Comparação do comportamento de diferentes oxalatos e fluoróforos na reação quimiluminescente do sistema peróxi-oxalato

Ana Clara B. Rodrigues¹(IC), Káthia Maria Honório²(PQ), Nina Coichev³(PQ), Patrícia Dantoni¹(PQ)
patricia.dantoni@ufabc.edu.br

1) Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, SP;

2) Escola de Artes, Ciências e Humanidades, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP;

3) Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

Palavras Chave: quimiluminescência, planejamento fatorial, TCPO, 2-NPO, perileno, DFA.

Introdução

A reação quimiluminescente do sistema peróxi-oxalato ocorre pela oxidação de ésteres fenólicos do ácido oxálico por peróxido de hidrogênio (H_2O_2), na presença de um ativador (fluoróforo). Devido ao alto rendimento quântico gerado, a reação vem sendo muito estudada em aplicações analíticas, como na determinação de substâncias fluorescentes, íons metálicos, H_2O_2 , entre outros¹. Vários fatores que afetam a reação quimiluminescente produzida por H_2O_2 com TCPO (oxalato de bis (2,4,6) triclorofenila) e DFA (9,10-difenilantraceno) - como fluoróforo - vem sendo estudados em nosso grupo de pesquisa. Os fatores já estudados foram: o efeito da natureza do tampão, presença de diferentes tensoativos e do imidazol. Apesar da resposta ser linear para duas ordens de grandeza, não foi possível determinar H_2O_2 em concentrações inferiores a 1×10^{-6} mol L^{-1} . Como nosso objetivo é encontrar as melhores condições analíticas para desenvolver procedimentos de determinação de íons metálicos - que afetam a reação - em amostras ambientais e alimentícias, novos parâmetros foram estudados. Este resumo apresenta a etapa atual do trabalho, na qual, por meio de planejamento fatorial, determinou-se a melhor concentração do fluoróforo perileno. A resposta ao sistema para o 2-NPO (oxalato de 2-nitrofenila) foi feita por meio de construção de curvas analíticas.

Resultados e Discussão

Os valores de Intensidade Máxima (I_{max} , em unidades relativas de luz/segundo, Rlu/s) e da Área (A , Rlu) foram obtidos em luminômetro (Lumat 9507, Berthold Technologies). Na construção de curvas analíticas (100s) a ordem de adição dos reagentes foi a seguinte: 50 μL de H_2O_2 , 50 μL de DFA ou perileno (em acetonitrila, ACN), seguida da adição de 250 μL de tampão Tris/Htris⁺ 0,1 mol L^{-1} (pH 8,47) e, por último 50 μL de TCPO ou 2-NPO (em ACN e ambos $4,5 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}). As medições do planejamento fatorial foram realizadas em triplicada, já para as curvas analíticas foram feitas cinco medições em cada concentração. Por meio de planejamento fatorial 2² completo, com três repetições no ponto central, foi feita a análise das

respostas (I_{max} e A) do sistema em relação à concentração de perileno, na presença de TCPO e diferentes porcentagens (%) de ACN. A tabela 1 apresenta os parâmetros utilizados para o planejamento fatorial.

Tabela 1. Planejamento fatorial 2² realizado para otimização das condições de concentração de perileno e porcentagem de ACN:

Variável	Nível (-)	Nível (0)	Nível (+)
Perileno (mol L^{-1})	1×10^{-7}	1×10^{-6}	1×10^{-5}
ACN (%)	25	37	62

Os resultados obtidos do planejamento fatorial foram calculados a partir da planilha de Teófilo² e indicam que, para maximizar a resposta de I_{max} , as melhores condições são: maior concentração de perileno e menor % de ACN, ao passo que, para maximizar a resposta de A , é necessário manter ambos os valores no nível máximo. Optou-se pelas condições para maximizar I_{max} e foram construídas curvas analíticas de H_2O_2 . Os resultados obtidos para I_{max} , expressos em termos de sensibilidade foram: TCPO/DFA = $2,2 \times 10^9$ mol⁻¹ L e TCPO/Perileno = $3,1 \times 10^8$ mol⁻¹ L. As curvas apresentaram sinais lineares para duas ordens de grandeza de H_2O_2 (2 – 100 μM). O comportamento do 2-NPO foi estudado por meio de construção de curva analítica (25%ACN/75% H_2O_2 , v/v). A sensibilidade da curva 2-NPO/DFA para I_{max} foi de $7,7 \times 10^{10}$ mol⁻¹ L. Esse sistema apresenta sensibilidade 35 vezes maior que para o TCPO e faixa linear mais estreita (2 - 10 μM) para H_2O_2 .

Conclusões

O planejamento fatorial utilizado foi útil para apontar a concentração ideal de perileno e % de ACN. O 2-NPO apresenta-se como nova alternativa à continuação dos estudos do desenvolvimento de procedimento para determinação de H_2O_2 em concentrações inferiores a 1×10^{-6} mol L^{-1} .

Agradecimentos

UFABC, CNPq e FAPESP.

¹ Baader, W. J.; Stevani, C.V.; Bastos, E.L. The Chemistry of Peroxides, v. 2, John Wiley & Sons, Ltd., 2006, Cap. 16.

² Teófilo, R. F.; Ferreira, M.M.C.; *Quim. Nova.* 2006, 29, 338.