UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

COMPLEXOS DE COBRE E AÇÚCARES

Lúcia Maria Valente Soares
Engenheira Química

Orientador:
Dr. Frederick Carl Strong III

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

UNICAMP

ssif. T
or Ro 11c
Ex
mbo BC' 1826

CM-00033515-6

A Francisco

ÍNDICE

página

ÍNDICE DE TABELAS iv

ÍNDICE DE GRÁFICOS vi

RESUMO viii

SUMMARY xi

1. INTRODUÇÃO 1

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 4

2.1. Adutos e Alcoolatos 4

2.2. A Ligação Cobre-Carboidrato 7

2.3. Fatores Importantes na Formação de Complexos entre Açúcares e Cobre 8

2.3.1. O Meio 9

2.3.2. O Carboidrato 12

2.3.3. O Íon Cúprico 16

2.3.4. O Ânion 17

2.4. Isolamento de Complexos de Poliois e Metais 17

2.5. Constantes de Estabilidade 19

2.6. O Espectro Infravermelho de Carboidratos 21

3. MATERIAL E MÉTODOS 24

3.1. Reagentes 24

3.2. Equipamento 25

3.3. Determinação da Umidade dos Açúcares 26

3.4. Determinação de Cobre 26

página

3.5. Determinação de Sódio 27

3.6. Determinação da Absorbância dos Complexos em Diferentes Concentrações de Hidróxido de Sódio 28

3.7. Isolamento do Complexo Manitol-Cobre 31

3.8. Isolamento do Complexo Glucose-Cobre 31

3.9. Espectroscopia Infravermelha dos Complexos Isolados 31

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 32

4.1. Solubilidade do Carbonato Básico de Cobre 32

4.2. Absorbância dos Complexos de Cobre e Açúcares em Diferentes Concentrações de Hidróxido de Sódio Alcoólico. 35

4.3. Concentração de Cobre nas Soluções dos Complexos 43

4.4. Relação Cobre-Absorbância nas Soluções dos Complexos 46

4.5. Constantes de Estabilidade 49

4.6. Fórmulas dos Complexos em Solução 56

4.6.1. Proporção de Átomos de Cobre por Molécula de Açúcar 56

4.6.2. Fórmulas dos Complexos em Solução 56

4.6.3. Comparação dos Modelos com os Resultados Experimentais 60

4.7. A Interação dos Complexos Glucose-Cobre e Frutose-Cobre 75

4.8. O Efeito do Isopropanol 81

página

4.9. Os Complexos Isolados 84

4.9.1. Teor de Cobre e Sódio 84

4.9.2. Espectro Infravermelho 84

5. CONCLUSÕES 90

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 93

7. BIBLIOGRAFIA 95

ÍNDICE DAS TABELAS

página

TABELA 1. Solubilidade e Absorbância do Carbonato Básico de Cobre. 33

TABELA 2. Aparência da Parte Sólida nas Misturas de Hidróxido de Sódio Alcoólico e Carbonato Básico de Cobre. 37

TABELA 3. Absorbâncias dos Complexos dos Monossacarídeos com Cobre em Hidróxido de Sódio Alcoólico. 38

TABELA 4. Absorbância dos Complexos dos Oligossacarídeos com Cobre em Hidróxido de Sódio Alcoólico. 39

TABELA 5. Concentrações de Cobre nas Soluções dos Monossacarídeos em Hidróxido de Sódio Alcoólico. 44

TABELA 6. Concentrações de Cobre nas Soluções dos Oligossacarídeos em Hidróxido de Sódio Alcoólico. 45

TABELA 7. Cálculo das Concentrações dos Açúcares. 53

TABELA 8. Cálculo de K_1 e K_2 para Glucose em 0,010 e 0,025 N de Hidróxido de Sódio. 54

TABELA 9. Cálculo das Constantes de Estabilidade dos Complexos Contendo um Átomo de Cobre. 55

página

TABELA 10. Proporção de Átomos de Cobre por Molécula de Monossacarídeo Presente Inicialmente em Solução. 57

TABELA 11. Proporção de Átomos de Cobre por Molécula de Oligossacarídeo Presente Inicialmente em Solução. 58

TABELA 12. Fórmulas Propostas para os Complexos em Solução com o Número Máximo de Átomos de Cobre. 59

TABELA 13. Absorbância de Misturas dos Complexos Glucose-Cobre e Frutose-Cobre. 76

TABELA 14. Comparação entre as Absorbâncias Calculadas e as Encontradas para Misturas dos Complexos de Glucose-Cobre e Frutose-Cobre. 80

ÍNDICE DOS GRÁFICOS

		página
GRÁFICO 1.	Solubilidade do Carbonato Básico de Cobre em Diferentes Concentrações de Hidróxido de Sódio com 30% Isopropanol.	34
GRÁFICO 2.	Absorbância dos Complexos dos Monossacarídeos com Cobre em Hidróxido de Sódio Alcoólico.	40
GRÁFICO 3.	Absorbâncias dos Complexos de Oligossacarídeos com Cobre em Hidróxido de Sódio Alcoólico.	41
GRÁFICO 4.	Absorbância dos Complexos dos Monossacarídeos como uma Função da Concentração de Cobre nos Complexos.	47
GRÁFICO 5.	Absorbâncias dos Complexos de Oligossacarídeos como uma Função da Concentração de Cobre nos Complexos.	48
GRÁFICO 6.	Absorbância das Misturas dos Complexos de Glucose-Cobre e Frutose-Cobre Mantendo a Proporção de Glucose Constante.	77
GRÁFICO 7.	Absorbância das Misturas dos Complexos Glucose-Cobre e Frutose-Cobre Mantendo a Proporção de Frutose Constante.	78

página

GRÁFICO 8. Espectros Infravermelhos da Glucose e do Complexo Glucose-Cobre. 86

GRÁFICO 9. Espectros Infravermelhos do Manitol e do Complexo Manitol-Cobre. 87

RESUMO

Pouco tem sido pesquisado a respeito de complexos de cobre e açúcares. O interêsse por complexos de açúcares e metais tem aumentado nas áreas de química e bioquímica devido a necessidade de entender melhor as reações que ocorrem ao nível celular e em outros sistemas complexos tais como alimentos. Os poucos trabalhos realizados sobre complexos de cobre e açúcares envolvem, com uma exceção, soluções cuproamoniacais aquosas. Sabe-se no entanto que uma parcela importante das trocas celulares tem lugar em ambiente não aquoso. Há também uma escassez na literatura de informações de como esses complexos são formados e sobre suas propriedades físicas e químicas.

O presente trabalho tem como objetivo estudar o comportamento de dez açúcares e um poliálcool, diante de carbonato básico de cobre, em meio alcoólico-aquoso e alcalino. Para tanto foram medidas as absorbâncias das soluções dos complexos em diferentes concentrações de hidróxido de sódio. O teor de cobre nestas soluções foi determinado e a relação cobre-açúcar encontrada foi comparada com as observações feitas com os modelos atômicos. Constantes de estabilidade foram calculadas para comparar a afinida-

de dos açúcares pelo cobre. Em dois casos, glucose e manitol, os complexos foram isolados, analisados para cobre e sódio e o espectro infravermelho registrado.

Os teores de cobre por molécula de açúcar, quando correlacionados com modelos, mostram que qualquer par de oxidrilas, vizinhas ou não, pode quelar o cobre, desde que estejam suficientemente próximas e que não haja impedimento estérico. Os pares constituídos por oxidrilas secundárias intra-resíduo o fazem com mais facilidade e mais fortemente. Os pares de oxidrilas secundárias inter-resíduos e de oxidrilas primárias intra e inter-resíduos, com mais dificuldade e menos estabilidade.

As constantes de estabilidade para os complexos formados indicam a seguinte ordem crescente de afinidade pelo cobre: celobiose, rafinose, glucose, lactose, galactose, maltose, sacarose, manitol, L-sorbose, frutose e manose. O complexo de glucose e cobre isolado a 0,050 e 0,100 N NaOH e o do manitol e cobre isolado a 0,100 N NaOH apresentaram teores de cobre de 36,07, 37,16 e 43,46% respectivamente. Os espectros infravermelhos destes complexos mostraram-se bastante semelhantes entre si e contrastantes com os espectros dos açúcares originais. Os primeiros exibiram bandas comuns em 3400, 2910, 1595, 1030, 900 e 765 cm^{-1}. As bandas de

1375 e 1030 cm^{-1} foram atribuídas, respectivamente, a uma não resolução das bandas de deformação dos grupos C-O e a uma não resolução das bandas de estiramento dos grupos C-O.

SUMMARY

Little research has been conducted on sugar-copper complexes. Workers in chemical and biochemical areas have shown increasing interest in sugar-metal complexes in the last decade. The reason behind this interest is the need to better understand the reactions which take place at cell level and in other complex systems such as foods. The rather few works on sugar-copper complexes which have been conducted involved, with one exception, aqueous cuprammonium solutions. It is known however that a large proportion of cell exchanges takes place in non-aqueous media. There is also a lack of information in the literature on how these complexes are formed and on their physical and chemical properties.

The present work has the objective of observing the behavior of ten sugars and a poly-alcohol in the presence of basic copper carbonate in alkaline alcoholic-aqueous media. With this purpose, the solutions of the complexes at different NaOH concentrations have been measured for absorbance. Also, the copper content has been determined and the ratio of copper atoms to sugar molecule correlated with the observations made with the models of the

complexes. Constants of stability were calculated to compare the affinity of the different sugars for the copper. In two cases, glucose and manitol, the complexes were isolated, analyzed for copper and sodium and the infrared spectra recorded.

Studying the capacity of the sugar molecules for copper with models showed that probably any hydroxyl pair, neighboring or not, can chelate the copper, provided that they are sufficiently close and that no steric hindrance exists. The pairs consisting of secondary intra-residue hydroxyls link themselves mores easily and strongly to the copper. The pairs involving inter-residue secondary hydroxyls and intra or inter-residue primary hydroxyls do so with greater difficulty and less stability.

The calculated stability constants for the copper-sugar complexes indicate the following increasing order of affinity for the copper: cellobiose ,raffinose, glucose, lactose, galactose, maltose, sucrose, mannitol,L-sorbose, frutose e mannose.The copper content of the glucose-copper compound isolated at 0,050 and 0,100 N NaOH and of the manitol-copper compound isolated at 0,100 N NaOH were 36,07, 37,16 and 43,46% respectively. Their infrared spectra resembled each other closely and differed considerably from the spectra of the original sugars. The former spectra had bands at 3400, 2910,

1595, 1375, 1030, 900 and 765 cm^{-1}. The bands at 1375 and 1030 were attributed respectively to non-resolution of the bands due to bending of the C-O group and to non-resolution of the bands due to stretching of the C-O groups.

1. INTRODUÇÃO

O estudo de complexos de açúcares e metais está despertando atualmente muito interesse em vários campos da ciência, principalmente na área biológica, em virtude de indicações recentes da importância dos açúcares no transporte de metais (1). É também digno de nota que o ambiente das membranas celulares é em grande parte não aquoso e que quelatos desta natureza se formam com mais facilidade em meios de constante dielétrica mais baixa que a água - (2).

Em alimentos, as implicações dos complexos de metais e açúcares são amplas envolvendo o aspecto nutricional e as reações que ocorrem durante o processamento, além da possibilidade de sua utilização no desenvolvimento de novos métodos para determinar açúcares.

Com relação ao cobre, os poucos trabalhos publicados, com uma exceção (1), relatam o uso de meios aquosos amoniacais (3),(4). De uma maneira geral as informações sobre as condições de formação destes complexos e suas propriedades químicas e físicas, são inexistentes ou escassas.

Márquez (5) observou uma maior complexação de glucose, frutose e sacarose com cobre em meio alcalino com 30% isopropanol do que em meios alcalinos aquosos ou com outras concentrações de isopropanol. Márquez escolheu carbonato básico de cobre como fonte de metal, devido à sua pouca solubilidade em soluções alcalinas, o que beneficia as medidas da absorbância dos complexos. Sais solúveis de cobre absorvem bastante no mesmo comprimento de onda que o quelato, tornando difícil obter brancos que contenham o mesmo teor de cobre não complexado que exista na solução. Estabeleceu-também 660 nm como o comprimento de onda de absorbância máxima para o complexo e um tempo ótimo de reação de 4 minutos entre o açúcar e o carbonato básico de cobre.

Seguindo esta mesma linha de trabalho, procurou-se observar a formação dos complexos de cobre com dez açúcares comuns e um hexitol em soluções de diferentes concentrações de hidróxido de sódio com 30% isopropanol. Os açúcares empregados foram D-glucose, D-frutose, D-manose, D-galactose, L-sorbose, D-celobiose, D-maltose, sacarose, D-lactose e rafinose. O hexitol escolhido foi o D-manitol e foi acrescentado para servir de comparação com os açúcares. Por simplicidade, no texto, o manitol será mencionado como um dos açúcares.

A determinação de cobre ligado ao açúcar em solução permite um

exame através de modelos atômicos dos possíveis pontos de ligação do metal na molécula. Este tipo de estudo é necessário tanto para lançar alguma luz sobre a estrutura dos complexos como sobre a reatividade do açúcar diante do metal. Os açúcares entre si podem ainda ser diferenciados na sua abilidade de quelar o cobre com o cálculo de constantes de estabilidade. Além destas, o isolamento de complexos é outra medida útil que possibilita a determinação de propriedades, tais como, o espectro infravermelho e a análise química.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Complexos de cobre e poliois começaram a ser pesquisados nos meados deste século. Em 1937 Lieser e Ebert (4) relataram o isolamento de complexos de cobre com vários açúcares a partir de hidróxido cúprico em meio amoniacal. Em 1940 Kubota (6) publicou seus estudos sobre a formação de quelatos de glicerina, manitol e outros poliois com cobre em soluções de hidróxido de sódio. Em 1940, Reeves (7) utilizou soluções cuproamoniacais para determinar as conformações favoritas de vários metil-glicosídeos em solução.

Nesta revisão estão incluídos os trabalhos com poliois em geral e outros metais além do cobre, visto que boa parte do que se conhece sobre os mesmos pode ser estendido,por correlação, ao sistema-cobre-açúcar.

2.1. Adutos e Alcoolatos

Rendleman (8) distinguiu dois tipos de complexos entre metais e açúcares, os adutos e os alcoolatos, definidos pelas reações I e II, respectivamente:

$$ROH + MB \rightleftharpoons ROH{:}MB \qquad (I)$$

$$ROH + MB \rightleftharpoons ROM + HB \qquad (II)$$

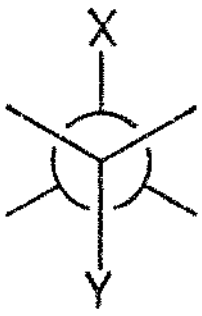
onde ROH representa o carboidrato e MB, o sal de metal monovalente. O alcoolato é formado quando o sal ou base tem condições de abstrair o próton da oxidrila. No caso do aduto isto não ocorre . Rendleman (2) isolou alcoolatos partindo de hidróxidos de metais alcalinos e carboidratos em meio alcoólico. Nestas condições conseguiu um produto com cerca de 15% de adutos. A precipitação foi quase quantitativa e a titulação do álcool com ácido mostrou que 99% do sódio havia sido perdido. A determinação de água no álcool, usando infravermelho a 1,94μm, mostrou que 92% da água teórica havia sido formada e que somente traços de hidróxido permaneciam . Identificou como adutos, aqueles produtos isolados que produziam-água em presença de ácido tartárico anidro, segundo a reação abaixo:

$$2\ MOH.nROH + C_4H_6O_6 \longrightarrow 2\ M^+ + 2\ H_2O + C_4H_4O_6^{--} + 2n\ ROH$$

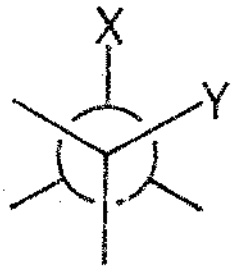
A água formada pode ser determinada pela titulação de Karl Fisher. Alcoolatos não formariam água nas mesmas condições. Para obter exclusivamente adutos foi necessário empregar mais de 10% de água-no meio. Infelizmente, o método empregado não distingue entre alcoolatos hidratados e adutos.

Angyal (9) detectou a formação de complexos entre poliois e sais-de metais diversos em meio aquoso e pH neutro. Nestas condições -

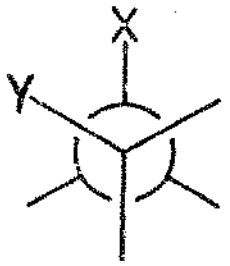
fica afastada a possibilidade de abstração de prótons hidroxílicos. Fez uso de eletroforese em papel e ressonância nuclear magnética. Partindo dos seus resultados, postulou que para haver complexação, o poliol cíclico precisa conter três oxidrilas na conformação favorita, ou numa sequência axial-equatorial-axial ou axiais e do mesmo lado do anel. Um poliol acíclico, por sua vez, deve ter três oxidrilas vizinhas num arranjo M, P que seria o equivalente à sequência axial-equatorial-axial numa cadeia aberta. A notação A, M, P é usada para facilitar a descrição da conformação de cadeias acíclicas. Considerando X e Y como substituintes, que no caso de açúcares são oxidrilas, temos:



A



M



P

Dividiu os cátions em três grupos: os de raio iônico inferior a 0,6 Å se mostraram incapazes de ligação com os poliois, os de raio superior a 0,8 Å complexaram-se bem e os de raio intermediário ,

entre 0,6 e 0,8 Å, faixa que inclui o cobre, só se ligaram a polióis que possuiam o arranjo tri-axial. Suas conclusões portanto indicam que o cobre não seria capaz de formar adutos com os açúcares comuns. Note-se que os raios iônicos mencionados correspondem à metade dos valores dados por Pauling (10). As observações de Angyal de espectros de ressonância nuclear magnética apontam que dos três átomos de oxigênio envolvidos na ligação, pelo menos um pode pertencer a um grupo acetal ou éter.

2.2. A Ligação Cobre-Carboidrato

Reeves (7), no seu trabalho com metil glicosídeos em soluções cuproamoniacais, estabeleceu que o cobre complexa em meio básico com grupos oxidrila que estejam a uma distância de 2,51 a 2,86 Å. Esta condição é preenchida por duas oxidrilas em carbonos vizinhos que formem entre si um ângulo de 0° a 60° ou por oxidrilas não vizinhas que sejam mantidas a esta distância pela conformação da molécula.

Fica a questão de quantos átomos de cobre uma molécula de carboidrato pode acomodar. Aasa et al. (1) varreram os espectros de soluções de frutose em D_2O com um sal de cobre a pH 7,5 em ressonância do spin eletrônico (E.S.R) e ressonância nuclear magnética (N.M.R). Seus resultados foram considerados coerentes com um complexo formado por um átomo de cobre e duas moléculas de

frutose.

Lieser e Ebert (4), trabalhando com hidróxido de cobre em meio aquoso amoniacal, isolaram uma série de complexos com as seguintes porcentagens de cobre:

	% cobre
Monossacarídeos:	
Glucose, Galactose, Frutose	38,8-40,6
Dissacarídeos:	
Maltose, Lactose, Sacarose	30,4-32,9
Trissacarídeos:	
Rafinose	30,1

Pfeiffer et al. (11), usando meio alcalino e hidróxido cúprico, obtiveram um precipitado com o manitol, cuja análise elementar indicou a fórmula $(C_6H_{11}O_6Cu)Na$, 1,5 H_2O.

Reeves (12), mesmo utilizando excesso de glicois, não conseguiu evidência de que um íon cupramônio se combine com dois grupos glicólicos.

2.3. Fatores Importantes na Formação de Complexos entre Açúcares e Cobre

Ao tentar entender o que ocorre na ligação entre cobre e açúcar devemos considerar vários aspectos: o meio em que se processa a reação, o carboidrato, o íon cúprico e o ânion.

2.3.1. O Meio

O meio de reação apresenta duas facetas a serem examinadas: a constante dielétrica e o pH.

O conceito de Bjerrum (13), relativo à formação de complexos, assume a existência de pares de íons não polarizáveis de carga-oposta e que as forças que agem entre eles são de origem puramente coulombianas e dependentes da constante dielétrica macroscópica do meio. Este é um conceito que provavelmente não descreve tudo o que ocorre mas certamente encerra parte da verdade.

Rendleman (14) encontrou que as velocidades de migração eletroforética para complexos entre carboidratos e cátions metálicos-são maiores em meios alcoólicos que em aquosos. Este deslocamento na eletroforese não depende somente do grau de complexação - mas também da constante de dissociação do sal no meio, do tamanho da molécula do carboidrato e da proporção em que o metal e o carboidrato estão combinados. O fato, porém, oferece uma boa indicação de que a complexação se dá mais facilmente em meios alcooli

cos. Rendleman (2) apontou igualmente que o efeito de sais de metais alcalinos na rotação ótica de carboidratos é maior em álcool que em água.

Roy e Mitra (15) usaram sulfóxido de metila, N,N-dimetilformamida, p-dioxano, metanol, etanol e água para obter e isolar aduztos de D-glucose e maltose com metais alcalino-terrosos. Conseguiram um melhor rendimento em 80% metanol.

Moulik e Khan (16) mostraram que o 1,4-dioxano apresenta um forte efeito inibidor da complexação, quando comparado com etanol. Concluiram que isto poderia indicar a necessidade da presença de solventes hidroxílicos para assegurar a formação de complexos entre açúcares e metais.

Roberts e Rowland (17) compararam a reatividade das oxidrilas nas posições C-2, C-3 e C-6 em celulose, amido e metil glicosídeos, perante cloreto de 2-dietilaminoetila, em meio aquoso e em p-dioxano. Encontraram que a reatividade das oxidrilas se modifica em meios de diferentes polaridades. Para os carboidratos em questão, as oxidrilas na posição C-2 apresentaram uma proporção maior de substituintes que as da posição C-6 em p-dioxano, ocorrendo o oposto em meio aquoso. A proporção da posição C-3 permaneceu inalterada.

O pH do meio tem um papel importante tanto na formação de com - plexos como na proporção ligante-metal. Um exemplo clássico é o do ácido sulfosalicílico e íons cúpricos, estudado por Turner e Anderson (18). Estes autores demonstraram a existência de dois complexos em solução medindo a absorbância a 700nm. Um formado- a pH 5 e com a razão de 1:1 em cobre/ácido e o outro formado a pH 9 com a proporção de 1:2. Neste intervalo de pH, as medidas- de absorbância resultaram intermediárias, revelando a presença- de uma mistura destas duas formas.

Roberts et al. (19) trataram metil-D-glucopiranosídeos com clo- reto de N,N-dietilaziridina em diferentes molaridades de hidróxido de sódio, tanto com força iônica variável como constante. Encontraram que a reação nos grupos oxidrila em C-2, C-3 e C-4 diminue com o aumento da concentração da base e que no grupo - oxidrila do C-6 permanece constante. Nem a variação da força - iônica nem a da concentração do reagente alteraram esta distribuição. Com base nestes resultados, sugeriram que a reatividade do grupo hidroxila do C-6 se encontra reprimida por uma forte capa de solvente, enquanto que a oxidrila do C-2 tem sua reatividade acentuada pela proximidade do grupo hemiacetal em C-1. A acidez dos grupos oxidrila de uma molécula de carboidrato se apresentaria na seguinte ordem decrescente: C-2>C-3>C-4.

Este trabalho indica que a reatividade das diversas oxidrilas é dependente do pH e mais especificamente da concentração da base.

Um pH elevado causa dissociações nas oxidrilas dos poliois como indicam os pKs seguintes (20):

	pK(18°C)
D-Glucose	12,43
D-Manitol	13,50
D-Sorbitol	13,57

Ocorrem também, depois de certo tempo, rearranjos e reações de degradação alcalina. Quanto à relação entre a elevação de pH e a conformação dos açúcares em solução, espectros de ressonância nuclear magnética de soluções de carboidratos em D_2O, às quais alcali foi adicionado, mostraram-se consistentes com a idéia de que a maioria das moléculas permanece na conformação de anel C-1, independentemente do pH (21).

2.3.2. O Carboidrato

Não vamos discutir as conformações assumidas por açúcares em solução, assunto já bastante conhecido e revisado. Poliois , no entanto, que não possam formar anéis tais como polialcoóis ,

apresentam uma série de conformações possíveis em solução. Recentemente, Mills (22) analisou estereomodelos de poliois com mais de 7 carbonos e deduziu que os mesmos em solução deveriam adotar uma conformação favorita com relação a outras possíveis. Concluiu também que esta seria distendida sempre que não houvesse possibilidade de oxidrilas em posições relativas 1,3 ficarem paralelas. Caso isto ocorresse, a cadeia dobraria para fugir à interação entre os átomos de oxigênio.

Horton et al. (23) estudaram as conformações assumidas por aldopentoses acetiladas em clorofórmio por ressonância nuclear magnética e concluiram que as moléculas apresentam as cadeias distendidas, a menos que ocorram interações 1,3.

Angyal et al. (24) chegaram à mesma conclusão, examinando aldi - tois livres em D_2O por ressonância nuclear magnética, na presença de quantidades variáveis de nitrato de európio.

Quanto à possibilidade do poliol modificar sua conformação por uma mais apropriada para ligar-se a um íon metálico, Kroplien - (25) notou que, aparentemente, todos os monossacarídeos contendo 3 grupos oxidrila adjacentes com uma orientação axial-equatorial-axial, na conformação favorita, ou que apresentavam alta propor-

ção de furanoses no equilíbrio, eram fortemente retardados na passagem por uma coluna de alumina. Os que não possuiam estas condições somente mostraram uma interação pronunciada com alumina de basicidade mais alta.

Angyal (9) observou que todos os hexitois formam complexos com cátions mas que a extensão da complexação indicada pela mobilidade eletroforética varia consideravelmente. Por rotação em torno das ligações C-C, qualquer poliol pode adquirir um arranjo M, P para suas oxidrilas, porém a energia necessária dependerá de sua conformação original. Tratando-se de moléculas cíclicas não notou, na maioria dos casos, mudança nas constantes de acoplamento nos espectros de ressonância nuclear magnética nos complexos comparados com as moléculas livres. As exceções aconteceram quando a proporção de complexos era alta com relação aos poliois livres. Deduziu que normalmente a conformação das moléculas não altera com a complexação e que a ligação a um íon metálico não provê energia suficiente para uma inversão cadeira - cadeira.

Em outro trabalho, Angyal e Bethell (26) mostraram, utilizando dicroismo circular, que o conteúdo ceto das hexuloses e hemiacetais é aumentado por substituintes no carbono-α que atraiam eletrons. Apontou ainda que os aldeídos exibem uma tendência -

maior para formar hemiacetais que cetonas. Misturas em equilíbrio de aldoses, em soluções aquosas,contêm somente quantidades diminutas de formas aldeído. Cetoses, no entanto, incluem uma proporção detectável da forma ceto, de acordo com medidas em ultravioleta, da dispersão da rotação ótica ou de dicroismo circular.

Haines et al. (27) opinaram que compostos cíclicos, contendo um arranjo favorável de átomos de oxigênio, seriam ligantes mais eficientes que compostos acíclicos contendo uma sequência estrutural semelhante de átomos. Isto porque no último caso, a geometria favorita para complexação poderia ser obtida somente em umas poucas das muitas conformações possíveis para estas moléculas.

Rendleman (14) observou deslocamentos semelhantes para o D-glucitol e a α-D-glucose em eletroforese, na presença de iodeto de potássio em etanol. Concluiu que carboidratos não precisam ser cíclicos para possuirem uma alta capacidade ligante.

Moulik e Khan (28), por sua vez, não foram capazes de obter evidência da complexação do D-glucitol e do D-manitol com sódio em soluções de cloreto de sódio por medidas de condutância.

2.3.3. O Íon Cúprico

O número de coordenação do cobre é comumente 4 mas, 2,5 e 6 também podem ocorrer. Em solução, o íon cúprico está solvatado por 6 moléculas de água (29).

A forma em que o íon se encontra em solução é importante. Em soluções cuproamoniacais (12), por exemplo, a evidência indica que o cobre se liga somente a um grupo glicol pois mesmo em presença de excesso de glicois altamente reativos não há reação entre dois glicois e um único íon cupramônio. Já diante de alcalis, um único íon cúprico pode se combinar com dois glicois (11), mesmo com amônia presente.

No caso do carbonato básico de cobre sendo empregado neste trabalho, experiências realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos desta Faculdade, indicam que em meio aquoso o íon cúprico se encontra sob a forma de $Cu(OH)_3^-$, nas concentrações de hidróxido de sódio de 0,05 a 0,3N e na forma de $Cu(OH)_4^{--}$ na faixa de 0,4 a 3,5 N. Precipitação de óxido cúprico ocorre na faixa de 0,3 a 0,4 N, não restando praticamente cobre em solução (30).

McDowell e Johnston (31) observaram a solubilidade do hidróxido-cúprico em soluções de hidróxido de potássio na faixa de 0,04 a 8 N. Encontraram que $Cu(OH)_4^{--}$ predomina sobre $Cu(OH)_3^-$ mesmo em so

luções abaixo de 0,1 N KOH.

2.3.4. O Ânion

Rendleman (14) relatou que haletos de metais alcalinos formam adutos com a proporção de carboidrato para sal de 2:1 com mais facilidade que os acetatos correspondentes. Os acetatos nas mesmas condições que os haletos, ou seja em excesso com relação ao carboidrato, dão origem preponderantemente ao aduto 1:1. Encontrou também que a velocidade de migração dos complexos durante eletroforese em metanol depende do ânion. Para sais de sódio, a velocidade cresceu na ordem: NaCl<NaBr<NaI. Estes ânions apresentam a mesma ordem crescente com relação aos graus de dissociação dos seus sais em metanol.

2.4. Isolamento de Complexos de Polios e Metais

Pfeiffer et al. (11) obtiveram um complexo de manitol e cobre com o seguinte procedimento: dissolveram 3 g de manitol em 30 ml de água com 0,7 g de hidróxido de sódio e 1 g de hidróxido cúprico. Aqueceram a mistura a 165-166°C, filtraram e adicionaram 30 ml de metanol e 20 ml de éter para precipitar o complexo. Secaram o precipitado sobre hidróxido de potássio em dessecador a vácuo. A análise elementar indicou ser $(C_6H_{11}O_6Cu)$ Na, 1,5 H_2O a fórmula do produto isolado.

Lieser e Ebert (4) tentaram ligar todos os grupos glicólicos , disponíveis nos açúcares, com cobre. Para isto juntaram 2 a 5 ml de solução de amônia a 10% ou 5% e 0,3 g de hidróxido cúprico a 0,2 g de açúcar. Deixaram reagir por uma hora agitando - frequentemente. Centrifugaram o hidróxido cúprico que não dissolveu. Recolheram o sobrenadante a parte e nele precipitaram-o complexo com metanol. Em alguns casos acharam necessário adicionar também éter. Lavaram o precipitado com metanol até eliminar qualquer traço de amônia. A secagem foi feita a vácuo, a temperatura ambiente.

Rendleman (14) isolou adutos de carboidratos e sais de metais-alcalinos preparando soluções etanólicas separadas do sal e do carboidrato, misturando-as em seguida. O aduto insolúvel-em etanol, precipitava. Algumas vezes usou também éter, com esta finalidade. O produto isolado era então lavado com etanol e seco a vácuo, a 25°C. Em geral o número máximo de ligantes por cátion metálico que conseguiu foi de 2:1. Em outros casos 1:1. Encontrou também que um aumento na concentração do sal originava uma maior proporção de metal para carboidrato. Rendleman-(2) conseguiu igualmente obter alcoolatos de carboidratos e metais alcalinos, dissolvendo o ligante em um pequeno volume de 2-pirrolidinona ou N-metil-2-pirrolidinona e acrescentando, go

ta a gota, uma solução etanólica do hidróxido do metal alcalino. Caso o complexo permanecesse solúvel, éter era adicionado. Separou os precipitados por centrifugação ou filtração, lavando-os com etanol e secando-os a 25°C a 1 mm Hg por 16 horas.

Roy e Mitra (15) informaram o isolamento de complexos de maltose e glucose com metais alcalino-terrosos. Usaram soluções 44 mM do açúcar em 80% metanol que adicionavam em porções de 10 ml a uma solução 44 mM da base a 5°C. Após 30 minutos separavam, por centrifugação, o precipitado formado. O produto era então lavado com etanol a 99%. Obtiveram adutos com proporções 1:1 de metal para carboidrato, qualquer que fosse a quantidade de base empregada.

2.5. Constantes de Estabilidade

Constantes de estabilidade têm sido calculadas em poucos trabalhos envolvendo complexos de poliois e metais. Isto ocorre porque as atividades dos cátions complexados são desconhecidas e em muitos dos casos, a estequiometria também.

Angyal (32) deduziu constantes de equilíbrio para complexos de D-alose com vários cátions metálicos (Na, Mg, Ca, Sr, Ba, Pb, Sn, Yb, La). As constantes não são termodinâmicas pois foram

empregados os valores das concentrações sem considerar as atividades. Além disto, encontrou indicações da formação, em altas concentrações, de complexos 1:2 além de 1:1 na proporção metal/poliol. No entanto, utilizou seus resultados como indicativo da capacidade destes cátions em formar complexos.

Moulik e Khan (16) calcularam constantes de estabilidade de complexos de D-arabinose, D-frutose, D-glucitol, D-glucose, D-manitol, L-sorbose, D-xilose e sacarose com LiOH, NaOH, KOH, $Ba(OH)_2$, $Ca(OH)_2$ e $Sr(OH)_2$. Para tanto mediram a condutância de soluções muito diluídas do carboidrato e da base, supondo as atividades iguais à unidade, nestas condições.

Reeves (12) tomou medidas de absorbância a 650 nm e 350 nm, de rotação ótica e de condutividade de soluções cuproamoniacais contendo D-manosana. Com as primeiras medidas calculou a constante de estabilidade para este complexo, de valor $2,5 \times 10^3$ a 25^oC. Assumiu uma associação bimolecular:

$$\text{manosana} + \text{cupra} \rightleftharpoons (\text{manosana.cupra})$$

Com este valor para a constante de equilíbrio construiu um gráfico da concentração do complexo versus concentração da manosana li

vre. Os resultados obtidos por outros métodos concordaram com a curva calculada. É interessante notar que não lhe foi possível conseguir dados sobre a cinética da reação porque o equilíbrio já havia sido alcançado mesmo quando as medidas foram-feitas após um minuto da mistura dos reagentes.

2.6. O Espectro Infravermelho de Carboidratos

A interpretação das bandas em espectros de carboidratos, trabalho reconhecidamente difícil, tem sido feita em grande parte correlacionando-as com bandas encontradas em compostos mais simples, como por exemplo, o tetrahidropirano. Um outro método que tem sido útil é o de comparar bandas relacionadas com a disposição do carbono anomérico e cujas frequências permanecem invariáveis em muitos compostos. Spedding (33) publicou a seguinte interpretação para bandas de açúcares com anéis piranosídicos:

	Número de ondas (cm^{-1})
Vibração antisimétrica do anel	917 ± 13
Vibração simétrica do anel, tipo "breathing"	770 ± 14

	Número de onda (cm^{-1})
Vibração de natureza não identificada do grupo anomérico inteiro quando o hidrogênio ligado ao carbono está na posição equatorial	844 ± 8
Vibração de natureza não identificada do grupo anomérico inteiro quando o hidrogênio ligado ao carbono está na posição axial	891 ± 7
Deformação de C-H equatorial não anomérico	880 ± 8

Além disto, as bandas entre 1200 e 1500 cm^{-1} são atribuídas à deformação de oxidrilas no plano ou deformação de CH e CH_2. A faixa de 1060 a 980 cm^{-1} é correlacionada com estiramentos de C-O talvez combinados com estiramentos de C-C. Finalmente duas bandas próximas a 1110 e 1120 cm^{-1} são consideradas devidas, a primeira, a estiramentos C-O e, a segunda, a uma vibração do anel.

A interpretação do espectro do manitol foi feita por Szymanski (34) que atribuiu as bandas de 980 a 1050 cm^{-1} a estiramento da

ligação C-O primária, as de 1050 a 1100 cm^{-1} a estiramento da ligação C-O secundária e as de 1160 a 1500 cm^{-1} a deformação de OH.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Reagentes

Reagentes	Fabricante
D-Glucose, D-Frutose, D-Galactose, D-Manose, D-Manitol, L-Sorbose, D-Celobiose, Anidras.	Sigma Chemical Company
Lactose monohidratada	Sigma Chemical Company
Sacarose, anidra	Reagen Indústrias Químicas
Maltose, monohidratada	E.Merck
D-Rafinose, pentahidratada	Sigma Chemical Company
Carbonato Básico de Cobre	Fisher Scientific Company
Ácido Clorídrico concentrado	Carlo Erba
Cloreto de Cobre,bi-hidratado	Queel
Isopropanol, comercial (redestilado no laboratório)	-
Hidróxido de Amônia	J.T.Baker

Reagentes	Fabricante
Metanol, comercial (Redestilado no laboratório)	-
Éter Etílico	Reagentes Ecibra
Cloreto de Sódio	Reagentes Ecibra

3.2. Equipamento

Equipamento	Modelo/Fabricante
Espectrofotômetro visível e ultra-violeta	PMQ II - Carl Zeiss
Centrífuga refrigerada	RC2-B - SORVALL
Agitador mecânico	V - New Brunswick Scientific Co., Inc.
Espectrofotômetro de absorção atômica	SP-2 - UNICAM
Espectrofotômetro infravermelho	267 - Perkin Elmer
Aparelho de Karl Fisher	E 408 A - Metrohm

Equipamento	Modelo/Fabricante
Modelo atômico para coordenação de metais de Fisher, Taylor e Hirschfelder	Fisher Scientific Co.

Equipamento de uso comum de laboratório: balança analítica, termômetro, erlenmeyers, tubos de ensaio, pipetas, balões volumétricos, provetas, béqueres, etc.

3.3. Determinação da Umidade dos Açúcares

A umidade dos açúcares foi determinada pelo método de Karl Fisher. Os açúcares insolúveis em etanol foram dissolvidos em formamida (35).

3.4. Determinação de Cobre

Para as determinações de cobre foi usado o espectrofotômetro de absorção atômica. As soluções, cujo teor de cobre se desejava conhecer, foram diluídas ou não, conforme a necessidade. Foram feitas curvas padrão com soluções de 1,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0 e 25,0 ppm de cobre preparadas a partir de cloreto cúprico bi-hidratado. A estas soluções, foram acrescentados volumes de isopropanol e hidróxido de sódio suficientes para igualar as concentra -

ções desses reagentes nas amostras. Foram também adicionados 2 ml de hidróxido de amônio por 100 ml, nos padrões e nas amostras , quando diluídas. Amostras sólidas foram dissolvidas em água destilada e ácido clorídrico 0,1N. Os padrões foram preparados com as mesmas proporções de ácido clorídrico.

Condições de operação do instrumento:

Comprimento de onda	=	324,8 nm
Abertura da fenda	=	0,1 mm
Gás	=	acetileno
Altura do queimador	=	1,0 cm
Vazão do gás	=	1000 cm^3/min
Vazão do ar	=	5,0 l/min

3.5. Determinação de Sódio

Para as determinações de sódio foi usado o espectrofotômetro de absorção atômica. As amostras sólidas foram dissolvidas em ácido clorídrico 0,1N e água destilada. Foram preparados padrões de 1,0, 3,0, 5,0 e 10,0 ppm de sódio e com a mesma concentração de ácido clorídrico que as amostras.

Condições de operação do instrumento:

Comprimento de onda	=	589,0 nm
Abertura da fenda	=	0,08 mm
Altura do queimador	=	1,0 cm
Gás	=	acetileno
Vazão do gás	=	1000 cm^3/min
Vazão do ar	=	5 l/min

3.6. Determinação da Absorbância dos Complexos a Diferentes Concentrações de Hidróxido de Sódio.

Foi empregado um espectrofotômetro na faixa visível do espectro. As leituras foram feitas a 660 nm, comprimento de onda estabelecido por Márquez (5) como de absorbância máxima para complexos - de cobre e açúcar em meio alcalino.

Foram usados os açúcares: D-glucose, D-frutose, D-galactose, D-manose, L-sorbose, D-maltose, D-celobiose, D-lactose, sacarose e D-rafinose. A este grupo foi acrescentado o D-manitol, para comparação.

A concentração das soluções de hidróxido de sódio variou de 0,010 a 1,000 N com 30% de isopropanol. Márquez (5) apontou a ocorrên-

cia da maior absorbância dos complexos em meio alcalino, em 30% isopropanol. Absorbâncias menores são conseguidas em meios aquosos ou em meios com concentrações diferentes do mesmo álcool. Todas as vezes que forem mencionadas soluções de hidróxido de sódio, deve-se entender que estas contém 30% isopropanol, a menos que se especifique o contrário. As soluções foram padronizadas com ftalato ácido de potássio.

As soluções de hidróxido de sódio foram refrigeradas a 5°C. A centrífuga foi também usada a 5°C. Estas foram precauções tomadas para evitar a oxidação dos açúcares redutores pelo cobre, durante o período necessário para completar a determinação (cerca de 30 minutos). Pode-se dizer que estas determinações foram realizadas a 5°C porque o espaço de tempo em que a solução de cada complexo esteve sem refrigeração foi curto (4 minutos para agitação e durante a leitura no espectrofotômetro).

Para a determinação foram pesadas 100 mg do açúcar, 0,5 g do carbonato básico de cobre e transferidas para um erlenmeyer de 250 ml. Foram adicionados 50 ml da solução de hidróxido de sódio. A mistura foi agitada por 4 minutos em um agitador mecânico. Este foi o tempo de reação estabelecido como ótimo por Márquez (5). Seguiu-se uma centrifugação a 15000 rpm por 10 minu -

tos a 5°C. Foi lida a absorbância do sobrenadante a 660 nm em cubetas de 1 cm de espessura. Todas as determinações foram feitas em duplicata exceto os brancos, para os quais foram realizadas 6 repetições.

3.7. Isolamento do Complexo Manitol-Cobre

Foram pesadas 300 mg de manitol e 1,5 g de carbonato básico de cobre e transferidos para um erlenmeyer de 500 ml. Foram adicionados 150 ml de solução 0,1 N NaOH com 30% isopropanol. A mistura foi agitada por 4 minutos no agitador mecânico e a seguir - centrifugada a 15.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi separado e deixado em repouso por 24 horas. Formou-se um gel azul- que se depositou no fundo do bequer. Este gel foi filtrado em papel de filtro qualitativo usando vácuo. O filtrado mostrou-se incolor e transparente. O gel foi recolhido para um bequer e sus - penso em água destilada e filtrado novamente. Esta lavagem foi feita 5 vezes, após as quais a água de lavagem apresentou um pH de 7,5. O gel não se dissolveu n'água. Foi recolhido para um pesa-filtro e seco a 60°C em estufa a vácuo (27 mm Hg) durante a noite. Foi então moído em almofariz de ágata e novamente levado- à estufa, nas condições já descritas, até peso constante. O gel deixado na solução de hidróxido de sódio mais que um dia dissolve parcialmente, não sendo mais possível separá-lo por filtra - ção.

3.8. Isolamento do Complexo Glucose-Cobre

400 mg de glucose e 1,5 g de carbonato básico de cobre foram suspensas em 50 ml de NaOH 0,1 N com 30% isopropanol. A mistura foi agitada por 4 minutos em agitador mecânico e centrifugada 10 minutos a 15.000 rpm. O sobrenadante foi separado para um bequer. Foram adicionados 50 ml de isopropanol. A precipitação ocorreu imediatamente. Foi feita uma centrifugação a 15.000 rpm por 10 minutos. O precipitado foi suspenso em água e centrifugado cinco vezes para eliminar o hidróxido de sódio. Foi seco em estufa a vácuo (27 mmHg) a 60°C até peso constante.

3.9. Espectros Infravermelho dos Complexos Isolados

Os espectros dos complexos foram varridos num espectrofotômetro infravermelho. As amostras foram preparadas sob a forma de pastilhas de brometo de potássio.

Condições de Operação do Instrumento:

Velocidade de varredura	=	média
Programa de aberturas	=	5
Constante de tempo	=	1

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Solubilidade e Absorbância do Carbonato Básico de Cobre em Diferentes Concentrações de Hidróxido de Sódio.

A formação de complexos pode ser observada com a variação do pH do meio. As diferenças de comportamento dos açúcares diante dos íons de cobre aparecem quando a absorbância dos seus complexos é medida em soluções de diferentes concentrações de sódio.

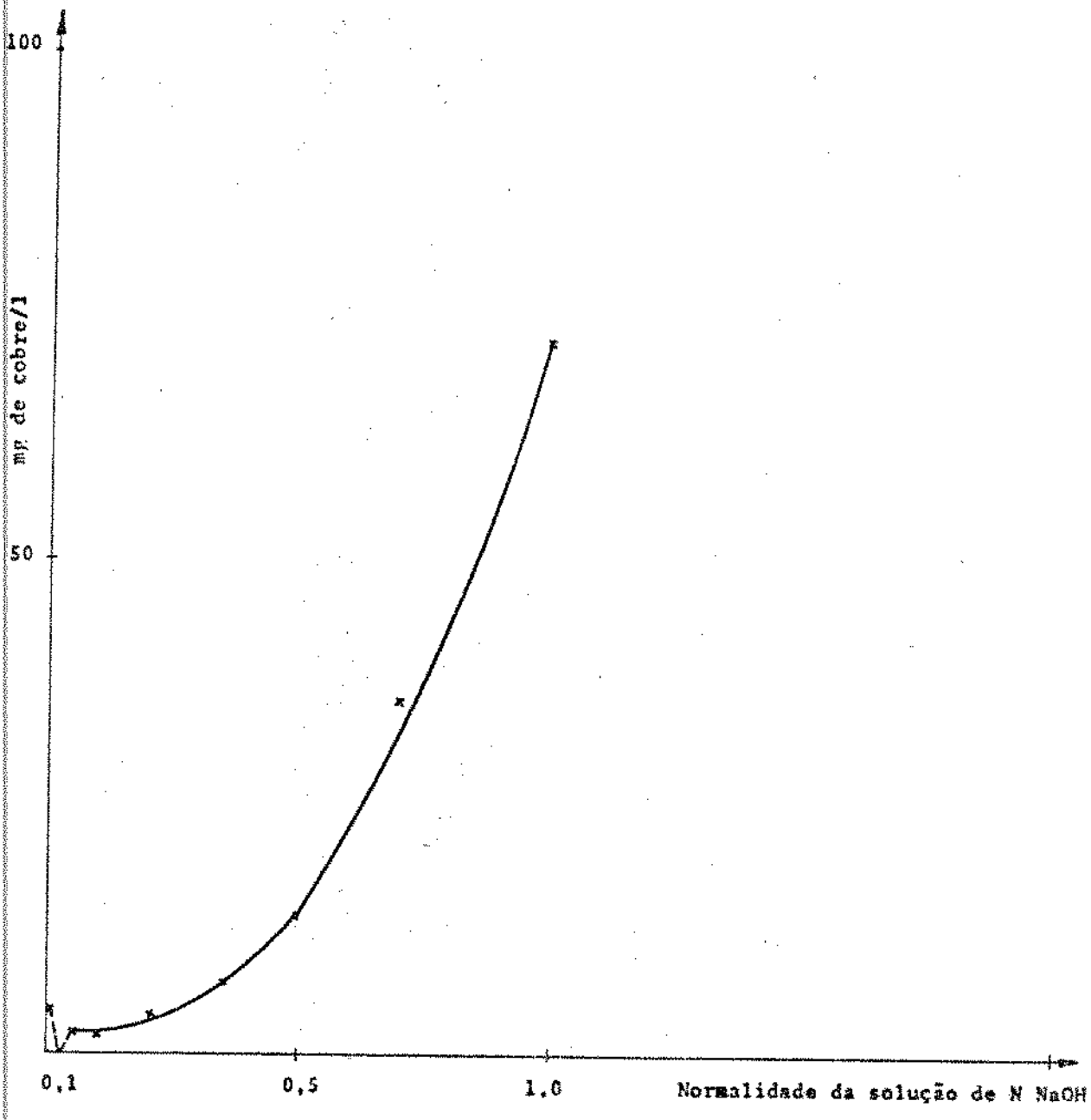
O uso do carbonato básico de cobre , ($Cu_2CO_3(OH)_2$), permite realizar estas medidas. Trata-se de um sal muito pouco solúvel em soluções alcalinas, possibilitando o preparo de brancos que realmente correspondem à concentração do cobre não ligado ao açúcar, além da vantagem de apresentarem baixa absorbância.

Com este propósito, foram determinadas a solubilidade e a absorbância do carbonato básico de cobre, em soluções com 30% isopropanol e diferentes concentrações de hidróxido de sódio. Como pode ser visto na Figura 1, a curva de solubilidade sofre uma descontinuidade entre 0,010 e 0,050 N. Nesta faixa ocorre uma precipitação de óxido cúprico reconhecido pela sua característica - cor preta.

TABELA 1. Solubilidade e Absorbância do Carbonato Básico de Cobre em Diferentes Concentrações de Hidróxido de Sódio Alcoólico.

Normalidade do NaOH	Absorbância a 660 nm		Média	Solubilidade mg Cu/l		Média
0,010	-		-	0,14	0,24	0,5
				0,36	0,50	
				0,74	0,88	
0,025	-		-	0,00	0,00	0,0
				0,00	0,00	
				0,00	0,00	
0,050	-0,002	-0,002	0,001	1,5	1,7	1,8
	0,002	0,002		1,7	1,9	
	0,002	0,005		2,0	2,0	
0,100	0,000	0,000	0,002	1,2	1,3	1,9
	0,000	0,003		2,0	2,0	
	0,004	0,004		2,2	2,6	
0,200	0,000	0,000	0,002	3,5	3,8	4,1
	0,001	0,003		3,9	4,0	
	0,004	0,005		4,7	4,7	
0,350	0,006	0,006	0,009	6,6	6,8	7,3
	0,007	0,010		7,0	7,0	
	0,012	0,015		7,4	9,0	
0,500	0,007	0,008	0,010	13,4	13,6	14,0
	0,010	0,011		13,8	13,9	
	0,012	0,013		14,3	14,9	
0,700	0,017	0,018	0,019	35,0	36,0	36,0
	0,018	0,020		36,0	36,0	
	0,021	-		37,0	-	
1,000	0,030	0,038	0,040	68,0	71,0	72,5
	0,040	0,041		72,0	74,0	
	0,045	0,048		74,0	76,0	

GRÁFICO 1. Solubilidade do Carbonato Básico de Cobre em Diferentes Concentrações de NaOH com 30% Isopropanol.



A Tabela 2 mostra a gradação de cores dos sólidos em contato com as soluções de diferentes concentrações de NaOH com 30 % isopropanol. A parte sólida originalmente continha carbonato-básico de cobre. As cores indicam no entanto que há uma modificação parcial ou total para óxido cúprico (preto) ou hidróxido cúprico (azul) por ação do hidróxido de sódio . Reagindo o açúcar com $Cu(OH)_2$ um aumento na concentração do ânion carbonato devido a uma dissolução do carbonato básico de cobre não vai afetar a reação.

4.2. Absorbância dos Complexos de Cobre e Açúcares a Diferentes Concentrações de Hidróxido de Sódio.

Foram medidas as absorbâncias dos complexos formados por 10 - açúcares diferentes e manitol com cobre, a 660 nm. Os açúcares empregados foram: D-glucose, D-frutose, D-galactose, D-manose, L-sorbose, sacarose, D-maltose, D-celobiose, D-lactose e rafinose. As concentrações das soluções de hidróxido-de sódio com 30% isopropanol, variaram de 0,010 a 1,000 N.

A absorbância devida ao complexo numa dada concentração de hidróxido de sódio é igual à absorbância da solução menos a absorbância do carbonato básico de cobre solúvel.

$$A_C = A_T - A_S$$

Onde: A_C = Absorbância do complexo

A_T = Absorbância total da solução

A_S = Absorbância do carbonato básico de cobre solúvel na solução de hidróxido de sódio usada.

As absorbâncias dos complexos (A_C) podem ser encontradas nas Tabelas 3 e 4.

Dentre os monossacarídeos, glucose, galactose e L-sorbose apresentam um pico agudo com o máximo na concentração 0,100 N de hidróxido de sódio (Gráfico 2). O mesmo ocorre com o manitol. Tal comportamento é inesperado porque gráficos desta natureza não devem mostrar mudanças tão bruscas e sim curvaturas suaves. Já a frutose mostrou turbidez em torno de 0,350 N NaOH.

De 0,100 N, ponto de absorbância máxima, até 0,350 N, as soluções dos complexos destes açúcares precisam de períodos muito longos de centrifugação . Isto devido a uma turbidez persistente. Os períodos, variando de uma hora a uma hora e meia, contrastam com os 10 minutos necessários em outras concentrações de

TABELA 2. Aparência da Parte Sólida nas Misturas de Hidróxido de Sódio Alcoólico e Carbonato Básico de Cobre.

Normalidade do NaOH	Sem Açúcar	Com Açúcar
0,050	Preto	Verde Claro com um pouco de Preto
0,100	Azul Vivo	Preto
0,200	Azul Vivo	Azul Vivo com Preto
0,350	Azul Vivo	Azul Vivo com Preto
0,500	Azul Vivo	Azul Vivo com Preto
0,700	Azul Vivo	Azul Vivo
1,000	Azul Vivo	Azul Vivo

TABELA 3. Absorbância dos Complexos dos Monossacarídeos com Cobre em Hidróxido de Sódio Alcoólico.

Normalidade de NaOH	Absorbância das Soluções dos Complexos e Médias					
	Manitol	Glucose	Frutose	Galactose	Manose	L-Sorbose
0,050	0,764	0,417	0,514	0,339	0,549	0,531
	0,789	0,441	0,579	0,359	0,554	0,541
	0,776	0,429	0,55	0,349	0,552	0,536
0,100	1,108	0,868	0,723	0,833	0,598	0,813
	1,108	0,903	0,728	0,833	0,618	0,833
	1,108	0,885	0,725	0,833	0,608	0,823
0,200	0,012	0,060	0,828	0,208	0,632	0,278
	0,020	0,065	0,848	0,208	0,638	0,292
	0,016	0,062	0,838	0,208	0,635	0,285
0,350	0,043	0,078	0,701	0,267	0,596	0,217
	0,055	0,141	0,723	0,275	0,601	0,218
	0,049	0,10	0,712	0,271	0,598	0,218
0,500	0,084	0,146	0,476	0,615	0,825	-
	0,085	0,159	0,515	0,620	0,880	-
	0,084	0,151	0,50	0,618	0,85	-
0,700	0,113	0,235	0,755	-	0,630	-
	0,131	0,257	0,845	-	0,640	-
	0,122	0,246	0,80	-	0,635	-
1,000	0,305	0,316	-	-	0,601	-
	0,358	0,360	-	-	0,634	-
	0,33	0,338	-	-	0,62	-

TABELA 4. Absorbância dos Complexos dos Oligossacarídeos com Cobre em Hidróxido de Sódio Alcoólico.

Normalidade de NaOH	Absorbância das Soluções dos Complexos e Médias				
	Sacarose	Maltose	Lactose	Celobiose	Rafinose
0,050	0,177	0,149	0,404	0,149	0,088
	0,184	0,214	0,424	0,156	0,097
	0,181	0,18	0,414	0,152	0,092
0,100	0,266	0,325	0,608	0,233	0,246
	0,276	0,343	0,610	0,236	0,256
	0,271	0,334	0,609	0,234	0,251
0,200	0,424	0,527	0,618	0,156	0,293
	0,426	0,546	0,623	0,162	0,293
	0,425	0,536	0,620	0,159	0,293
0,350	0,523	0,626	0,591	0,278	0,308
	0,526	0,721	0,601	0,285	0,324
	0,524	0,67	0,596	0,281	0,316
0,500	0,535	0,610	0,625	0,518	0,493
	0,570	0,645	0,630	0,545	0,515
	0,55	0,63	0,628	0,53	0,504
0,700	0,510	0,373	0,620	0,535	0,340
	0,685	0,378	0,625	0,545	0,400
	0,55	0,375	0,622	0,540	0,37
1,000	0,342	0,330	0,608	0,275	0,238
	0,490	0,447	0,648	0,430	0,352
	0,42	0,39	0,63	0,35	0,30

GRÁFICO 2. Absorbâncias dos Complexos de Manitol e Monossacarídeos com Cobre em Hidróxido de Sódio Alcoólico.

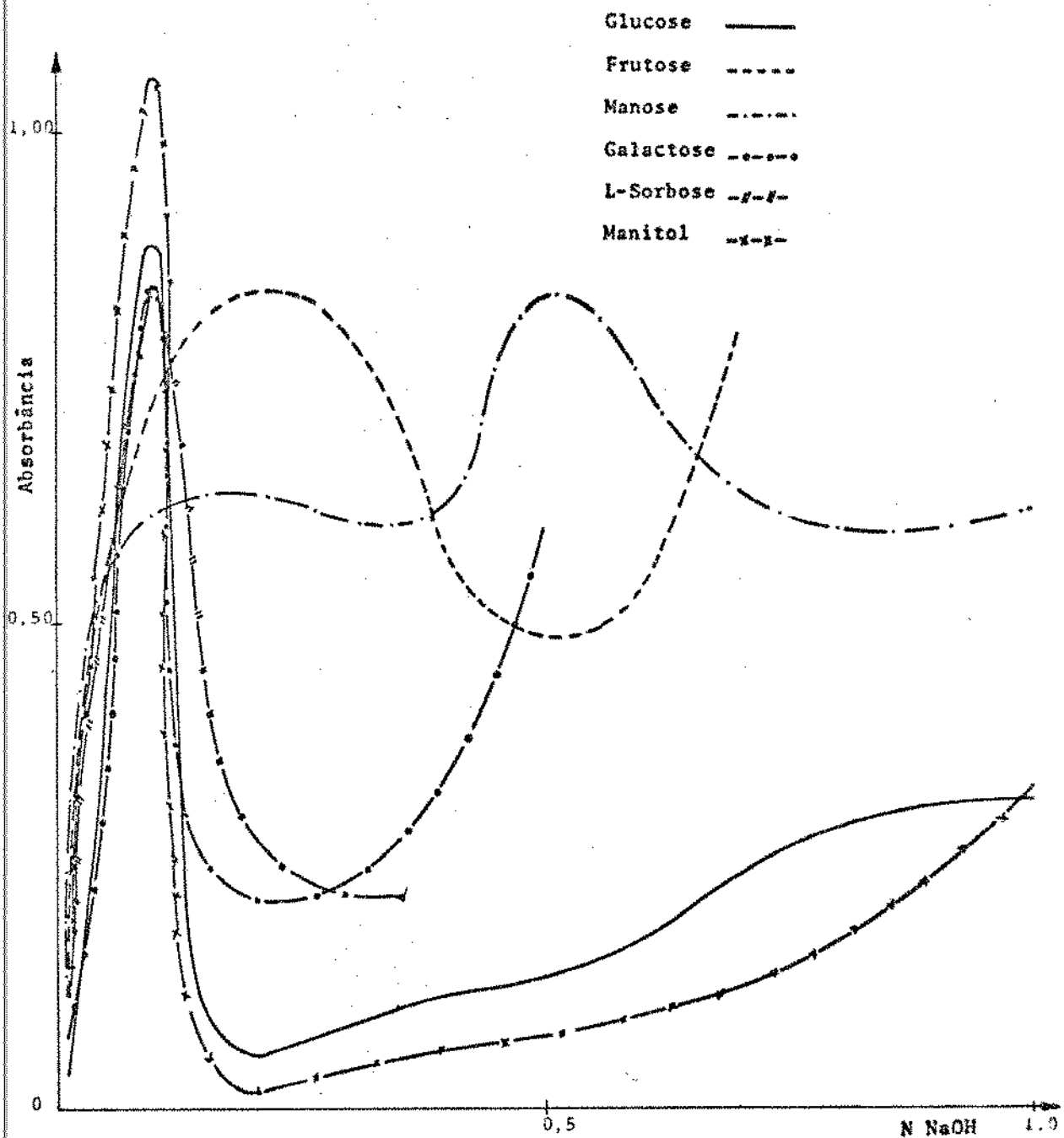
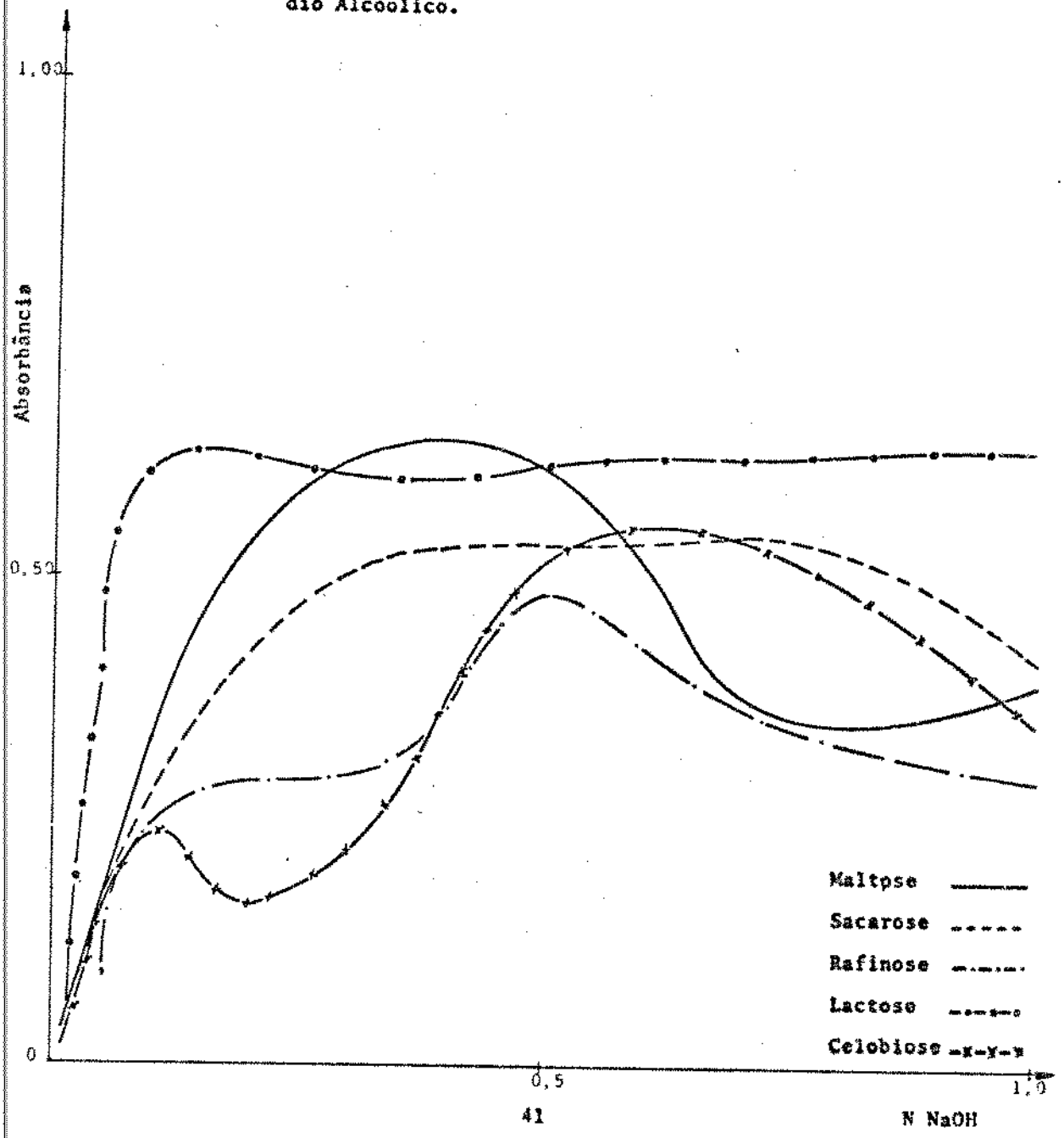


GRÁFICO 3. Absorbâncias dos Complexos de Oligossacarídeos com Cobre em Hidróxido de Sódio Alcoólico.



hidróxido de sódio. Além disto, estas soluções apresentam duas camadas de precipitado, em vez de uma só, após centrifugação. A inferior verde clara, de carbonato de cobre, ou azul clara, possivelmente hidróxido cúprico. A superior, azul brilhante e com uma aparência gelatinosa, indicando a precipitação do complexo. Tudo o que foi descrito é acompanhado de uma queda de grandes proporções na absorbância.

Dos oligossacarídeos (Gráfico 3), a celobiose e a rafinose apresentaram turbidez de 0,200 a 0,500 N NaOH, assim como a mesma dificuldade para centrifugar acompanhada de queda na absorbância.

Frutose, manose, lactose, sacarose, maltose e rafinose (Gráficos 2 e 3) exibiram o tipo de curva que é de se esperar (36). Um aumento de absorbância ocorre à medida que a concentração de hidróxido de sódio aumenta. Após um máximo, que pode permanecer estável numa certa faixa de concentrações de hidróxido de sódio, há uma queda na absorbância indicando a quebra do complexo. No caso da lactose, tal queda não acontece na faixa de concentrações usadas, mas é de se esperar que ocorra em concentrações mais elevadas.

Gráfico com um único pico é relacionado com uma única forma do complexo, dois picos com duas formas e uma curva complexa com várias formas (36). A frutose apresenta um novo aumento na absorbân

cia depois do decrescimo. É de se esperar que uma mudança na estrutura do complexo esteja ocorrendo. A manose exibe uma curva - mais complexa provavelmente indicativa da existência de várias - formas do complexo.

4.3. Concentração de Cobre nas Soluções dos Complexos.

Conhecendo a solubilidade do carbonato básico de cobre nas soluções de hidróxido de sódio, podemos, medindo o cobre total existente na solução, determinar a proporção que está ligada ao açúcar:

$$Cu_c = Cu_T - Cu_s$$

Onde: Cu_c = Cobre ligado ao açúcar

Cu_T = Cobre total na solução

Cu_s = Cobre livre na solução (branco de carbonato básico de cobre).

Os resultados deste cálculo estão nas Tabelas 5 e 6.

TABELA 5. Concentrações de Cobre nas Soluções dos Complexos com Monossacarídeos a Várias Concentrações de Hidróxido de Sódio Alcoólico.

Normalidade de NaOH	Miligramas de Cobre por 50 ml de Solução e Médias					
	Manitol	Glucose	Frutose	Galactose	Manose	L-Sorbose
0,050	45,9 48,9 47,4	30,4 34,4 32,4	45,4 45,4 45,4	44,9 44,9 44,9	32,4 32,9 32,6	44,9 45,4 45,6
0,100	69,9 70,9 70,4	75,4 75,9 75,6	63,4 63,4 63,4	66,4 67,4 66,9	49,9 49,9 49,9	66,4 66,4 66,4
0,200	1,8 2,3 2,0	4,8 5,3 5,0	72,3 72,8 72,6	14,8 14,8 14,8	53,3 55,3 54,3	21,8 23,8 22,8
0,350	14,6 15,1 14,8	9,1 12,1 10,6	62,1 63,1 62,6	27,6 30,6 29,1	65,1 72,6 68,8	20,1 20,6 20,4
0,500	6,8 10,8 8,8	15,8 15,8 15,8	76,8 82,3 79,6	45,3 45,3 45,3	49,3 49,8 49,6	- - -
0,700	8,6 10,6 9,6	27,5 29,5 28,5	68,1 75,6 71,8	- - -	51,6 51,6 51,6	- - -
1,000	18,4 23,4 20,9	33,9 34,4 34,2	- - -	- - -	47,9 55,2 51,6	- - -

TABELA 6. Concentrações de Cobre nas Soluções dos Complexos com Oligossacarídeos a Várias Concentrações de Hidróxido de Sódio Alcoólico.

Normalidade do NaOH	Miligramas de Cobre por 50 ml de Solução e Média				
	Sacarose	Maltose	Lactose	Celobiose	Rafinose
0,050	12,4 13,9 13,2	17,9 17,9 17,9	23,9 25,4 24,6	10,4 10,4 10,4	5,9 8,9 7,4
0,100	25,4 26,4 25,9	33,9 36,4 35,2	37,9 38,9 38,4	22,4 23,9 23,2	20,4 20,4 20,4
0,200	39,3 39,8 39,6	51,3 55,3 53,3	37,3 37,8 37,6	13,8 13,8 13,8	22,3 22,3 22,3
0,350	54,6 54,6 54,6	49,6 50,1 49,8	36,6 37,1 36,8	40,1 40,6 40,4	29,1 30,1 29,6
0,500	54,8 59,3 57,0	64,3 79,8 72,0	38,3 38,3 38,3	71,3 73,3 72,3	59,3 59,8 59,6
0,700	53,1 61,1 57,1	40,6 40,6 40,6	38,1 40,6 39,4	53,1 53,6 53,4	30,6 37,1 33,8
1,000	31,4 48,9 40,2	35,9 48,4 42,2	38,9 42,9 40,9	25,9 41,4 33,6	18,9 30,4 24,6

Examinando os resultados nas Tabelas 5 e 6, vemos que o cobre se liga numa razão crescente ao açúcar, à medida que a concentração de hidróxido de sódio aumenta. Isto mostra a não equivalência dos grupos hidroxila, diante do íon cúprico. Deve-se levar em conta que nas concentrações em que ocorre precipitação, a relação cobre/açúcar não expressa a realidade pois não se sabe quanto açúcar restou em solução.

4.4. Relação Cobre-Absorbância nas Soluções dos Complexos.

Colocando em gráfico o teor de cobre versus a absorbância do complexo a várias concentrações de hidróxido de sódio, pode-se verificar se a produção de cor é proporcional à quantidade de íons de cobre ligados ao açúcar (Gráficos 4 e 5). Para a construção destes gráficos só foram empregados pontos onde não há evidência de precipitação.

GRÁFICO 4. Absorbâncias dos Complexos dos Monossacarídeos como uma Função da Concentração de Cobre nos Complexos. Concentração de Açúcar = 2 g/l.

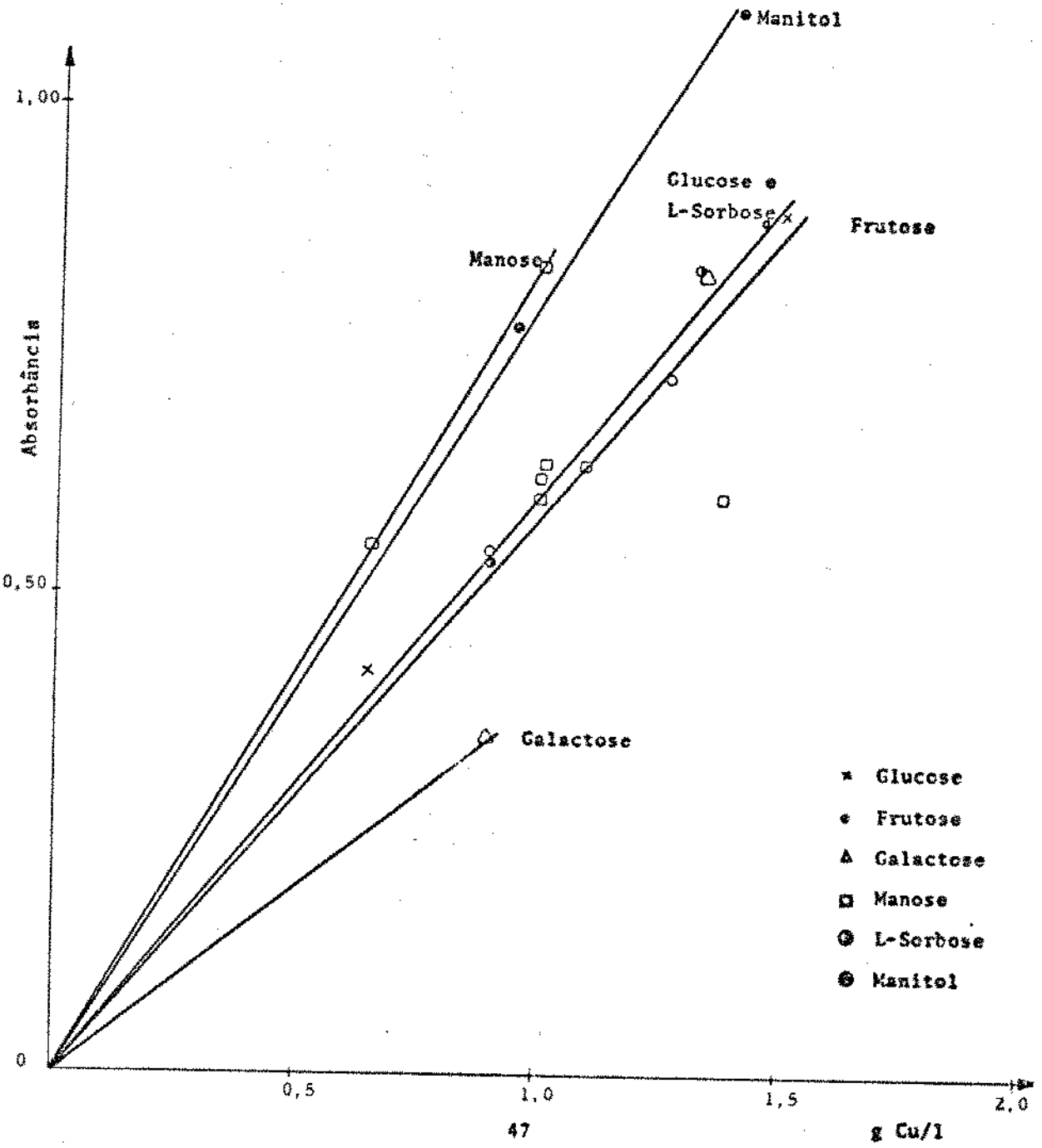
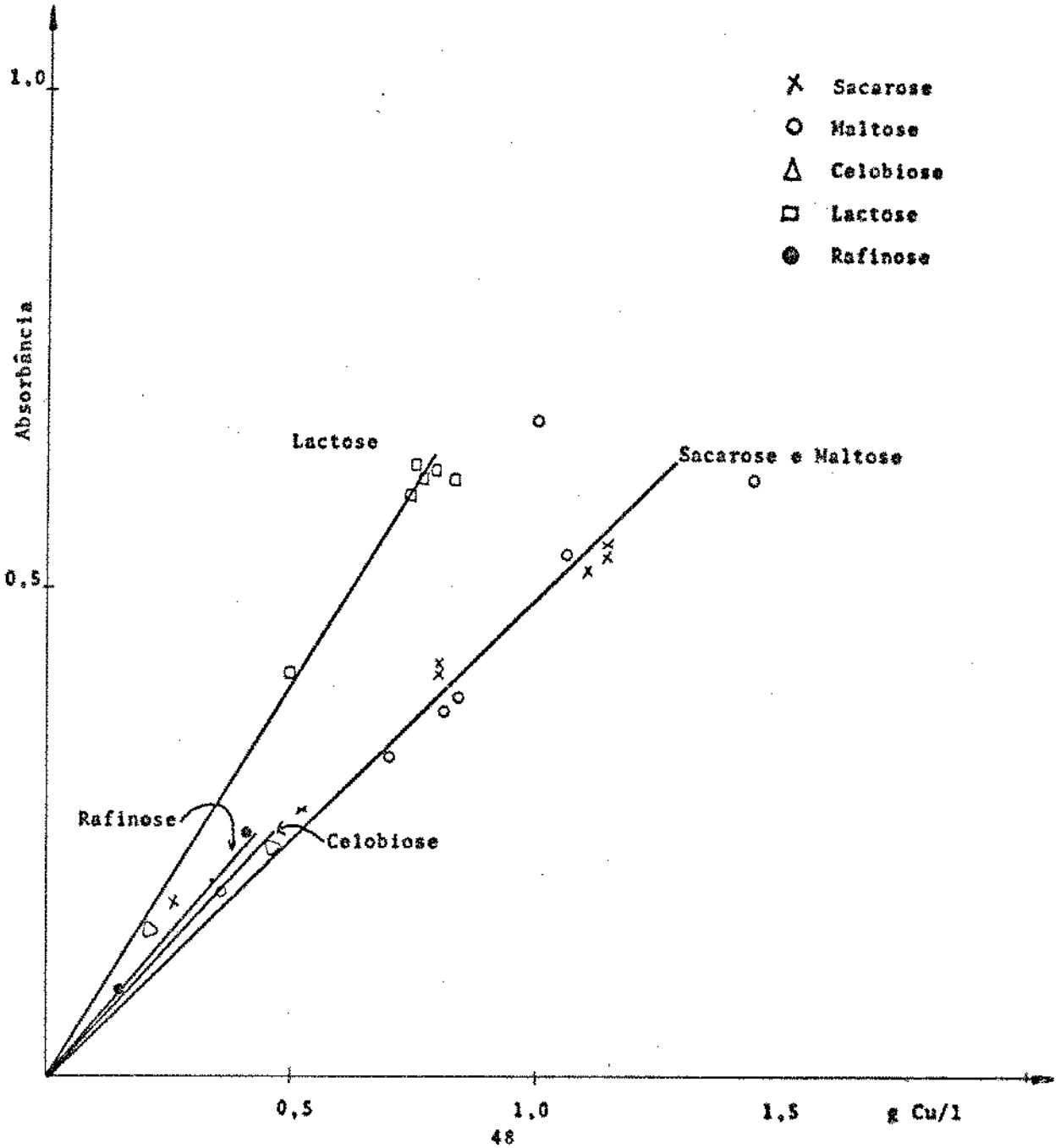


GRÁFICO 5. Absorbâncias dos Complexos de Oligossacarídeos como uma Função da Concentração de Cobre nos Complexos. Concentração de Açúcar = 2 g/l.



4.5. Constantes de Estabilidade dos Complexos e Fórmulas Prováveis em Solução.

Constantes de estabilidade para os complexos formados pelos diferentes açúcares e o cobre foram calculadas com a finalidade de quantificar as afinidades dos açúcares pelo cobre. Como as atividades dos íons não são conhecidas, as concentrações são empregadas. Apesar das constantes não serem, portanto, termodinâmicas, elas servem ao propósito de comparar os diversos açúcares entre si. Calcular constantes verdadeiramente termodinâmicas poderá alterar seus valores individuais mas não a relação delas entre si.

Em baixas concentrações de NaOH (ex. 0,010 e 0,025 N) onde pequenas absorbâncias indicam somente um pequeno grau de reação, é provável que somente um átomo de cobre esteja presente em qualquer dos complexos formados. Apesar da ocorrência de alguns pontos espalhados nas Figuras 4 e 5, ainda existe linearidade suficiente em baixas concentrações de NaOH para assumir que a absortividade, calculada tendo o cobre como base, é constante para cada ligante em particular. Essa absortividade pode portanto ser usada para calcular as concentrações dos complexos a 0,010 e 0,025 N NaOH.

O aumento no grau de reação proporcional à concentração de hidróxido de sódio só pode ser explicado pela participação de OH^- na reação. Duas reações envolvendo OH^- são possíveis. Empregando H_2L para representar o ligante e os hidrogênios substituíveis, e assumindo que $Cu(OH)_2$ é a fonte de cobre (veja o parágrafo 4.1.), essas reações seriam:

$$H_2L + Cu(OH)_2 + OH^- \rightleftharpoons LCu(OH)(H_2O)^- \qquad (1)$$

e

$$H_2L + Cu(OH)_2 + 2\ OH^- \rightleftharpoons LCu(OH)_2^{--} + 2\ H_2O \qquad (2)$$

assumindo para o cobre um número de coordenação igual a 4.

Usando K_1 e K_2 para representar as respectivas constantes de equilíbrio para as duas reações, uma indicação de qual seria a mais válida pode ser obtida comparando a constância de cada K em duas concentrações diferentes e baixas de NaOH (0,010 e 0,025 N). A glucose é uma escolha apropriada para esta verificação uma vez que há uma boa concordância entre os valores das duplicatas da absorbância nestas duas concentrações de NaOH e que o grau de reação a 0,025 N NaOH é ainda pequeno.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

A sequência a ser seguida nos cálculos é a seguinte:

(I) Calcule ε_{Cu} dos resultados para 0,050 e 0,100 N NaOH (Tabela 9) para a melhor reta passando pela origem.

(II) Calcule a absorbância (A_1) que seria obtida se todas as moléculas de glucose estivessem complexadas com um átomo de cobre, multiplicando ε_{Cu} pela concentração total inicial da glucose, $[G]_T$.

(III) Concentração do complexo, $[GCu]$ é igual às absorbâncias a 0,010 e 0,025 N NaOH divididas por A_1 e multiplicadas por $[G]_T$.

(IVa) Concentração de NaOH restante após a reação 1, $[OH^-]_1$, é igual à concentração inicial de OH^- menos $[GCu]$.

(IVb) Concentração de NaOH restante após a reação 2, $[OH^-]_2$, é igual à concentração inicial de OH^- menos 2 $[GCu]$.

(V) $$K_1 = \frac{[GCu]}{([G]_T - [GCu])\,[OH^-]_1}$$

$$K_2 = \frac{[GCu]}{([G]_T - [GCu])\,[OH^-]_2^2}$$

Os resultados podem ser vistos na Tabela 8. K_2 apresenta uma constância bem melhor o que indica que a reação 2 é mais provável.

Assumindo ser a reação 2 a correta, foram calculadas as constantes de estabilidade para manitol e todos os açúcares. As constantes foram arranjadas na Tabela 9 numa ordem de estabilidade crescente para os complexos com um átomo de cobre. Foi considerado mais apropriado tratar cada ligante separadamente no cálculo das absortividades e do teor de cobre no complexo porque apesar de muitos pontos estarem localizados próximos a mesma linha reta, alguns (manose e manitol) apresentaram pontos ao longo de uma linha bastante diferente, indicando diferenças individuais nas absortividades. A comparação entre modelos e a relação cobre / açúcar também indica que a natureza dos pares de oxidrilas pode ser diferente. Em geral, foram usados pontos anteriores a qualquer precipitação e em concentrações baixas de hidróxido de sódio. A inclinação da melhor reta foi calculada pelos quadrados mínimos estabelecendo a condição de passagem pela origem.

TABELA 7. Concentrações dos Açúcares.

Ligante	Umidade	Peso Seco g/50 ml	Peso Molecular	Concentração
Manitol	0,1%	99,9	182,22	10,96 mM
Glucose	1,8	98,2	180,20	10,90
Frutose	1,0	99,0	180,20	10,99
Galactose	1,5	98,5	180,20	10,93
Manose	2,5	97,5	180,20	10,82
L-Sorbose	0,4	99,6	180,20	11,05
Sacarose	2,1	97,9	342,30	5,72
Maltose	6,3	93,7	342,30	5,47
Lactose	5,2	94,8	342,30	5,54
Celobiose	2,4	97,6	342,30	5,70
Rafinose	14,0	86,0	504,45	3,41

TABELA 8. Cálculo de K_1 e K_2 para a Glucose em 0,010 e 0,025 N NaOH.

Concentração de NaOH	0,010 N	0,025 N
Concentração total de glucose, $[G]_T$	10,90 mM	10,90 mM
Absorbância	0,034	0,119
Absorbância molar de $[GCu]$	37,9	37,9
Absorbância para $[G]_T=[GCu]$	0,413	0,413
Concentração do complexo	0,897 mM	3,14 mM
Concentração de OH^- depois da reação 1	9,10 mM	21,86 mM
Concentração de OH^- depois da reação 2	8,21 mM	18,72 mM
Valor calculado de K_1	9,86	18,5
Valor calculado de K_2	1330	1150

TABELA 9. Cosntantes de Estabilidade para Complexos Contendo um Átomo de Cobre.

Ligante	L_T,mM	$A_{0,010}$	ε_{Cu}	K x 10^{-3}
Celobiose	5,70	0,015	34,5	1,0
Rafinose*	3,41	0,092	-	1,0
Glucose	10,90	0,034	37,9	1,3
Lactose	5,54	0,035	51,3	1,4
Galactose	10,93	0,054	39,6	2,7
Maltose	5,47	0,030	31,4	3,0
Sacarose	5,72	0,032	32,3	3,3
Manitol	10,96	0,120	50,6	10
L-Sorbose	11,05	0,113	38,7	21
Frutose	10,99	0,117	37,0	30
Manose	10,82	0,208	53,8	109

* A absorbância da rafinose a 0,010 N NaOH é muito baixa para ser medida, assim sendo o valor a 0,050 N NaOH foi usado. Nesse caso, o conteúdo de cobre é conhecido tornando desnecessário calcular ε_{Cu}.

4.6. Fórmulas dos Complexos em Solução.

4.6.1. Proporção de Átomos de Cobre por Molécula de Açúcar.

As Tabelas 10 e 11 mostram a proporção de cobre por molécula de açúcar presente inicialmente na solução. Trata-se do cobre ligado ao açúcar em solução pois o valor correspondente ao cobre livre foi subtraído do cobre total como foi explicado na seção 4.3.

A relação cobre/açúcar perde o sentido, no entanto, nas concentrações em que foi observada precipitação. Neste caso só a concentração inicial do açúcar é conhecida e não a que restou na solução após centrifugação.

4.6.2. Fórmulas dos Complexos em Solução.

Com base nos cálculos das constantes de estabilidade, seção 4.5., que indicam ser mais provável a existência de uma estrutura ligante-cobre na forma $LCu(OH)_2^{--}$ para o primeiro átomo de cobre adicionado e nas proporções cobre/açúcar da seção 4.6.1, sugerimos as fórmulas da Tabela 12 para os complexos em solução com o número máximo de átomos de cobre por molécula de açúcar.

TABELA 10. Proporção de Átomos de Cobre por Molécula de Monossacarídeo Presente Inicialmente em Solução.

NaOH	Manitol	Glucose	Frutose	Galactose	Manose	L-Sorbose
0,5 N	1,36	0,93	1,30	1,29	0,95	1,28
0,10	2,02	2,18	1,82	1,92	1,45	1,89
0,20	0,06*	0,14*	2,08*	0,43*	1,58	0,65*
0,35	0,42*	0,30*	1,80*	0,84*	2,00	0,58*
0,50	0,25*	0,46*	2,28	1,30	1,44	-
0,70	0,29*	0,82*	2,00	-	1,50	-
1,00	0,60	0,98	-	-	1,50	-

* Precipitação observada.

TABELA 11. Proporção de Átomos de Cobre por Molécula de Oligossacarídeo Presente Inicialmente na Solução.

NaOH	Sacarose	Maltose	Lactose	Celobiose	Rafinose
0,05 N	0,72	1,03	1,40	0,57	0,67
0,10	1,42	2,02	2,18	1,28	1,88
0,20	2,18	3,06	2,14	0,76*	2,06*
0,35	3,00	2,86	2,10	2,22*	2,74*
0,50	3,14	4,14	2,18	4,00*	5,50*
0,70	3,14	2,34	2,24	2,94	3,13
1,00	2,21	2,42	2,32	1,86	2,27

* Precipitação observada.

TABELA 12. Número Máximo de Átomos de Cobre nos Complexos em Hidróxido de Sódio Alcoólico e Fórmulas Moleculares-Prováveis.

Ligante	Átomos de Cobre por Complexo	Fórmula	Concentração Ótima de NaOH
Manitol	2	$Na_4C_6H_8O_6[Cu(OH)_2]_2$	0,10 N
Monossacarídeos			
Glucose	2	$Na_4C_6H_8O_6[Cu(OH)_2]_2$	0,10
Frutose	2	$Na_4C_6H_8O_6[Cu(OH)_2]_2$	0,20
Galactose	2	$Na_4C_6H_8O_6[Cu(OH)_2]_2$	>0,10
Manose	2	$Na_4C_6H_8O_6[Cu(OH)_2]_2$	0,35
L-Sorbose	2	$Na_4C_6H_8O_6[Cu(OH)_2]_2$	>0,10
Oligossacarídeos			
Sacarose	3	$Na_6C_{12}H_{16}O_{11}[Cu(OH)_2]_3$	0,50
Maltose	4	$Na_8C_{12}H_{14}O_{11}[Cu(OH)_2]_4$	0,50
Lactose	2	$Na_4C_{12}H_{18}O_{11}[Cu(OH)_2]_2$	0,10
Celobiose	2	$Na_4C_{12}H_{18}O_{11}[Cu(OH)_2]_2$	>0,10
Rafinose	5	$Na_{10}C_{18}H_{24}O_{17}[Cu(OH)_2]_5$	0,50

4.6.3. Comparação dos Modelos com os Resultados Experimentais.

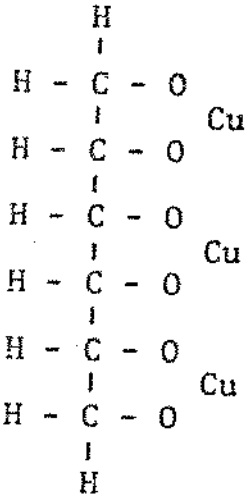
Um estudo dos modelos dos complexos pode mostrar se o número de átomos de cobre por molécula de açúcar corresponde ao que foi encontrado experimentalmente. As posições relativas destes átomos podem também ser verificadas. Nos modelos foram usados átomos representando íons de cobalto (II) octaédrico que têm o raio iônico de 1,32 Å. Este é um raio suficientemente próximo do raio iônico do cobre (II) tetraédrico que é 1,35 Å, permitindo a substituição ser feita (10).

Nas observações feitas, foram considerados somente pontos de ligação intra-moleculares para o cobre. Não foi cogitada a possibilidade de ligações inter-moleculares, isto é, a união de um átomo de cobre a duas moléculas de açúcar simultaneamente. No caso dos açúcares que ofereceram indicações de precipitação, a relação cobre-açúcar não é considerada válida uma vez que não se conhece o teor de açúcar que continuou em solução. Outros valores da relação cobre/açúcar em concentrações de hidróxido de sódio superiores àquelas em que a precipitação foi observada foram tomadas como reserva devido à possibilidade de ligações inter-moleculares entre os açúcares através do cobre ou de uma precipitação mais eficiente e não observada.

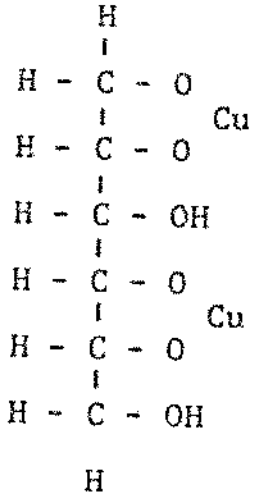
Com base nos trabalhos de Mills (22), Angyal (24) e Horton (23)-

podemos supor que o manitol assuma de preferência uma conformação distendida em solução. O manitol apresenta então as posições O(1) - O(2), O(3) - O(4) e O(5) - O(6) ou O(1) - O(3), O(2)-O(4) e O(5) - O(6) para quelar o cobre. Com 6 oxidrilas livres deveria o manitol quelar 3 átomos de cobre por molécula. A realidade pode não ser tão simples como pode ser visto na suposição discutida a seguir.

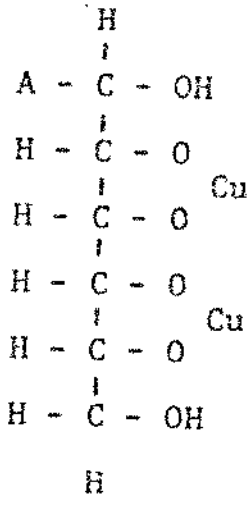
Seria razoável supor que para os íons de cobre, as diferentes oxidrilas do manitol apresentem uma reatividade aproximadamente igual. O primeiro átomo de cobre a se ligar ao manitol poderia então fazê-lo em qualquer posição. O segundo átomo teria suas possibilidades limitadas pelo primeiro. As fórmulas I e II mostram o que aconteceria se o primeiro átomo de cobre se ligasse aos O(1) e O(2). As fórmulas III e IV indicam, por sua vez, a primeira ligação ocorrendo nos O(2) e O(3). Note-se que as fórmulas II e IV são equivalentes. Atribuindo pesos iguais às fórmulas II, III e IV e peso dois à fórmula I (um peso pela primeira ligação ocorrendo em O(1) - O(2) e outro pela primeira ligação ocorrendo em O(3) - O(4)), a proporção de cobre no complexo isolado, $(C_6H_{9,2}O_6)Cu_{2,4}$, seria de 45,8%. Sendo possível saturar o manitol com cobre, o complexo isolado, $(C_6H_8O_6)Cu_3$, apresentaria uma proporção de 52,1% de cobre.



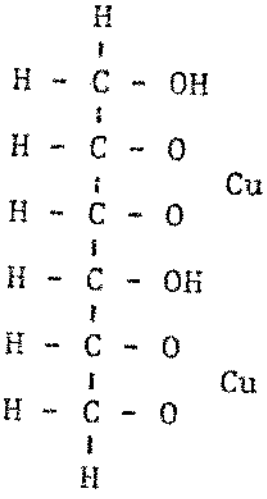
I



II



III



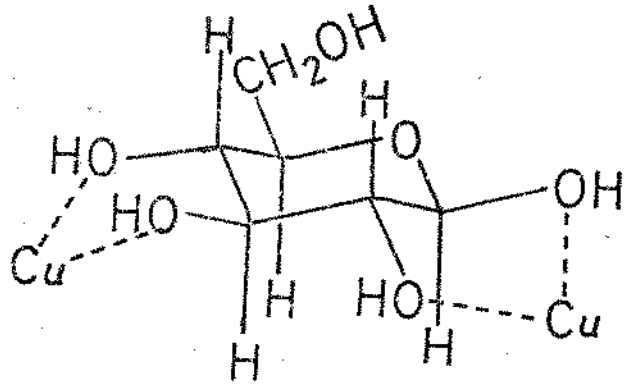
IV

Na realidade, a reatividade das oxidrilas não dever ser a mesma. Por sua vez, também não deve ser possível saturar o manitol com cobre. Não deve existir uma discrepância tal entre as oxidrilas de modo a orientar o cobre no sentido de ligar-se ao manitol nas posições O(1) - O(2), O(3) - O(4) e O(5) - O(6), em sequência. A verdade não deve estar longe da discussão apresentada. A evidência experimental reforça esta possibilidade, mostrando que o manitol não adiciona mais que dois átomos de cobre, por molécula em solução.

É necessário examinar o que ocorreria com formas acíclicas dos

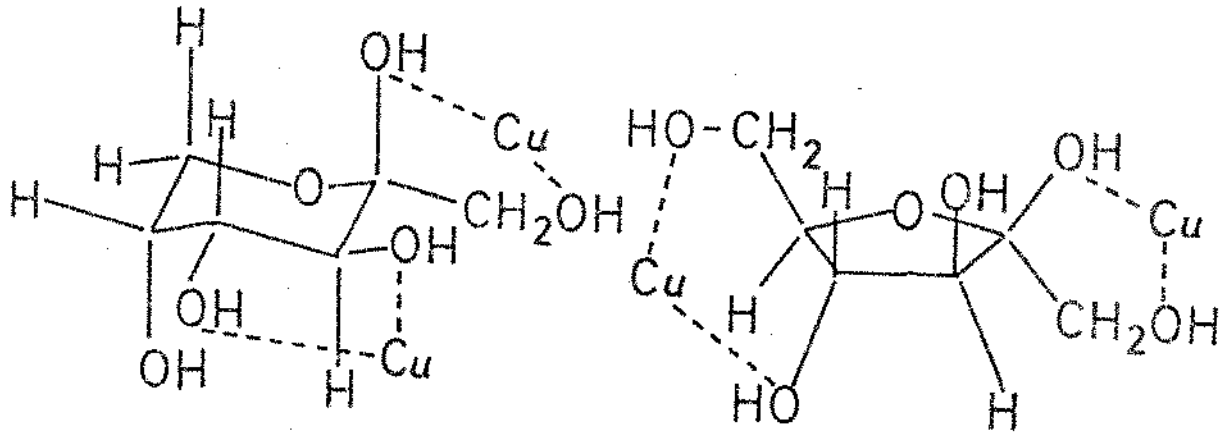
monossacarídeos. Uma conformação distendida não é favorecida no caso da frutose por interações entre O(2) - O(4). O mesmo ocorre com a L-sorbose que apresentaria interações entre O(3) - O(5) e O(2) - O(4). Um afastamento da conformação distendida em qualquer dos três açúcares não impediria a ligação de 3 átomos de cobre na molécula. A manose e a galactose não apresentam interações 1,3 na cadeia distendida e poderiam também quelar 3 átomos de cobre por molécula.

A glucose, na forma piranosídica, tanto na forma α como β, pode acomodar 2 átomos de cobre simultâneamente nas posições O(1) - O(2) e O(3) - O(4). Outras combinações são possíveis, no entanto, como O(2) - O(3) e O(4) - O(6). Se bem que a oxidrila no carbono 6 é reconhecidamente menos reativa devido à capa de água de solvatação, ela não deve ser afastada das considerações. Os resultados com os dissacarídeos, como será visto mais adiante, apontam para a participação dos O(6). Em solução a glucose mostrou um máximo de 2,18 átomos de cobre por molécula. É interessante notar que em solução, a glucose excede a proporção de cobre por molécula apresentada pelo manitol. Isto ocorre apesar deste último aparentemente apresentar mais posições disponíveis para complexar o cobre.



β - D - glucopiranose

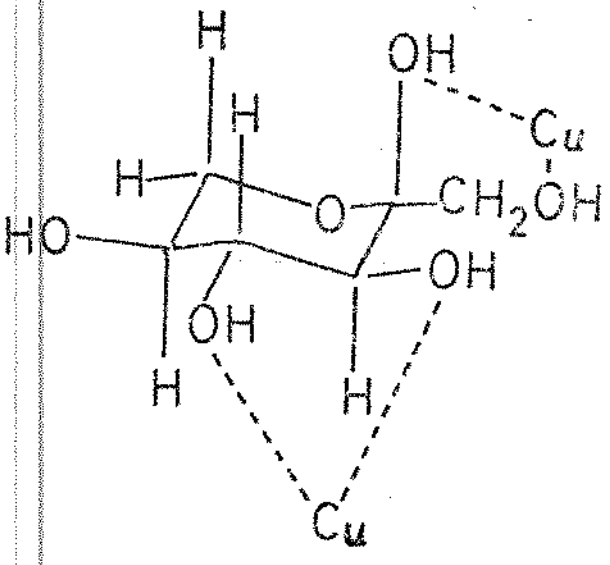
A frutose possui um equilíbrio complexo. Os dados mais recentes indicam uma proporção de 75% para a forma β-piranosídica, 21% - para a β-furanosídica e 4% para a α-furanosídica a 27°C, segundo Angyal (37). Considerando a forma β-piranosídica, temos o mesmo caso da glucose. Dois átomos de cobre podem ser acomodados nas posições 0(1) - 0(2) e 0(3) - 0(4). Outra opção em 0(2) - 0(3). A forma β-furanóica apresenta as posições 0(1) - 0(2) e 0(3) - 0(6) ou 0(1) - 0(4) e 0(2) - 0(3). A α-furanose por sua vez em 0(1) - 0(6) ou 0(1) - 0(3). Em solução, a frutose acomoda 1,82 átomos de cobre a 0,100 N NaOH.

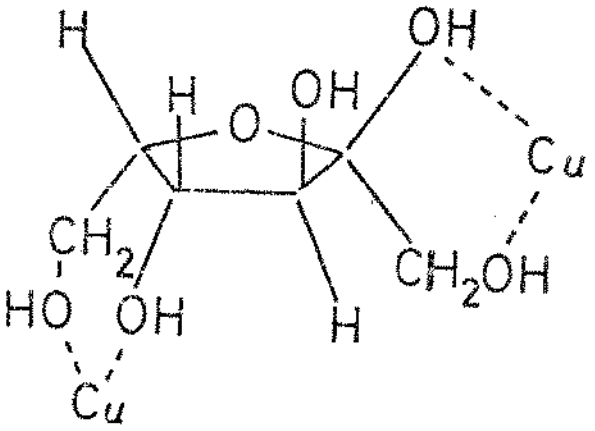


β - D - frutopiranose

β - D - frutofuranose

A L-sorbose contém 98% de α-piranose e 2% de α-furanose no equilíbrio a 27°C, segundo Angyal (37). Dois átomos de cobre podem ser quelados pelos 0(1) - 0(2) e 0(3) - 0(4), ou, opcionalmente, pelos 0(2) - 0(3) e 0(4) - 0(5) na forma α-piranosídica. A α-furanose pode quelar cobre nas posições 0(1) - 0(2) e 0(4) - 0(6). Em solução, a L-sorbose liga-se a um máximo de 1,89 átomos de cobre a 0,100 N NaOH.

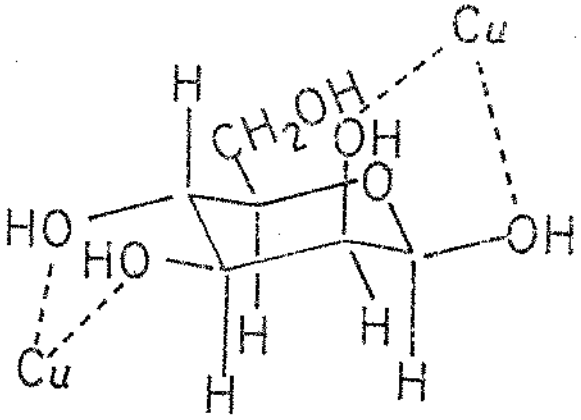




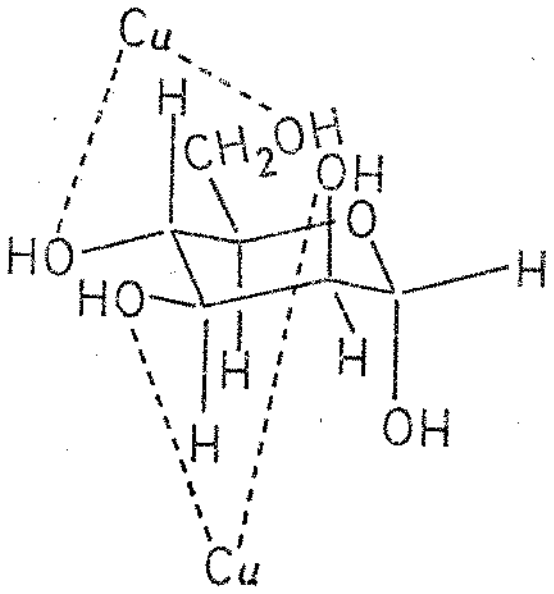
α - L- sorbopiranose

α - L-sorbofuranose

A manose apresenta um equilíbrio simples constituído por 68,9% de α-piranose e 31,1% de β-piranose, segundo Pigman e Isbell (38). A forma α pode ligar o cobre nas posições 0(2) - 0(3) e, possivelmente com mais dificuldade, em 0(4) - 0(6). A forma β nas posições 0(1) - 0(2) e 0(3) - 0(4) com a opção em 0(2) - 0(3). Experimentalmente, a manose adiciona 1,45 átomos de cobre por molécula a 0,100 N NaOH e atinge um máximo a 0,350 N com 2,00 átomos de cobre.

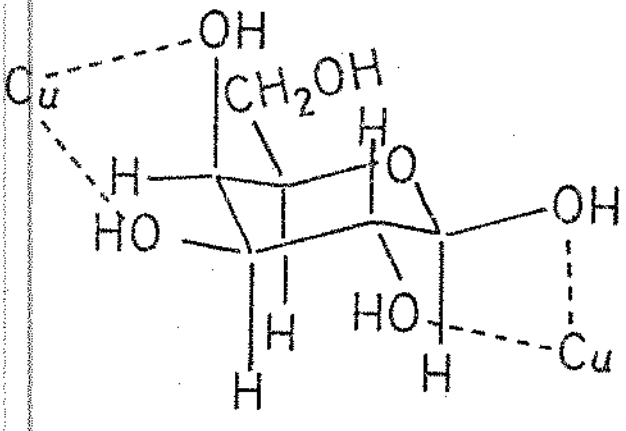


β - D-manopiranose

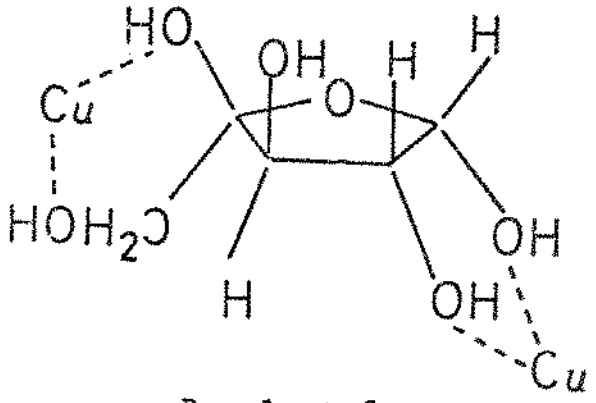


β - D-manopiranose

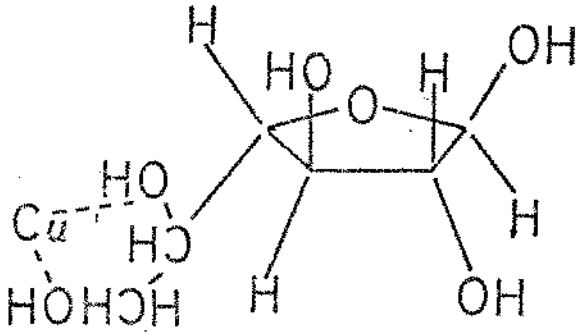
A galactose em equilíbrio é constituída por 31,9% de α -piranose, 62,9% de β -piranose e 5,4% de furanoses, segundo Pigman e Isbell (38). As α e β -piranoses podem adicionar cobre nas posições 0(1) - 0(2) e 0(3) - 0(4), com a posição 0(2) - 0(3) como opção. A α -furanose pode ligar 2 átomos de cobre por molécula em 0(1) - 0(2) e 0(3) - 0(6) ou 0(5) - 0(6). Em solução, a galactose adi - ciona 1,92 átomos de cobre por molécula a 0,100 N NaOH.



β - D-galactopiranose



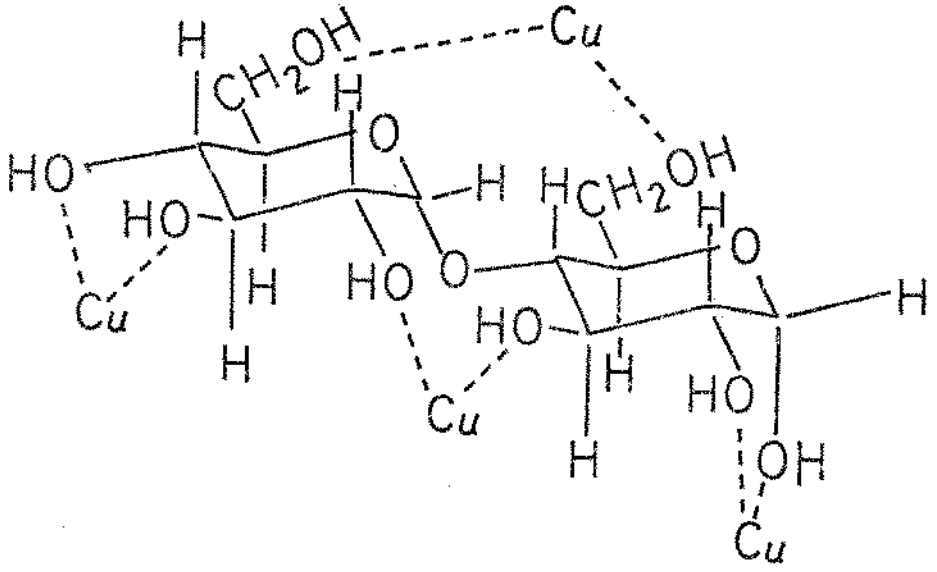
α - D-galactofuranose



β - D-galactofuranose

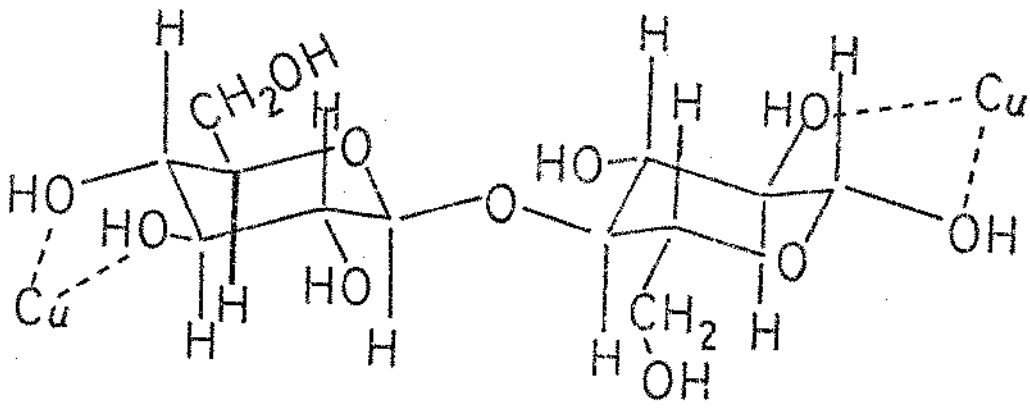
A maltose pode acomodar dois átomos de cobre em O(2) - O(3) ou O(3) - O(4) e O(1') - O(2') ou O(2') - O(3'). Realmente, a 0,100 N NaOH está com dois átomos de cobre por molécula. Mas, a 0,200 N NaOH, mais um átomo é acrescentado e a 0,500 N NaOH, um outro. Isto só pode ser explicado se admitirmos ligações inter-resíduos. O

modelo mostra ser possível adicionar átomos de cobre em O(2) - O(3') e O(6) - O(6').



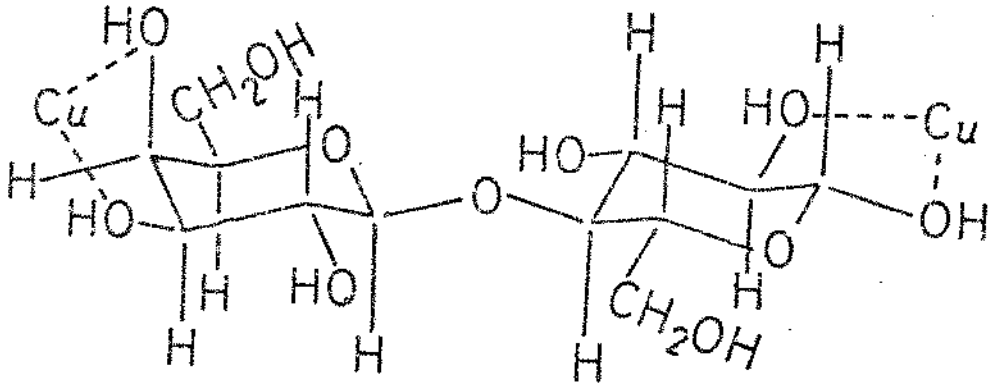
Maltose

A celobiose a 0,100 N NaOH apresenta 1,28 átomos de cobre por molécula. A observação do modelo mostra duas posições intra-resíduos em O(3) - O(4) e O(1') - O(2'). Ligações inter-resíduos não são possíveis devido a interferências com outros átomos de oxigênio e hidrogênio não envolvidos na complexação. Precipitação foi notada de 0,200 a 0,500 N NaOH tornando suspeitos os valores da relação cobre/açúcar encontrados nesta faixa assim como em concentrações superiores de hidróxido de sódio.



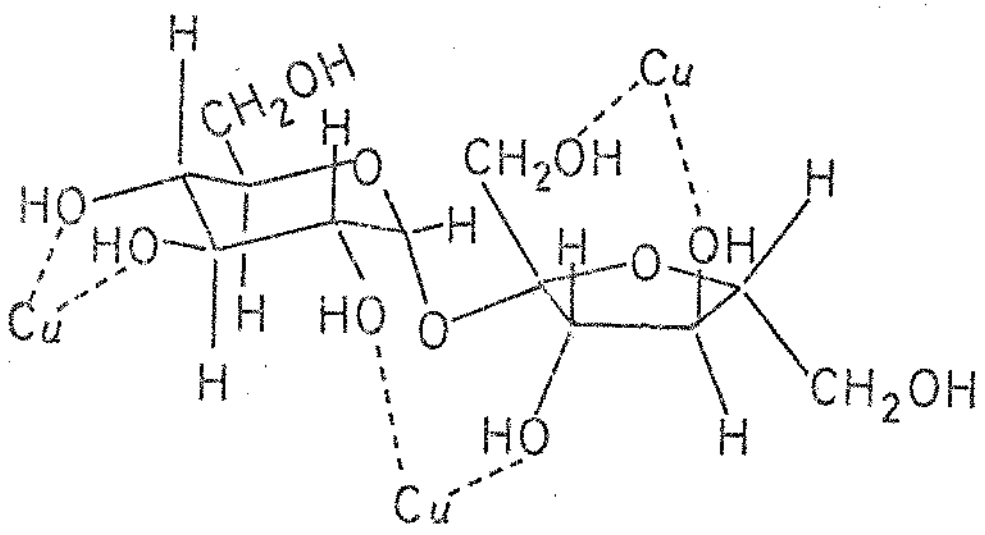
Celobiose

A lactose, experimentalmente, adiciona pouco mais que 2 átomos de cobre por molécula. A 0,100 N NaOH está com 2,18 e mesmo a 1,000 N NaOH a relação cobre/açúcar é de 2,3. O modelo mostra as posições 0(2) - 0(3) ou 0(3) - 0(4) para um átomo de cobre e 0(2') - 0(3') ou 0(1') - 0(2') para o outro. Ligações inter-resíduos não são possíveis pela mesma razão que a celobiose.



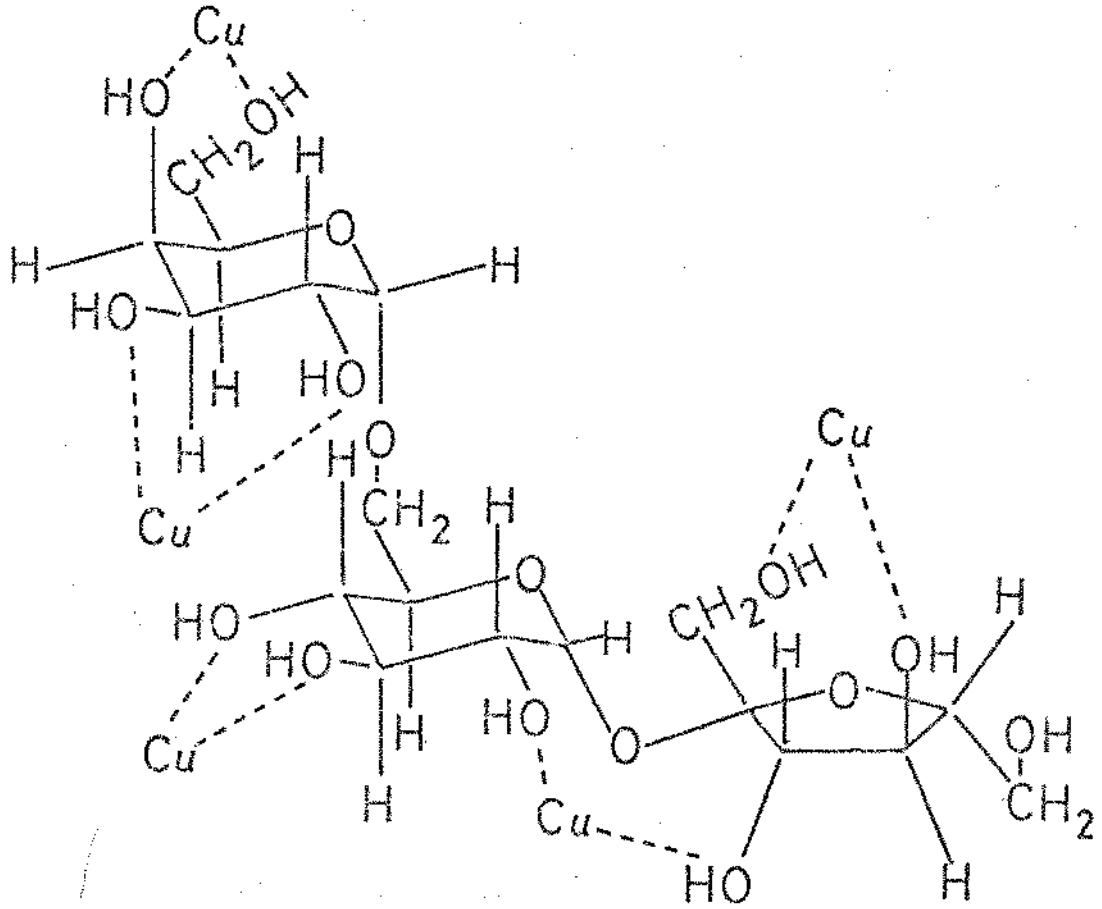
Lactose

A sacarose liga-se a 1,42 átomos de cobre a 0,100 N NaOH e a 3,00 a 0,350 N NaOH. No modelo só três átomos de cobre podem ser encaixados. As posições são O(3) - O(4), O(1') - O(4') e O(6) - O(6') ou O(2) - O(3'). Opcionalmente, O(3) - O(4), O(3') - O(6') e O(2) - O(3').



Sacarose

A rafinose apresenta um máximo de 5,50 átomos de cobre a 0,500 N NaOH. Este resultado no entanto deve ser encarado com reserva - pois existem indicações de precipitação de 0,200 a 0,500 N NaOH. O modelo indica 5 posições: 0(2) - 0(3), 0(3') - 0(4'), 0(1'') - 0(4''), 0(4) - 0(6) e 0(2') - 0(3''). Ficam assim todas as oxi - drilas da molécula ocupadas, com exceção daquela que corresponde ao 0(6'').



Rafinose

Nota-se uma ordem de dificuldade na entrada dos átomos de cobre na molécula. Nos monossacarídeos, o primeiro átomo de cobre é ligado até 0,050 N NaOH. O segundo, até 0,100 N NaOH. Os átomos do metal, segundo os modelos, encaixam-se em pares de oxidrilas secundárias de fácil acesso e vizinhas.

Na manose, a α-piranose prevalece no equilíbrio com 68,9% contra 31,1% da β-piranose. Na forma α ,no entanto, só há um par de oxidrilas secundárias disponível para complexação. A segunda posição para complexação corresponde a uma oxidrila primária e uma secundária. Já a forma β possui dois pares de oxidrilas secundárias. A frutose, por sua vez, contém 25% de furanoses e estas necessariamente envolvem pares mistos de oxidrilas primária e secundária. A posição O(1) - O(2) deve apresentar grande facilidade para quelar o cobre tanto pela posição relativa das oxidrilas que se assemelham mais aos dentes dos ligantes tradicionais que outras oxidrilas encontradas na frutose e em piranoses, como pela acidez mais alta que possuem comparadas com as outras oxidrilas da cadeia.

O mesmo padrão de comportamento é observado nos oligossacarídeos estudados. Dois átomos de cobre são ligados em torno de 0,100 N NaOH e correspondem nos modelos aos pares disponíveis de oxidri-

las secundárias e de fácil acesso. De 0,200 N a 0,500 N NaOH, são quelados os átomos de cobre correlacionados, nos modelos, com pares formados por oxidrilas secundárias inter-resíduos, ou por uma oxidrila primária e uma secundária intra ou inter-resíduos.

Pode-se então concluir que não havendo impedimento estérico e estando as oxidrilas suficientemente próximas, isto é, numa distância de 2,51 Å a 2,86 Å como foi estabelecido por Reeves (3), as oxidrilas secundárias intra-resíduo são as primeiras a quelar o cobre e de maneira mais estável pois o complexo não é desfeito a 1,000 N NaOH. As oxidrilas secundárias inter-resíduos e os pares de oxidrilas envolvendo uma primária e uma secundária intra ou inter-resíduo, também são capazes de ligar o cobre, mas o farão na faixa de 0,200 N a 0,500 N NaOH e com menor estabilidade, sendo a associação com o cobre dissolvida na faixa de 0,700 N a 1,000 N NaOH.

4.7. A Interação dos Complexos Glucose-Cobre e Frutose-Cobre.

Podemos fazer uso do fato que a glucose precipita a 0,2 N e a frutose não. Trabalhando com misturas dos dois açúcares e variando suas proporções, é possível observar se existe alguma interação entre eles.

Existem indicações que em presença de álcalis, o íon cúprico se liga a dois grupos glicólicos (3). Se isto de fato ocorre, numa mistura de açúcares o íon cúprico pode se unir a duas moléculas de açúcar diferentes. A 0,1 N, uma solução de frutose e glucose não deveria apresentar uma absorbância diferente da soma das absorbâncias individuais. Mas, a 0,2 N se a frutose e a glucose estão ligadas pelo cobre, teremos ou uma solubilização da glucose que deveria precipitar, ou uma precipitação da frutose que deveria permanecer em solução. A solução deve então apresentar uma absorbância diferente da esperada. As absorbâncias teóricas das soluções podem ser estimadas a partir das absortividades dos açúcares individuais na concentração de hidróxido de sódio empregada. A 0,2 N, uma absorbância menor que a calculada pode ser atribuída a uma precipitação parcial da frutose. A concentração de frutose precipitada pode ser deduzida dividindo a diferença entre a absorbância teórica e a real pela absortividade da frutose vezes a espessura da célula:

TABELA 13. Absorbância de Misturas dos Complexos Glucose-Cobre e Frutose-Cobre.

Normalidade da Solução de NaOH	Concentração dos Açúcares Glucose	Frutose	Absorbância a 660 nm	Média
0,100	0,5	0,5	0,440 0,421	0,430
	1,0	0,5	0,662 0,660	0,661
	1,5	0,5	0,880 0,890	0,885
	2,0	0,5	1,070 1,060	1,065
	0,5	1,0	0,612 0,605	0,608
	0,5	1,5	0,790 0,775	0,782
	0,5	2,0	0,930 0,935	0,932
	1,0	-	0,484 0,482	0,483
	-	1,0	0,373 0,379	0,376
0,200	0,5	0,5	0,292 0,297	0,294
	1,0	0,5	0,222 0,240	0,231
	1,5	0,5	0,204 0,199	0,202
	2,0	0,5	0,172 0,174	0,173
	0,5	1,0	0,421 0,414	0,417
	0,5	1,5	0,643 0,605	0,624
	0,5	2,0	0,840 0,860	0,850
	1,0	-	0,060 0,054	0,057
	-	1,0	0,445 0,435	0,440

GRÁFICO 6. Absorbância das Misturas dos Complexos Glucose-Cobre e Frutose-Cobre Mantendo a Concentração de Glucose Constante. Concentração da Glucose 0,5 g/l.

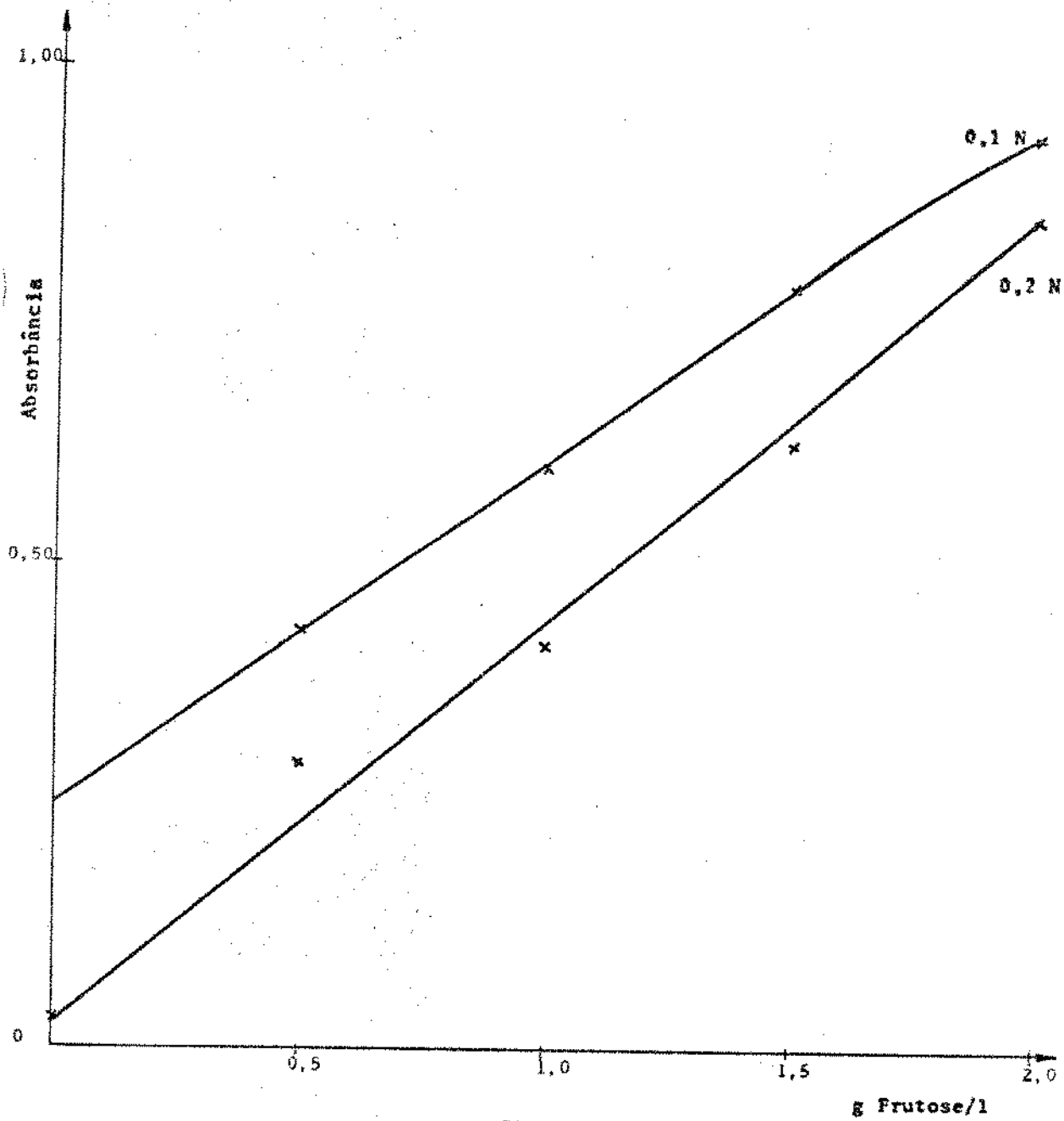
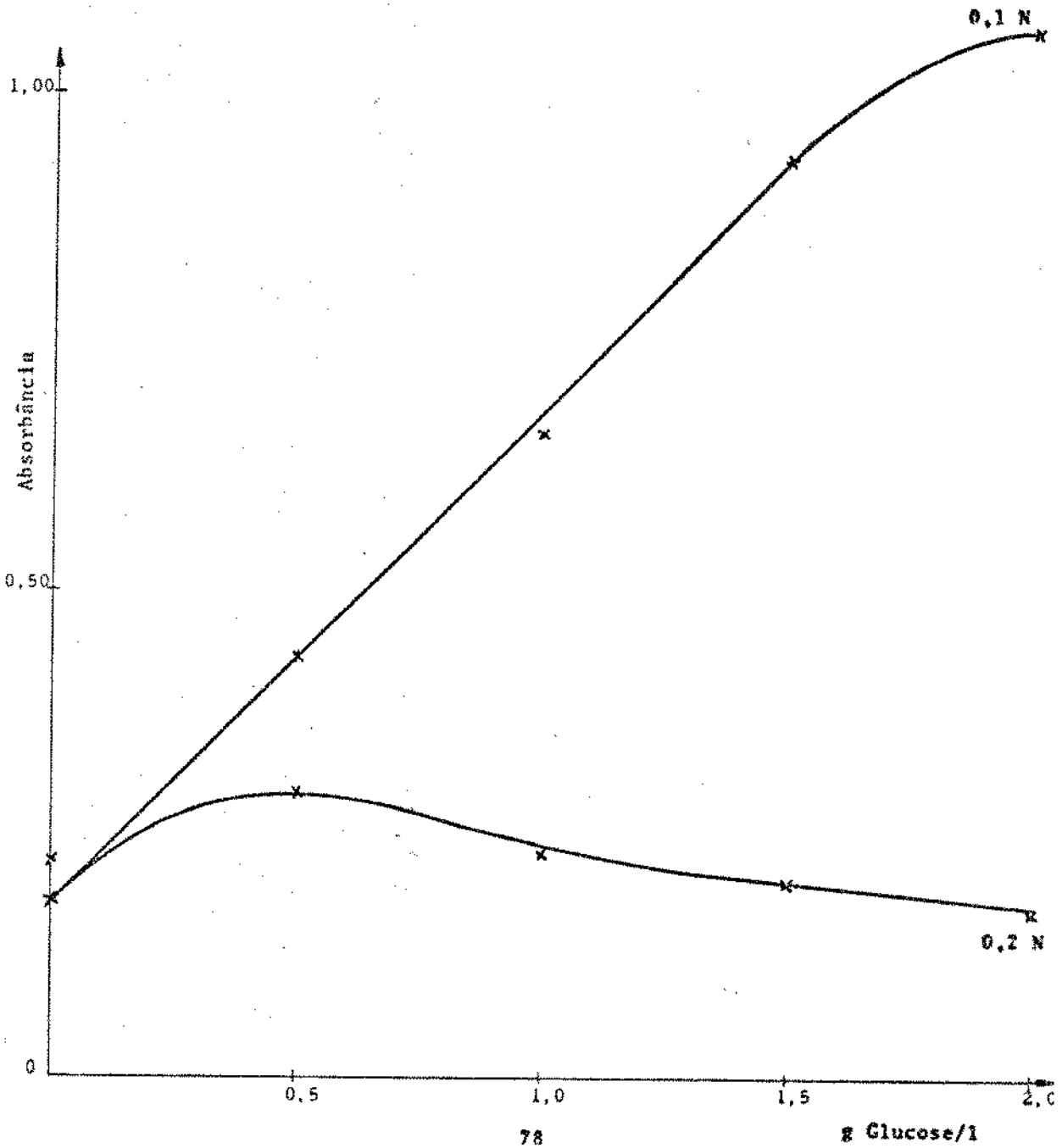


GRÁFICO 7. Absorbância das Misturas dos Complexos Glucose-Cobre e Frutose-Cobre Mantendo a Concentração de Frutose Constante. Concentração da Frutose = 0,5 g/l.



$$\frac{A_c - A_r}{a_F\ (0,2) \times b} = C_F$$

Onde: A_c = Absorbância calculada

A_r = Absorbância real

$a_F(0,2)$ = Absortividade da frutose a 0,2 N NaOH

b = Espessura da célula

Uma absorbância maior que a esperada pode ser atribuída a uma solubilização parcial da glucose. A concentração de glucose solubilizada pode ser calculada de maneira semelhante usando a absortividade da glucose a 0,1 N.

Observando os resultados na Tabela 14 vemos que as absorbâncias das soluções a 0,1 N NaOH exibem um desvio negativo crescente das teóricas a medida que a proporção de qualquer dos dois açúcares aumenta com relação ao outro. Os gráficos nos mostram no entanto, que a lei de Beer é obedecida pràticamente por toda a faixa de concentrações a 0,1 N NaOH.

TABELA 14. Comparação entre as Absorbâncias Calculadas e as Encontradas nas Misturas dos Complexos de Glucose-Cobre e Frutose-Cobre.

Em Solução 0,100 N NaOH:

Concentração dos açúcares em g/l		Absorbância real (A_r)	Absorbância calculada (A_c)	Diferença ($A_c - A_r$)
Glucose	Frutose			
0,5	0,5	0,430	0,431	0,001
1,0	0,5	0,661	0,672	0,011
1,5	0,5	0,885	0,914	0,029
2,0	0,5	1,065	1,156	0,091
0,5	0,5	0,430	0,431	0,001
0,5	1,0	0,608	0,620	0,012
0,5	1,5	0,782	0,810	0,028
0,5	2,0	0,932	1,000	0,068

Em Solução 0,200 N NaOH:

Concentração dos açúcares em g/l		Absorbância real (A_r)	Absorbância calculada (A_c)	Diferença ($A_c - A_r$)	g/l de Frutose precipitada
Glucose	Frutose				
0,5	0,5	0,294	0,248	0,046	-
1,0	0,5	0,231	0,277	0,046	0,10
1,5	0,5	0,202	0,306	0,104	0,24
2,0	0,5	0,173	0,334	0,161	0,37
0,5	0,5	0,294	0,248	0,046	-
0,5	1,0	0,417	0,568	0,051	0,12
0,5	1,5	0,624	0,688	0,064	0,15
0,5	2,0	0,850	0,908	0,058	0,13

A 0,2 N, a medida que a proporção de frutose para glucose aumenta, ocorre um desvio negativo aproximadamente constante que pode ser traduzido por uma quantidade de frutose precipitada também - aproximadamente constante. Excessos de frutose portanto não tem a capacidade de solubilizar a glucose. A medida que se eleva a concentração de glucose e se mantêm a de frutose constante, o desvio negativo aumenta. A proporção de frutose no precipitado é por demais alta para ser devido a uma oclusão pela glucose. Podemos concluir portanto que há algum tipo de interação entre estes açúcares na presença do cobre cuja natureza seria interessante - investigar.

4.8. O Efeito do Isopropanol.

A formação de complexos é de uma maneira geral facilitada - pela redução da constante dielétrica do meio (13). Alguns auto - res têm considerado meios alcoólicos superiores aos aquosos para a complexação entre açúcares e metais (14), (15) e (16). Márquez (5) encontrou uma maior absorbância de soluções alcalinas de glucose, frutose e sacarose em presença de carbonato básico de co - bre em 30% isopropanol do que em meio puramente aquoso ou com outras concentrações de isopropanol.

Para descobrir que influência tem o isopropanol na complexação -

de açúcares com cobre, mediu-se a absorbância de soluções 0,1 N NaOH com glucose e carbonato básico de cobre utilizando 30% e 27% isopropanol e em ausência do mencionado álcool. Observou-se também que cada solução levou para mostrar os primeiros sinais de oxi-redução indicados pelo aparecimento de óxido cuproso (precipitado vermelho).

Soluções com 2,0 g/l de Glucose	Absorbância a 660 nm
Sem isopropanol	0,514
	0,498
Com 27% isopropanol	0,800
	0,795
Com 30% isopropanol	0,820
	0,830

Todas as soluções mostraram sinais de oxi-redução ao mesmo tempo. Cerca de 3 horas quando deixadas a uma temperatura ambiente de 20-22°C. O isopropanol, portanto, não parece ter nenhum efeito retardador da oxi-redução. A temperatura sim, é crucial. Num dia mais quente, de 28-30°C, esta se dá em uma hora.

Soluções de glucose em hidróxido de sódio, com ou sem isopropanol, e sem carbonato básico de cobre foram deixadas a temperatu

ra ambiente e observadas até o aparecimento da cor amarela, indicativa da degradação do açúcar.

4 g/l de Glucose em:	Tempo para aparecer a cor amarela com a temperatura ambiente de 22°C
0,1 N NaOH	3 horas
0,1 N NaOH com 30% isopropanol	3 horas
1,1 N NaOH	20 minutos
1,1 N NaOH com 30% isopropanol	20 minutos

Assim sendo, o isopropanol não aparenta ter nenhum efeito retardador sobre a degradação alcalina dos açúcares. A temperatura - neste caso tem um papel importante. Num dia quente ($\sim 28^{o}C$), a cor aparece em cerca de uma hora e meia em 0,1 N NaOH, com ou sem isopropanol. Num dia mais frio ($\sim 18^{o}C$) a cor pode demorar 5 a 6 horas para desenvolver. Por isto, para garantir a ausência de oxi-redução e degradação alcalina durante o trabalho com os complexos de açúcar e cobre, decidiu-se usar soluções de hidróxido de sódio refrigeradas a $5^{o}C$, o mesmo com relação a centrífuga.

4.9. Os Complexos Isolados.

4.9.1. Teor de Cobre e Sódio.

Normalidade da solução de NaOH em que o complexo foi isolado	Ligante	% Cobre	% Sódio
0,050	Glucose	36,07	1,61
0,100	Glucose	37,16	2,44
0,100	Manitol	43,46	0,12

O sódio encontrado nos complexos trata-se, provavelmente, de uma impureza. Os teores de cobre estão próximos aos encontrados por Lieser e Ebert (4) que reportaram 43,7% para hexitois e 38,8 a 40,6% para hexoses.

4.9.2. O Espectro Infravermelho.

Comparando o espectro do complexo glucose-cobre com o da glucose pura, chamam a atenção de imediato, a simplificação e o alargamento das bandas. Empregando a interpretação descrita por Spedding (33) e superpondo os dois espectros, podemos notar que:

- a vibração simétrica do anel, tipo "breathing", continua presente a 770 cm^{-1}.

- a banda em 837 cm^{-1}, atribuída à vibração de natureza não identificada do grupo anomérico inteiro quando na forma α , desaparece.
- as bandas da faixa de 980 a 1060 cm^{-1}, consideradas como combinações envolvendo estiramento de ligações C-O e C-C, aparecem não resolvidas numa só com o máximo em 1030 cm^{-1}.
- as da faixa de 1060 a 1200 cm^{-1} , designadas como combinações envolvendo estiramento de ligações C-O e vibração do anel, estão ausentes.
- as da faixa de 1200 a 1500 cm^{-1}, consideradas como devidas a deformação de oxidrilas no plano ou deformação de C-H e CH_2, aparecem não resolvidas numa só a 1375 cm^{-1}.
- uma nova banda, forte e larga, aparece a 1595 cm^{-1}.

O espectro do complexo de manitol e cobre difere significativamente do espectro do manitol puro, da mesma maneira que o espectro do complexo de glucose e cobre difere do da glucose pura. No entanto os espectros dos dois complexos muito se assemelham entre sí. Utilizando a explicação do espectro do manitol dada por Szymanski (34) e comparando-o com o do complexo, podemos observar que:

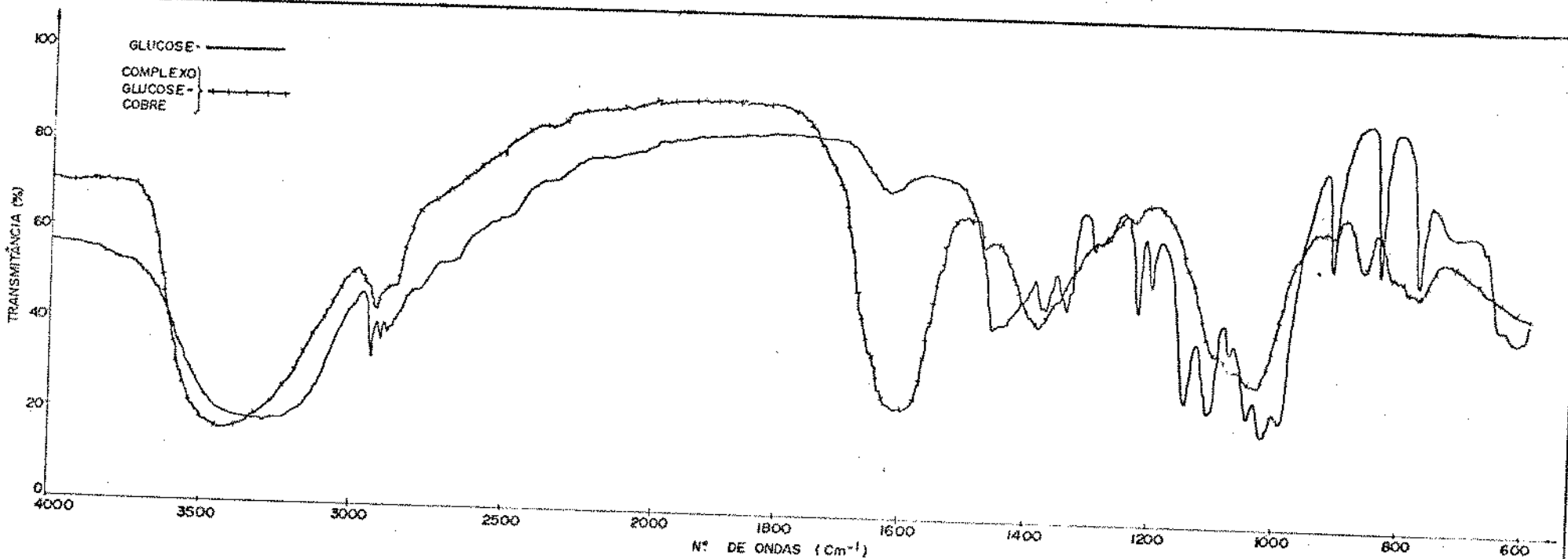


GRÁFICO 8.- ESPECTROS INFRA-VERMELHOS DA GLUCOSE E DO COMPLEXO GLUCOSE – COBRE.

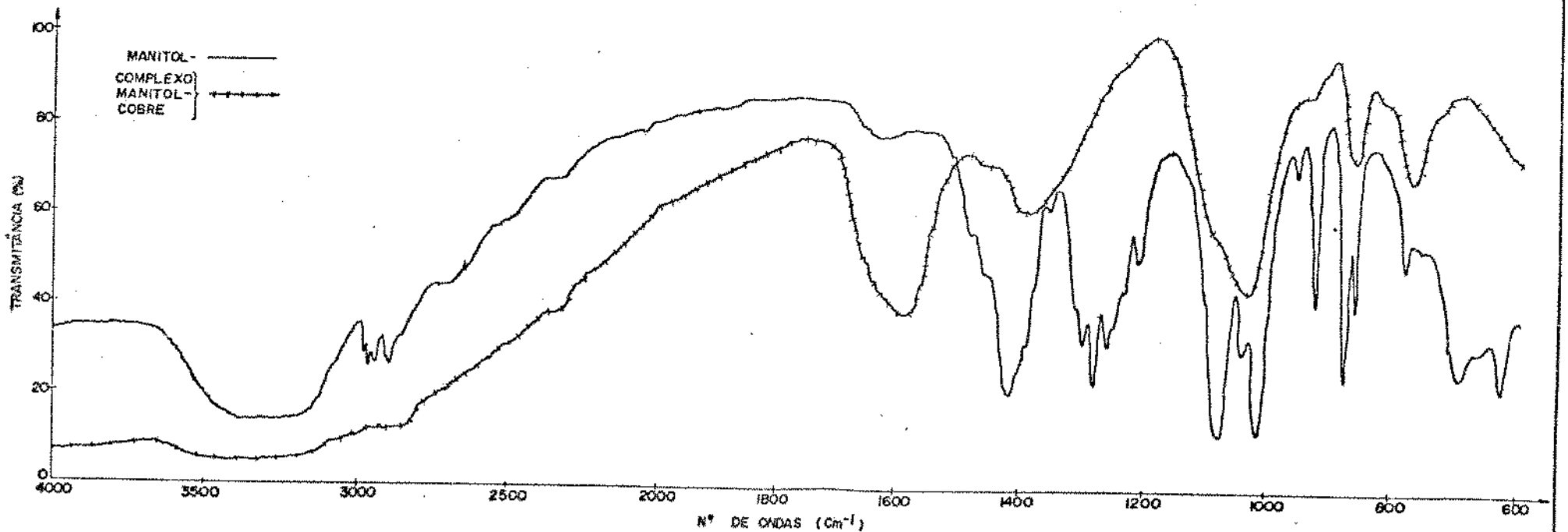


GRÁFICO 9. - ESPECTROS INFRA-VERMELHOS DO MANITOL E DO COMPLEXO MANITOL - COBRE.

- as bandas de 1160 a 1500 cm^{-1}, devidas a deformação de ligações OH, desaparecem com o surgimento de uma única banda larga a 1375 cm^{-1}.

- as duas bandas da faixa de 1000 a 1100 cm^{-1}, atribuídas ao estiramento das ligações OH primárias e secundárias, aparecem não resolvidas a 1030 cm^{-1}.

- há também o aparecimento de uma nova banda a 1600 cm^{-1}, larga e forte.

Portanto, os complexos de manitol e cobre e glucose e cobre apresentam espectros praticamente idênticos com bandas largas e fortes. A de 1375 cm^{-1} pode ser atribuída à não resolução das bandas devidas a deformação de ligações C-O. Da mesma maneira a banda que aparece a 1030 cm^{-1} é também provavelmente a consequência da não resolução das bandas devidas a estiramento de ligações C-O. Também comum aos dois complexos temos duas bandas novas: uma forte a 1595 cm^{-1} e outra fraca a 860 cm^{-1}. Outra que pode ser vista nos dois espectros aparece em 765 cm^{-1}, e no complexo glucose - cobre é aparentemente composta. Na glucose pura esta banda é atribuída à vibração do anel do

tipo "breathing".

5. CONCLUSÕES

1. Qualquer par de oxidrilas, vizinhas ou não, pode quelar o cobre desde que estejam suficientemente próximas e que não haja impedimento estérico. As oxidrilas secundárias intra-resíduo ligam-se primeiramente ao cobre e de maneira mais estável. A complexação ocorre na faixa de 0,01 a 0,10 N NaOH e resiste até 1,00 N NaOH. Pares de oxidrilas secundárias inter-resíduos também são capazes de quelar o cobre - assim como oxidrilas primárias, As últimas fazem par com oxidrilas secundárias intra-resíduo e oxidrilas secundárias ou primárias pertencentes a outro resíduo. A dificuldade - de reação cresce provavelmente na ordem citada. A complexação começa na faixa de 0,20 a 0,50 N NaOH, formando quelatos mais fracos que são quebrados a 0,70 ou 1,00 N NaOH.

2. O manitol mostra tanta habilidade para quelar o cobre quanto os açúcares. Portanto, o pK das oxidrilas não é o fator determinante na complexação, nem o fato do manitol assumir uma forma acíclica.

3. As constantes de estabilidade calculadas nos dão a afinida

de dos açúcares e do manitol pelo cobre. Em ordem crescente temos: celobiose, rafinose, glucose, lactose, galactose , maltose, sacarose, manitol, L-sorbose, frutose e manose.

4. A habilidade da glucose em precipitar quantidades bem maiores de frutose, do que era de se esperar por aclusão, mostra haver entre estes açúcares uma interação de natureza não identificada na presença de cobre.

5. Foram isolados complexos de glucose e cobre a 0,050 N e 0,100 N NaOH e de manitol e cobre a 0,100 N NaOH com teores de cobre de 36,07, 37,16 e 43,46 respectivamente.

6. Os espectros infravermelhos dos complexos de glucose e cobre e de manitol e cobre mostraram-se semelhantes e com bandas nas mesmas posições. Além das bandas a 3400 e 2910 cm^{-1} devidas a estiramento dos grupos O-H e C-H, bandas largas e fortes foram encontradas a 1595, 1375 e 1030 cm^{-1}. As duas últimas foram atribuídas, respectivamente, a não resolução das bandas de deformação dos grupos C-O e a não resolução das bandas de estiramento dos grupos C-O. Duas outras bandas comum a ambos os espectros, em 900 e 765cm^{-1},

não foram identificadas.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

1. A absortividade de todos os complexos de cobre e açúcares se mantêm constante em certas faixas de concentrações de hidróxido de sódio, apontando a possibilidade de seu emprego em determinações espectrofotométricas de açúcares. No entanto, há indicações de interações entre diferentes açúcares presentes numa mistura. Antes de tentar estabelecer um método para determinar açúcares, baseado em complexos de cobre, é conveniente esclarecer a natureza destas interações.

2. Alguns açúcares dão indicações de precipitação, em certas concentrações de hidróxido de sódio alcoólico. Difração de raio-X destes precipitados pode ajudar a explicar o fato, desde que aponte alguma diferença estrutural com relação a outros complexos que sejam isolados por meio da adição de álcool à solução.

3. Difração de raio-X de complexos obtidos a concentrações escolhidas de hidróxido de sódio, além de determinar a estrutura, pode vir a demonstrar a presença de cobre ligado a duas oxidrilas pertencentes a resíduos diferentes, ou até mesmo a

duas oxidrilas que façam parte de moléculas distintas.

4. Ressonância nuclear magnética ajudaria no esclarecimento da estrutura dos complexos em solução.

7. BIBLIOGRAFIA

1. AASA, R., MALMSTROM, B., SALTMAN, P., VANNGARD, T. Biochim. Biophys. Acta. 80, 430-37 (1964).

2. RENDLEMAN JR., J.A. J.Org. Chem. 31, 1845-51 (1966).

3. REEVES, R.E. Adv. Carb. Chem. 6, 108-131 (1951).

4. LIESER, T., EBERT, R. Ann. der Chemie, 532, 89-94 (1937).

5. MÁRQUEZ S., J.I. Complexos de Glucose, Frutose e Sacarose com Cobre em Meio Alcalino Alcoólico. Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, UNICAMP, (1976).

6. KUBOTA, M. J.Chem.Soc. Japan 61, 1176-81 (1940).

7. REEVES, R.E. J. Amer. Chem. Soc. 71, 215-217 (1949).

8. RENDLEMAN JR., J.A. Adv. in Carb. Chem. 21, 209-271 (1966).

9. ANGYAL, S.J. Tetrahedron, 30, 1695-1702 (1974).

10. PAULING, L. The Nature of the Chemical Bond. Cornell University Press, 1967.

11. PFEIFFER, P., SIMONS, H., SCHMITZ, E. Zeitschrift für anorganische Chemie. 256, 319-342 (1948).

12. REEVES, R.E. J. Amer. Chem. Soc. 73, 957 (1951).

13. LEWIS, J., WILKINS, R.C. Modern Coordination Chemistry. Interscience Publishers Inc. (1960).

14. RENDLEMAN JR., J.A. J. Org. Chem. 31, 1839-45 (1966).

15. ROY, N., MITRA, A.K. Carb. Res. 24, 175-179 (1972).

16. MOULIK, S.P., KHAN, D.P. Carb. Res. 41, 93-104 (1975).

17. ROBERTS, E.J., ROWLAND, S.P. Carb. Res. 5, 1 (1967).

18. TURNER, S.E., ANDERSON, R.C. J. Amer. Chem. Soc. 71, 912 (1949).

19. ROBERTS, E.J., WADE, C.P., ROWLAND, S.P. Carb. Res. 17, 393-399 (1971).

20. THAMSEN, J. Acta Chem. Scandinavica 6, 270-280 (1952).

21. DAVIDSON, E.A. Carbohydrate Chemistry. Holt, Rinehart and Winston Inc. (1967).

22. MILLS, J.A. Aust. J.Chem. 27, 1433-46 (1974).

23. DEFAYE, J., GAGNAIRE, D., HORTON, D., MUESSER, M. Carb. Res. 21, 407-416 (1972).

24. ANGYAL, S.J., GREEVES, D., MILLS, J.A. Aust. J. Chem. 27, 1447-56 (1974).

25. KROPLIEN, U. Carb. Res. 32, 167-170 (1974).

26. ANGYAL, S.J., BETHELL, G.S. Aust. J.Chem. 29, 1249-65 (1976).

27. HAINES, A.H., SYNES, R.C., WELLS, A.G. Carb. Res. 41, 85-92 (1975).

28. MOULIK, S.P., KHAN, D.P. Carb. Res. 36, 147-152 (1974).

29. BAILAR, J.C., EMELÉUS, H.J., NYHOLM, R., TROTMAN-DICKENSON, A.F. Comprehensive Inorganic Chemistry. Pergamon Press, (1973).

30. SANTANA, K.F. Relatório de bolsa para a FAPESP, nº 4 (1977).

31. MC DOWELL, L.A., JOHNSTON, H.L. J. Amer. Chem. Soc. 58, 2009 (1936).

32. ANGYAL, S.J. Aust. J. Chem. 27, 1433-46 (1974).

33. SPEDDING, H. Adv. Carb. Chem. 19, 23-33 (1964).

34. SZYMANSKI, H.A. Interpreted Infrared Spectra. Vol. 2. Plenum Press Data Division (1966).

35. MITCHEL, J. Anal. Chem. 23, 1069-1075 (1951).

36. MARTELL, A.E., CALVIN, M. Chemistry of the Metal Chelate Compounds. Prentice-Hall, Inc. (1952).

37. ANGYAL, S.J., BETHELL, G.S., COWLEY, D.E. Aust. J. Chem. 29, 1239-47 (1976).

38. PIGMAN, W., ISBELL, H.S. Adv. in Carb. Chem. 23, 11 (1968).

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. FREDERICK CARL STRONG III, professor e amigo, que orientou na realização deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior , CAPES, pelo apoio financeiro.

Ao pessoal do Laboratório de Análise de Alimentos, pelas facilidades oferecidas durante a parte experimental desta tese.