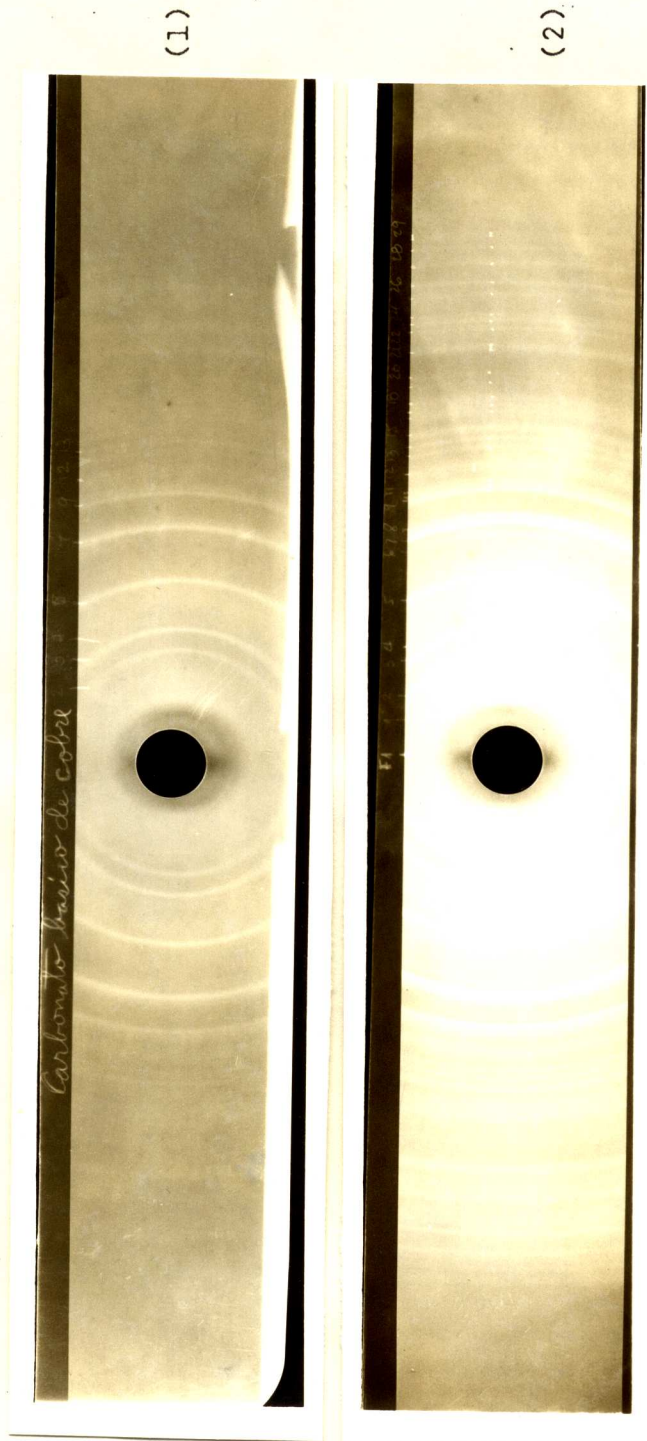
Existe a possibilidade da formação de estruturas com ligações do tipo C - O - Cu. Este fato pode acontecer, já que as soluções são bastante alcalinas e os açúcares tem um pk suficiente para poder serem encontrados em forma iônica na solução (21).

Açúcar	pk ₁	pk ₂
Glucose	12,09	13,85
Frutose	11,68	13,24
Sacarose	12,60	13,52

Um outro fato importante é que as absortividades molares destes complexos são quase constantes indicando um conteúdo de cobre igual, o que comprova as determinações feitas por absorção atômica.

Em 6.3.2. apresentou-se a reação do carbonato básico de cobre com a solução alcoólica alcalina de 0,10 N. A fórmula apresentada para o carbonato básico de cobre é a fórmula da malaquita, já que foi comprovado por difração de raios X que este reagente é basicamente malaquita, como pode-se observar nas fotografias das placas de difração

Placas de difração de raios X



- (1) Carbonato básico de cobre.
(2) Malaquita.

7. CONCLUSÕES

- a) O álcool isopropílico tem um fator muito importante na estabilização dos complexos estudados.
- b) O emprego de carbonato básico de cobre na síntese destes complexos, é mais vantajoso que os sais de amônia, já que os brancos deste não apresentam absorção considerável.
- c) O emprego das soluções alcoólicas alcalinas com seus respectivos brancos, dá a oportunidade de obter os espectros dos complexos puros.
- d) Encontrou-se que a solução alcoólica alcalina de 0,10 N pode ser empregada em análises quando se tem apenas um açúcar, já que com dois ou três açúcares precisa-se de informações adicionais.

8. BIBLIOGRAFIA

1. AASA, B., B.MALMSTOM, P. SALTMAN and T.VANNGARD (1974).
Magnetic resonance and susceptibly studies of fructose complexes with cooper and iron. *Biochimica et Biophysica*, 57:150-157.
2. BABKO, A.K. and A.I. PILIENCO (1971). *Photometric Analysis*.
Mir Publichers, Moscow.
3. DAVIS, P.S. and D.Y. DELLER (1966). Prediction and demonstration of from chelating ability sugars. *Nature*, 212 (5060).
4. DEACON, B.D. (1972). Rapid determination of protein in soybean meals. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 49 (11):660-661.
5. DEVEL, H. und H. NEWKON (1949). Wasserumlosliche kupfer-complexe von polisacchariden. *Agrikultur ches intitud der Eidg Eingegangen*, Am. 23. Juli.
6. *ENCYCLOPEDIA OF TECHNOLOGY* (1962). Kirk and Othmer Eds. Rayon, vol.11:536-538.
7. *INTERNATIONAL CRITICAL TABLES* (1933). Mc.Graw-Hill Book Company. New York and London.
8. JOHNSON, B.C. and A.M.SWANSON (1952). Milk serum proteins a quantative biruret test for milk. *J. Damy Sei*, 35: 823-828.
9. JOHNSON, R.M. and C.E. CRANEY (1971). Rapid bireret method for protein contentin grains cereal chem., 48(3): 276-282.
10. KARAPETIENTS, M.J. and S.I. DRAKIN (1974). Estructura de la materia. *Lera. ad. Editorial Mir, Moscú*.
11. KORT, M.J. (1970). Reactions of free sugar with aqueous ammonia. *Adav. in carbohyd. Chem. and Biochem.*, vol.25.

12. KRISHMA, B. and S.GHOSH (1959). Kinetic of redution of alkaline bivalente cupric by reducing sugar. Proc. Natl. Acad. Sci. India. Sect A 28, Pt 1:21-29.
13. KURZER, F. (1956). Birut and related compounds. Chem. Revie, 56:195-197.
14. LIESER, TH. und R..EBET (1937). Zur Kenntnis der Kohlenhydrate. Ann der Chemie 532, 89-94.
15. MOULIK, S.P. and A.K. MITRA (1973). Fundament studies and the interation of carbohydrates with alkaline-eart. Carb. Research, 28:371-377.
16. NOLLER, C.R. (1960). Chemistry of organic compounds. Second ed. W.B. Saunders Company. Philadelfia. London.
17. PARROD, Y. (1932). Transformation of sugar in ammoniacal medium at ordinary temperature. Soc. Chem., 51:1424-1435.
18. PINCKNEY, A.J. (1949). Wheat protein and the biuret reaction. Cereal Chem., 26(6):423-439.
19. RAKOF, H., N.C. ROSE (1974). Quimica Orgânica Fundamen- tal. 2 da. ed. Editorial Limusa, México.
20. REEVES, R.E. (1951). Cuprammonium Glycoside Complex. Adv. in Carb. Chem., Vol.6.
21. WEST, E.S., W.R. TODD, H.S. MASON J.T. VAN BRUGGEN. (1967). Biochemistry fourth ed. The Mac Millan Company, New York.