

Efeito do íon malato no processo de oxidação do ácido ascórbico por oxigênio molecular catalisado por íons cobre(II)

L. S. Silva, R. Vicenzi, C. R. M. Peixoto*

Departamento de Biologia e Química, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI), Rua do Comércio, 3000, Bairro Universitário, C. P. 560, 98700-000, Ijuí – RS

*carlosp@unijui.edu.br

Resumo: Íons cobre(II) catalisam a oxidação de ácido ascórbico por oxigênio molecular. O mecanismo envolve a coordenação dos reagentes ao íon metálico. Íons malato, quando presentes, também se coordenam ao cobre(II) e inibem o efeito catalítico. As constantes cinéticas específicas ($k / \text{mol}^{-1} \text{L min}^{-1}$) da reação em presença de íons malato são 46,58, 7,11 e 30,00 em valores de pH de 3,5, 4,5 e 5,8, respectivamente. Existe decréscimo do valor de k com o aumento do pH de 3,5 para 4,5, o que está de acordo com a coordenação mais efetiva do malato ao cobre(II).

Palavras-chave: ácido ascórbico; cobre(II); malato.

Introdução

O ácido ascórbico (H_2A), vitamina C, se caracteriza por ser uma vitamina hidrossolúvel e termo instável e está presente em muitos alimentos [1]. Devido a sua importância em sistemas bioquímicos e indústria farmacêutica e de alimentos, existem vários estudos sobre sua estabilidade em diferentes condições. O oxigênio molecular age como oxidante. Íons metálicos presentes como cobalto(III), ferro(III) e cobre(II), também podem agir como oxidantes [2-6], ou catalisar a oxidação por oxigênio molecular [2,3,7-11].

A presença de agentes quelantes influencia nesse processo catalítico. Os primeiros estudos realizados para entender essa influência foram com EDTA e outros agentes quelantes sintetizados em laboratório [10,11]. Quelantes de origem biológica, como os tampões acetato, citrato, ftalato e tartarato, passaram também a ser estudados [7]. O ácido ascórbico é adicionado a sucos e a licores de frutas como antioxidante, e estes quelantes, presentes nas frutas, interferem na sua oxidação catalisada por traços de íons metálicos presentes, como cobre(II).

O ácido málico também está presente em algumas frutas bastante consumidas, e sua influência neste processo ainda não foi estudada. Maçã apresenta aproximadamente 2% e uva 0,5% de ácido málico em seus extratos, podendo apresentar variações de acordo com o processo de maturação [1,12].

O objetivo deste trabalho é estudar a influência do íon malato no efeito catalítico do íon cobre(II) sobre a reação de oxidação de ácido ascórbico por oxigênio molecular.

Material e Métodos

Reagentes e aparelhos

Para preparação das soluções foram usados os reagentes L-ácido ascórbico (Reagen), nitrato de cobre(II) (Merck) e DL-ácido málico (Vetec). Para controle do pH foram usadas soluções de hidróxido de sódio (Nuclear) ou ácido nítrico (Reagen). Para controle da força iônica foi usado nitrato de sódio (Vetec). Todos os reagentes usados foram de grau analítico (P.A.), e foi usada água destilada e deionizada em sistema Quimis. As medidas de pH foram feitas usando-se um pHmetro WD-35617-00 pH 500 Oakton, e um eletrodo combinado de vidro. Os espectros eletrônicos

foram obtidos em um aparelho espectrofotômetro UV-Visível Pharmacia Biotech, Ultrospec 2000, usando-se celas de quartzo com 1 cm de caminho ótico.

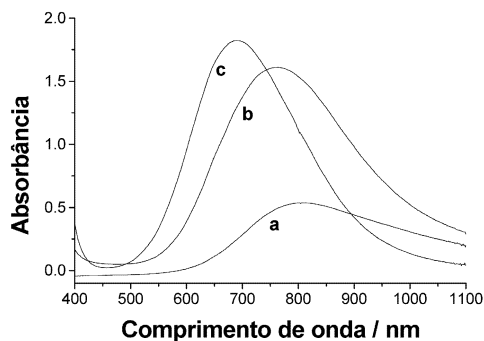


Figura 1. Espectros eletrônicos de soluções de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 5×10^{-2} mol L^{-1} em ausência (a) e presença de tampão malato 2×10^{-1} mol L^{-1} em pH 3,5 (a) 4,5 (b) e 5,8 (c).

Estudos cinéticos

Para os estudos cinéticos, foram usadas soluções de ácido ascórbico nas quais foi acompanhada a variação da sua concentração em função do tempo, pela retirada de alíquotas e determinação de $[\text{H}_2\text{A}]$ pelo método iodométrico [13,14]. Em cada experimento, foram usados volumes de 100 mL de solução contendo inicialmente 100 mg de ácido ascórbico ($5,68 \times 10^{-3}$ mol L^{-1}), tampão malato na concentração de 2×10^{-2} mol L^{-1} e nitrato de sódio $0,1$ mol L^{-1} para controle da força iônica. Como o objetivo era estudar a influência da concentração do íon Cu^{2+} e do pH na velocidade da reação, estes parâmetros foram variados nos diferentes experimentos. Foram usadas três concentrações diferentes de nitrato de cobre(II): $0,79 \times 10^{-4}$, $1,57 \times 10^{-4}$ e $2,36 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} ; para isso, foram adicionados, respectivamente, 0,5, 1,0 e 1,5 mL de solução estoque 1 g L^{-1} de cobre(II), previamente padronizada pelo método iodométrico [14]. Para cada concentração de Cu^{2+} os experimentos foram repetidos em três valores de pH diferentes: 3,5, 4,5 e 5,8. Portanto, ao todo foram experimentos em nove condições diferentes. Cada medida foi repetida cinco vezes. Durante os experimentos, todas as soluções foram mantidas sob agitação magnética, na temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ e ausência de luz. Também foram mantidas saturadas com O_2 , pelo borbulhamento constante de ar atmosférico. Como a velocidade da reação é

lenta se comparada com a velocidade de dissolução do oxigênio, as soluções foram consideradas saturadas com O_2 durante toda a reação. O objetivo era determinar a variação na concentração de ácido ascórbico devido somente à oxidação catalisada por cobre(II), por isso foi descontada a variação de concentração devido à oxidação não catalisada, obtida em experimento em ausência de cobre(II). A diminuição na $[\text{H}_2\text{A}]$ neste branco foi menor que 14%.

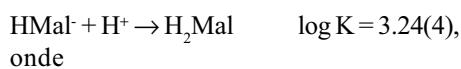
Resultados e Discussão

Interação cobre(II)-malato

O íon malato ($\text{OOC-CH}_2\text{-CHOH-COO}^-$), que será representado por Mal^{2-} , apresenta as constantes de protonação dos grupos carboxilato de acordo com as reações abaixo [15]:

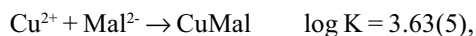


$$\text{onde } K = \frac{[\text{HMal}^-]}{[\text{Mal}^{2-}][\text{H}^+]}$$



$$K = \frac{[\text{H}_2\text{Mal}]}{[\text{Mal}^-][\text{H}^+]}$$

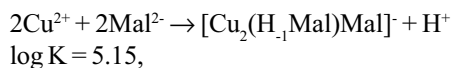
Em presença de íons cobre(II) existe coordenação ao íon metálico. As reações e as constantes de formação estão representadas abaixo [15]:



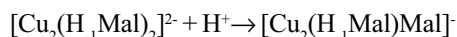
$$\text{onde } K = \frac{[\text{CuMal}]}{[\text{Cu}^{2+}][\text{Mal}^{2-}]}$$



$$\text{onde } K = \frac{[\text{CuHMal}^+]}{[\text{Cu}^{2+}][\text{HMal}^-]}$$



$$K = \frac{[[\text{Cu}_2(\text{H}_{-1}\text{Mal})\text{Mal}]^-][\text{H}^+]}{[\text{Cu}^{2+}]^2[\text{Mal}^{2-}]^2}$$



$\log K = 4.16$,

$$K = \frac{[[\text{Cu}_2(\text{H}_{-1}\text{Mal})\text{Mal}]^-]}{[[\text{Cu}_2(\text{H}_{-1}\text{Mal})_2]^{2-}][\text{H}^+]}$$

De acordo com estes dados, existe a formação de diferentes espécies entre o Cu^{2+} e malato. Formam-se os complexos com razão estequiométrica 1:1, com o ligante desprotonado (CuMal) ou monoprotonado (CuHMal^+). Formam-se também os complexos com razão 2:2, neste caso, um ($[\text{Cu}_2(\text{H}_{-1}\text{Mal})\text{Mal}]^-$) ou dois ($[\text{Cu}_2(\text{H}_{-1}\text{Mal})_2]^{2-}$) íons malato sofrem desprotonação também do grupo hidroxila.

Foram obtidos espectros eletrônicos de soluções contendo íons cobre(II) em presença e ausência de íons malato em diferentes valores de pH, e comparados com espectros descritos na literatura [16]. Na Figura 1 pode ser observado que o íon cobre(II) apresenta banda a 807 nm ($\lambda=10,68$), característica deste íon em solução aquosa devido à transições *d-d* [16,17]. Com a adição de íons malato, em pH 3,5, o mesmo espectro foi observado (Figura 1a), indicando que não houve coordenação. Com o aumento do pH houve deslocamento do comprimento de onda e aumento na absorvidade. Em valores de pH de 4,5 e 5,8 os máximos de absorvância ocorrem a 762 nm ($\lambda=32,2$) e 690 nm ($\lambda=36,4$), respectivamente (Figuras 1b e 1c). Segundo Lefebvre [16], estes espectros correspondem às espécies CuMal e $[\text{Cu}_2(\text{H}_{-1}\text{Mal})_2]^{2-}$, indicando que estas são as espécies predominantes nestes valores de pH.

Estudos cinéticos

A oxidação do ácido ascórbico, na presença de excesso de oxigênio e determinada concentração constante de cobre(II), foi descrita como um processo de pseudo-primeira ordem [2,3,7,10,11], de acordo com a equação:

$$\frac{d[\text{H}_2\text{A}]}{dt} = k_{\text{obs}}[\text{H}_2\text{A}]$$

onde $[\text{H}_2\text{A}]$ é a concentração do ácido ascórbico, *t* é o tempo da reação e k_{obs} é a constante de velocidade de pseudo-primeira ordem. O valor de

k_{obs} pode ser obtido por regressão linear pela inclinação do gráfico $\ln [\text{H}_2\text{A}]$ versus tempo.

O mecanismo geral proposto para a reação catalisada por cobre(II) apresenta as seguintes etapas [2,3,7,10,11]:

- formação de um complexo ascorbato- Cu^{2+} ,
- transferência de elétron a partir do ligante (ascorbato) para o metal produzindo a espécie Cu^+ e,
- rápida reoxidação do Cu^+ pelo oxigênio molecular regenerando o catalisador.

Foi descrito que a segunda etapa é a determinante da reação, sendo que a última ocorre rapidamente. Por isso a velocidade da reação não depende da concentração de oxigênio, pois ele participa somente da etapa rápida. Entretanto, como o cobre(II) está envolvido na segunda etapa, sua concentração influencia, e o processo foi descrito como de pseudo-primeira ordem também em relação Cu^{2+} . A constante específica da reação, k ($k_{\text{obs}} = k[\text{Cu}^{2+}]$), de segunda ordem em concentração constante de oxigênio, pode ser obtida por regressão linear pela inclinação do gráfico k_{obs} versus $[\text{Cu}^{2+}]$.

O ácido ascórbico apresenta valores de pK_a de 4,04 e 11,34, podendo apresentar-se na forma protonada, H_2A , ou nas formas dissociadas HA^- ou A^{2-} . Na faixa de pH entre 3,0 e 6,0 as formas H_2A e HA^- são as dominantes [6,7]. As constantes de formação dos complexos com cobre(II), $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{A})]^{2+}$ e $[\text{Cu}(\text{HA})]^+$ são $\log K=4,7$ e $\log K=1,57$, respectivamente [3]. Ligantes que se coordenam ao cobre(II) inibem a formação do complexo ascorbato-cobre(II) e a ação catalítica do íon metálico, diminuindo o valor de k .

A reação de decomposição do ácido ascórbico foi repetida em três concentrações diferentes de cobre(II). Para cada concentração foram usados três valores diferentes de pH. Em cada experimento foi obtido o valor de k_{obs} pela inclinação do gráfico $\ln [\text{H}_2\text{A}]$ versus tempo. A linearidade obtida nos gráficos (coeficientes de correlação lineares, r^2 , obtidos maiores que 0,98) confirma que a reação é de primeira ordem em relação ao ácido ascórbico. Os resultados estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores das constantes cinéticas de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) obtidas para oxidação do ácido ascórbico por oxigênio catalisada por cobre(II), em diferentes concentrações, em presença de tampão malato.

pH	$k_{\text{obs}} \times 10^2 / \text{min.}^{-1}$		
	$[\text{Cu}^{2+}] = 0,79 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	$[\text{Cu}^{2+}] = 1,57 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	$[\text{Cu}^{2+}] = 2,36 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$
3,5	2,523±0,64	2,772±0,63	3,256±0,46
4,5	2,968±0,42	3,021±0,28	3,080±0,38
5,8	2,485±0,54	2,782±0,32	2,957±0,55

Concentrações: ácido ascórbico = $5,68 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; tampão malato = $2 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$; soluções saturadas de O_2 .

Tabela 2: Valores das constantes de velocidade específicas (k) obtidas para oxidação do ácido ascórbico por O_2 catalisada por cobre(II) em presença de diferentes tampões.

Tampão	pH	$k / \text{mol}^{-1} \text{ L min.}^{-1}$	r^2
Malato*	3,5	46,58	0,9833
	4,5	7,11	0,9995
	5,8	30,00	0,9891
Acetato**	3,22	95,04	0,9915
	4,50	240,7	0,9973
	5,60	628,2	0,9994
Citrato**	3,35	31,06	0,9825
	4,50	48,56	0,9992
	6,00	40,64	0,9983
	6,50	33,76	0,9918
Ftalato**	3,10	247,4	0,9977
	4,27	142,9	0,9850
	6,19	233,6	0,9750

*Dados obtidos neste trabalho. **Dados obtidos da referência 6. r^2 = coeficiente de correlação linear.

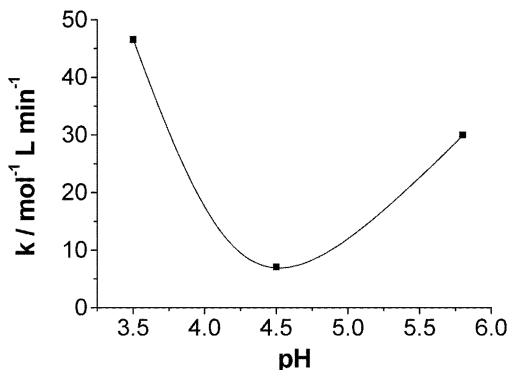


Figura 2: Influência do pH na constante de velocidade específica (k) da reação de oxidação do ácido ascórbico por oxigênio molecular catalisada por íons cobre(II) em tampão malato.

Pela inclinação do gráfico k_{obs} versus $[\text{Cu}^{2+}]$ foi obtida a constante de velocidade específica k da reação em cada pH estudado (Tabela 2). Foi observado um decréscimo no valor de k quando o pH aumenta de 3,5 para 4,5, e um aumento em pH 5,8 (Figura 2).

Esses dados podem ser relacionados com as espécies de cobre(II) presentes em cada valor de pH, de acordo com as informações obtidas pela análise dos espectros eletrônicos. Em pH 3,5, existe Cu^{2+} predominantemente na forma livre. Em pH 4,5, praticamente todo Cu^{2+} está na forma CuMal , por isso o efeito catalítico é inibido e o valor de k é menor. E em pH 5,8 grande parte do Cu^{2+} já se apresenta como $[\text{Cu}_2(\text{H}_1\text{Mal})_2]^{2-}$. Neste pH também não existe praticamente Cu^{2+} livre, entretanto, o ácido ascórbico apresenta maior velocidade de oxidação em maiores valores de pH, devido à desprotonação [1,6], causando um novo aumento de k .

Efeito semelhante foi observado por Imer *et al* [7] para o íon ftalato (Tabela 2). O decréscimo

de k com o aumento de pH de 3,10 para 4,27 foi justificado devido à maior estabilidade do complexo formado entre o ácido ftálico após a primeira desprotonação com o cobre(II). Usando-se íon citrato também ocorre decréscimo em k com aumento de pH de 4,5 para 6,00 e novo decréscimo em pH 6,50. A estabilidade do complexo formado entre cobre(II) e íon citrato aumenta após a primeira

Os valores de k encontrados quando usado tampão malato são menores que aqueles encontrados quando usados tampões acetato, citrato e ftalato. Isso indica uma maior estabilidade do complexo formado entre cobre(II) e malato se comparado com os complexos formados com os íons acetato, citrato e ftalato.

Conclusões

O mecanismo da reação de oxidação do ácido ascórbico por oxigênio molecular catalisada por cobre(II) envolve a formação de complexo ascorbato-cobre(II). A coordenação do íon malato, ou outros íons orgânicos, inibe a formação deste complexo, e em conseqüência a ação catalítica do cobre(II), diminuindo assim a velocidade da reação. Foi observado este efeito em presença do íon malato quando o pH é aumentado de 3,5 para 4,5, valor onde praticamente todo Cu^{2+} se apresenta de forma coordenada. Este efeito foi mais pronunciado que para os íons acetato, citrato e ftalato.

Agradecimentos

Lucinei S. da Silva agradece à FAPERGS pela bolsa de iniciação científica concedida.

Recebido em: 04/04/2007

Aceito em: 21/05/2007

L. S. Silva, R. Vicenzi, C. R. M. Peixoto. Malate ion effect on Copper(II) catalysed ascorbic acid oxidation by molecular oxygen.

Abstract: Copper(II) ions catalyze the oxidation of ascorbic acid by molecular oxygen. The mechanism involves coordination of the reactants to the metal ion. Malate ions, when present, also coordinates to copper(II) and inhibits the catalytic effect. The specific kinetic constants ($k / \text{mol}^{-1} \text{L min}^{-1}$) of the reaction in presence of malate ions, are 46.58, 7.11 and 30.00 at pH 3.5, 4.5 and 5.8, respectively. The k value decreases when pH increases from 3.5 to 4.5, which is in accord with the more effectively coordination of the malate to copper(II).

Keywords: ascorbic acid; copper(II); malate.

Referências

- [1] D. Wong, *Química de los Alimentos: Mecanismo y Teoría*, Acribia: Zaragoza, Espanha, 1989.
- [2] M. B. Davies, *Polyhedron*, 11 (1992) 285.
- [3] A. Fornaro, N. Coichev, *Química Nova* 21 (1998) 2.
- [4] J. Xu, R. B. Jordan, *Inorg. Chem.* 29 (1990) 2933.
- [5] B. Bansch, P. Martinez, D. Uribe, J. Zuluaga, R. van Eldik, *Inorg. Chem.*, 30 (1991) 4555.
- [6] H. D. Moya, N. Coichev, *J. Braz. Chem. Soc.* 17 (2006) 364.
- [7] F. Imer, I. C. Sonmezoglu, M. Kozcaz, *Ital. J. Food Sci.* 15 (2003) 521.
- [8] Y. Ohta, N. Shiraishi, T. Nishikawa, M. Nishikimi, *Biochim. Biophys. Acta.* 1474 (2000) 378.
- [9] M. Scarpa, F. Vianello, F. Signor, L. Zennaro, A. Rigo, *Inorg. Chem.* 36 (1996) 5201.
- [10] M. M. Taqui Khan, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 4176.
- [11] M. M. Taqui Khan, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 7104.
- [12] F. Oregleia, *Enologia Prática-conocimento y elaboración del Vino*, Acribia: Zaragoza, Espanha, 1958.
- [13] *Normas Técnicas do Intituto Adolfo Lutz*, IMESP, São Paulo, SP, Brasil, 1985.
- [14] D. Harries, *Análise Química Quantitativa*, 4th Ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil, 2000.
- [15] R. M. Smith, A. E. Martell, R. J. Motekaitis, *Critical Stability Constants Database*, NIST Standard Reference Data N° 46, Version 8.0, Gaithersburg, MD, 2004.
- [16] J. Lefebvre, *J. Chim. Phys.* 54 (1957) 581.
- [17] S. J. Lippard, J. M. Berg, *Principles of Bioinorganic Chemistry*, University Science Books, California, 1994.