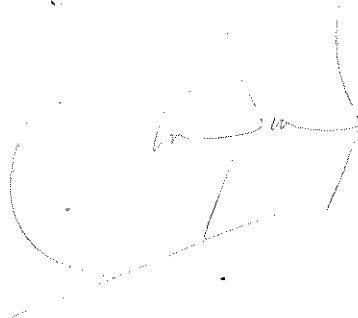


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

Este exemplar corresponde a notação final de
Tese defendida por Sônia Maria Nobre Gimenez
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Campinas, 07 de Janeiro de 1987



ESTUDOS POTENCIOMÉTRICOS DAS INTERAÇÕES
DO COBRE(II) COM LIGANTES DE OCORRÊNCIA
NATURAL.

TESE DE MESTRADO

SÔNIA MARIA NOBRE GIMENEZ

ORIENTADOR: PROF. DR. WILSON DE FIGUEIREDO JARDIM

DEZEMBRO

1986

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

*Todo esforço é válido
quando se tem como estímulo
amor, carinho e amizade.*

Dedico:

*Ao meu esposo
José Alceu,
aos meus filhos
Juliana, Camila
e Luiz Fernando*

*À minha família
pelo carinho e apoio.*

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim, pela amizade e pela orientação desta tese.
- À Universidade Estadual de Londrina, especialmente à CRH/CPCD, e ao Depto. de Química, pela oportunidade a mim concedida para realização deste trabalho.
- À CAPES (programa CAPES/PICD) pelas bolsas de estudo.
- Ao Instituto de Química da UNICAMP por ter possibilitado a realização deste trabalho.
- Aos colegas e aos funcionários da UNICAMP que direta ou indiretamente me auxiliaram.
- Ao Sr. Beijamin Gimenez, à Sra. Amélia S. Gimenez e ao Sr. José Paulo Nobre, pelo constante apoio nesta caminhada.
- Ao Prof. Dr. Howard Pearson, The University of Liverpool, pelo empréstimo do eletrodo Orion.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio concedido.
- Ao Sr. William Kalaf pela datilografia.
- A Eliane pelos desenhos.
- À Sandra, Tereza, Elisabete, Rosângela, Susi, Eliana, Luca, Cáritas, Rosa, Marina, Fátima e Ieda pelo apoio e pela amizade.

Título: Estudos Potenciométricos das Interações do Cobre(II) com Ligantes de Ocorrência Natural.

Orientador: Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim

Aluna: Sônia Maria Nobre Gimenez

RESUMO

As interações entre o cobre(II) e ligantes sintéticos e naturais foram avaliadas utilizando-se eletrodos seletivos de íons. Nos tampões metálicos feitos a partir de soluções contendo ligantes sintéticos tais como trien (trietilenotetraamina) e o nta (ácido nitrilotriacético), os valores de pCu ($-\log [Cu^{2+}]$) obtidos experimentalmente mostraram boa concordância com os valores teóricos esperados. Discrepâncias da ordem de 10^4 vezes foram observadas nestes mesmos parâmetros para o tampão metálico feito a partir do ligante edta (ácido etilenodiaminotetraacético). Misturas sintéticas contendo dois ligantes foram também investigadas e os resultados experimentais obtidos mostraram ótima concordância com os valores teóricos.

Amostras de água do Rio Atibaia, da Lagoa do Taquaral e de soluções de ácido húmico comercial (Aldrich) foram tituladas com o cobre(II) na faixa de $1,00 \text{ E-}7$ a $2,00 \text{ E-}6 \text{ M}$ em pH tamponado a $6,800 \pm 0,005$.

Os resultados foram analisados com o auxílio de programas computacionais já existentes, bem como por programas desenvolvidos neste trabalho.

Na tentativa de reproduzir os dados experimentais, modelos computacionais de estequiometria 1:1 e 2:1 metal:ligante foram utilizados. Em todas as amostras estudadas, a existência de múltiplos locais de ligação foi evidenciada a partir destes modelos.

Para amostras não filtradas de ácido húmico comercial (10 mg ℓ^{-1}), os valores de K_1' , $[L_1]$, K_2' e $[L_2]$ foram $5,63 \text{ E}+7$, $1,14 \text{ E}-7$ moles. ℓ^{-1} , $1,00 \text{ E}+7$, $2,94 \text{ E}-6$ moles. ℓ^{-1} , respectivamente. Os valores obtidos para amostra filtrada deste ácido foram $K_1' = 2,36 \text{ E}+7$, $[L_1] = 2,57 \text{ E}-7$ moles. ℓ^{-1} , $K_2' = 8,02 \text{ E}+6$ e $[L_2] = 2,30 \text{ E}-6$ moles. ℓ^{-1} .

Os valores de $K_1' = 9,40 \text{ E}+6$, $[L_1] = 8,60 \text{ E}-7$ moles. ℓ^{-1} , $K_2' = 5,05 \text{ E}+6$ e $[L_2] = 1,51 \text{ E}-6$ moles. ℓ^{-1} foram obtidos na titulação de amostra não filtrada da água da Lagoa do Taquaral. Os valores destes parâmetros para amostra filtrada foram $K_1' = 1,79 \text{ E}+7$, $[L_1] = 5,06 \text{ E}-7$ moles. ℓ^{-1} , $K_2' = 1,42 \text{ E}+6$ e $[L_2] = 1,30 \text{ E}-6$ moles. ℓ^{-1} .

Na análise de amostras filtradas do Rio Atibaia os valores encontrados foram $K_1' = 1,52 \text{ E}+7$, $[L_1] = 1,70 \text{ E}-7$ moles. ℓ^{-1} , $K_2' = 4,80 \text{ E}+6$ e $[L_2] = 2,24 \text{ E}-6$ moles. ℓ^{-1} .

Title: Potentiometric Studies of Copper(II) Interactions with Naturally Occuring Ligands.

Student: Sonia Maria Nobre Gimenez

Thesis Supervisor: Wilson de Figueiredo Jardim

ABSTRACT

Copper(II) interactions with synthetic and natural ligands were evaluated using a cupric ion selective electrode. In the electrode calibration using metallic buffers containing synthetic ligands such as the trien (triethylenetetraamine) and the nta (nitrilotriacetic acid), experimental values of pCu ($-\log [\text{Cu}^{2+}]$) obtained showed a good agreement with the theoretical values. Metallic buffers using edta (Ethylenedinitrilotetraacetic acid) as the ligand showed discrepancies up to 4 orders of magnitude between experimental and theoretical values of pCu. Synthetic mixtures of ligands were also analysed, and the experimental values were in a good agreement with the theoretical ones.

Water samples from the Atibaia River, the Taquaral Lagoon as well as a solution of commercial humic acid (Aldrich) were titrated with copper(II) in the range of $1.00 \text{ E-}7$ to $2.00 \text{ E-}6 \text{ M}$ in a buffered pH of 6.800 ± 0.005 .

The results were analysed with the help of both computer programs already available as well as programs developed in this research.

In order to reproduce experimental data obtained, computer models assuming the stoichiometry metal:ligand 1:1 and 2:1 were used. Based on these models, all samples studied showed the presence of multi-binding sites.

The non-filtered samples of humic acid ($10 \text{ mg.}\ell^{-1}$), the

values of K' , $[L_1]$, K_2' and $[L_2]$ were $5.63 \text{ E}+7$, $1.14 \text{ E}-7 \text{ mols.}\ell^{-1}$, $1.00 \text{ E}+7$, and $2.94 \text{ E}-6 \text{ mols.}\ell^{-1}$ respectively. To the filtered sample, the following figures were obtained: $K_1' = 2.36 \text{ E}+7$, $[L_1] = 2.57 \text{ E}-7 \text{ mols.}\ell^{-1}$, $K_2' = 8.02 \text{ E}+6$ and $[L_2] = 2.30 \text{ E}-6 \text{ mols.}\ell^{-1}$. The values $K_1' = 9.40 \text{ E}+6$, $[L_1] = 8.60 \text{ E}-7 \text{ mols.}\ell^{-1}$, $K_2 = 5.05 \text{ E}+6$ and $[L_2] = 1.51 \text{ E}-6 \text{ mols.}\ell^{-1}$ were obtained for the titration of non-filtered samples of the Taquaral Lagoon, while for filtered samples $K_1' = 1.79 \text{ E}+7$, $[L_1] = 5.06 \text{ E}-7 \text{ mols.}\ell^{-1}$, $K_2' = 1.42 \text{ E}+6$ and $[L_2] = 1.30 \text{ E}-6 \text{ mols.}\ell^{-1}$ were the values found. In the titration of the filtered sample of the Atibaia River the following values were computed: $K_1' = 1.52 \text{ E}+7$, $[L_1] = 1.70 \text{ E}-7 \text{ mols.}\ell^{-1}$, $K_2 = 4.80 \text{ E}-6$ and $[L_2] = 2.24 \text{ E}-6 \text{ mols.}\ell^{-1}$.

LISTA DE TABELAS

	<u>Página</u>
Tabela 1. Dados obtidos na titulação do tampão PIPES 7,5 mM com solução de sulfato de cobre $1,02 \times 10^{-3}$ M	30
Tabela 2. Dados obtidos na titulação do tampão PIPES 7,5 mM com solução de sulfato de cobre $1,00 \times 10^{-3}$ M	31
Tabela 3. Valores experimentais e teóricos de pCu ...	35
Tabela 4. Constantes termodinâmicas (valores em log).	38
Tabela 5. Dados obtidos na titulação da mistura trien 10^{-6} M e nta 10^{-6} M	39
Tabela 6. Valores de K' e [L] teóricos e experimentais	40
Tabela 7. Desvio dos valores de $[CuL]/[Cu^{++}]$ experimentais comparados com $[CuL]/[Cu^{++}]$ refinados e não refinados	42
Tabela 8. Resultados obtidos na titulação da solução não filtrada de ácido húmico	46
Tabela 9. Resultados obtidos na titulação da solução filtrada de ácido húmico	48
Tabela 10. Valores de K' e [L] para solução não filtrada de ácido húmico	50
Tabela 11. Dados referentes a aplicação do modelo 1:1 à solução não filtrada de ácido húmico	51
Tabela 12. Dados referentes a aplicação do modelo 2:1 à solução não filtrada de ácido húmico	52
Tabela 13. Desvio dos valores de $[CuL]/[Cu^{++}]$ para os modelos 1:1 e 2:1. Solução não filtrada de ácido húmico.....	53
Tabela 14. Valores de K' e [L] para solução filtrada de ácido húmico.....	55

Página

Tabela 15.	Desvio dos valores de $[Cu_L]/[Cu^{++}]$ para os modelos 1:1 e 2:1. Solução filtrada de ácido húmico	56
Tabela 16.	Resultados obtidos na titulação da amostra de água não filtrada da Lagoa do Taquaral.	59
Tabela 17.	Resultados obtidos na titulação da amostra da água filtrada da Lagoa do Taquaral	60
Tabela 18.	Desvio dos valores de $[Cu_L]/[Cu^{++}]$ para os modelos 1:1 e 2:1. Amostra não filtrada da Lagoa do Taquaral	62
Tabela 19.	Desvio dos valores de $[Cu_L]/[Cu^{++}]$ para modelos 1:1 e 2:1. Amostra filtrada da Lagoa do Taquaral	63
Tabela 20.	Valores de K' e $[L]$ para amostra da água não filtrada da Lagoa do Taquaral	65
Tabela 21.	Valores de K' e $[L]$ para amostra da água filtrada da Lagoa do Taquaral	65
Tabela 22.	Resultados obtidos na titulação da amostra da água filtrada do Rio Atibaia	67
Tabela 23.	Desvio dos valores de $[Cu_L]/[Cu^{++}]$ para os modelos 1:1 e 2:1. Amostra filtrada da água do Rio Atibaia	68
Tabela 24.	Valores de K' e $[L]$ para amostras da água filtrada do Rio Atibaia	71

LISTA DE FIGURAS

	<u>Página</u>
Figura 1. Gráfico de Scatchard resultante da titulação de um complexo com estequiometria 1:1	10
Figura 2. Gráfico de Scatchard resultante da titulação de um complexo com estequiometria diferente de 1:1	10
Figura 3. Gráfico de van den Berg e Kramer, resultante da titulação de um complexo com estequiometria 1:1	12
Figura 4. Gráfico de van den Berg e Kramer, resultante da titulação de um complexo com estequiometria diferente de 1:1	12
Figura 5. Gráfico de Scatchard	22
Figura 6. Titulação do tampão PIPES 7,5 mM	32
Figura 7. Valores de pCu teóricos e experimentais obtidos durante a titulação de solução de íons cobre (II) com edta usando o eletrodo Orion.	36
Figura 8. Valores de pCu teóricos e experimentais obtidos na titulação de íons cobre(II) com trien usando os eletrodos Orion e Analion	37
Figura 9. Titulação da mistura de trien e nta. Valores experimentais, teóricos, refinados e não refinados	41
Figura 10. Titulação de solução de ácido húmico filtrada e não filtrada	47
Figura 11. Gráfico de Scatchard com os dados obtidos na titulação da solução filtrada e não filtrada de ácido húmico	49
Figura 12. Titulação da solução não filtrada de ácido húmico. Experimental, modelo 1:1 e modelo 2:1	54
Figura 13. Titulação da amostra de água da Lagoa do Taquaral. Amostra filtrada e não filtrada ...	61

Página

Figura 14.	Gráfico de Scatchard com os dados obtidos na titulação da amostra da água filtrada da Lagoa do Taquaral	64
Figura 15.	Titulação da amostra da água filtrada do Rio Atibaia	69
Figura 16.	Titulação da amostra da água filtrada do Rio Atibaia. Experimental, modelo 1:1 e modelo 2:1	70
Figura 17.	Variação de pCu em função da concentração total do cobre adicionado ao sistema. As curvas A e B são referentes aos sistemas 1 e 2 respectivamente.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS

- edta - ácido etilenodiaminotetraacético
- nta - ácido nitrilotriacético
- trien - trietilenotetraamina
- ETI - Equilíbrio de Troca Iônica
- ESI - Eletrodo seletivo de íons
- K' - Constante de formação condicional
- L - Concentração de ligantes (moles. \cdot l⁻¹)
- 1.00 E-6 = 1.00×10^{-6}
- PIPES - Piperazina N-N' ácido 2-etanosulfônico

ÍNDICE

	<u>Página</u>
Lista de Tabelas	viii
Lista de Figuras	x
Lista de Abreviaturas e Símbolos	xii
Capítulo I	
I. Introdução	2
I.a. Especificação Química	2
I.b. Fundamentos Teóricos	5
I.c. Métodos Gráficos	8
Objetivos	13
Capítulo II	
II. Obtenção e tratamento de dados	15
II.a. Eletrodo Seletivo de Íons	15
II.b. Tratamento dos dados	18
II.c. Método de Ružič - Programa P/L ₁ L ₂	19
II.d. Método de Scatchard - Programa ISIS SHORT ..	21
Capítulo III	
III. Resultados	26
III.a. Materiais e métodos	26
III.b. Ligantes sintéticos	33
III.c. Titulação de Ácido Húmico	43
III.d. Amostras Naturais	57
Capítulo IV	
IV.a. Discussão	72
IV.b. Conclusão	76
Capítulo V	
V. Referências	79
Apêndice	
a) Programa ISIS SHORT	84
b) Programa P/L ₁ L ₂	88
c) Programa ESPEC	89

CAPÍTULO I

I. INTRODUÇÃO

I.a. Especiação Química

A composição natural dos diversos ambientes aquáticos é constantemente alterada. Chegam a estes sistemas diferentes quantidades de matéria orgânica, cuja decomposição resulta numa grande variedade de ligantes orgânicos. Diversas espécies de ligantes inorgânicos também são transportadas para estes ambientes.

A lixivação e a percolação são exemplos de fenômenos naturais que facilitam o transportes destas substâncias para estes sistemas.

Devido à atividade humana, a composição destas águas é também alterada pela presença dos vários tipos de ligantes que nelas são lançados.

De modo similar aos ligantes, diferentes espécies metálicas chegam aos sistemas aquáticos através de fenômenos naturais e, principalmente, pela atividade antropogênica. Estas espécies podem interagir com os diversos ligantes via reações de complexação e adsorção.

No caso de ligantes orgânicos tais como as proteínas e os ácidos fúlvico e húmico, esta interação é devida à presença de diversos grupos funcionais como, os fenólicos, os carboxílicos, os carbonílicos e os hidroxialcoólicos.

Para os ligantes inorgânicos tais como o carbonato, o fosfato, o cianeto e a amônia, esta interação também pode estar relacionada com efeitos eletrostáticos, como por exemplo, a formação do íon-par.

A atividade das espécies metálicas nestes sistemas é, portanto, minimizada pela interação com estes ligantes. O produto desta interação pode ser solúvel ou insolúvel em água, promovendo

do assim a remoção do metal no ambiente em estudo.

Alguns metais, quando em concentrações muito baixas, são considerados micronutrientes essenciais aos microorganismos e plantas. No entanto, sua biodisponibilidade é controlada pela presença dos diversos ligantes no sistema.

Estudos toxicológicos destes micronutrientes em ambientes aquáticos mostram que estes estão presentes como íons metálicos livres e de formas combinadas diversas. Estes estudos mostram também que a toxidez e a biodisponibilidade estão relacionadas com a concentração do metal livre e não com a concentração total do metal no sistema^{1,2}. Este fato contribuiu decisivamente para o desenvolvimento da especiação de metais.

A especiação química pode ser definida como a determinação qualitativa e quantitativa das concentrações individuais das várias formas químicas de um elemento ou composto presentes em uma dada matriz, seja ela sintética ou natural.

A especiação de metais em ambientes aquáticos tornou-se um assunto de destaque a partir da década passada². Estes estudos relacionam o comportamento físico, químico e biológico de uma determinada espécie, os quais dependem do estado químico da mesma³. Este, por sua vez, irá determinar parâmetros importantes tais como, a reatividade, a biodisponibilidade e seu tempo de retenção no sistema.

Dentre os metais, o cobre é classificado como um elemento de particular importância e tem sido estudado intensamente. Calcula-se que a emissão do cobre no ambiente, oriundo de fontes antropogênicas atinja $2,2 \times 10^{11}$ g/ano, e que a concentração total deste em águas naturais seja da ordem de 10^{-6} M ou menor⁴. Muitos estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de investigar a complexação do cobre por ligantes orgânicos e inorgânicos

em águas superficiais^{5,6,7}.

Experimentalmente, a especiação requer um cuidado especial não só na amostragem mas também no condicionamento das amostras. Sunda e Hansen estudaram a especiação química do cobre em águas de rios e enfatizaram a necessidade de cuidados especiais no pré-tratamento e na amostragem⁷.

A finalidade principal destes estudos é determinar as constantes de formação condicional (K') entre o metal e o ligante, ou ligantes, e a concentração do ligante livre $[L]$.

Alguns autores usam o termo "capacidade de complexação" quando se referem a concentração de ligante livre em sistemas aquáticos. Segundo os mesmos, este termo é usado devido a dificuldade existente na identificação e quantificação de todos os ligantes orgânicos presentes em amostras de solos e de águas naturais^{8,9}.

Diversas técnicas e métodos analíticos têm sido desenvolvidos e aprimorados com objetivo de facilitar a especiação. Dentre estas técnicas podemos citar, o Eletrodo Seletivo de Íons (ESI), a Diálise, a Troca Iônica, a Ultrafiltração, a Cromatografia e a Voltametria. Em muitos estudos, algumas destas técnicas são combinadas ou ainda utilizadas separadamente.

A partir da titulação da amostra com o metal em questão, a determinação dos parâmetros K' e $[L]$ dependerá da magnitude desta constante e da sensibilidade da técnica usada para quantificar a concentração dos íons metálicos livres. O método ou a técnica utilizada deve permitir uma diferenciação entre o metal livre e a espécie complexada sem contudo, destruir o equilíbrio em estudo¹⁰.

Mantoura e Riley sugeriram o uso da técnica Filtração-Gel para o estudo da complexação de metais com ácido húmico e

fúlvico. As medidas foram feitas sob condições reais de pH e de concentração do metal livre¹¹.

Macgrath e Sanders utilizaram ESI e Equilíbrio de Troca Iônica (ETI), e compararam os resultados obtidos no cálculo da concentração de metais (Cd, Cu) a nível de traço. Os autores observaram boa concordância nos resultados obtidos utilizando estas técnicas¹².

O campo da potenciometria experimenta atualmente um substancial alargamento devido ao desenvolvimento dos eletrodos seletivos. Esta técnica tem sido muito explorada, principalmente nos estudos de especiação, os quais podem envolver ligantes orgânicos, inorgânicos, sintéticos, comerciais ou naturais.

I.b. Fundamentos Teóricos

A reação de complexação entre o metal M^{m+} e o ligante L^{n-} formando um complexo $ML^{(m-n)}$ pode ser representada pelo equilíbrio;



A constante de formação do complexo ML (omitindo as cargas para efeito de simplicidade) de estequiometria 1:1 é dada por

$$K = [ML]/[M].[L] \quad (2)$$

onde $[M]$ é a concentração de metal livre e $[L]$ a concentração do ligante livre.

Esta constante de equilíbrio, K , não leva em consideração as possíveis interações que possam existir entre o metal e outros ânions que não L , bem como entre o ligante e outros cations diferentes de M . Nos sistemas aquáticos naturais, a existência

destes íons interferentes é garantida pela complexidade da matriz. Para tal, a definição de uma constante operacional (K') torna-se necessária uma vez que este parâmetro descreve mais fielmente esta nova situação.

Considerando-se um sistema aquático natural qualquer, a concentração solúvel de um metal é dada por

$$C_{M_t} = [M] + \sum_i [M(OH)_i] + \sum_i [M(I)_i] + \sum_i [M(Or)_i] \quad (3)$$

onde $[M(I)_i]$ é a concentração dos complexos resultantes da reação entre o metal e os ligantes inorgânicos, da mesma forma que $[M(Or)_i]$ é a concentração dos complexos orgânicos. A fração $\sum [M(OH)_i]$ representa as possíveis formas hidrolisadas do metal.

A expressão acima indica que apenas uma fração do metal, α_M encontra-se disponível para complexar o ligante L . Esta fração é definida como:

$$\alpha_M = \frac{[M]}{C_{M_t}} \quad (4)$$

De maneira análoga, a concentração total do ligante pode ser representada por,

$$C_{L_t} = [L] + \sum_i [HiL] + \sum_i [NiL] \quad (5)$$

onde os dois últimos termos referem-se a outras espécies de cátions que possam complexar com o ligante, inclusive os prótons. Devido a estas reações concorrentes, apenas uma fração do ligante total, α_L , encontra-se disponível para formar o complexo M_L .

De maneira análoga a equação 4, a fração do ligante é definida por:

$$\alpha_L = \frac{[L]}{C_{L_t}} \quad (6)$$

Pela equação 5 torna-se claro que o pH é um dos fatores que contribuem para que o valor da constante operacional se distancie do valor da constante termodinâmica, uma vez que a protonação reduz a fração do ligante disponível para reagir com o metal M em estudo.

Em alguns casos, o complexo ML formado pode também sofrer reações concorrentes. A formação dos complexos protonados exemplifica este caso e pode ser representada por:



cuja constante de formação é

$$K_{ML}^H = \frac{[MLH]}{[ML][H]} \quad (8)$$

$$\alpha_{LH} = 1 + K_{ML}^H [H] \quad (9)$$

A fração de [ML] a ser considerada será representada por

$$\alpha_{ML} = \frac{[ML]}{C_{MLt}} \quad (10)$$

onde C_{MLt} representa a soma de todas as espécies do complexo ML.

A relação entre a constante termodinâmica K e a constante operacional, denominada constante condicional, é dada por:

$$K' = \frac{K \cdot \alpha_{ML}}{\alpha_M \cdot \alpha_L} \quad (11)$$

A formação do complexo pode envolver mais de um metal para um ligante pois este pode possuir mais que um local de ligação.

Quando a formação do complexo envolve dois ligantes, ou dois locais de ligação em um único ligante, o complexo, ou os complexos resultantes apresentam valores diferentes para as cons

tantes de formação. Porém, em alguns casos, estas constantes podem apresentar valores bastante próximos.

Com objetivo de analisar os diferentes sistemas, inúmeros métodos gráficos têm sido sugeridos. No caso da interpretação de uma curva de titulação, para sistema de estequiometria 1:1, esta análise torna-se relativamente fácil, principalmente quando a reação entre metal e ligante é de cinética rápida e seu produto estável.

Nos casos onde o ligante apresenta mais que um tipo de local de ligação, a interpretação das curvas de titulação torna-se complexa. Este último caso pode ser exemplificado por amostras naturais, pois estas apresentam uma diversidade de ligantes que podem possuir inúmeros locais de ligação, apresentando portanto estequiometria diferente de 1:1. Esta situação requer então um tratamento mais detalhado.

Embora os métodos gráficos tenham grande aceitação, alguns pesquisadores vêm se dedicando ao uso e aprimoramento de métodos matemáticos e modelos computacionais no intuito de descrever estes sistemas de maneira mais fiel.

I.c. Métodos Gráficos

Alguns métodos gráficos são utilizados para avaliar K' e $[L]$ para os complexos formados entre metais e diversos ligantes. Dentre estes, os mais discutidos na literatura são os de Scatchard (1957), van den Berg e Kramer (1979) e Ružič (1980)^{13, 14, 15}.

Os primeiros trabalhos de Scatchard, os quais estavam relacionados com a quantificação por métodos gráficos, envolviam o estudo da interação entre proteínas e pequenas moléculas e íons. Atualmente, este método tem sido usado para avaliar a interação

entre íons e ligantes sintéticos e íons e substâncias húmicas^{16,11}.

No método gráfico sugerido por Scatchard, para a titulação de um ligante L com um metal M, nas ordenadas é lançada a razão entre a concentração de metal complexado e concentração do metal iônico $[ML]/[M]$, e nas abscissas a concentração do complexo formado $[ML]$. Se o produto desta reação é um complexo de estequiometria 1:1, o gráfico resultante é uma reta e o valor da constante de formação condicional K' é igual ao módulo do coeficiente angular da mesma. O valor da interseção no eixo das abscissas é a concentração do ligante e a concentração no eixo das ordenadas é igual ao produto $[L].K'$ (figura 1).

Para o ligante que apresenta mais que um local de ligação, ou para sistemas contendo mais que um ligante, ou seja, de estequiometria diferente de 1:1, o gráfico toma a forma côncava, uma vez que esta curva representa um somatório das diversas retas independentes. Quando este tipo de curva é obtida, a interseção no eixo das abscissas é o somatório dos valores da concentração do ligante e a interseção no eixo das ordenadas é o somatório dos produtos $[L_i]K_i$ (figura 2).

De acordo com Klotz, quando dados experimentais são lançados em gráfico seguindo o método de Scatchard, existe uma tendência em ajustá-los à uma reta¹⁷. O autor compara este método com outro no qual a concentração do complexo é lançada em função da concentração do ligante livre sugerindo discrepâncias entre ambos.

Munson e Rodbard verificaram, no entanto, que conclusões idênticas poderiam ser obtidas através dos dois métodos gráficos, desde que corretamente interpretados¹⁸. Uma vez que em ambos os métodos o valor máximo da concentração do ligante é obtido por extrapolação, é de se esperar que a exatidão deste parâmetro se-

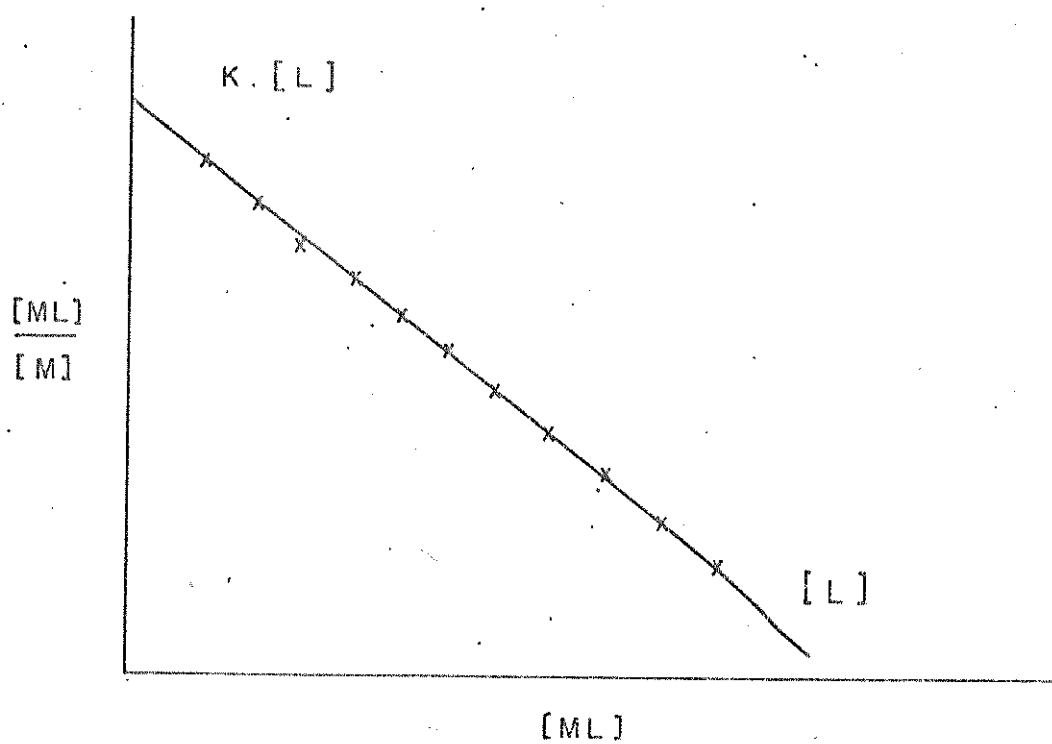


FIG. 1 - Gráfico de Scatchard resultante da titulação de um complexo com estequiometria 1:1.

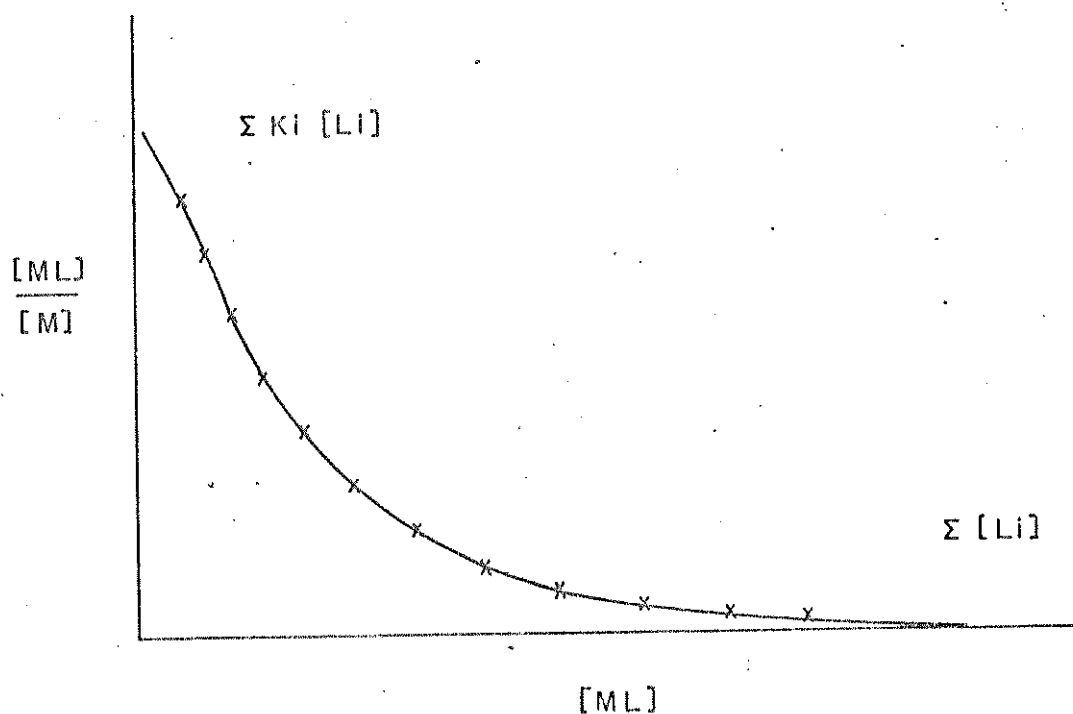


FIG. 2 - Gráfico de Scatchard resultante da titulação de um complexo com estequiometria diferente de 1:1.

ja comprometida.

Outro método muito utilizado é o de van den Berg e Kramer. De maneira análoga ao método de Scatchard, a equação 12 é tratada graficamente para os dois modelos de complexos citados¹⁴.

$$\frac{[M]}{[ML]} = \frac{1}{K[L_t]} + \frac{[M]}{[L_t]} \quad (12)$$

O gráfico resultante da relação $[M]/[ML]$ em função de $[M]$ gera uma curva que devidamente analisada fornecerá os valores da concentração total do ligante $[L_t]$ e de K . Para complexos de estequiometria 1:1 o valor de $[L_t]$ será obtido a partir do inverso do coeficiente angular, e o valor de K resultará da divisão do coeficiente angular pela interseção no eixo das ordenadas (figura 3). A figura 4 mostra o comportamento de sistemas com estequiometria diferente de 1:1 quando este método é aplicado.

Apesar da diferença existente entre os métodos desenvolvidos por Scatchard e van den Berg e Kramer, os valores de K' e $[L]$ independem do método utilizado².

Ružić propôs um método que se assemelha ao de van den Berg e Kramer. Neste método, a relação $[M]/[M_T] - [M]$ é lançada em função de $[M]$ ¹⁵. No caso da existência de complexos de estequiometria superior, o gráfico resultante apresentará distorções características que indicam a existência de mais que um local de ligação. No entanto, estas distorções podem ser oriundas de um efeito cinético e não termodinâmico. Para tal, é importante frisar que tais métodos somente poderão fornecer resultados confiáveis se a concentração do metal livre for determinada sob condições de equilíbrio.

O tratamento dos dados experimentais por métodos gráficos, aliados aos diferentes modelos computacionais, têm facilitado o estudo de diversos sistemas naturais complexos onde raramen

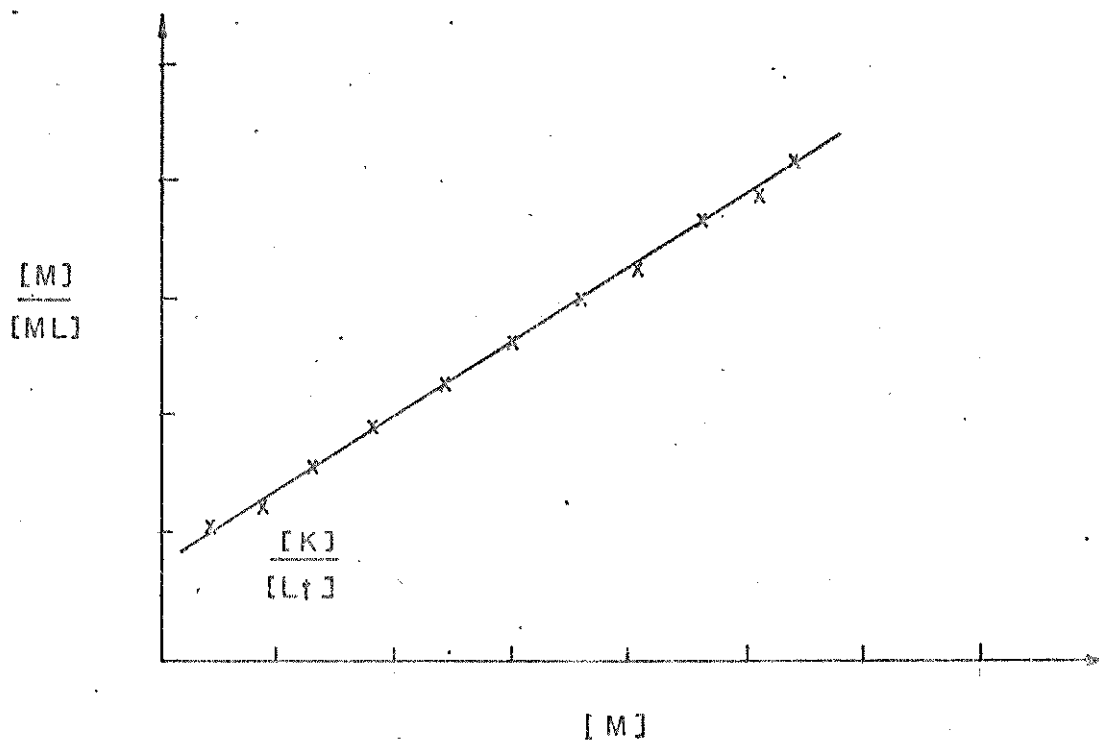


FIG 3 - Gráfico de Vanden Berg e Kramer, resultante da titulação de um complexo com estequiometria 1:1.

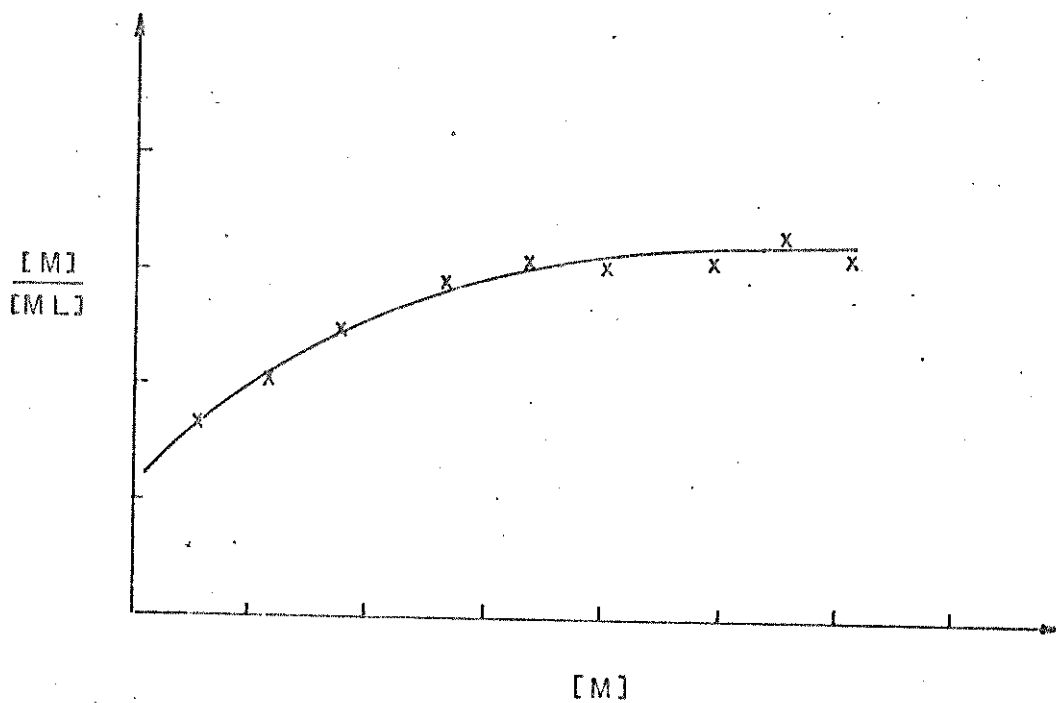


FIG. 4 - Gráfico de Vanden Berg e Kramer, resultante da titulação de um complexo com estequiometria diferente de 1:1.

te se verifica a estequiometria 1:1.

Os métodos gráficos são, portanto, de grande utilidade na interpretação preliminar do comportamento dos sistemas onde as interações metal-ligantes são estudadas.

Objetivos do presente trabalho

O principal objetivo deste trabalho é determinar, com auxílio de métodos gráficos e diferentes modelos computacionais, os valores das constantes de formação condicional (K') e da concentração dos ligantes $[L]$ dos complexos formados entre o cobre e alguns ligantes sintéticos e também de ocorrência natural.

Os ligantes sintéticos envolvidos neste estudo serão o nta (ácido nitrilotriacético), o edta (ácido etilenodiaminotetraacético) e o trien (trietilenotetraamina).

Os dados experimentais obtidos nas titulações individuais destes ligantes, bem como da mistura de alguns destes, serão analisados e comparados com os dados gerados teoricamente com modelos computacionais.

Serão avaliados também os dados resultantes na titulação de amostra de ácido húmico (Aldrich) e amostras de águas do Rio Atibaia e da Lagoa do Taquaral (Campinas).

CAPÍTULO II

II. OBTENÇÃO E TRATAMENTO DE DADOS

II.a. Eletrodo Seletivo de Íons

O uso do Eletrodo Seletivo de Íons (ESI) como técnica analítica que permite quantificar a atividade de um íon, é baseado na variação de potencial medido de acordo com a clássica equação de Nerst.

A maioria dos eletrodos disponíveis comercialmente são suficientemente sensíveis para medidas de concentrações muito baixas, ainda que os limites de detecção sejam um assunto bastante controverso. Em todos os tipos de eletrodos seletivos, desenvolvidos para quantificar a atividade de íons metálicos, o mecanismo de resposta parece ser devido ao fenômeno de troca iônica, gerando assim uma diferença de potencial.

Para que esta técnica analítica seja utilizada quantitativamente, é necessário uma calibração prévia do eletrodo em solução tampão na qual a atividade do íon é conhecida. As medidas de potencial obtidas em soluções de atividade relativamente elevadas (10^{-1} a 10^{-5} M) sofrem poucas interferências. No entanto, para soluções nas quais a atividade do íon metálico atinge valores menores que 10^{-6} M, a simples diluição dos padrões é inadequada, uma vez que a adsorção, a hidrólise e a complexação do metal geram valores de potenciais diferentes daqueles esperados.

Uma maneira de se evitar distorções é através do uso de tampões metálicos. Estes tampões, análogos aos de pH, são obtidos quando o íon metálico é colocado em presença de excesso de um determinado ligante. Como a força iônica da amostra é previamente igualada a dos tampões, pode-se trabalhar então com concentração e não atividade.

Blun e Fog utilizaram um conjunto de tampões metálicos

na calibração de eletrodos a base de sulfetos e selenetos de cobre (II), para valores de pCu ($-\log [Cu^{2+}]$) variando de 4 a 15¹⁹. Os autores observaram um aumento nas medidas de potencial quando utilizaram como pré-tratamento a imersão dos eletrodos em soluções fortemente complexantes. Este tipo de pré-tratamento também foi sugerido por outros autores^{20,21}.

Nos trabalhos em que se utiliza ESI, outras sugestões são feitas com relação ao pré-tratamento dos mesmos. Dentre estas podemos citar o uso de diversas substâncias tais como, o formaldeído, que é utilizado para impedir a oxidação da membrana, os silicatos de alumínio para o polimento da superfície da membrana, soluções de ácido ascórbico e sulfúricos, óleo de silicone e outros procedimentos que variam com o tipo de eletrodo usado.

A maioria destes pré-tratamentos tem por objetivo minimizar o tempo de resposta do eletrodo, visto que o mesmo é de grande importância sob os pontos de vista teórico e prático. Estes tratamentos dependem da composição e da estrutura da membrana.

Nas titulações, ou na calibração, deve-se permitir um tempo suficiente para que o eletrodo alcance o estado estacionário do potencial, ou seja, o equilíbrio do sistema.

De acordo com Sunda e Hansen, na calibração de um eletrodo seletivo de íons, é necessário um intervalo de tempo de 30 a 60 minutos para concentrações menores que 10^{-7} M e de 20 a 30 minutos para concentrações maiores que 10^{-7} M⁷. Porém, observa-se que o tempo necessário depende do eletrodo e do sistema em estudo.

Alguns autores recomendam a leitura do potencial após estabilização do mesmo, sendo permitida uma variação de 0,5 mV

durante a calibração e 0,2 mV no caso de uma titulação.

Alguns eletrodos podem responder a mais do que uma espécie em solução^{22,23}. A seletividade do eletrodo depende da fração dos vários componentes da membrana, bem como de sua pureza química.

Wageman utilizou um eletrodo de íons de cobre (II) para investigar a seletividade deste frente a alguns complexos inorgânicos do cobre. Os resultados obtidos sugeriram que o eletrodo respondia não somente ao íon cobre (II) mas também a outras espécies catiônicas tais como $\text{Cu}(\text{OH})^+$, $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$ e $\text{Cu}(\text{HCO}_3)^+$ ²⁴.

Alguns trabalhos relacionados com a especiação de metais têm sido feitos com ESI. Nakagawa e colaboradores, Takamatsu e Yoshida, Fitch e Stevenson e Turner e colaboradores usaram esta técnica para avaliar constantes de formação de complexos de cobre (II) com ácido húmico, diversos ligantes sintéticos e substâncias húmicas respectivamente^{21,25,26,27}. Estudos deste tipo são feitos com amostras naturais, onde a amostra é titulada com o metal em questão e a variação da fração iônica é computada após cada adição do metal. A partir dos dados da concentração total e da concentração do íon livre, a fração complexada é então calculada e os dados tratados graficamente a fim de se obter os valores de K' e $[L]$.

Se por um lado o uso de tampões metálicos e soluções sintéticas minimizam as interferências na determinação da atividade do íon, o uso desta técnica aplicada a soluções naturais requer maiores cuidados. A baixa concentração de certas espécies de interesse, associada à alta complexidade da matriz, fazem com que a potencialidade de certas distorções nas medidas de potencial seja grande.

II.b. Tratamento dos Dados

O tratamento dos dados em análises químicas tem sido muito facilitado com o uso de programas computacionais devido principalmente à rapidez na elaboração dos diversos cálculos.

Alguns programas são utilizados com o intuito de modelar comportamentos de sistemas extremamente complexos. Através destes modelos é possível fazer uma descrição aproximada da variação de diversos parâmetros em tais sistemas, como por exemplo os rios.

Morel e Morgan, Vuceta e Morgan desenvolveram programas para avaliar as interações ácido-base, dissolução, precipitação e adsorção em sistemas aquosos^{28,29}. Sposito sugeriu o uso de alguns modelos para predizer o comportamento de metais em águas contaminadas com esgotos municipais³⁰.

MacGrath e Sanders compararam os valores de concentração dos metais Cu(II) e Cd(II) em soluções de complexantes sintéticos, variando alguns parâmetros tais como o pH e a força iônica. Os autores usaram dois diferentes métodos (Eletrodo Seletivo de Íons e Equilíbrio de Troca Iônica) e dois programas computacionais (GEOQUEN e ECCLES), e obtiveram boa concordância entre os dados experimentais e os modelos usados¹².

No presente estudo, o tratamento dos dados obtidos experimentalmente foi feito com auxílio de alguns programas computacionais (ver apêndice I). O refinamento de alguns dados foi feito com os programas P/L₁L₂ e ISIS SHORT (ver apêndice), os quais são baseados no método gráfico de Ružić e Scatchard respectivamente.

II.c. Método de Ružič - Programa P/L₁L₂

O método desenvolvido por Ružič é baseado no equilíbrio



cuja constante de formação é dada pela equação 2.

Pelo balanço de massa

$$C_L = [ML] + [L] \quad (14)$$

$$M_T = [M] + [ML] \quad (15)$$

onde C_L é a concentração do ligante e M_T a concentração total do metal.

$$[M] = \frac{(M_T - [ML])}{K \cdot [L]} \quad (16)$$

$$[L] = \frac{C_L}{1 + K[M]} \quad (17)$$

$$[M] = \frac{([M_T] - [M])}{K \cdot C_L / (1 + K[M])} \quad (18)$$

$$\frac{[M]}{(M_T - [M])} = \left(\frac{[M] + 1}{K} \right) / C_L \quad (19)$$

A partir da equação 19, observa-se que lançando em gráfico $[M]/([M_T] - [M])$ em função de $[M]$, a concentração do ligante será igual ao inverso do coeficiente angular e valor de K será obtido a partir da razão entre o coeficiente angular e o valor encontrado na interseção da curva no eixo das ordenadas. Baseado nesta equação podemos formular um simples programa computacional o qual representará o modelo de estequiometria 1:1 metal:ligante.

A titulação de dois ligantes, ou um ligante com dois locais de ligação com um metal resultará na formação de complexos que, dependendo dos valores das constantes de formação, podem ser interpretados graficamente como complexos individuais de estequiometria 1:1. As curvas de titulação, obtidas a partir da adição de alíquotas do metal (ΔM), podem ser descritas pela equação abaixo¹⁵:

$$[M]/(M_T - [M]) = [M]/(C_M + \Delta M - [M]) \quad (20)$$

$$= \{ [M] + ([M]/K_1^* + 1/K_1 K_2) / [M] + 1/K_2^* \} / C_L^* \quad (21)$$

onde $C_L^* = C_{L_1} + C_{L_2}$ (22)

$$K_1^* = \frac{C_L^*}{\frac{C_{L_1}}{K_2} + \frac{C_{L_2}}{K_1}} \quad (23)$$

$$K_2^* = \frac{C_L^*}{\frac{C_{L_2}}{K_1} + \frac{C_{L_1}}{K_2}} \quad (24)$$

O programa P/L₁L₂ foi obtido a partir do tratamento matemático das equações 20, 21, 22, 23 e 24, as quais forneceram um polinômio de quarto grau cujas raízes foram encontradas aplicando-se o método iterativo de Newton-Raphson.

Para cada valor de concentração de metal fornecido ao programa, este gera as concentrações de metal iônico baseado no conjunto de dados K₁ e L₁, ou K₁, L₁, K₂ e L₂. O programa fornece então os valores de concentração de metal iônico que corresponde aos modelos 1:1 ou 2:1 dependendo do conjunto de dados aplicado.

II.d. Método de Scatchard - Programa ISIS SHORT

O método de Scatchard é baseado nas equações 1, 2 e 4. Utilizando-se este método, alguns parâmetros são interpretados com base nas extrapolações e nos coeficientes angulares das curvas obtidas, como já foi descrito no capítulo I.

Alguns problemas aparecem no caso de extrapolações de retas e estes são mais frequentes nos casos de estequiometria diferente de 1:1. Estes problemas surgem principalmente porque não existem regras definidas para tais extrapolações.

Segundo alguns autores, a divisão do gráfico de Scatchard em dois segmentos lineares é considerada arbitrária já que locais de ligação adicionais podem ser encontrados desde que aumentado o número de segmentos lineares na curva. Porém, estas considerações são válidas quando as divisões e extrapolações das respectivas curvas são feitas aleatoriamente, sem considerar um mecanismo molecular, um modelo matemático ou algumas suposições com respeito à natureza dos erros experimentais¹⁷. Apesar das controvérsias, este método tem sido muito usado.

Thuschall e Brezonick, utilizaram este método para mostrar que a complexação do cobre (II) com ácido aspártico poderia ser descrita considerando-se muitos locais de ligação para este ligante. Porém, de acordo com os autores, o metal estava provavelmente complexado por um único tipo de local de ligação (-COO-). Atribuíram o fenômeno a efeitos eletrostáticos os quais permitiam que a complexação do íon cobre(II) diminuísse a tendência do grupo funcional vizinho em complexar outros íons³¹.

O exemplo mais simples do gráfico não linear de Scatchard envolve o caso de duas classes de locais de ligação independentes. Para modelar precisamente este tipo de curva, foi

utilizado um pacote computacional do projeto SERAPHIM. Deste pacote foi selecionado o programa ISIS SHORT, de linguagem BASIC, o qual aplica o modelo sugerido por Rosental para construção da curva resultante de dois segmentos lineares^{32,33}.

Este programa faz uma estimativa das afinidades e capacidades de ligação de um ligante com dois locais de ligação independentes, ou mesmo de dois locais distintos, cada um com um único local de ligação. Esta estimativa é feita através das inclinações e interseções das curvas encontradas pelo método de Scatchard. São feitas extrapolações em direção aos eixos B/F e B , os quais correspondem a $[ML]/[M]$ e $[ML]$ para o caso da titulação de um ligante L com um metal M .

As inclinações e interseções S_1 , I_1 , S_2 e I_2 (figura 5) são usadas para estimar os valores das constantes (K_1 , K_2) e das concentrações dos ligantes (R_1 , R_2).

O programa calcula teoricamente uma curva, que é designada como "curva prevista" a qual é comparada com a observada experimentalmente. A porcentagem de desvio é dada para cada ponto.

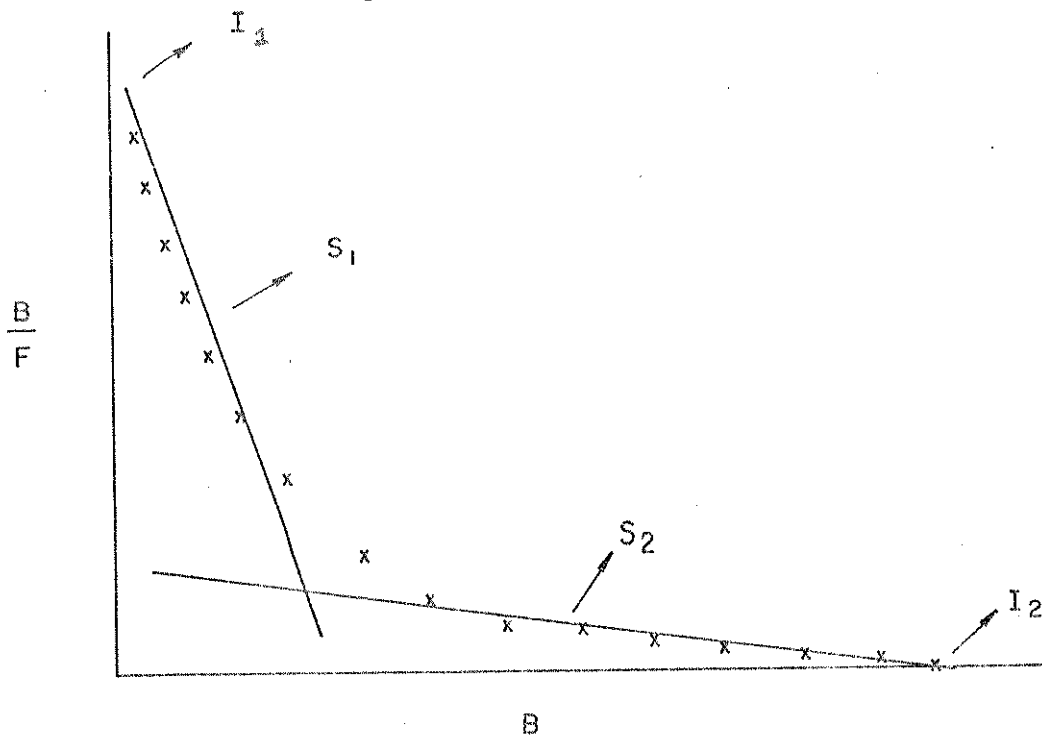


FIGURA 5. Gráfico de Scatchard

Ele fornece também uma estatística para avaliar os erros indeterminados e os sistemáticos em relação aos pontos em torno da curva observada.

Conhecendo-se os valores de B/F e B calculados experimentalmente, o pesquisador deve construir uma curva, baseado no método gráfico de Scatchard, e ser capaz de decidir quantos pontos ficam melhor posicionados na região superior e inferior da curva.

O programa faz o cálculo das interseções I_1 , I_2 e das inclinações S_1 , S_2 bem como dos coeficientes de correlação das mesmas. Quando é dado o nº de pontos da região correspondente a parte superior da curva, o programa fornece estimativas de I_1 , S_1 e os valores dos respectivos erros. De maneira similar, o mesmo procedimento é feito para os pontos no segmento inferior.

A regressão para a região superior da curva é feita usando B/F como variável dependente e B como variável independente. Na região inferior a variável dependente é B e independente é B/F.

Conhecendo-se os valores de K_1 , R_1 , K_2 e R_2 é possível calcular o valor previsto B/F para os pontos da curva usando a fórmula

$$B/F = \frac{K_1 R_1}{1 + K_1 \cdot F} + \frac{K_2 R_2}{1 + K_2 \cdot F}$$

O programa constrói uma tabela mostrando o número de pontos, a concentração do ligante observada experimentalmente e a relação B/F calculada pela equação acima.

A diferença entre o observado e o previsto é expressa em termos de porcentagem, baseada na relação B/F prevista.

$$\% \text{ desvio} = \frac{100(B/F)_{ob} - (B/F)_{previsto}}{(B/F)_{previsto}}$$

O melhor ajuste pode ser obtido por tentativas. O programa fornece os valores de K_1 , R_1 , K_2 e R_2 de acordo com o método gráfico sugerido por Rosental²⁷, apresentando também os valores dos erros indeterminados e sistemáticos.

Erros maiores que 5% indicam que os dados ou o método de análise gráfica são insatisfatórios.

Para verificar se as porcentagens dos desvios são significativamente maiores ou menores que zero é usado o teste t. As equações de variância residual e de erros sistemáticos também foram consideradas na elaboração do programa.

$$t = \frac{\% \text{ desvio}}{\text{erro padrão da } \% \text{ de desvio significativo}}$$

$$\text{Variância residual} = \frac{(\text{Soma } \% \text{ de desvio})^2}{(N-4)}$$

Para calcular a variância residual o valor 4 é considerado, pois o mesmo refere-se aos quatro parâmetros (K_1 , R_1 , K_2 e R_2) a serem estimados através de N pontos.

O programa faz uma advertência caso os pontos estejam sistematicamente acima ou abaixo da curva.

Ajustando-se as tangentes e as inclinações o programa irá recomputar os valores de K_1 , R_1 , K_2 e R_2 , e fornecer uma tabela dos valores observados e previstos para o gráfico de Scatchard, bem como as porcentagens de desvio para cada ponto. Pode se repetir este procedimento quantas vezes se desejar e então selecionar os valores com o menor erro e o menor coeficiente de correlação serial.

Sucessivas tentativas com diversos valores de K_1 , R_1 , K_2 e R_2 podem então levar ao melhor conjunto de dados, isto é, valores mais próximos possíveis daqueles obtidos experimentalmente.

CAPÍTULO III

III. RESULTADOS

III.a. Materiais e Métodos

Soluções estoque de cobre(II): Estas soluções foram preparadas a partir de sulfato de cobre(II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - Química Moderna). A padronização destas foi feita com solução de edta (ácido etilenodiaminotetraacético - MERCK). A concentração final destas soluções foi de $1,02 \times 10^{-2}$ M e $1,00 \times 10^{-2}$ M.

Solução estoque de ácido húmico: Esta solução foi preparada a partir da diluição de 10 mg de ácido húmico comercial (Aldrich) em 100 ml de água deionizada. Para o preparo da solução estoque filtrada, utilizou-se um funil (Magnetic Filter Funel - Gelman Sciences) com membranas de filtração de porosidade de 0,45 μm (Whatman). As amostras foram filtradas a vácuo.

Solução de trien (trietilenotetraamina - SIGMA): As soluções deste reagente sofrem degradação com o tempo e foram preparadas nas concentrações desejadas, antes de cada titulação.

Solução estoque de edta: Esta solução foi preparada com concentração $1,00 \times 10^{-2}$ M. Antes da pesagem e diluição o sal foi colocado em estufa a 130°C por duas horas.

Solução estoque de nta (ácido nitrilotriacético - BDH - CHEMICALS LTD): Esta solução foi preparada na concentração de $1,00 \times 10^{-2}$ M.

Solução estoque de NaNO_3 (nitrato de sódio - ECIBRA): 250 ml de solução 2 M foram preparados dissolvendo-se 42,50 gramas deste sal neste volume de água deionizada.

Solução tampão acetato 0,20 M: A solução tampão pH 4,50 foi preparada a partir do ácido acético glacial (MERCK) e

acetato de sódio anidro (MERCK).

Solução tampão PIPES (Piperazina N-N' ácido 2-etano-sulfônico), sal dissódico PM 346,3 e pKa 6,80 a 25°C - (SIGMA):
A solução deste tampão foi utilizada na concentração de 7,50 mM.

Os demais reagentes usados: ácido clorídrico (HCl) e ácido nítrico (HNO₃) foram de procedência MERCK.

Vidrarias: Toda vidraria utilizada foi mantida em ácido nítrico 10% por aproximadamente 30 min. Após este período de tempo, as mesmas eram enxaguadas em água destilada e só então eram utilizadas. Os bequers de polietileno e policarbonato (BIOMATIC) foram preferidos por adsorverem menos os metais.

Medidas de pH: Foram feitas com eletrodo de vidro combinado (MICRONAL - 1.305.0034) acoplado a um pH-metro (MICRONAL - modelo B-375). O pH de todas as amostras deste trabalho (exceto o dos tampões metálicos) foram ajustados para $6,800 \pm 0,005$.

Temperatura: Durante as titulações a temperatura das soluções foi mantida constante a 25°C com auxílio de um termostato (Kalte-Colora).

Cálculos computacionais: Foi utilizado um microcomputador Craft II Plus (64 K) compatível com as máquinas da linha Apple.

Titulação

Nas titulações utilizou-se ligante natural, comercial e diversos ligantes sintéticos. Foram feitas também titulações da mistura de alguns destes ligantes. Uma alíquota de 100 ml da solução do ligante foi titulada com uma solução de cobre

$1,02 \times 10^{-3}$ M ou $1,00 \times 10^{-3}$ M numa faixa de concentração de $0,10$ a $2,04 \times 10^{-6}$ ou $2,00 \times 10^{-6}$ M. As adições foram feitas com uma micro seringa (SERIX) de $10 \mu\ell$. O pH de todas as amostras foi ajustado com o auxílio do tampão (PIPES). A cela da titulação foi mantida a 25° e a força iônica ajustada para $0,10M$ com uso da solução estoque de KNO_3 . No cálculo da força iônica foi considerada a contribuição desta pelo tampão. As adições de solução de KNO_3 (ajuste de força iônica), NaOH ou HCl (ajuste de pH do tampão) foram feitas com uma pipeta Gilson (modelo P-1000) de volume variável entre 200 a $1000 \mu\ell$. As medidas de potencial foram feitas com Eletrodo Seletivo de Íons (Orion) modelo 94,29 ou Analion (modelo 641 série 368). Os eletrodos foram previamente calibrados com solução de cobre (II) na faixa de 10^{-3} a 10^{-6} M. Durante a calibração e mesmo nas titulações de alguns ligantes as leituras foram feitas somente após estabilização do potencial. Todas as titulações foram feitas em triplicata e os dados apresentados foram resultantes da média dos valores obtidos.

Titulação do Tampão PIPES

Foram feitas titulações do tampão PIPES ($7,5$ mM) com o objetivo de verificar qual é a fração de cobre complexada pelo mesmo. Provavelmente a fração encontrada não corresponda somente à complexação atribuída ao tampão, mas também à hidrólise ou mesmo às possíveis perdas do metal nas paredes do bequer, ou ainda na superfície dos eletrodos.

Os dados referentes à titulação do tampão, no qual utilizou-se solução estoque de cobre (II) $1,02 \times 10^{-2}$ M, encontram-se na tabela 1. A figura 6 mostra o comportamento do metal neste sistema. Os valores de α_M no caso da titulação do tampão

com solução estoque $1,00 \times 10^{-2}$ M encontram-se na tabela 2. Os valores de α_M foram utilizados para corrigir os valores de pCu nas titulações das amostras naturais e sintéticas. Esta correção assumia que apenas a fração do metal livre, e não a concentração total do metal era computada para os cálculos de K' e L.

TABELA 1. Dados obtidos na titulação do tampão PIPES 7,5 mM com solução de sulfato de cobre(II) $1,02 \times 10^{-3}$ M.

$[\text{Cu}_T]$	$-\log \text{Cu}_T$	$[\text{Cu}_T^*]$	pCu
1,02 E-7	6,99	3,83 E-8	7,42
2,04 E-7	6,69	7,67 E-8	7,12
3,06 E-7	6,51	1,16 E-7	6,97
4,08 E-7	6,39	1,55 E-7	6,81
5,10 E-7	6,29	2,18 E-7	6,66
6,12 E-7	6,21	2,83 E-7	6,55
7,13 E-7	6,15	3,56 E-7	6,45
8,15 E-7	6,09	4,33 E-7	6,36
9,17 E-7	6,04	5,21 E-7	6,28
1,02 E-6	5,99	6,00 E-7	6,22
1,12 E-6	5,95	6,90 E-7	6,16
1,22 E-6	5,91	7,77 E-7	6,11
1,32 E-6	5,88	8,78 E-7	6,06
1,43 E-6	5,85	9,85 E-7	6,01
1,53 E-6	5,82	1,09 E-6	5,96
1,63 E-6	5,70	1,19 E-6	5,92
1,73 E-6	5,76	1,28 E-6	5,89
1,83 E-6	5,74	1,38 E-6	5,86
1,93 E-6	5,71	1,50 E-6	5,82
2,04 E-6	5,69	1,61 E-6	5,69

$[\text{Cu}_T^*]$ = Concentração corrigida de cobre total a partir dos valores de α_M .

TABELA 2. Dados obtidos na titulação do tampão PIPES 7,5 mM com solução de sulfato de cobre(II) $1,00 \times 10^{-3}$ M.

$[\text{Cu}_T]$	$[\text{Cu}_T^*]$	α
1,00 E-7	3,67 E-8	0,37
2,00 E-7	7,46 E-8	0,37
3,00 E-7	1,13 E-7	0,38
4,00 E-7	1,52 E-7	0,38
5,00 E-7	2,14 E-7	0,43
6,00 E-7	2,78 E-7	0,46
6,99 E-7	3,48 E-7	0,50
7,99 E-7	4,25 E-7	0,53
8,99 E-7	5,12 E-7	0,57
9,99 E-7	5,90 E-7	0,59
1,10 E-6	6,79 E-7	0,62
1,20 E-6	7,65 E-7	0,64
1,30 E-6	8,63 E-7	0,66
1,40 E-6	9,13 E-7	0,65
1,50 E-6	1,07 E-6	0,71
1,60 E-6	1,17 E-6	0,73
1,70 E-6	1,28 E-6	0,75
1,80 E-6	1,36 E-6	0,76
1,90 E-6	1,48 E-6	0,78
2,00 E-6	1,59 E-6	0,80

$[\text{Cu}_T^*]$ = Concentração corrigida de cobre total a partir dos valores de α_M .

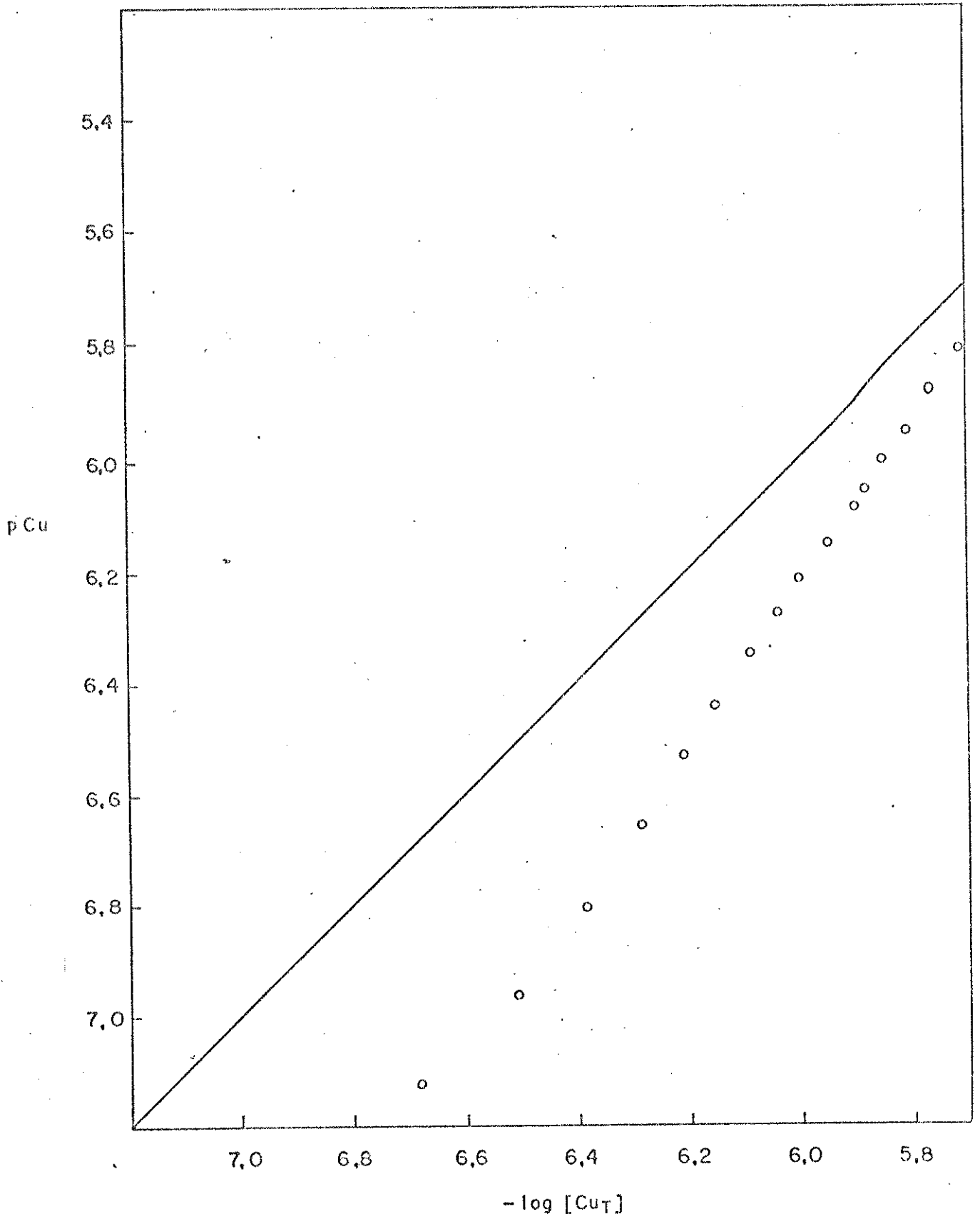


FIG.6 Titulação do Tampão PIPES 7.5 mM

III.b. Ligantes Sintéticos

Para avaliar o comportamento do Eletrodo Seletivo de Íons cobre (II), foram utilizados diferentes tampões metálicos obtidos a partir de soluções de ligantes sintéticos tais como edta, nta e trien.

Neste estudo foi observado, inicialmente, o comportamento de dois eletrodos comerciais, Orion e Analion, usando soluções de tampões preparadas com os ligantes já citados. As discrepâncias entre os valores de pCu experimental e teóricos foram também analisadas.

Um tampão metálico é obtido quando um excesso de ligante L é adicionado a uma quantidade de metal M. Este tampão atua de forma similar ao tampão de pH, controlando a atividade do metal. Para evitar os cálculos incluindo o coeficiente de atividade, a força iônica foi mantida constante com o uso de um eletrólito suporte (nitrato de sódio).

De acordo com Blum e Fog, a concentração do metal livre pode ser calculada com a equação abaixo, a qual considera que o complexo não sofre reações concorrentes.¹⁸

$$pM = \log K_{ML} - \log \alpha_L + \log [L']/[ML'] \quad (25)$$

Em uma solução onde a concentração total do metal é metade da concentração total do ligante, a razão $[L']/[ML']$ será igual a 1. Esta consideração é válida quando a estequiometria for 1:1 e neste caso a equação 25 será reduzida a:

$$pM = \log K_{ML} - \log \alpha_L \quad (26)$$

e pM será rapidamente calculado uma vez que o primeiro termo da equação 26 é o valor da constante termodinâmica de formação do

complexo M_L . O coeficiente das reações concorrentes (α_L) é também constante desde que o pH não sofra variações. Este coeficiente pode ser calculado a partir da equação abaixo.

$$\alpha = 1 + B_1 |H| + B_2 |H|^2 + \dots + B_n |H|^n \quad (27)$$

onde B_n são as constantes de protonação do ligante.

O programa ESPEC (Apêndice) foi desenvolvido para calcular pM a partir dos valores de pH, das constantes de protonação do ligante e dos valores das concentrações do metal e do ligante.

Na tabela 4 encontram-se os valores das constantes termodinâmicas e os valores das constantes de protonação dos ligantes usados.

Os tampões utilizados neste estudo foram os seguintes:

Tampão 1: A 95 ml de solução tampão bórax 0,05 M foram adicionados 5 ml de solução estoque de cobre 0,01 M e 10 ml de solução de nta 0,01 M. O pH final foi ajustado em 9,100.

Tampão 2: Neste tampão, similar ao tampão 1, o nta foi substituído por trien. O pH final foi ajustado em 9,003.

Tampão 3: Este tampão metálico foi preparado de modo similar ao tampão 1, substituindo a solução de bórax por solução de acetato. O ligante usado foi o edta. O pH final foi ajustado em 5,001.

Titulação do metal: A variação de pCu durante a titulação de 100 ml de solução de cobre 0,5 mM com 10 mM da solução de ligante foi monitorada usando os dois eletrodos citados acima. A solução do metal foi tamponada em pli 4,989 usando tampão acetato na concentração 0,05 M.

Uma comparação entre os valores teóricos e experimen

tais de pCu obtidos utilizando os dois eletrodos encontra-se na tabela 3. Como pode ser visto, para os tampões à base de nta e trien, a concordância entre os valores teórico e experimentais obtidos com os dois eletrodos é grande. Com relação ao tampão de edta foi observada uma grande discrepância, acima de quatro ordens de magnitude entre os valores de pCu teórico e experimentais, independente do eletrodo utilizado.

TABELA 3. Valores experimentais e teóricos de pCu.

Solução	pCu Experimental		pCu Teórico
Tampão	Orion	Analion	-
1	11,79	11,38	12,25
2	18,63	18,51	19,05
3	8,36	8,43	12,38

O comportamento anômalo do eletrodo no tampão de edta pode ser melhor analisado comparando-se as figuras 7 e 8. Nesta primeira, na titulação do cobre com o ligante, a discrepância entre o valor teórico e experimental é acentuada após o ponto de equivalência, isto é, na região tampão. É interessante notar que este efeito é minimizado quando na titulação do metal com trien (figura 8).

Estas discrepâncias foram mencionadas por outros autores quando trabalharam com tampão de íons cobre (II) utilizando como ligante o edta. Heijne e Linden encontraram valores de concentrações de íons cobre (II) livre sempre mais altas que as esperadas quando baseadas em cálculos de equilíbrio químico³⁴. Hulanick e colaboradores encontraram resultados similares em seus

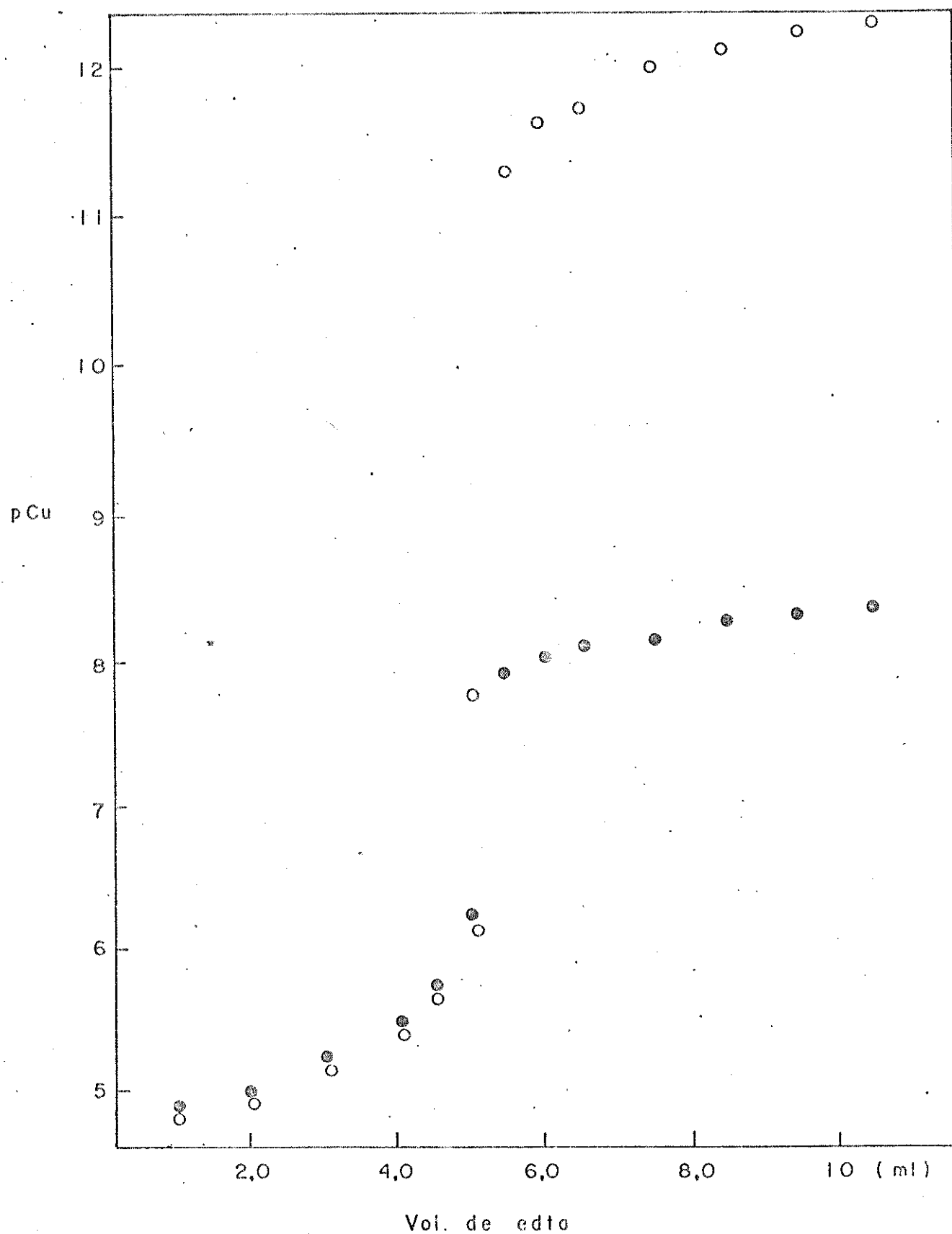


FIG. 7 Valores de $\hat{p}\text{Cu}$ teóricos (O) experimentais (●) obtidos durante a titulação da solução de ions cobre (II) com edta usando o eletrodo Orion.

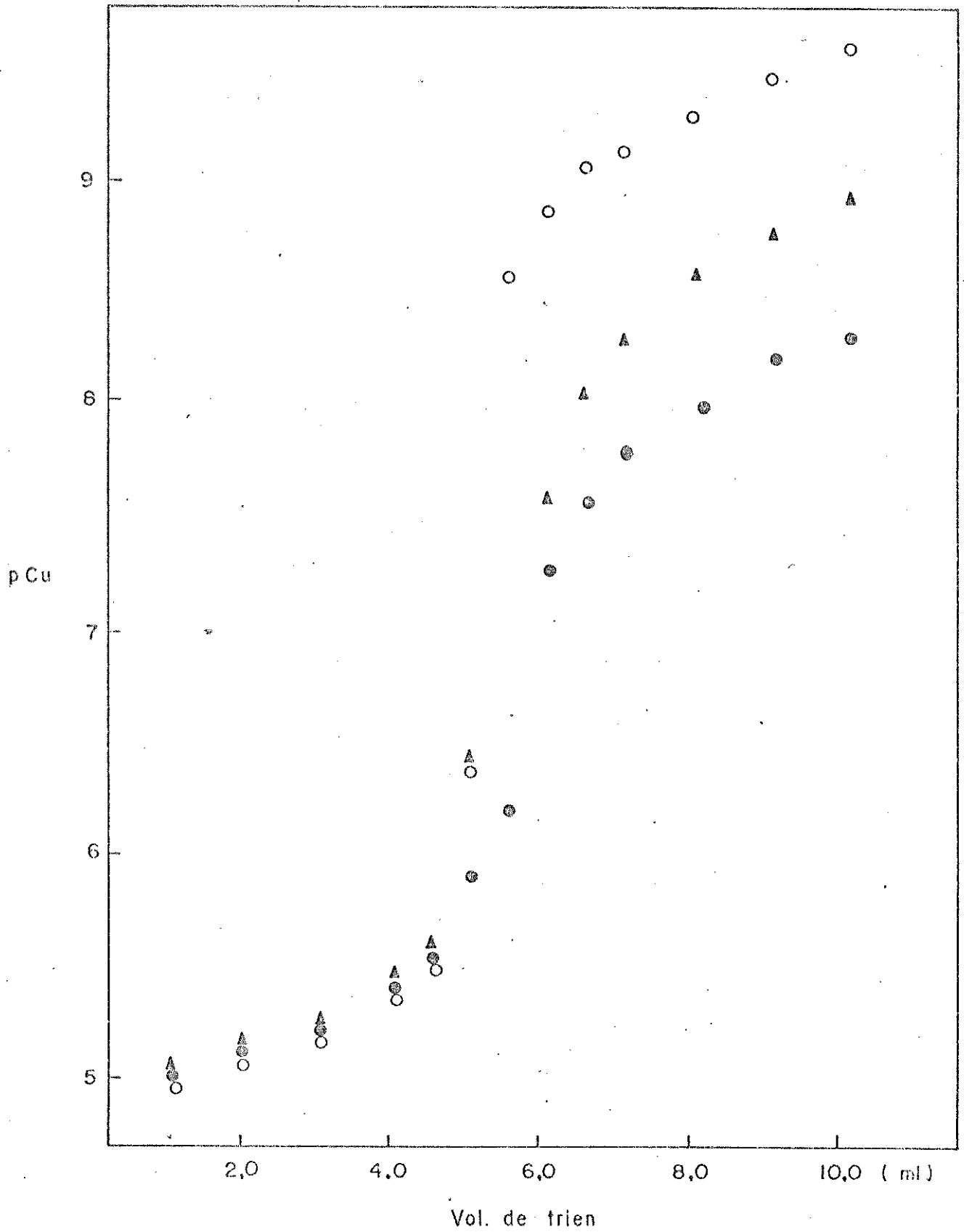


FIG. 8 - Valores de pCu teóricos (O) e experimentais obtidos na titulação de íons cobre (II) com trien usando os eletrodos Orion (●) e Nalíon (▲)

estudos e explicaram estas discrepâncias assumindo que o eletrodo responde também a íons cobre (I)²⁰. Esta mesma explicação foi dada por Neshkonova e Sheytanov quando estudaram o comportamento de dois tipos de eletrodo seletivo de íons cobre (II) (CuAgSe e Cu_{2-x}Se) em diferentes sistemas ligantes. Eles observaram que o ligante nta apresentava desvio menor que o edta quando respostas teóricas e experimentais eram comparadas³⁵.

Respostas lineares para valores de pCu tão baixos quanto 19 já foram citadas na literatura. Adveef e colaboradores obtiveram respostas nerstianas para uma faixa de pCu 3-19 em tampão metálico de cobre onde o ligante usado foi etilenodiamina³⁶.

De acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que os tampões metálicos são adequados para calibração dos eletrodos seletivos de íons cobre (II). Estes resultados mostram também que os tampões de metal preparados com agentes complexantes tais como trien e nta, devem ser preferidos àqueles a base de edta.

TABELA 4. Constantes termodinâmicas (valores em log).

	β_1	β_2	β_3	β_4	K_{CuL}
trien	10,00	19,28	26,03	29,43	20,40
nta	9,81	12,38	14,35	-	12,70
edta	10,34	16,58	19,33	21,40	18,80

Mistura de Ligantes

Ainda com objetivo de avaliar o comportamento do eletrodo em meio sintético, foram feitas titulações com misturas destes ligantes. A tabela 5 mostra os dados obtidos na titula-

TABELA 5. Dados obtidos na titulação da mistura
 trien 10^{-6} M e nta 10^{-6} M.

$ \text{Cu}_T^* $	$ \text{Cu}^{++} $	$ \text{CuL} / \text{Cu}^{++} $	pCu
1,13 E-7	4,92 E-14	2,31 E+6	13,31
1,52 E-7	4,78 E-14	1,95 E+6	13,11
2,14 E-7	1,66 E-13	1,29 E+6	12,78
2,78 E-7	4,65 E-13	5,97 E+5	12,33
3,48 E-7	4,51 E-12	7,73 E+4	11,35
4,25 E-7	3,36 E-11	1,26 E+4	10,47
7,65 E-7	8,97 E-11	8,52 E+3	10,05
8,63 E-7	1,21 E-10	7,13 E+3	9,92
9,18 E-7	1,72 E-10	5,38 E+3	9,77
1,07 E-6	2,28 E-10	4,69 E+3	9,64
1,17 E-6	3,39 E-10	3,45 E+3	9,47
1,28 E-6	1,00 E-9	1,27 E+3	9,00
1,36 E-6	5,94 E-9	2,28 E+2	8,23
1,48 E-6	2,53 E-8	5,73 E+1	7,60
1,59 E-6	4,73 E-8	3,26 E+1	7,33

ção da mistura de trien $1,00 \times 10^{-6}$ M e nta $1,00 \times 10^{-6}$ M com solução de íons cobre (II).

Os valores das concentrações dos ligantes foram calculados pelo método gráfico de Scatchard. Os valores iniciais das constantes de formação (K') e das concentrações dos ligantes $[L]$ foram refinados com o auxílio do programa ISIS SHORT (figura 9).

Na tabela 6 encontram-se os valores de K' e $[L]$ teóricos e experimentais. Os resultados obtidos no refinamento podem ser melhor interpretados através de uma análise estatística dos dados, conforme tabela 7.

TABELA 6. Valores de K' e $[L]$ teóricos e experimentais.

		Teóricos		Com refinamento	
trien	K'_1	4,35	E+14	1,02	E+13
	$[L_1]$	1,00	E-6	3,39	E-7
nta	K'_1	1,02	E+10	7,30	E+9
	$[L_1]$	1,00	E-6	1,11	E-6

É interessante notar que, embora a concordância entre os valores de K' obtidos experimentalmente para os complexos Cu-nta e Cu-trien com os valores teóricos seja muito boa, o valor da concentração do trien apresentou uma diferença grande em relação ao valor teórico. No entanto, convém lembrar que este ligante ao contrário do nta, cujo valor de $[L]$ é bastante próximo do esperado, sofre degradação. Este fator pode explicar a discrepância obtida apenas neste parâmetro.

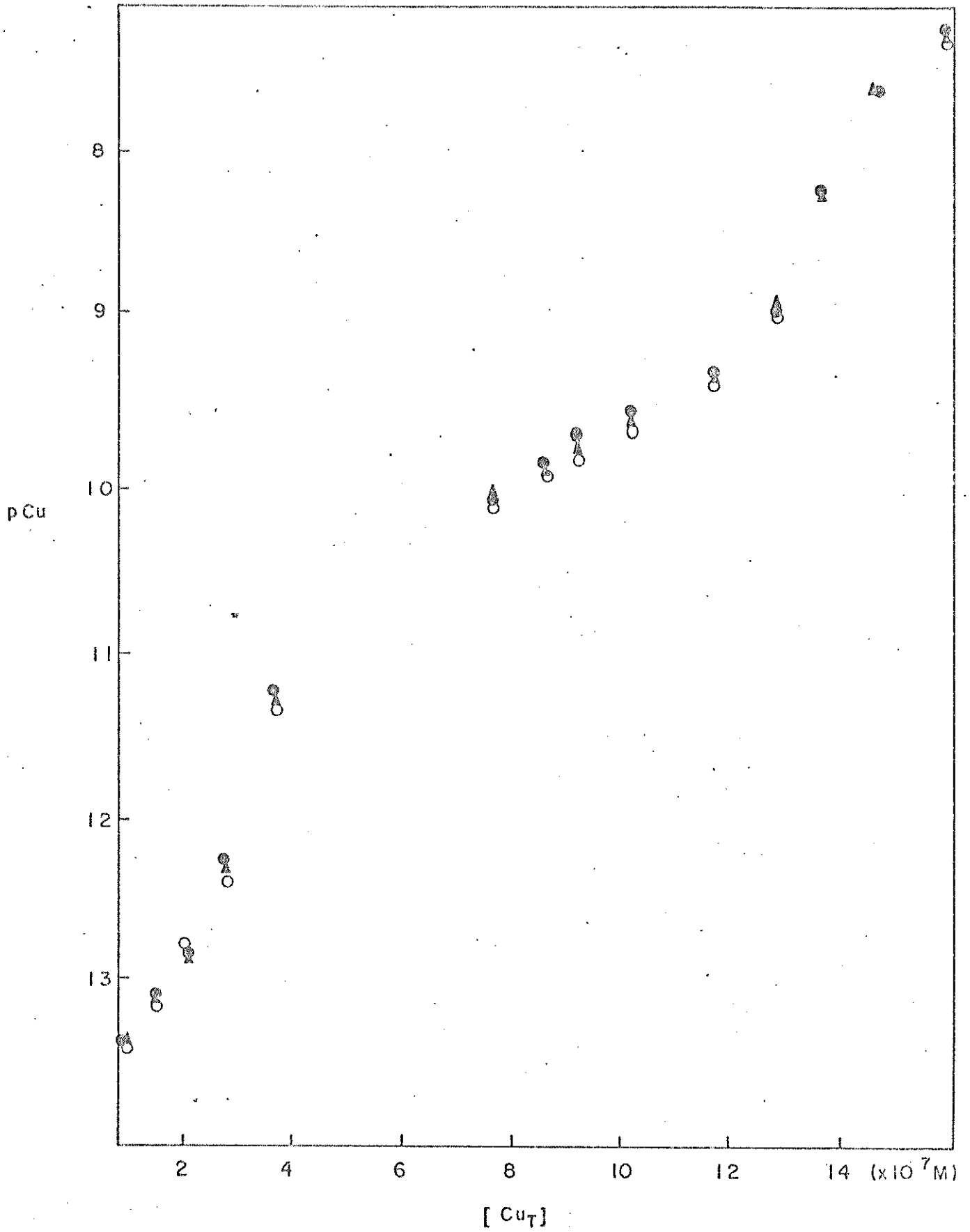


FIG 9 - Titulação da mistura trien e nta. Valores experimentais (●), valores teóricos não refinados (○), e valores refinados (▲)

TABELA 7. Desvio dos valores de $[Cu_L]/[Cu^{++}]$ experimentais comparados com $[Cu_L]/[Cu^{++}]$ refinados e não refinados.

$[Cu_L]/[Cu^{++}]$ Experimental	Sem refinamento			Com refinamento		
	$[Cu_L]/[Cu^{++}]$		Desvio %	$[Cu_L]/[Cu^{++}]$		Desvio %
2,31 E+6	2,30 E+6		+0,38	2,31 E+6		-0,21
1,95 E+6	1,93 E+6		+0,94	1,94 E+6		+0,88
1,29 E+6	1,30 E+6		-1,25	1,29 E+6		-0,33
5,97 E+5	6,23 E+5		-4,30	6,10 E+5		-2,15
7,73 E+4	8,73 E+4		-11,50	8,15 E+4		-5,11
8,52 E+3	1,01 E+4		-15,82	8,69 E+3		-1,87
7,12 E+3	8,16 E+3		-12,70	7,09 E+3		+0,47
5,14 E+3	6,29 E+3		-15,40	5,57 E+3		-0,45
4,69 E+3	5,02 E+3		-6,66	4,52 E+3		+3,56
3,45 E+3	3,61 E+3		-4,42	3,33 E+3		+3,65
1,27 E+3	1,36 E+3		-6,36	1,31 E+3		-3,06
2,27 E+2	2,41 E+2		-5,70	2,40 E+2		-5,03
5,73 E+1	5,72 E+1		+0,27	5,71 E+1		+0,49
3,26 E+1	3,06 E+1		+6,47	3,06 E+1		+6,63

III.c. Titulação do Ácido Húmico

Em ambientes aquáticos e terrestres ocorrem reações que, dependendo do mecanismo e do sistema, podem ser classificadas como reações de precipitação, hidrólise, complexação ou óxi-do-redução. Dentre estas, destaca-se principalmente a reação de complexação, uma vez que as águas naturais, principalmente as superficiais, contêm uma grande variedade de substâncias orgânicas e inorgânicas que são capazes de complexar os íons metálicos livres aí presentes. Estes íons são provenientes de diversas fontes tais como, esgotos domésticos e industriais, chuvas ácidas e precipitação atmosférica.

É evidente que uma avaliação precisa da entrada dos metais e dos ligantes em um ambiente necessitará do conhecimento da concentração de ambos bem como da especiação destes.

Dentre as substâncias orgânicas de ocorrência natural, as que possuem capacidade de complexar íons metálicos livres, os ácidos fúlvicos e húmicos, são considerados os mais importantes. Estas substâncias são polímeros orgânicos de peso molecular indefinido, caracterizadas pela presença de grupos fenólicos e carboxílicos. São formadas provavelmente pela degradação microbiológica da biomassa, principalmente folhas e flores, e podem ser obtidas a partir do carvão betuminoso, dos solos e dos ambientes aquáticos.

As interações metal-humatos envolvem primeiramente os oxigênios doadores de elétrons, porém o nitrogênio presente no composto é suficiente para proporcionar possíveis locais de coordenação.

Os íons metálicos podem ser complexados ou adsorvidos por estas substâncias, favorecendo assim a redução da toxi-

dez dos metais para certas espécies de microorganismos aquáticos³.

Pagenkoff e Whitworth observaram que cada "molécula" do ácido húmico era capaz de complexar mais que um íon de cádmio (II). Este fenômeno ocorria até que a maior fração dos grupos negativos destes fossem neutralizadas, permitindo assim uma redução progressiva da carga dos complexos. Os autores observaram que para concentrações metal:ligante $\geq 10:1$ ocorria a precipitação dos complexos³⁷.

De acordo com Gardner, as substâncias húmicas nos ambientes aquáticos agem como verdadeiros tampões, reagindo com os metais livres e reduzindo assim a concentração destes³⁸.

Diferentes métodos e técnicas têm sido utilizados nos estudos das interações metal-humatos. Os métodos gráficos podem ser mais acessíveis que os procedimentos de otimização de parâmetros, os quais requerem solução por métodos computacionais³⁹. Alguns autores já compararam diversos modelos computacionais considerando um mesmo conjunto de dados experimentais⁴⁰.

Os modelos mais comuns postulam a existência de dois locais de ligação e cuja análise é feita por métodos gráficos. Os valores de (K') e da concentração dos ligantes, ou locais de ligação, encontrados usando tais modelos, devem ser considerados como parâmetros adaptantes mais que parâmetros representantes de duas classes distintas de locais de ligação⁴¹.

O modelo gráfico de Scatchard tem sido o método escolhido na maioria dos estudos sobre complexos de metal com substâncias húmicas e fúlvicas. Para estes sistemas, curvas não lineares são obtidas e através destas, as constantes K'_1 e K'_2 são calculadas, pois um grande número de pesquisadores assumem que nestes ligantes dois locais de ligação distintos para cada molé-

cula são suficientes para modelar o comportamento observado.

Para avaliar as interações entre o ácido húmico comercial (Aldrich) e o metal cobre (II), foram feitas titulações de amostras filtradas e não filtradas.

Titulação de solução não filtrada de ácido húmico

A amostra para titulação foi obtida a partir da adição de 10 ml da solução estoque do ácido não filtrado a 90 ml to tampão PIPES. o pH e a força iônica foram ajustados conforme descritos no capítulo II. Os dados obtidos nesta titulação encontram-se na tabela 8.

Titulação de solução filtrada de ácido húmico

O preparo da amostra foi feito de modo similar ao da amostra não filtrada, utilizando-se a solução estoque filtrada.

A figura 10 mostra a variação da concentração de íons cobre (II) durante a titulação de soluções de ácido húmico filtrado e não filtrado.

Comparando-se as curvas, observa-se que, para qualquer valor de cobre total, a menor concentração do cobre iônico livre corresponde à solução não filtrada. Provavelmente, além da complexação esteja ocorrendo também adsorção destes íons pelas partículas coloidais das substâncias húmicas.

A figura 11 mostra as curvas referentes a ambas amostras, quando aplicado o modelo gráfico de Scatchard.

Os dados referentes a titulação da solução não filtrada de ácido húmico, foram analisados aplicando-se os modelos 1:1 e 2:1 (metal:ligante).

TABELA 8. Resultados obtidos na titulação da solução não filtrada de ácido húmico.

Cobre total [Cu _T *]	Cobre iônico [Cu ⁺⁺]	-log [Cu ⁺⁺] pCu	Compl./iônico [CuL]/[Cu ⁺⁺]
1,13 E-7	3,12 E-9	8,51	35,28
2,14 E-7	6,32 E-9	8,20	32,86
2,78 E-7	8,41 E-9	8,08	32,01
3,48 E-7	1,10 E-8	7,96	30,61
4,25 E-7	1,38 E-8	7,86	29,82
5,12 E-7	1,77 E-8	7,75	27,91
5,90 E-7	2,18 E-8	7,66	26,12
6,79 E-7	2,62 E-8	7,58	24,91
7,65 E-7	3,13 E-8	7,05	23,42
8,63 E-7	3,68 E-8	7,43	22,44
1,07 E-6	4,68 E-8	7,33	21,82
1,17 E-6	5,39 E-8	7,27	20,74
1,28 E-6	6,05 E-8	7,22	20,10
1,36 E-6	6,89 E-8	7,16	18,70
1,48 E-6	7,80 E-8	7,11	17,90
1,59 E-6	8,90 E-8	7,05	16,85

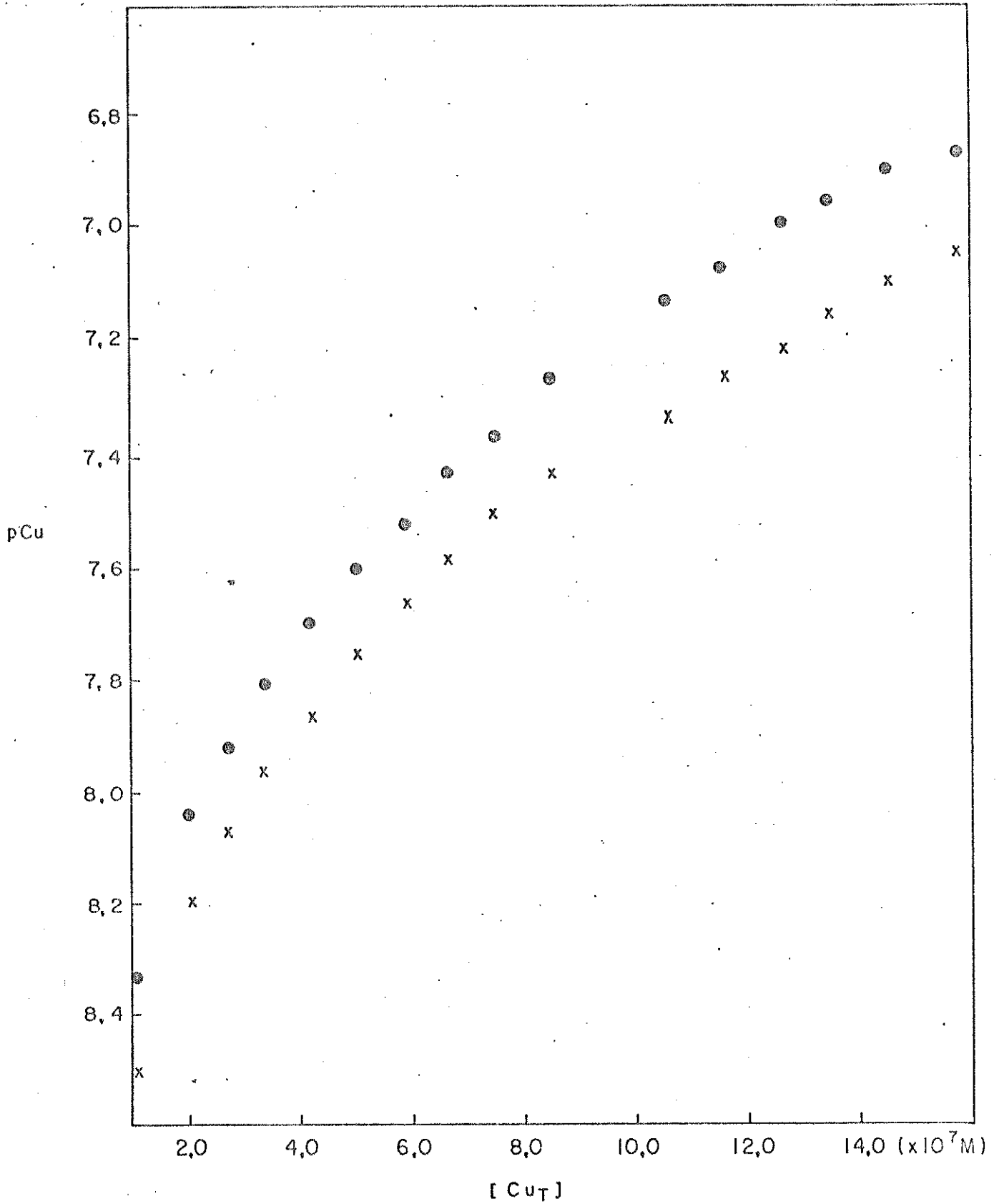


FIG. 10 Titulação de solução de ácido húmico filtrada (●) e não filtrada (x)

TABELA 9. Resultados obtidos na titulação da solução filtrada de ácido húmico.

Cobre total [Cu _T [*]]	Cobre iônico [Cu ⁺⁺]	-log [Cu ⁺⁺] pCu	Compl./iônico [CuL]/[Cu ⁺⁺]
1,13 E-7	4,62 E-9	8,33	23,51
2,14 E-7	9,08 E-9	8,05	22,55
2,78 E-7	1,20 E-8	7,92	22,11
3,48 E-7	1,54 E-8	7,81	21,62
4,25 E-7	1,99 E-8	7,70	20,37
5,12 E-7	2,49 E-8	7,60	19,54
5,90 E-7	3,02 E-8	7,52	18,52
6,79 E-7	3,67 E-8	7,44	17,49
7,65 E-7	4,36 E-8	7,36	16,55
8,63 E-7	5,29 E-8	7,28	15,32
1,07 E-6	7,16 E-8	7,15	13,94
1,17 E-6	8,23 E-8	7,08	13,23
1,28 E-6	9,54 E-8	7,02	12,38
1,36 E-6	1,10 E-7	6,96	11,39
1,48 E-6	1,25 E-7	6,90	10,78
1,59 E-6	1,36 E-7	6,87	10,65

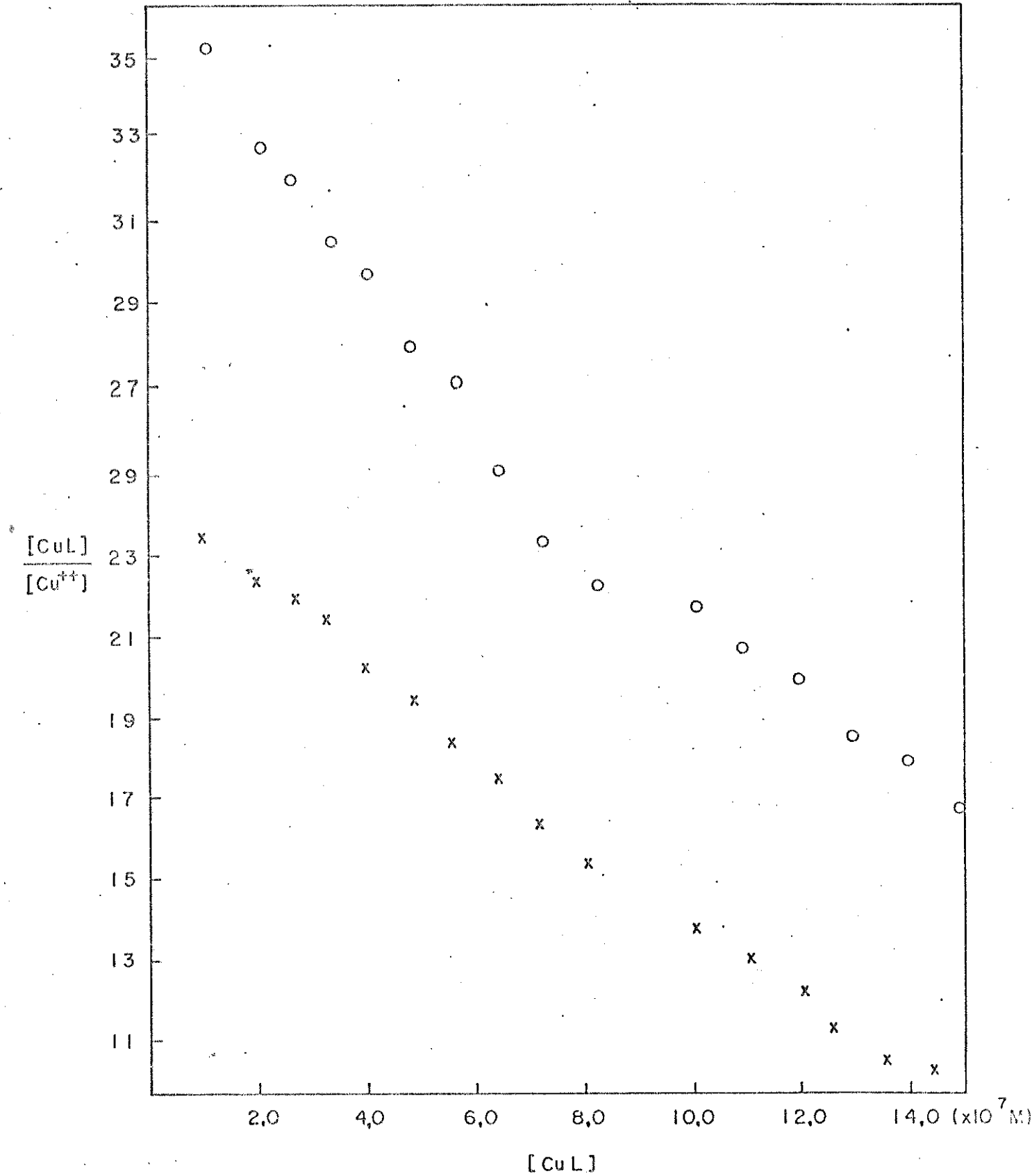


FIG. 11 Gráfico de Scatchard com os dados obtidos na titulação da solução filtrada (x) e não filtrada (O) de ácido húmico

Para os modelos 1:1 os valores de K' e $[L_T]$ foram obtidos com auxílio do programa REGRELI. Para o modelo 2:1 os valores de K'_1 , L_1 , K'_2 , L_2 foram obtidos com o programa ISIS SHORT. Estes valores encontram-se na tabela abaixo e foram aplicados no programa P/L_1L_2 .

TABELA 10. Valores de K' e $[L]$ para solução não filtrada de ácido húmico.

Modelo 1:1	Modelo 2:1
$K'_1 = 1,26 \text{ E}+7$	$K'_1 = 5,63 \text{ E}+7$
$[L] = 2,75 \text{ E}-6$	$[L_1] = 1,14 \text{ E}-7$
-	$K'_2 = 1,00 \text{ E}+7$
-	$[L_2] = 2,94 \text{ E}-6$

Os resultados obtidos quando aplicados os modelos 1:1 e 2:1 encontram-se nas tabelas 11 e 12.

Através da tabela 13 podemos fazer uma análise estatística dos dados obtidos quando aplicados ambos modelos.

Observando-se a figura 12, seria viável afirmar que ambos modelos representam o comportamento deste sistema. Porém, de acordo com os desvios fornecidos pela tabela 13, concluiu-se que o modelo 2:1 é o mais apropriado para descrever o comportamento do mesmo.

TABELA 11. Dados referentes a aplicação do modelo 1:1
 ã solução não filtrada de ácido hûmico.

Cobre total [Cu _T [*]]	Cobre iônico [Cu ⁺⁺]	Complexado [CuL]	Compl./iônico [CuL]/[Cu ⁺⁺]
1,13 E-7	3,31 E-9	1,10 E-7	33,26
2,14 E-7	6,48 E-9	2,07 E-7	32,03
2,78 E-7	8,61 E-9	2,69 E-7	31,26
3,48 E-7	1,11 E-8	3,37 E-7	30,41
4,25 E-7	1,40 E-8	4,11 E-7	29,47
5,12 E-7	1,74 E-8	4,94 E-7	28,44
5,90 E-7	2,07 E-8	5,70 E-7	27,48
6,79 E-7	2,48 E-8	6,54 E-7	26,41
7,65 E-7	2,90 E-8	7,36 E-7	25,39
8,63 E-7	3,43 E-8	8,29 E-7	24,21
1,07 E-6	4,69 E-8	1,02 E-6	21,78
1,17 E-6	5,42 E-8	1,12 E-6	20,70
1,28 E-6	6,26 E-8	1,21 E-6	19,37
1,36 E-6	6,99 E-8	1,29 E-6	18,43
1,48 E-6	8,15 E-8	1,39 E-6	17,10
1,59 E-6	9,45 E-8	1,49 E-6	15,80

TABELA 12. Dados referentes a aplicação do modelo 2:1
 ã solução não filtrada de ácido hûmico.

Cobre total [Cu _T [*]]	Cobre iônico [Cu ⁺⁺]	Complexado [CuL]	Compl./iônico [CuL]/[Cu ⁺⁺]
1,13 E-7	3,25 E-9	1,10 E-7	33,89
2,14 E-7	6,42 E-9	2,08 E-7	32,33
2,78 E-7	8,57 E-9	2,69 E-7	31,40
3,48 E-7	1,11 E-8	3,37 E-7	30,40
4,25 E-7	1,40 E-8	4,11 E-7	29,38
5,12 E-7	1,75 E-8	4,94 E-7	28,25
5,90 E-7	2,09 E-8	5,95 E-7	27,26
6,79 E-7	2,50 E-8	6,54 E-7	21,19
7,65 E-7	2,92 E-8	7,35 E-7	25,18
8,63 E-7	3,45 E-8	8,29 E-7	24,04
1,07 E-6	4,70 E-8	1,02 E-6	21,76
1,17 E-6	5,40 E-8	1,12 E-6	20,67
1,28 E-6	6,20 E-8	1,21 E-6	19,57
1,36 E-6	6,86 E-8	1,29 E-6	18,72
1,48 E-6	7,95 E-8	1,36 E-6	17,54
1,59 E-6	9,12 E-8	1,50 E-6	16,42

TABELA 13. Desvios dos valores de $[Cu]/[Cu^{++}]$ para os modelos 1:1 e 2:1. Solução não filtrada de ácido húmico.

$[CuL]/[Cu^{++}]$ Exper.	Modelo 1:1		Modelo 2:1	
	$[CuL]/[Cu^{++}]$	Desvio %	$[CuL]/[Cu^{++}]$	Desvio %
35,28	33,26	+6,05	33,89	+4,08
32,86	32,03	+2,60	32,33	+1,64
32,01	31,26	+2,40	31,40	+1,94
30,61	30,41	+0,66	30,41	+0,66
29,82	29,47	+1,20	29,38	+1,49
27,91	28,44	-1,85	28,25	-1,21
26,12	27,48	-4,95	27,26	-4,19
24,91	26,41	-5,67	26,19	-4,86
23,42	25,39	-7,76	25,18	-7,01
22,44	24,21	-7,33	24,04	-6,68
21,82	21,78	+0,21	21,75	+0,33
20,74	20,70	+0,19	20,67	+0,33
20,10	19,37	+3,76	19,57	+2,72
18,70	18,43	+1,50	18,72	-0,14
17,90	17,10	+4,72	17,54	+2,05
16,85	15,81	+6,61	16,42	+2,65

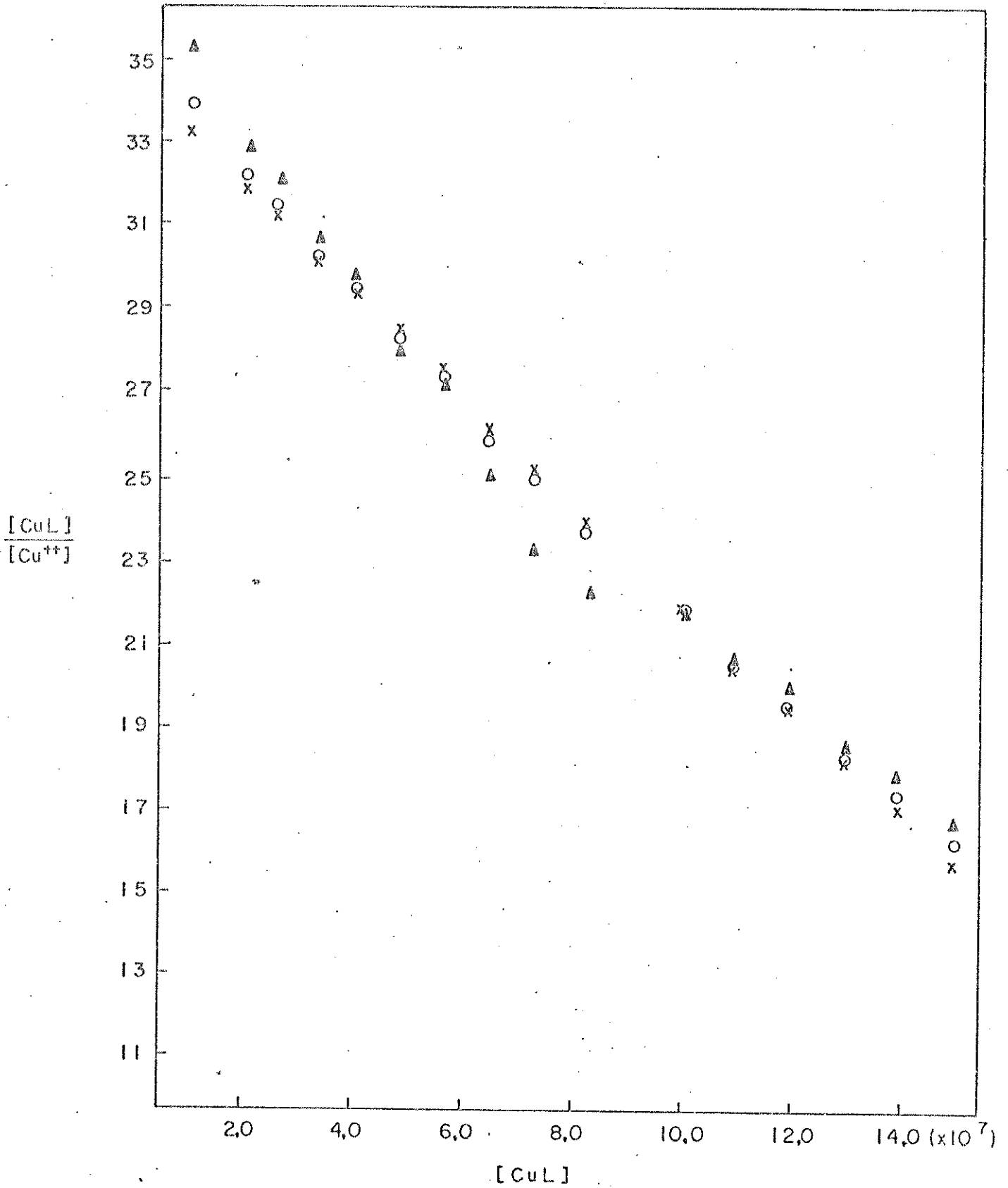


FIG. 12 - Titulação de solução não filtrada de ácido húmico. Experimental (Δ) modelo 1:1 (x) modelo 2:1 (o)

O mesmo tratamento, descrito para solução não filtrada de ácido húmico, foi feito para a solução filtrada. Os valores de K'_1 , $[L_1]$ e K'_2 e $[L_2]$ encontram-se na tabela abaixo.

TABELA 14. Valores de K' e $[L]$ para solução filtrada de ácido húmico.

Modelo 1:1	Modelo 2:1
$K' = 1,03 \text{ E}+7$	$K'_1 = 2,36 \text{ E}+7$
$[L] = 2,39 \text{ E}-6$	$[L_1] = 2,57 \text{ E}-7$
-	$K'_2 = 8,02 \text{ E}+6$
-	$[L_2] = 2,30 \text{ E}-6$

Os desvios observados para ambos modelos encontram-se na tabela 15. Comparando-se as tabelas 10 e 14 observamos que para qualquer modelo aplicado os maiores valores de concentração do ligante bem como das constantes de formação correspondem a amostra não filtrada. Porém, é neste caso que se verifica a presença de partículas sólidas e materiais coloidais em suspensão, os quais contribuem para a retirada do metal iônico do sistema. Este fato evidencia a necessidade do uso de soluções filtradas quando se pretende avaliar apenas a concentração de espécies que causam a complexação dos metais.

Através dos desvios fornecidos pelas tabelas 13 e 15 concluímos que para ambas amostras, filtrada ou não, o modelo 2:1 é o que melhor reproduz o sistema. No entanto, é válido lembrar que a solução filtrada representa de modo mais fiel a complexação do mesmo.

TABELA 15. Desvios dos valores de $[Cu_L]/[Cu^{++}]$ para os modelos 1:1 e 2:1.
Solução filtrada de ácido húmico.

$[Cu_L]/[Cu^{++}]$ Exper.	Modelo 1:1		Modelo 2:1	
	$[Cu_L]/[Cu^{++}]$	Desvio %	$[Cu_L]/[Cu^{++}]$	Desvio %
23,51	23,36	+0,67	23,42	+0,38
22,55	22,37	+0,80	22,16	+1,75
22,12	21,75	+1,67	21,84	+1,24
21,62	21,06	+2,66	20,76	+4,18
20,37	20,32	+0,28	19,97	+2,03
19,54	19,48	+0,28	19,11	+2,24
18,53	18,73	-1,07	18,65	-0,64
17,49	17,88	-2,17	17,50	-0,06
16,55	17,07	-3,01	16,69	-0,80
15,32	16,14	-5,04	15,81	-3,04
13,94	14,23	-2,04	14,00	-0,41
13,23	13,30	-0,50	13,14	+0,71
12,38	12,37	+0,07	12,37	+0,06
11,39	11,64	-2,14	11,61	-1,93
10,78	10,65	+1,24	10,74	+0,05
10,65	9,71	+9,74	9,98	+6,71

III.d. Amostras Naturais

Titulação de amostras da água da Lagoa do Taquaral

A Lagoa Isaura Teles Alves, ou Lagoa do Taquaral, localiza-se na cidade de Campinas e foi construída para fins recreativos pelo represamento do córrego Guanabara. Este sistema recebe diariamente uma grande quantidade de esgotos clandestinos de origem doméstica, que o torna rico em nutrientes, sendo consequentemente classificado como um "corpo hipereutrófico".

Frequentemente tem se observado neste sistema o florescimento de algas verde azuladas ("blooms" de cianofíceas). De acordo com Matsumara e colaboradores, estes "blooms" consistem quase que totalmente de Microcystis aeruginosa e são intensos nos meses quentes⁴².

Dentre as consequências geradas por tais blooms destacam-se: (a) o aspecto esverdeado da água; (b) o odor desagradável exalado pelos produtos extracelulares; (c) o aumento do consumo de oxigênio no hipolímnio e (d) a redução da fauna.

Para tentar minimizar este florescimento de algas é necessária uma avaliação precisa do sistema. Alguns pesquisadores, desde o início do século tem sugerido o uso de sulfato de cobre como algicida bastante eficaz^{43,44}. No entanto, Fogg e Westlake (1955) demonstraram que certos produtos extracelulares complexavam o cobre diminuindo assim seus efeitos tóxicos⁴⁵.

Para avaliar a interação do cobre (II) e o sistema em estudo, foram feitas diversas análises de amostras da água da Lagoa. O horário das coletas variou de 15:30 às 16:30 e as mesmas foram feitas em dias de elevadas temperatura e atividade solar, durante os "blooms" de algas. O pH médio de 9,50, relativa

mente alto para tais sistemas, refletiu a máxima atividade fotosintética. A concentração de sólidos não filtráveis ($0,45 \mu\text{m}$) obtidos em tais amostras foi de $145,6 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (peso constante medido após secagem 105°C).

Resultados

Os dados apresentados nas tabelas 16 e 17 correspondem à titulação de amostras não filtradas e filtradas da água da Lagoa.

A figura 13 mostra a variação da concentração de cobre iônico durante a titulação das amostras filtradas e não filtradas. Nas tabelas 18 e 19 encontram-se os desvios observados quando aplicados os modelos 1:1 e 2:1.

O procedimento adotado para obtenção dos valores de K' e $[L]$ foi o mesmo proposto na titulação do ácido húmico. Estes dados encontram-se nas tabelas 20 e 21.

Através dos desvios dos valores de $[\text{CuL}]/[\text{Cu}^{++}]$, para a amostra filtrada, concluimos que o modelo 2:1 representa melhor este sistema. A aplicação do método gráfico de Scatchard observada na figura 14 confirma tal conclusão.

Comparando-se os dados obtidos nas tabelas 20 e 21, e considerando que o modelo 2:1 é o que descreve melhor o sistema, através da concentração total do ligante ($L_1 + L_2$) pode-se concluir que, de todo material que interagiu com o cobre, 76% correspondem aos agentes complexantes. O restante provavelmente está relacionado com interações do tipo adsorção. Esta adsorção era esperada, uma vez que a concentração média de sólidos não filtráveis de $145,6 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ compreende não só as algas, mas também aos colóides que tem poder de adsorver íons metálicos tais como o cobre (II).

TABELA 16. Resultados obtidos na titulação da amostra da água não filtrada da Lagoa do Taquaral.

$[\text{Cu}_T^*]$	$[\text{Cu}^{++}]$	$[\text{CuL}]/[\text{Cu}^{++}]$	pCu
1,13 E-7	6,98 E-9	15,19	8,16
2,14 E-7	1,46 E-8	13,67	7,84
3,48 E-7	2,83 E-8	13,62	7,62
5,12 E-7	3,80 E-8	12,46	7,42
5,90 E-7	4,49 E-8	12,15	7,35
6,79 E-7	5,56 E-8	11,21	7,25
7,65 E-7	6,78 E-8	10,28	7,17
8,63 E-7	7,94 E-8	9,87	7,10
1,07 E-6	1,12 E-7	8,58	6,95
1,17 E-6	1,34 E-7	7,74	6,87
1,28 E-6	1,51 E-7	7,46	6,82
1,36 E-6	1,69 E-7	7,06	6,77
1,48 E-6	1,87 E-7	6,89	6,73
1,59 E-6	2,14 E-7	6,43	6,67

TABELA 17. Resultados obtidos na titulação da amostra da água filtrada da Lagoa do Taquaral.

$[\text{Cu}_T^*]$	$[\text{Cu}^{++}]$	$[\text{CuL}]/[\text{Cu}^{++}]$	pCu
1,13 E-7	1,05 E-8	9,83	7,98
2,14 E-7	2,28 E-8	8,40	7,64
3,48 E-7	4,48 E-8	6,78	7,35
5,12 E-7	8,29 E-8	5,17	7,08
5,90 E-7	1,04 E-7	4,70	6,98
6,79 E-7	1,31 E-7	4,20	6,88
7,65 E-7	1,58 E-7	3,84	6,80
8,63 E-7	1,89 E-7	3,57	6,72
1,07 E-6	2,95 E-7	2,63	6,53
1,17 E-6	3,36 E-7	2,48	6,47
1,28 E-6	3,77 E-7	2,38	6,42
1,36 E-6	4,20 E-7	2,23	6,38
1,48 E-6	4,68 E-7	2,15	6,33
1,59 E-6	5,21 E-7	2,05	6,28

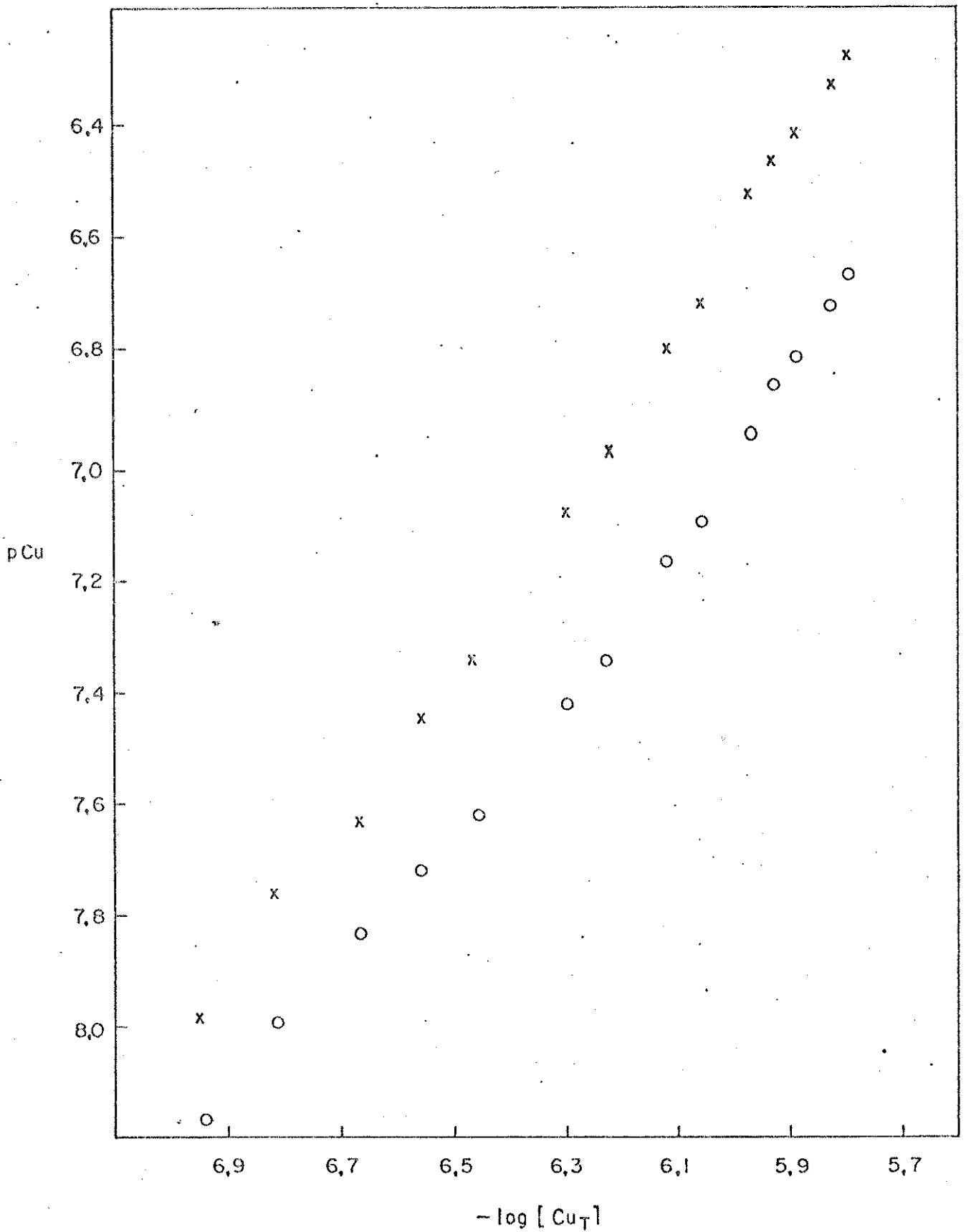


FIG. 13 Titulação da amostra da água da Lagoa do Taquaral. Amostra filtrada (x), não filtrada.(o)

TABELA 18. Desvios dos valores de $[\text{CuL}]/[\text{Cu}^{++}]$ para os modelos 1:1 e 2:1. Amostra não filtrada da Lagoa do Taquaral.

$[\text{CuL}]/[\text{Cu}^{++}]$ Experim.	Modelo 1:1		Modelo 2:1	
	$[\text{CuL}]/[\text{Cu}^{++}]$	Desvio %	$[\text{CuL}]/[\text{Cu}^{++}]$	Desvio %
15,19	14,85	+2,31	14,98	+1,40
13,67	14,19	-3,66	14,21	-3,80
13,62	13,31	+2,34	13,41	+1,57
12,46	12,25	+1,69	12,35	+0,84
12,15	11,75	+3,43	11,90	+2,09
11,21	11,18	+0,24	11,26	-0,46
10,28	10,65	-3,45	10,62	-3,18
9,87	10,04	-1,66	10,07	-1,99
8,58	8,80	-2,51	8,82	-2,76
7,74	8,21	-5,68	8,13	-4,75
7,46	7,61	-2,02	7,67	-2,78
7,06	7,16	-1,37	7,25	-2,59
6,90	6,35	+8,55	6,86	+0,55
6,42	5,96	+7,69	6,39	+0,36

TABELA 19. Desvios dos valores de $[CuL]/[Cu^{++}]$ para os modelos 1:1 e 2:1.
Amostra filtrada da Lagoa do Taquara1.

$[CuL]/[Cu^{++}]$ Experim.	Modelo 1:1		Modelo 2:1	
	$[CuL]/[Cu^{++}]$	Desvio %	$[CuL]/[Cu^{++}]$	Desvio %
9,83	8,41	+16,88	9,39	+4,65
8,40	7,73	+8,61	8,18	+2,65
6,78	6,85	-1,06	6,76	+0,29
5,17	3,83	-11,22	5,37	-3,74
4,70	5,36	-12,30	4,84	-2,91
4,20	4,85	-13,37	4,23	-0,50
3,84	4,39	-12,70	3,90	-1,64
3,57	3,90	-8,31	3,49	+2,47
2,63	3,04	-13,73	2,89	-7,34
2,48	2,65	-6,09	2,58	-3,83
2,38	2,32	+2,58	2,36	+0,93
2,23	2,10	+6,23	2,21	+1,04
2,15	1,84	+17,33	2,02	+6,64
2,05	1,62	+26,48	1,86	+10,16

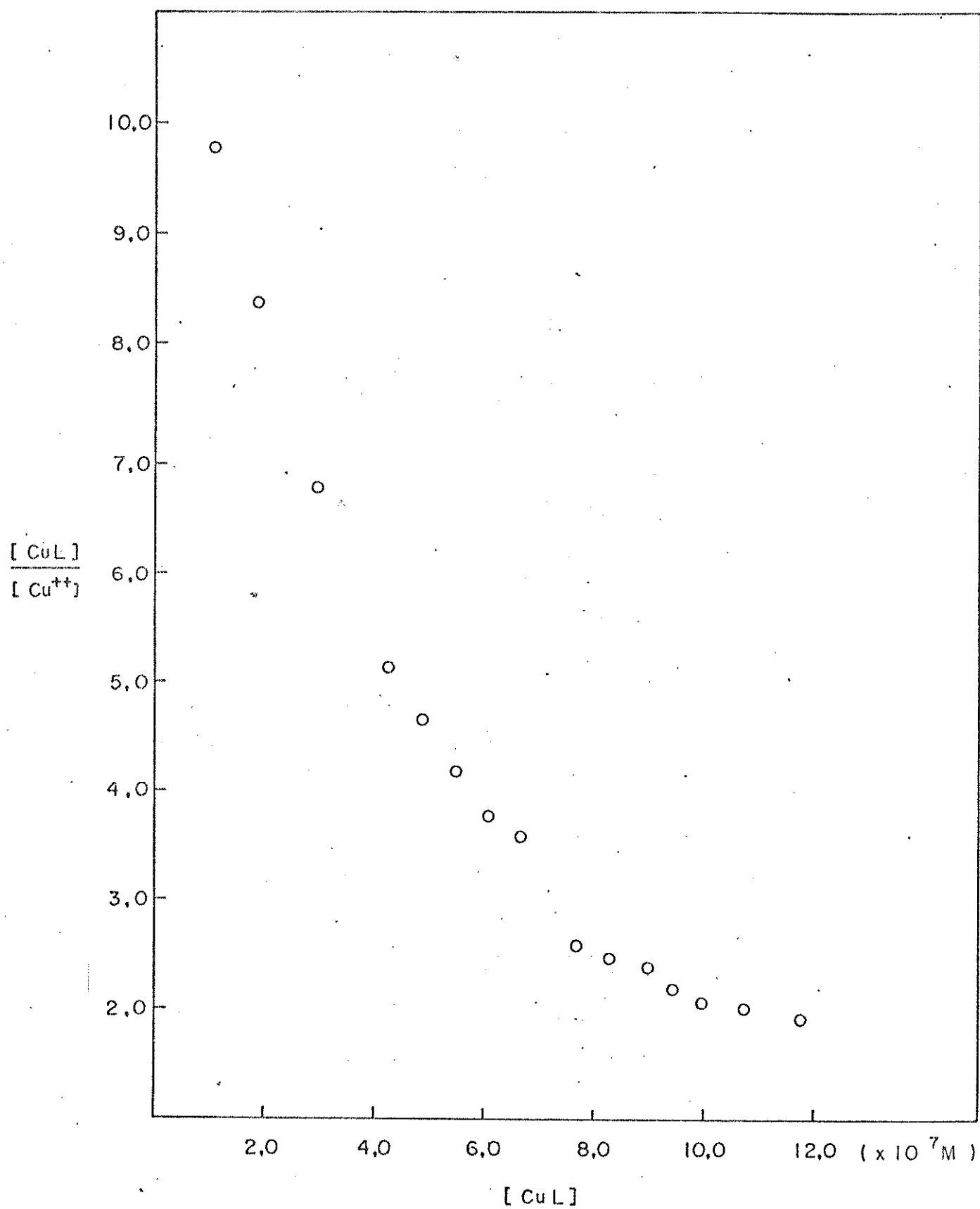


FIG 14 Gráfico de Scotchard com os dados obtidos na titulação da amostra de água filtrada da lagoa do taquaral.

TABELA 20. Valores de K' e $[L]$ para amostra da água não filtrada da Lagoa do Taquaral.

Modelo 1:1			Modelo 2:1		
K'_1	=	7,09 E+6	K'_1	=	9,40 E+6
$[L]$	=	2,20 E-6	$[L_1]$	=	8,60 E-7
-			K'_2	=	5,05 E+6
-			$[L_2]$	=	1,51 E-6

TABELA 21. Valores de K' e $[L]$ para amostra da água filtrada da Lagoa do Taquaral.

Modelo 1:1			Modelo 2:1		
K'_1	=	7,70 E+6	K'_1	=	1,79 E+7
$[L]$	=	1,19 E-6	$[L_1]$	=	5,06 E-7
-			K'_2	=	1,42 E+6
-			$[L_2]$	=	1,30 E-6

Titulação de amostras de água do Rio Atibaia (Campinas)

O Rio Atibaia nasce no estado de Minas Gerais, atravessa grande parte do município de Campinas alimentando depois a bacia do Piracicaba. A sua importância para a cidade de Campinas é estratégica, uma vez que 99% da água potável consumida pela população é retirada deste manancial.

As amostras para análise deste sistema foram coletadas em Souzas, em dias com diferentes condições climáticas. O pH das amostras na coleta variou de 6,97 a 7,02 e foram corrigidos a 6.800 com adição do tampão PIPES. A concentração de sólidos não filtráveis em cada amostra variou de 22,8 a 25,9 mg ℓ^{-1} .

As titulações foram feitas somente com amostras filtradas (figura 15).

Neste sistema foram também aplicados os modelos 1:1 e 2:1. Este tratamento pode ser observado na figura 16 e os desvios referentes a ambos modelos encontram-se na tabela 23. De acordo com estes desvios podemos concluir que o modelo 2:1 se adapta melhor ao sistema em questão. Os valores de concentração de ligantes [L], bem como os de constante de formação dos complexos para os modelos propostos, encontram-se na tabela 24.

Neste caso, a titulação das amostras não filtradas não foi considerada pois os dados obtidos não foram reprodutíveis. Este fato talvez possa ser explicado devido à diversidade de sólidos não filtráveis nas diferentes amostras coletadas.

A concentração total de ligantes encontrada neste sistema foi de $2,41 \times 10^{-6}$ M. Este valor concorda com os valores médios de concentração total de ligantes encontrados por alguns pesquisadores que investigaram este parâmetro em distemas distróficos. Utilizando amostras filtradas dos rios Yamaska e

TABELA 22. Resultados obtidos na titulação da amostra da água filtrada do Rio Atibaia.

$[\text{Cu}_T^*]$	$[\text{Cu}^{++}]$	$[\text{Cu}_L]/[\text{Cu}^{++}]$	pCu
2,18 E-7	1,64 E-8	12,30	7,79
2,83 E-7	2,19 E-8	11,93	7,66
3,56 E-7	2,85 E-8	11,48	7,55
4,33 E-7	3,66 E-8	10,83	7,44
5,21 E-7	4,63 E-8	10,26	7,34
6,00 E-7	5,49 E-8	9,93	7,26
6,90 E-7	6,62 E-8	9,43	7,18
7,78 E-7	7,92 E-8	8,81	7,10
8,78 E-7	9,33 E-8	8,41	7,03
9,85 E-7	1,08 E-7	8,10	6,97
1,09 E-6	1,27 E-7	7,52	6,89
1,20 E-6	1,48 E-7	7,10	6,83
1,28 E-6	1,66 E-7	6,72	6,78
1,38 E-6	1,88 E-7	6,33	6,73
1,46 E-6	2,08 E-7	6,01	6,68

TABELA 23. Desvios dos valores de $[Cu_L]/[Cu^{++}]$ para os modelos 1:1 e 2:1. Amostra filtrada da água do Rio Atibaia.

$[Cu_L]/[Cu^{++}]$ Experim.	Modelo 1:1		Modelo 2:1	
	$[Cu_L]/[Cu^{++}]$	Desvio %	$[Cu_L]/[Cu^{++}]$	Desvio %
12,30	12,08	+1,82	12,09	+1,74
11,93	11,73	+1,70	11,64	+2,55
11,48	11,34	+1,23	11,23	+2,27
10,83	10,93	-0,95	10,80	+0,21
10,26	10,46	-1,91	10,33	-0,66
9,93	10,04	-1,11	9,92	+0,14
9,43	9,57	-1,52	9,45	-0,30
8,81	9,12	-3,38	9,02	-2,28
8,41	8,61	-2,36	8,53	-1,44
8,10	8,07	+0,43	8,03	+0,97
7,52	7,56	-0,84	7,57	-0,66
7,10	7,06	+0,65	7,07	+0,41
6,72	6,66	+0,90	6,71	+0,15
6,33	6,23	+1,70	6,31	+0,35
6,01	5,72	+5,09	5,99	+0,40

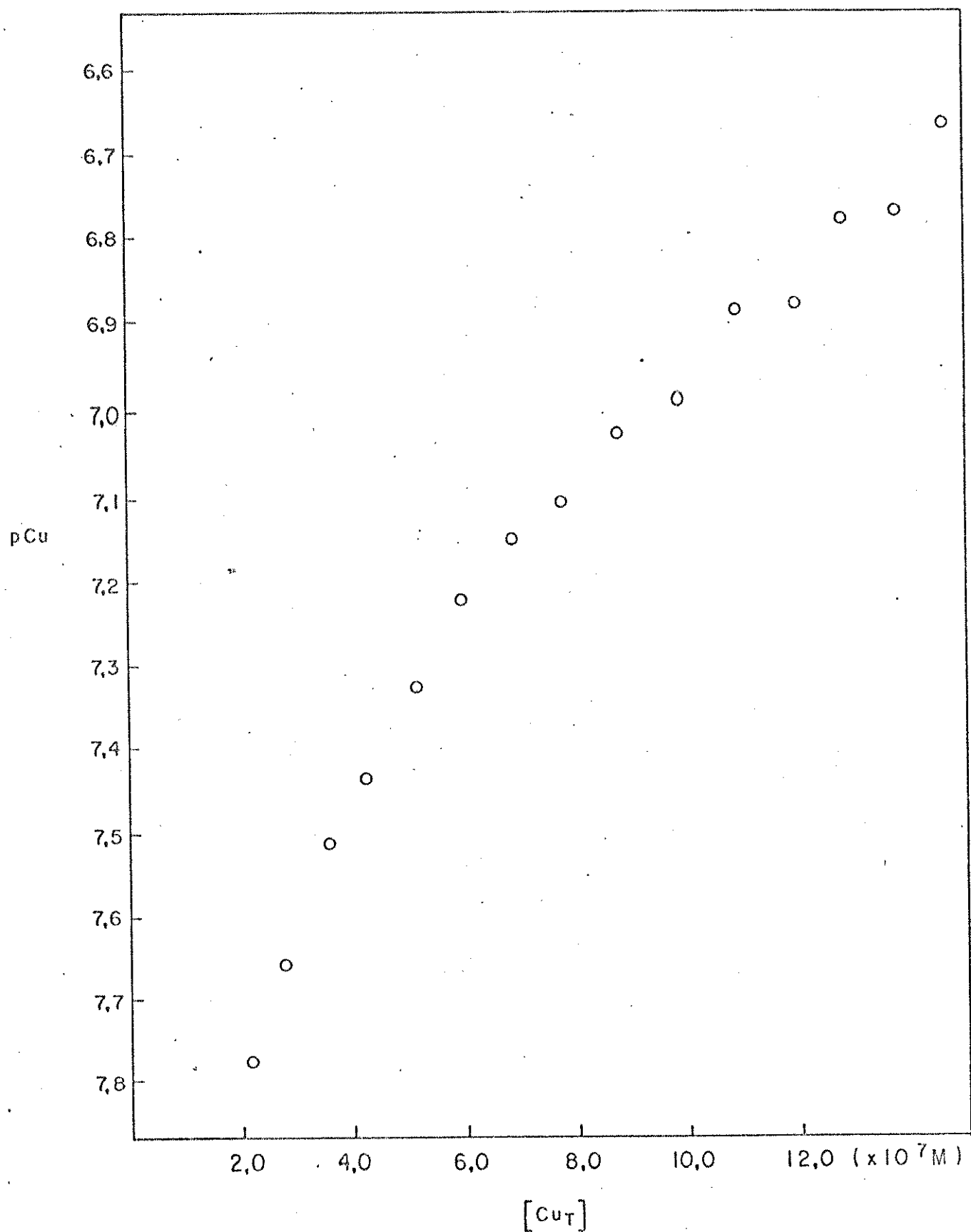


FIGURA 15 - Titulação de amostra da água filtrada do Rio Atibaia

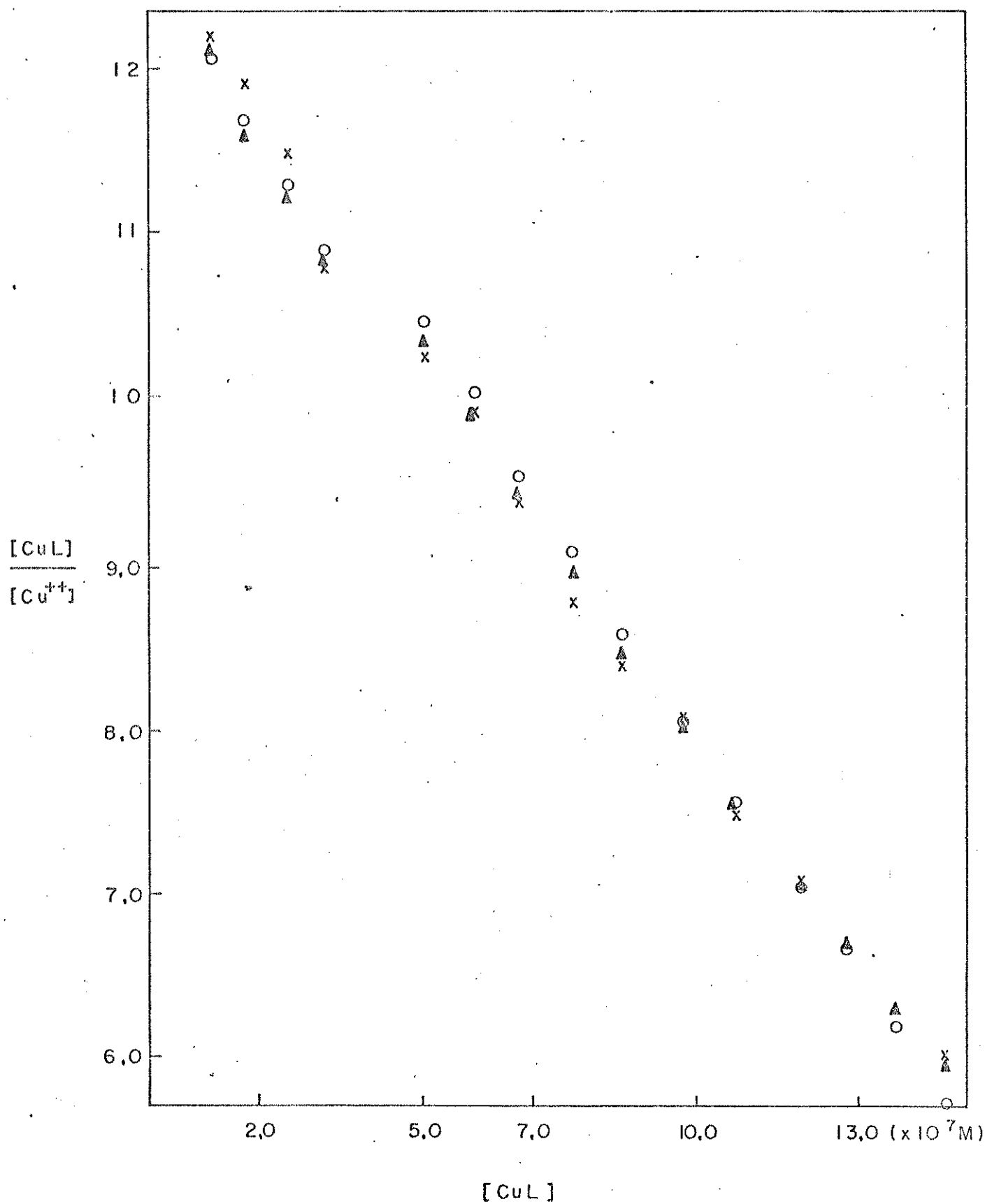


FIG. 16 Titulação da amostra de água filtrada do Rio Atibaia Experimental (x), modelo 1:1 (O), modelo 2:1 (A)

TABELA 24. Valores de K' e $[L]$ para amostra da água filtrada do Rio Atibaia.

Modelo 1:1	Modelo 2:1
$K_1' = 5,93 \text{ E}+6$	$K_1' = 1,52 \text{ E}+7$
$[L] = 2,24 \text{ E}-6$	$[L_1] = 1,70 \text{ E}-7$
-	$K_2 = 4,80 \text{ E}+6$
-	$[L_2] = 2,24 \text{ E}-6$

Saint-François, Campbell e colaboradores verificaram que a concentração total de ligantes nestes rios variou de 0,7 a $3,3 \times 10^{-6} \text{ M}$ ⁹. Van den Berg e Kramer encontraram um valor médio de $1,47 \times 10^{-6} \text{ M}$ para a concentração total de ligantes no Rio Dickie¹⁴. Porém, estes autores consideram apenas um local de ligação por molécula de ligante e neste caso o valor de K' foi de $6,3 \times 10^7$.

IV.a. DISCUSSÃO

Na análise de amostras contendo multi-locais de ligação tais como ácidos húmicos e ligantes de ocorrência natural, devido à complexidade do sistema, faz-se necessário um tratamento mais detalhado para estimar os valores de K' e $[L]$ na interação destes com o metal. Para avaliar tais interações são propostos alguns modelos, como por exemplo, o do "ligante discreto" e o da "distribuição contínua" sendo que este último compreende o modelo do espectro de afinidade, o da função de estabilidade e o da distribuição normal.

Dzombak e colaboradores, em publicação recente, fizeram um estudo detalhado destes modelos considerando a interação metal-humato³⁹. Estes mesmos autores também fizeram um outro estudo comparativo destes modelos e concluíram que o ligante discreto era o modelo que melhor reproduzia os dados experimentais⁴⁶.

Dentre os métodos disponíveis para seleção dos ligantes discretos, o método gráfico de Scatchard tem sido o mais usado. O número de ligantes necessário para o ajuste dos dados experimentais pode ser determinado por uma análise do efeito sobre a qualidade do ajuste, a qual é obtida pelo aumento do número de ligantes, ou pelo uso de um teste estatístico tal como o teste F. Estes testes indicam que 2 a 4 ligantes são necessários para modelar os sistemas metal:humato ou outros ligantes de ocorrência natural.

Devido à diferença existente entre os locais de ligação medidos em termos da afinidade pelo metal, apenas uma fração destes locais irá afetar, de maneira substancial, a especiação do metal no sistema em estudo.

Os modelos mais comuns postulam a existência de dois

locais de ligação, cuja análise é feita por métodos gráficos. Os parâmetros encontrados utilizando-se tais modelos devem, no entanto, ser encarados como parâmetros adaptantes e não como parâmetros absolutos, uma vez que representam, de maneira estatística, duas classes distintas de locais de ligação.

Para melhor exemplificar o modelo de ligantes discretos, a sua precisão e o seu poder de resolução em sistemas de estequiometria 2:1, foram simulados dois sistemas tais como os descritos abaixo:

Supôs-se a existência de duas matrizes, ambas com dois locais de ligação diferenciando-se apenas no valor de K_1' . Para a primeira matriz (A) este parâmetro foi igualado a $5,00 \text{ E}+8$, e para a segunda (B) $K_1 = 5,00 \text{ E}+6$. Para ambos os sistemas $K_2' = 1,00 \text{ E}+6$ e $[L_1] = [L_2] = 1,00 \text{ E}-6 \text{ moles.}\ell^{-1}$. Nestas duas amostras foram então simuladas a titulação com cobre na faixa de $0,2$ a $5,0 \text{ E}-6 \text{ moles.}\ell^{-1}$, cujos valores de $[\text{Cu}^{++}]$ foram obtidos com auxílio do programa P/L₁L₂.

A variação de $[\text{Cu}^{++}]$ em função de $[\text{Cu}_T]$ encontra-se na figura 17, onde as curvas A e B referem-se aos sistemas já descritos. A curva A apresenta um ponto de inflexão distinto em torno de $\text{pCu} = 6$. Porém, esta curva pode levar a considerações errôneas pois $K_1/K_2 = 500$ e, teoricamente, esta curva deveria apresentar dois pontos de inflexão. Na curva B a variação de PCu é menos acentuada pois nesta matriz $K_1/K_2 = 5$, e ambos locais de ligação estão sendo preenchidos quase que simultaneamente.

Como pelas curvas A e B apresentadas na figura 17, a estequiometria 2:1 não é evidente, estes dois sistemas poderiam ser analisados supondo-se uma estequiometria 1:1. Neste caso, para a matriz A, o valor de $[\text{L}_T]$ encontrado $1,44 \text{ E}-6$ apresenta um erro de 28 % comparado ao valor teórico, isto é, $2,00 \text{ E}-6 \text{ moles.}\ell^{-1}$.

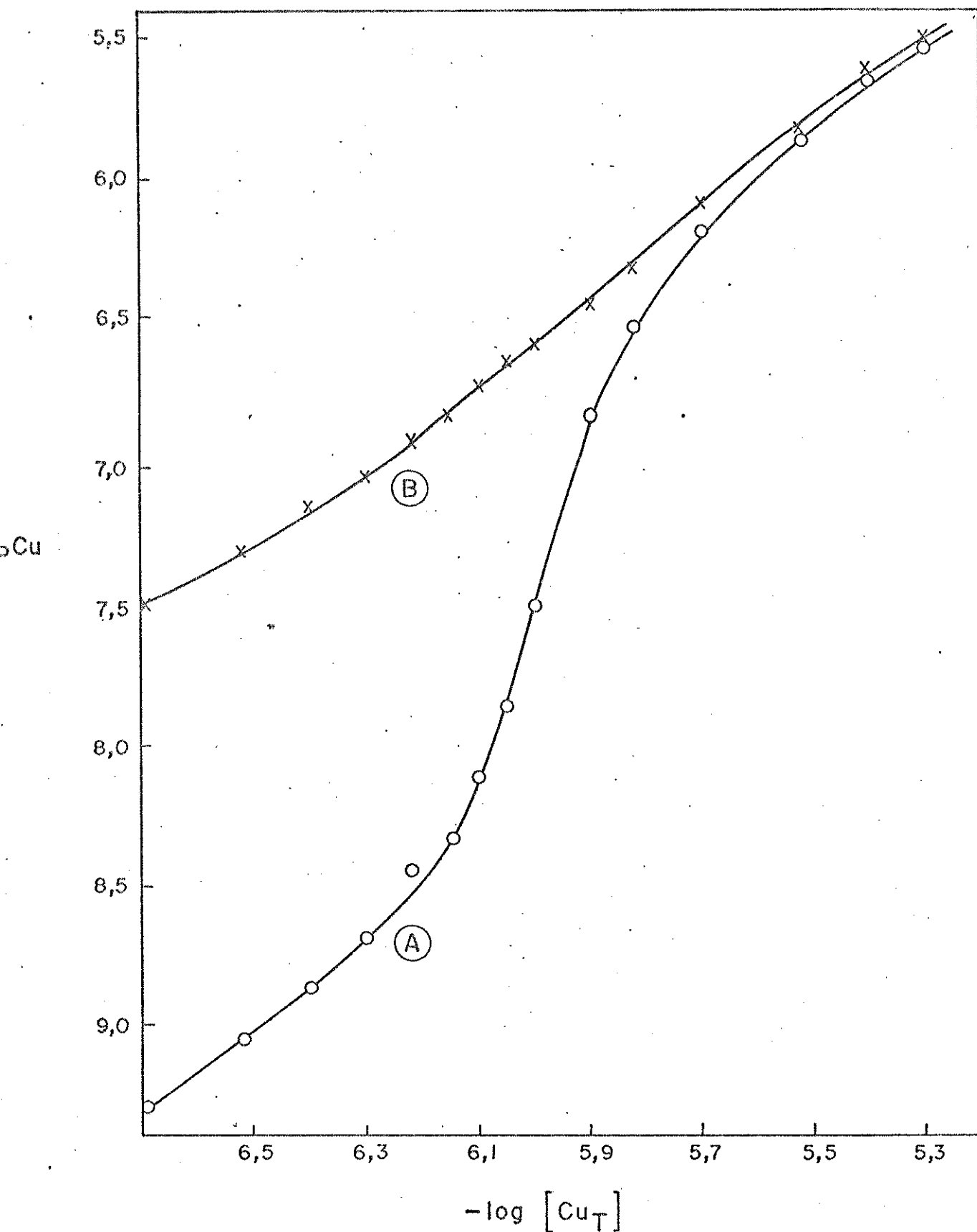


Figura 17 Variação de p_{Cu} em função da concentração total de cobre adicionado ao sistema.

les. λ^{-1} . Para a matriz B, como a relação K_1/K_2 é menos acentuada que no outro exemplo, o valor $1,80 \text{ E-}6$ para $[L_T]$ correspondê a um erro de 10 % quando comparado ao valor esperado.

Estes resultados reforçam as idéias de Dzombak e colaboradores, os quais sugerem que para sistemas contendo multi-locais de ligação, a especiação do metal pode ser controlada por locais de ligação preferenciais. Isto ocorrerá se o produto $[L_i].K_i$ destes sítios for, pelo menos, 100 vezes maior que este mesmo produto encontrado para outros sítios.

No entanto, para amostras naturais investigadas nesta pesquisa, a existência de locais de ligação preferencial não foram detectados. Para estas amostras, o preenchimento simultâneo dos diversos locais de ligação dificulta ainda mais a simulação teórica do sistema pois os produtos $[L_i].K_i$ são basicamente da mesma ordem para os dois locais encontrados.

A inclusão de um terceiro local de ligação poderia, em alguns casos, melhorar a resolução do modelo. No entanto, este aparente refinamento somente será conseguido às custas de um aumento significativo no tempo de computação que, na maioria das vezes, não é acompanhado de uma melhoria, em termos estatísticos, nos parâmetros ajustados.

IV.b. CONCLUSÃO

Na quantificação das interações metal:ligante sintético, em tampões metálicos, observou-se que medidas de pCu até 18 podem ser obtidas usando eletrodos seletivos comercialmente disponíveis, e que os tampões à base de nta e trien são mais recomendados que o tampão feito à base de edta.

Quando testado na mistura de ligantes sintéticos de nta e trien, estes eletrodos reproduziram, com boa concordância, os valores de K' e $[L]$ esperados teoricamente.

Na análise de multiligantes tais como ácido húmico e ligantes de ocorrência natural, foram aplicados os modelos computacionais de estequiometria 1:1 e 2:1. Observou-se que o modelo 2:1 é o que melhor descreve estes sistemas. A partir da concentração total do metal, e conhecendo-se o tipo de ligante natural presente na matriz, pode-se prever, com auxílio deste modelo, possíveis concentrações tóxicas do metal, bem como a mobilidade do mesmo no sistema.

Nas análises de amostras de águas da Lagoa do Taquaral, observou-se que dentre as interações entre o cobre(II) e os ligantes de ocorrência natural, destacou-se a reação de complexação. A quantidade de sólidos em suspensão encontrada nestas amostras foi aproximadamente 6 vezes superior à encontrada nas amostras do Rio Atibaia. Provavelmente uma grande fração destes sólidos corresponda às algas verde azuladas, pois as amostras foram coletadas em época de "blooms".

Através de exemplos teóricos foi possível verificar que mesmo para os sistemas que apresentam valores de K_1/K_2 da ordem de 5 vezes, a aplicação do modelo 1:1 não é indicada.

Os dados obtidos na análise do ácido húmico filtrado

sugerem que ambos modelos podem ser aplicados pois $K_1/K_2 = 2,94$. Porém, para amostra não filtrada deste ácido, as grandes discrepâncias observadas para o modelo 1:1 indicam a inconveniência do seu uso.

Para a amostra filtrada da Lagoa do Taquaral, a razão $K_1/K_2 = 12,6$ foi maior que a obtida para amostra não filtrada ($K_1/K_2 = 1,86$), indicando assim uma possível competição entre o material particulado e ligantes filtráveis.

De um modo geral foram bastante próximos os valores das constantes de formação dos complexos resultantes da interação do cobre (II) com os ligantes de ocorrência natural existentes nos dois sistemas aquáticos analisados.

Uma das aplicações imediatas do programa P/L₁L₂ desenvolvido nesta pesquisa é o cálculo da quantidade de cobre a ser utilizada como algicida. Por ser um produto de baixo custo o sulfato de cobre ainda é o algicida mais utilizado no controle de "blooms" de algas. No entanto, como a ação algicida é devido ao íon Cu (II) e não à concentração total do metal, o uso deste programa fornece a concentração ideal do algicida a ser utilizada no corpo receptor em questão. Este cálculo evita a super dosagem, que poderia dizimar outros componentes da biota tal como peixes, bem como o desenvolvimento da tolerância das algas ao metal causada por concentrações sub-tóxicas.

Esta pesquisa enfoca uma pequena área da especiação química de metais em ambientes aquáticos naturais. Com relação à parte teórica, uma extensão natural deste projeto seria uma adaptação do programa P/L₁L₂ de modo a incluir toda a parte estatística do programa ISIS SHORT e, possivelmente a inclusão de mais um local de ligação. Estas modificações deveriam entretanto, não comprometer a simplicidade e a rapidez do programa.

Sob o ponto de vista experimental, a utilização de outras técnicas, além da potenciometria, na geração dos dados da fração livre do metal poderia ser comparada e avaliada com o auxílio do programa P/L_1L_2 .

REFERÊNCIAS

1. Allen, H.E.; Brisbin, T.D. Metal speciation effects on aquatic toxicity. Environ. Sci. Technol., 14: 441-446, 1980.
2. Jardim, W.F.; Allen, H.E. Measurement of copper complexation by naturally occurring ligands. Em *Complexation of Trace Metals in Natural Waters*. Kramer, Duinker (ed). Nijhoff/Junk Publishers. The Hague. Holanda. 1-15, 1984.
3. Newbecker, T.A.; Allen, H.E. The measurement of complexation capacity and conditional stability constants for ligands in natural waters. Water Res., 17: 1-14, 1983.
4. Stumm, W.; Morgan, J.J. *Aquatic Chemistry*. New York, John Willey and Sons. 323-417, 1981.
5. Jardim, W.F.; Pearson, H.W. A study of the copper-complexing compounds released by some species of cyanobacteria. Water Res., 18(8): 985-989, 1984.
6. Stella, R.; Ganzerle-Valentini, M.T. Copper Ion Selective Electrode for determination of inorganic copper in fresh waters. Anal. Chem., 51(13): 2148-2151, 1979.
7. Sunda, W.G.; Hanson, P.J. Chemical speciation of copper in river water. Effect on total copper, pH, carbonate and dissolved organic matter. Em: E.A. Jenne (Ed.), *Chemical Modeling in Aqueous Systems* American Chemical Society Symp. Ser. 93: 147-180, 1979.
8. Rainville, D.P.; Weber, J.H. Complexing capacity of soil fulvic acid for Cu^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} . Measured by dialyses titration: A model based on soil fulvic acid aggregation. Can. J. Chem., 60: 1-5, 1982.
9. Campbell, P.G.C., Bisson, M.; Gagné R.; Tesser, A. Critical evaluation of the copper (II). Solubilization method for the determination of the complexation capacity of natural waters. Anal. Chem., 49 (14): 2354-2363, 1977.
10. Stolzberg, R.J. Uncertainty in calculated values of uncomplexed metal ion concentration. Anal. Chem., 53: 1286-1291, 1981.

11. Mantoura, R.F.C.; Riley, J.P. The use of gel filtration in the study of metal binding by humic acids and related compounds. Anal. Chim. Acta., 78: 193-220, 1975.
12. MacGrath, S.P.; Sanders, J.R. Experimental determination and computer predictions of trace metal ion concentrations in dilute complex solutions. Analyst, 111: 459-465, 1986.
13. Scatchard, G.; Colleman, J.S.; Shen, A.L. Physical chemistry of protein solutions. VII. The binding of some anions to serum albumin. J. Am. Chem. Soc., 79: 12-20, 1957.
14. Van den Berg, C.M.G.; Kramer, J.R. Determinations of complexing capacities of ligands in natural waters and conditional constants of the copper complexes by means of manganese dioxide. Anal. Chim. Acta, 106: 113-120, 1979.
15. Ružič, I. Theoretical aspects of the direct titration of natural waters and its information yield for trace metal speciation. Anal. Chim. Acta, 140: 99-113, 1980.
16. Pardue, E.M.; Lytle, C.R. Distribution model for binding of protons and metal ions by humic substances. Environ. Sci. Technol., 17: 654-660, 1983.
17. Klotz, I.M. Number of receptor sites from Scatchard graphs: Facts and Fantasies, 217: 1247-1249, 1982.
18. Rodbard, D.; Munson, P.J. Number of receptors sites from Scatchard and Klotz graphs: A constructive critique. Science, 220: 979-981, 1983.
19. Blun, R.; Fog, H.M. Metal buffers as standards in direct potentiometric determinations of metal ion activities. J. Eletroanal. Chem., 34: 485-488, 1972.
20. Ružič, I. Kinetics of complexation and determination of complexation parameters in natural waters. Em Complexation of Trace Metals in Natural Waters. Kramer/Duinker (Ed.) Nijhoff/Junk Publishers. The Hague, Holanda 131-147, 1984.

21. Nakagawa, G.; Wada, H.; Hayakawa, T. Use of the copper(II) - selective electrode for the determination of the stability constants of copper(II) complexes. Bull. Chem. Soc. Jap., 48(2): 424-427, 1975.
22. Hulamicki, A.; Vel Krawczyk, T.K.; Lewestan, A. Effects of some chelating ligands on the potentiometric response on the chalcocite copper ion selective electrodes. Anal. Chem. Acta, 158: 343-355, 1984.
23. Moody, G.J.; Thomas, J.D.R. Selective Ion Sensitive Electrodes, Merrow Technical Library, England. Chap. 5: 57-87, 1971.
24. Wageman, R. Cupric ion selective electrode and inorganic cationic complexes of copper. J. Phys. Chem., 84: 3433-3436, 1980.
25. Takamatsu, T.; Yoshida, T. Determination of stability constants of metal humic acid complexes by potentiometric titration and ion selective electrodes. Soil Sci., 120: 377-386, 1977.
26. Fitch, A.; Stevenson, F.J. Comparison of models for determining stability constants. J. Soil Sci. Am., 48: 1044-1050, 1984.
27. Turner, D.R. Varney, M.S.; Whitfield, M.; Mantoura, R.F.C.; Riley, J.P. Electrochemical studies of copper and lead complexation by fulvic acid. I. Potentiometric measurement and cristal comparison of metal binding models. Geochem. Cosmochim. Acta, 50: 289-297, 1986.
28. Morel, F.; Morgan, J. A numerical method for computing equilibria in aqueous chemical systems. Environ. Sci. Technol., 6(1): 58-67, 1972.
29. Vuceta, J.; Morgan, J.J. Chemical modeling of trace metal in fresh waters. Role of complexation and adsorption. Environ. Sci. Technol., 12: 1302-1309, 1978.
30. Spōsito, G. Trace metal in contaminated water. Environ. Sci. Technol., 4: 396-403, 1981.

31. Thuschall Jr, J.R.; Brezonick, P.L. Complexation of heavy metals by aquatic humos. A comparative study of five analytical methods. Em Aquatic and Terrestrial Humic Materials; Christman, R.F.; Gjessing, E.T., Eds.; An Arbor Science: An Arbor, MI, pp 11-15, 1983.
32. Domb, W.G. Constructing nonlinear Scatchard plots. J. Chem. Educ., 6: 527-528, 1984.
33. Rosental, E.H. A graphic method for the determination and presentation of binding parameters in a complexer system. Anal. Biochem., 20: 525-532, 1967.
34. Heijne, G.J.M.; Linden, W.E. The formation of mixed copper sulfide-silver sulfide membranes for copper(II) selective electrode. Anal. Chim. Acta, 96: 13-22, 1978.
35. Neshkova, M.; Sheytanov, H. The behaviour of two types of Copper Ion-Selective Electrodes in different copper(II) - ligand systems. Talanta, 32: 937-947, 1985.
36. Avedeef, A.; Zabronsky, J.; Stuting, H. Calibration of copper in selective electrode response to pCu 19. Anal. Chem., 55: 298-304, 1983.
37. Pagenkopf, G.K.; Whitworth, C. Precipitation of metal-humate complexes. J. Inorg. Nucl. Chem., 43: 1219-1222, 1981.
38. Florence, T.M.; Batley, G.E. Chemical speciation in natural waters. CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry. 9(3): 220-238, 1980.
39. Dzomback, A.D.; Fish, W.; Morel, M.M. Metal-humate interactions. 1. Discrete models. Environ. Sci. Technol., 20(7): 669-675, 1986
40. Fich, A.; Stevenson, F.J. Comparison of models for determining stability constants. J. Soil Sci. Am., 48: 1044-1050, 1984.
41. Cabanis, S.E.; Shuman, M.S.; Collins, B.J. Metal-organic binding. A comparison of models. Em Complexation of Trace Metals in Natural Waters. Kramer/Duinker (Ed.) Nijhoff/Junk. The Hague. 165-179, 1984.

42. Matsumara, T. Tundisi; Hino, K.; Rocha, O. Características liminológicas da Lagoa do Taquaral (Campinas, SP) um ambiente hipereutrófico. Cien. e Cult., 38(3): 421-425, 1986.
43. Moore, G.E.; Kellerman, K.F. A method of destroying or preventing the growth of algae and certain pathogenic bacteria in water supplies. Bull. Bur. Pl. Ind., U.S. Dep. Agric. 64, 1904.
44. Prescott, G.W. Objectionable algae with reference to killing of fish and other animals. Hidrobiologia, 1: 1-13, 1948.
45. Fogg, G.E.; Westlake, D.F. The importance of extracellular products of algae in freshwater. Verh. int. Verein. Theor. Angew. Limnol., 12(5): 219-232, 1955.
46. Fish, W.; Dzombak, D.A.; Morel, F.M.M. Application and comparison of models. Environ. Sci. Technol., 20(7): 676-683, 1986.

APENDICE

a. Programa ISIS SHORT

```

10 HOME
20 Z = 0:E = 2.3025851
30 DS = CHR$(4)
40 PRINT "**** ISIS 12 (SHORT VERSION) ****"
50 PRINT : PRINT " SCATCHARD PLOT ANALYSIS"
60 PRINT : PRINT "METHOD OF LIMITING SLOPES AND INTERCEPTS"
70 PRINT "*****"
80 REM = = = = =
90 REM DEVELOPED BY AJIT THAKUR AND DAVID ROBBARD AT NICHD. NIH.
100 REM THIS VERSION WAS PREPARED FOR APPLE II BY G. DOMBI 1/4/84
110 REM = = = = =
120 DIM X(50),Y(50),TL(50),XT(50),BT(50)
130 PRINT : PRINT
140 PRINT "READ THE ASSOCIATED DOCUMENTATION VERY"
150 PRINT "CAREFULLY BEFORE USING THIS PROGRAM."
160 PRINT "THE PROGRAM IS MEANT TO BE USED TO"
170 PRINT "PROVIDE INITIAL ESTIMATES OF PARAMETERS"
180 PRINT "FOR NONLINEAR LEAST SQUARES CURVE FIT-"
190 PRINT "TING PROGRAMS."
200 PRINT : PRINT
210 PRINT "DIRECTIONS FOR USING THE METHOD"
220 PRINT " FIRST, ENTER YOUR DATA FROM A"
230 PRINT "SCATCHARD PLOT (B VS. B/F)"
240 PRINT "DO YOU WISH TO USE AN INPUT FILE (Y/N)?"
250 INPUT AS
260 IF AS = "Y" THEN 280
270 GOTO 310
280 PRINT "ENTER NAME OF INPUT FILE"
290 INPUT FS
300 GOTO 410
310 PRINT : PRINT "HOW MANY DATA POINTS? ";
320 INPUT MS
330 PRINT : PRINT "DATA MUST BE ENTERED IN NUMERICAL ORDER. DO NOT ENTER A VALU
E OF 0.0 FOR BOUND."
340 PRINT : PRINT "ENTER B, B/F FOR EACH POINT."
350 FOR I = 1 TO MS
360 INPUT X(I),Y(I)
370 REM X(I) = BOUND VALUES, Y(I) = BOUND/FREE RATIO VALUES.
380 NEXT I
390 GOSUB 2620
400 GOTO 490
410 GOSUB 2520: REM = = = = READS DATA FROM DISK = = = =
420 PRINT "POINT"; TAB(9); "BOUND"; TAB(22); "BOUND/FREE"
430 REM = = = = MS= NUMBER OF DATA POINTS = = = =
440 FOR I = 1 TO MS
450 PRINT I; TAB(7); X(I); TAB(22); Y(I)
460 NEXT I
470 PRINT : PRINT "YOU HAVE "; MS; " DATA POINTS."
480 M = I - 1
490 PRINT : PRINT "PLOT A SCATCHARD PLOT"
500 REM = = = = =
510 REM LINES 540-720: CALCULATE THE SLOPE AND INTERCEPT
520 REM OF THE REGION OF THE CURVE NEAR THE VERTICAL (B/F) AXIS.
530 REM = = = = =
540 PRINT : PRINT "HOW MANY POINTS ON THE UPPER LINEAR"
550 PRINT "SEGMENT? ";
560 INPUT N1
570 GOSUB 2240
580 FOR I = 1 TO N1
590 X1 = X(I)
600 Y1 = Y(I)
610 GOSUB 2260
620 NEXT I
630 GOSUB 2330
640 PRINT : PRINT "I1 = "; A; "+/-"; A1
650 PRINT : PRINT "S1 = "; B; "+/-"; B1
660 I1 = A

```

```

670 S7 = B
680 PRINT : PRINT "CORR. COEFF. R = ";R
690 REM = = = = =
700 REM      LINES 730-880: CALCULATE THE SLOPE AND INTERCEPT
710 REM      OF THE CURVE AS IT APPROACHES THE HORIZONTAL (BOUND) AXIS.
720 REM = = = = =
730 PRINT : PRINT
740 PRINT : PRINT "HOW MANY POINTS ON THE LOWER LINEAR"
750 PRINT "SEGMENT NEAR THE (BOUND) AXIS? ";
760 INPUT M
770 GOSUB 2240
780 FOR I = M TO 1 STEP - 1
790 X1 = Y(M5 - I + 1)
800 Y1 = X(M5 - I + 1)
810 GOSUB 2260
820 NEXT I
830 GOSUB 2330
840 PRINT : PRINT "I2 = ";A;"+/-";A1
850 PRINT : PRINT "S2 = ";1 / B;"+/-"81 / B / B
860 I2 = A
870 S2 = 1 / B
880 S1 = S7
890 PRINT : PRINT "CORRELATION COEFFICIENT R = ";R
900 PRINT : PRINT "A PAUSE. HIT 'RETURN' TO CONTINUE.": GET N5
910 REM = = = = =
920 REM      LINES 940-1060: CHECK TO MAKE SURE THAT BOTH INTERCEPTS ARE
930 REM      POSITIVE AND BOTH SLOPES ARE NEGATIVE. GIVES ERROR
940 REM      MESSAGE OTHERWISE.
950 REM = = = = =
960 IF I1 < = 0 THEN 1020
970 IF S1 > = 0 THEN 1020
980 IF I2 < = 0 THEN 1020
990 IF S2 > = 0 THEN 1020
1000 IF S2 < = S1 THEN 1020
1010 GOTO 1090
1020 PRINT : PRINT "IMPOSSIBLE VALUES FOR I1,S1,I2,S2. CHECK
1030 PRINT "GRAPH. DO YOU WANT TO REPEAT LINEAR"
1040 PRINT "REGRESSION FOR LIMITS OF CURVE? ";
1050 INPUT B5
1060 IF B5 = "Y" THEN 490
1070 GOTO 2030
1080 GOTO 490
1090 REM = = = = =
1100 REM      LINES 1110-1210: CALCULATE THE BINDING PARAMETERS
1110 REM      K1,N1,K2,N2 FROM THE VALUES OF I1,S1,I2,S2.
1120 REM = = = = =
1130 K1 = (S2 - S1) + SQR ((S2 - S1) ^ 2 - 4 * S2 * (S1 + I1 / I2) * (1 + I2 /
I1 * S2))
1140 K1 = K1 / (2 * (1 + I2 / I1 * S2))
1150 K2 = (S2 - S1) / (1 + I2 / I1 * S2) - K1
1160 R1 = (I1 - (I2 * K2)) / (K1 - K2)
1170 R2 = (I2 * K1 - I1) / (K1 - K2)
1180 PRINT : PRINT : PRINT "ESTIMATED VALUES OF K1,N1,K2,N2"
1190 PRINT : PRINT "K1 = ";K1
1200 PRINT : PRINT "N1 = ";R1
1210 PRINT : PRINT "K2 = ";K2
1220 PRINT : PRINT "N2 = ";R2
1230 REM = = = = =
1240 REM      LINES 1260-1320: PRINT OUT RESULTS AND
1250 REM      GIVE ERROR MESSAGE FOR IMPOSSIBLE VALUES.
1260 REM = = = = =
1270 IF K1 < = 0 THEN 1320
1280 IF R1 < = 0 THEN 1320
1290 IF K2 < = 0 THEN 1320
1300 IF R2 < = 0 THEN 1320
1310 GOTO 1340
1320 PRINT "IMPOSSIBLE VALUES OF BINDING PARAMETERS 1"
1330 GOTO 2030
1340 PRINT : PRINT "DO YOU WANT A LISTING OF INPUT VALUES VS CALCULATED BOUND/F
REE VALUES ? (Y/N)": INPUT N5: IF N5 = "N" THEN GOTO 1370
1350 PRINT : PRINT "TABLE OF OBSERVED AND CALCULATED VALUES."
1360 PRINT : PRINT "OBSERVED B/F"; TAB( 15);"CALCULATED B/F"; TAB( 30);"% DEVIAT
TION"
1370 GOSUB 2240

```

```

1380 Y1 = 0
1390 FOR I = 1 TO M5
1400 REM = = = = COMPUTES FREE=(BOUND)/(BOUND/FREE) = = = =
1410 F = X(I) / Y(I)
1420 REM = = = = =
1430 REM      COMPUTES BOUND AS A FUNCTION OF FREE WITH THE
1440 REM      ESTIMATED VALUES OF THE PARAMETERS AND THEN
1450 REM      COMPARES THE GENERATED CURVE WITH THE OBSERVED ONE.
1460 REM = = = = =
1470 B1 = F * (K1 * R1 / (1 + K1 * F) + K2 * R2 / (1 + K2 * F))
1480 X1 = 100 * (X(I) / B1 - 1)
1490 REM = = = = X1(I) IS THE % DEVIATION = = = =
1500 IF N5 = "N" THEN GOTO 1520
1510 PRINT Y(I); TAB( 13);B1 / F; TAB( 28):X1
1520 REM = = = TL IS TOTAL LIGAND, XT IS LIGAND BOUND AND BT IS # OF REPS.
1530 TL(I) = X(I) + (.1 / Y(I) * X(I))
1540 XT(I) = X(I)
1550 BT(I) = 1
1560 GOSUB 2260
1570 Y1 = X1
1580 NEXT I
1590 IF N5 = "N" THEN GOTO 1610
1600 PRINT "A PAUSE. HIT 'RETURN' TO CONTINUE.": GET A$
1610 REM = = = = =
1620 REM      LINES 1720-1960: PRINT OUT RESULTS OF STATISTICS
1630 REM      WHICH MEASURE THE GOODNESS OF FIT. THESE INCLUDE
1640 REM      MEAN % DEVIATION, STANDARD DEVIATION OF THE
1650 REM      PERCENT DEVIATION, STUDENT'S T-TEST FOR BIAS, THE
1660 REM      WEIGHTED RESIDUAL VARIANCE (ASSUMING 1% ERROR IN
1670 REM      (BOUND) FOR ANY GIVEN VALUE OF (FREE), THE CORR-
1680 REM      RESPONDING RMS ERROR AND THE SERIAL CORRELATION
1690 REM      COEFFICIENT TO TEST FOR RANDOMNESS OF THE
1700 REM      OBSERVATIONS AROUND THE FITTED CURVE.
1710 REM = = = = =
1720 DEF FN T(Z3) = 1.9603 + 2.37362 / Z3 + 2.825 / Z3 ^ 2 + 1.84094 / Z3 ^ 3
+ 1.5921 / Z3 ^ 4 + 2.14 / Z3 ^ 10
1730 X1 = S1 / M5
1740 S = SQR ((S2 - X1 * S1) / (M5 - 1))
1750 T = X1 / S * SQR (M5)
1760 PRINT : PRINT "THESE STATISTICS APPLY TO BOUND AS A FUNCTION OF FREE."
1770 PRINT "MEAN % DEV. = ";X1
1780 PRINT "STD. DEV. OF % DEV. = ";S
1790 PRINT "T-TEST FOR BIAS = ";T
1800 IF ABS (T) < FN T(M5 - 1) THEN 1820
1810 PRINT : PRINT "WARNING!! SIGNIFICANT BIAS, P<.05"
1820 S8 = S2 / (M5 - 4)
1830 PRINT : PRINT "RESIDUAL VARIANCE = ";S8
1840 PRINT "RMS ERROR = "; SQR (S8)
1850 F = X(1) / Y(1)
1860 B1 = F * (K1 * R1 / (1 + K1 * F) + K2 * R2 / (1 + K2 * F))
1870 X1 = 100 * (X(1) / B1 - 1)
1880 S0 = S0 - 1
1890 S1 = S1 - X1
1900 S2 = S2 - X1 * X1
1910 GOSUB 2330
1920 PRINT : PRINT "SERIAL CORRELATION = ";R
1930 T = ABS (B / B1)
1940 PRINT "T = ";T
1950 IF ABS (T) < FN T(M5 - 3) THEN 1990
1960 PRINT : PRINT "WARNING!! POINTS NOT RANDOMLY DISTRIBUTED AROUND FITTED CUR
VE (P< 0.05). "
1970 REM = = = = =
1980 REM      LINES 2030-2170: ALLOW ADJUSTMENT OF I1,S1,I2,S2
1990 REM      DIRECTLY OR BY CHANGE IN NUMBER OF POINTS FOR SLOPE
2000 REM      AND INTERCEPT CALCULATION. ALSO ONE HAS THE OPTION
2010 REM      TO CHANGE THE ESTIMATES OF K1,R1,K2,R2.
2020 REM = = = = =
2030 PRINT : PRINT "DO YOU WANT TO ADJUST I1,S1,I2,S2 ? Y/N?"
2040 INPUT B$
2050 IF B$ = "N" THEN 2090
2060 PRINT : PRINT "ENTER NEW VALUES FOR I1,S1,I2,S2. "
2070 INPUT I1,S1,I2,S2
2080 GOTO 1130
2090 PRINT : PRINT "DO YOU WANT TO ADJUST K1,N1,K2,H2 ? Y/N";

```

```

2100 INPUT C5
2110 IF C5 = "N" THEN 2150
2120 PRINT : PRINT "ENTER NEW VALUES OF K1,M1,K2,N2,"
2130 INPUT K1,R1,K2,R2
2140 GOTO 1180
2150 PRINT : PRINT "DO YOU WANT TO USE THE SAME DATA ? (Y/N)": INPUT N5
2160 IF N5 = "Y" THEN GOTO 540
2170 GOTO 2710
2175 REM = = = = =
2180 REM LINES 2240-2510: LEAST SQUARES LINEAR REGRESSION SUB-
2190 REM ROUTINE. THIS IS UTILIZED TO CALCULATE THE REGRESSION
2200 REM OF BOUND ON B/F. AND THE SERIAL CORRELATION OF EACH
2210 REM OF THE "RESIDUALS" (% DEVIATION) WITH THE RESIDUAL
2220 REM FOR THE PREVIOUS POINT.
2230 REM = = = = =
2240 S0 = 0:S1 = 0:S2 = 0:S3 = 0:S4 = 0:S5 = 0
2250 RETURN
2260 S0 = S0 + 1
2270 S1 = S1 + X1
2280 S2 = S2 + X1 * X1
2290 S3 = S3 + Y1
2300 S4 = S4 + Y1 * Y1
2310 S5 = S5 + X1 * Y1
2320 RETURN
2330 X1 = S1 / S0
2340 Y1 = S3 / S0
2350 S9 = B1 = A1 = 1E10
2360 X2 = S2 - X1 * X1
2370 Y2 = S4 - Y1 * S3
2380 Z2 = S5 - X1 * S3
2390 B = Z2 / X2
2400 A = Y1 - B * X1
2410 IF S0 < 3 THEN 2450
2420 S9 = (Y2 - B * B * X2) / (S0 - 2)
2430 B1 = SQR (S9 / X2)
2440 A1 = SQR (S9 * (1 / S0 + X1 * X1 / X2))
2450 R = (B / ABS (B)) * SQR (B * Z2 / Y2)
2460 RETURN
2470 REM = = = = =
2480 REM NOTE: DO NOT ENTER ANY VALUES FOR BOUND AS 0.0
2490 REM THIS WOULD LEAD TO PREDICTED (FREE) AND PREDICTED
2500 REM (BOUND) AS ZERO, AND WOULD LEAD TO BLOWUP.
2510 REM = = = = =
2520 REM = = = = THIS SECTION READS TEXT/DATA FROM FILE = = = =
2530 PRINT : PRINT "READING ":F5
2540 PRINT D5:"OPEN":F5
2550 PRINT D5:"READ ":F5
2560 INPUT M5
2570 FOR I = 1 TO M5
2580 INPUT X(I): INPUT Y(I)
2590 NEXT I
2600 PRINT D5:"CLOSE"
2610 RETURN
2620 REM = = = = THIS SECTION SAVES TYPED DATA ON THE DISK = = = =
2630 PRINT : PRINT "ENTER FILE NAME TO WRITE IN": PRINT
2640 INPUT F5
2650 PRINT D5:"OPEN":F5
2660 PRINT D5:"WRITE":F5
2670 PRINT M5
2680 FOR I = 1 TO M5: PRINT X(I): PRINT Y(I): NEXT I
2690 PRINT D5:"CLOSE"
2700 RETURN
2710 REM = = = = =
2720 REM THIS SECTIONS ALLOWS FOR THE CREATION
2730 REM OF A DATA FILE COMPATIBLE WITH
2740 REM THE NUNSON, TEICHER LIGAND PROGRAM.
2750 REM = = = = =
2760 PRINT : PRINT "DO YOU WANT TO WRITE A 'LIGAND' FILE ? (Y/N)": INPUT N5
2770 IF N5 = "N" THEN GOTO 2980
2780 PRINT : PRINT "DATA FORMATTER FOR LIGAND PROGRAM. CONVERTS ISIS 12 FILES."
2790 OF5 = F5 + ".CRV"
2800 A0 = 0:A1 = 0:A2 = .0001:A3 = 0:A4 = 0
2810 L0 = 1:L1 = 1
2820 H0 = 1

```

```

2830 PRINT : PRINT "NEW FILE IS NAMED ";OF$
2840 PRINT : PRINT "DO YOU WANT TO MONITOR FILE ";OF$;" (Y/N).": INPUT N$
2850 PRINT : PRINT "WRITING ";OF$
2860 IF N$ = "N" THEN GOTO 2880
2870 PRINT DS:"MON 0"
2880 PRINT DS:"OPEN":OF$
2890 PRINT DS:"WRITE":OF$
2900 PRINT FS: PRINT AO:"";A1;"";A2;"";A3;"";A4
2910 PRINT LO:"";L1: PRINT HO
2920 FOR I = 1 TO N$
2930 PRINT TL(I)
2940 PRINT XT(I);".";BT(I)
2950 NEXT I: PRINT "-99"
2960 PRINT DS:"CLOSE"
2970 PRINT : PRINT "DONE"
2980 PRINT DS:"NOMON 0"
2990 PRINT CHR$(13); CHR$(4);"RUN HELLO"

```

b. Programa P/L₁L₂

```

10 HOME
20 PRINT "CALCULO DE SISTEMAS DE DOIS LIGANTES"
25 PRINT : PRINT
30 INPUT "VALOR DE L1=";L1
40 INPUT "VALOR DE L2=";L2
50 INPUT "VALOR DE K1=";K1
60 INPUT "VALOR DE K2=";K2
65 PRINT : INPUT "METAL TOTAL=";MT
66 IF MT = 0 THEN END
70 M = MT
75 K = K1 * K2
80 L = L1 + L2
90 A = L / ((L1 / K1) + (L2 / K2))
100 B = L / ((L1 / K2) + (L2 / K1))
110 C = B * B * A * K
120 D = 2 * A * B * K + L * B * B * A * K + B * B * K - MT * B * B * A * K
130 E = 2 * L * A * B * K - 2 * MT * A * B * K + A * K - MT * B * B * K + B * K
+ B * B * A
140 F = L * A * K - MT * A * K - MT * B * K - MT * B * B * A + B * A
150 G = - MT * B * A
160 H = C * M * M * M * M + D * M * M * M + E * M * M + F * M + G
170 DH = 4 * C * M * M * M + 3 * D * M * M + 2 * E * M + F
180 IF H / DH > M THEN GOTO 500
190 M1 = M
200 H = H - H / DH
210 IF ABS (M - M1) / M < 0.01 GOTO 400
220 GOTO 160
400 PRINT
404 PRINT TAB( 5)MT: TAB( 15)H
410 GOTO 65
500 DH = DH * 2
505 ONERR GOTO 65
510 GOTO 180

```

c. Programa ESPEC

```

5 DIM A(40),X(40),V(40),CF(40),CV(40),CC(40),A2(40),LA(40),LK(40),Y(40),AY(40)
10 INPUT "VALORES DE MEDIDAS DE POTENCIAIS=";E1,E2,E3,E4
20 D3 = E4 - E3
30 D2 = E3 - E2
40 D1 = E2 - E1
50 ME = (D1 + D2 + D3) / 3
60 INPUT "PH CORRESPONDENTE A E1=";PH
70 INPUT "NUMERO DE MEDIDAS DE POTENCIAL NA TITULACAO=";N
80 FOR I = 1 TO N
90 READ V(I)
100 CF(I) = E1 - V(I)
110 CV(I) = CF(I) / ME + PH
120 CC(I) = CV(I) * (100 / (100 + (N / 10)))
130 DATA 135.4,129.8,105.0,94.3,73.1,64.5,55.4,51.3,42.8,27.7,21.5,1.1,-18.1,-3
      B.4,-66.9,-85.1,-130.5,-144.5
140 NEXT I
150 INPUT "LOG K=";K1,K2,K3,K4,K5,K6
160 B1 = K1
170 B2 = B1 + K2
180 B3 = B2 + K3
190 B4 = B3 + K4
200 B5 = B4 + K5
210 B6 = B5 + K6
220 INPUT "KMHL=";KC
230 INPUT "NUMERO DE MEDIDAS DE PH IGUAL A X=";N
240 FOR I = 1 TO N
250 READ X(I)
260 A(I) = 1 + 10 ^ (B1 - X(I)) + 10 ^ (B2 - 2 * X(I)) + 10 ^ (B3 - 3 * X(I)) +
      10 ^ (B4 - 4 * X(I)) + 10 ^ (B5 - 5 * X(I)) + 10 ^ (B6 - 6 * X(I))
270 LA(I) = LOG (A(I)) / 2.302585
275 Y(I) = 10 ^ (- X(I))
280 A2(I) = 1 + Y(I) * KC
285 AY(I) = LOG (A2(I)) / 2.302585
300 LK(I) = LA(I) + CC(I) - AY(I)
310 DATA 3.617,4.020,4.658,5.030,5.685,6.038,6.535,7.023,7.670,8.380,8.616,9.18
      3,9.665,10.109,10.713,11.034,11.701,12.030
315 POKE 33,30
320 PRINT TAB( 6)X(I); TAB( 20)V(I); TAB( 40)LK(I)
340 NEXT I

```