



*Grupo de Estudos de Processos
Eletroquímicos e Eletroanalíticos*



Coordenador: Prof. Dr. Almir Spinelli

**UFSC - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CFM - CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
QMC - DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

ESTUDO DO MECANISMO DE ELETRO-OXIDAÇÃO DA MORINA

[Marco Antonio Tacio Lourenço](#)

Florianópolis – SC

2004

MARCO ANTONIO TACIO LOURENÇO

ESTUDO DO MECANISMO DE ELETRO-OXIDAÇÃO DA MORINA

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à disciplina QMC 5231 – Estágio Supervisionado, do curso de Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Catarina, desenvolvido no semestre 2004.2.
Orientador: Prof. Dr. Almir Spinelli.

Florianópolis, Novembro de 2004.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado no GEPEEA – Grupo de Estudos de Processos Eletroquímicos e Eletroanalíticos, situado no laboratório 310 do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, o qual é coordenado pelo Prof. Dr. Almir Spinelli.

A Deus.

Aos meus amados pais, Marcos e Nilze, que sempre estiveram ao meu lado em mais essa etapa de minha vida me incentivando com muito amor. Te amo Pai! Te amo mãe!

Ao Prof. Dr. Almir Spinelli pela oportunidade, orientação, dedicação e amizade durante a realização deste trabalho.

À Doutoranda e amiga Ana Karina por se mostrar sempre paciente. Obrigado pelo incentivo, conselhos, colaboração e amizade. Valeu!

Aos amigos do GEPEEA: Ana Karina, Cristiano, Fernando, Cristine, Anderson, Ivanise e Rodolfo.

À toda minha família, em especial minha vó Alice e meu vô Zé (onde quer que você esteja, eu te amo!)

Aos ilustres Metais da Colina, em especial Julião e Celso, pela convivência durante estes quatro anos.

Aos amados e sempre amigos da Universidade que não serão citados, pois uma simples página de agradecimentos não seria suficiente. Vocês sabem quem são!

Aos incontáveis amigos de Campinas que sempre estiveram ao meu lado.

A todos os Professores do Departamento de Química da nossa Universidade que contribuíram na minha formação.

Ao Departamento de Química e à amada Universidade Federal de Santa Catarina pelos milhões de momentos aqui vividos que guardarei para sempre comigo com muita satisfação.

Muito obrigado por tudo!

ÍNDICE GERAL

Resumo

1. INTRODUÇÃO

2. OBJETIVOS

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes

3.2. Métodos eletroquímicos

3.2.1. Voltametria cíclica

3.2.2. Eletrólise com potencial controlado

3.3. Purificação

3.4. Métodos espectroscópicos

3.4.1. Espectroscopia no ultravioleta

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Comportamento eletroquímico da morina em meio hidro-alcoólico

4.1.1. Perfil voltamétrico

4.1.2. Influência da velocidade de variação de potencial (ν)

4.1.3. Influência de ν e de modificações no potencial de inversão anódico

4.1.4. Influência do pH

4.2. Eletrólise com potencial controlado

4.3. Espectroscopia no ultravioleta

5. CONCLUSÃO

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

RESUMO

A fim de se obter maior conhecimento acerca do mecanismo de eletro-oxidação da morina, foi realizado um estudo eletroquímico da mesma em meio hidro-alcoólico. Esse composto faz parte da classe dos flavonóides, classe vastamente encontrada na natureza que tem sido objeto de estudo intenso devido as suas já comprovadas atividades dentro da química biomédica. A atividade antiinflamatória, analgésica, antialérgica, antiviral, anticarcinogêncica e antioxidante são alguns exemplos da importância farmacológica destes metabólitos naturais. A atividade antioxidante é uma das principais e está relacionada à capacidade de estabilização e/ou doação de elétrons e formação de quelatos com metais de transição (inibição da reação de Fenton e Haber-Weiss). Ainda, os flavonóides sofrem reações que envolvem mecanismos de transferência de carga que possibilitam seu estudo por métodos eletroquímicos.

Assim foram estudados os parâmetros: influência da velocidade de variação do potencial, influência de modificações no potencial de inversão anódica e influência do pH através das técnicas de voltametria cíclica e eletrólise com potencial controlado com o intuito de se obterem maior informações acerca do mecanismo de eletro-oxidação e, posteriormente, caracterizar os produtos obtidos na primeira etapa do processo de eletro-oxidação.

1. INTRODUÇÃO

Define-se flavonóides como sendo uma importante classe de compostos vastamente encontrados na natureza não somente em folhas, flores e frutas, mas também em sementes, grãos, especiarias, plantas medicinais e, ainda, em bebidas como chá, vinho e cerveja¹. Assim, os flavonóides são componentes importantes da dieta humana e seu consumo médio está entre 50 e 800 mg/dia². Destacam-se ainda como importantes funções dos flavonóides sua contribuição para a ecologia e fisiologia de plantas e flores, contribuem para a formação das cores, que são sinais visuais atrativos para insetos polinizadores e também devido à sua adstringência podem representar um sistema de defesa contra insetos nocivos³. Ainda, por apresentarem propriedades favoráveis de absorção no UV, protegem as plantas da radiação solar e, conseqüentemente, das espécies reativas de oxigênio geradas a partir de radiação-UV⁴.

Os flavonóides apresentam um núcleo fundamental com 15 átomos de carbono, formado por dois anéis aromáticos ligados entre si por uma cadeia de três átomos de carbono (C₆-C₃-C₆)¹. A figura 1 mostra o núcleo fundamental dos flavonóides e a numeração dos átomos de carbono com a denominação de cada anel.

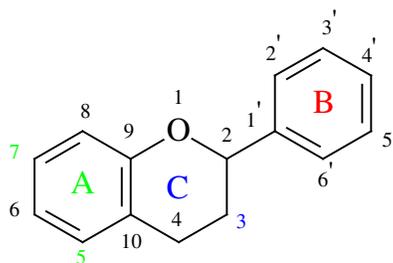


Figura 1. Núcleo fundamental dos flavonóides.

Os flavonóides podem ser classificados em diferentes classes, dentre as quais destacam-se flavonas, flavononas, flavonóis, flavanonóis, flavan-3-óis, isoflavonas e antocianidinas (figura 2), que diferem entre si pelo número e pela posição dos grupos substituintes nos anéis A, B e C, além da presença ou ausência da dupla ligação e carbonila no anel C. Além disso, são encontrados derivados glicosilados, metilados, prenilados, acetilados ou sulfatados⁵.

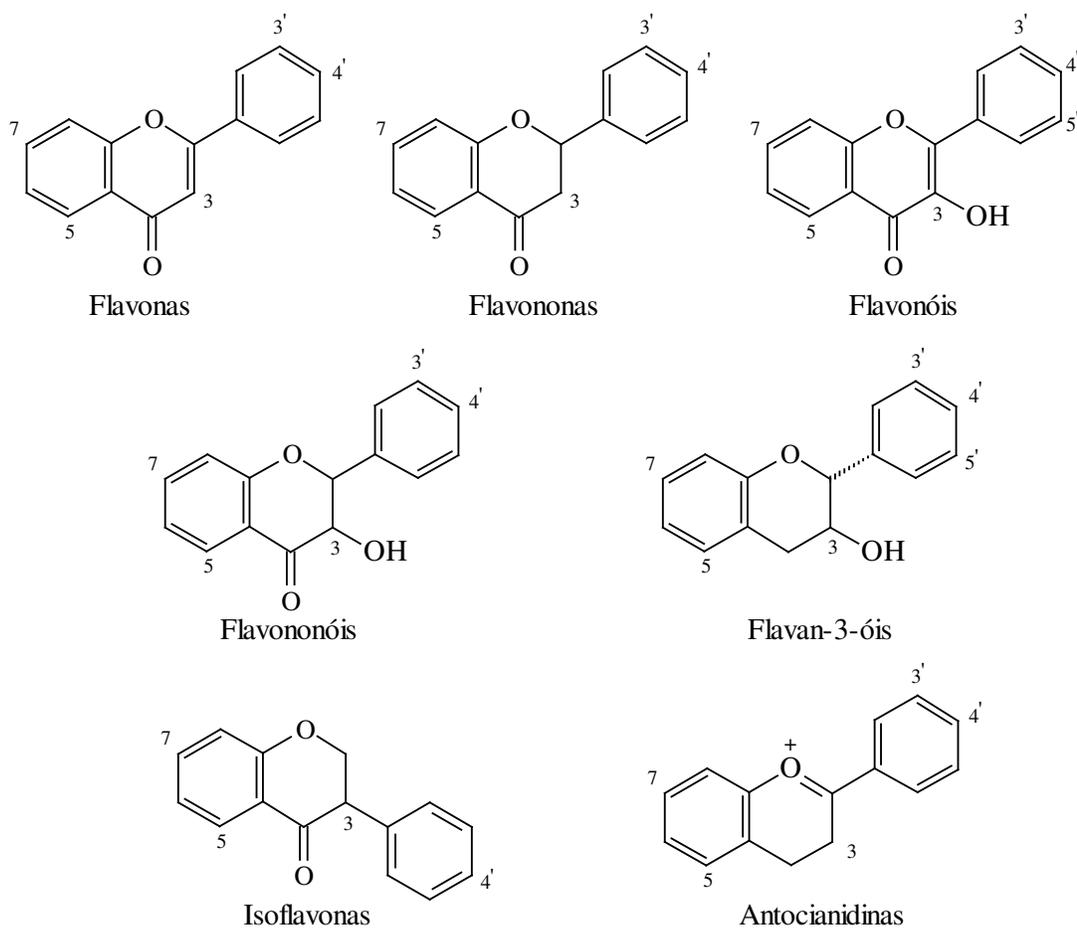


Figura 2. Classificação dos flavonóides.

A figura 3 mostra uma representação simplificada para a rota biossintética de flavonóides. Nota-se que como intermediários fundamentais temos uma molécula de cinamoil-CoA, responsável pela formação do anel B e da cadeia de três átomos de carbono, e três moléculas de

malonil-CoA originando o anel A dos flavonóides. Como precursores destas moléculas temos respectivamente, ácido chiquímico e o acetil-CoA⁵.

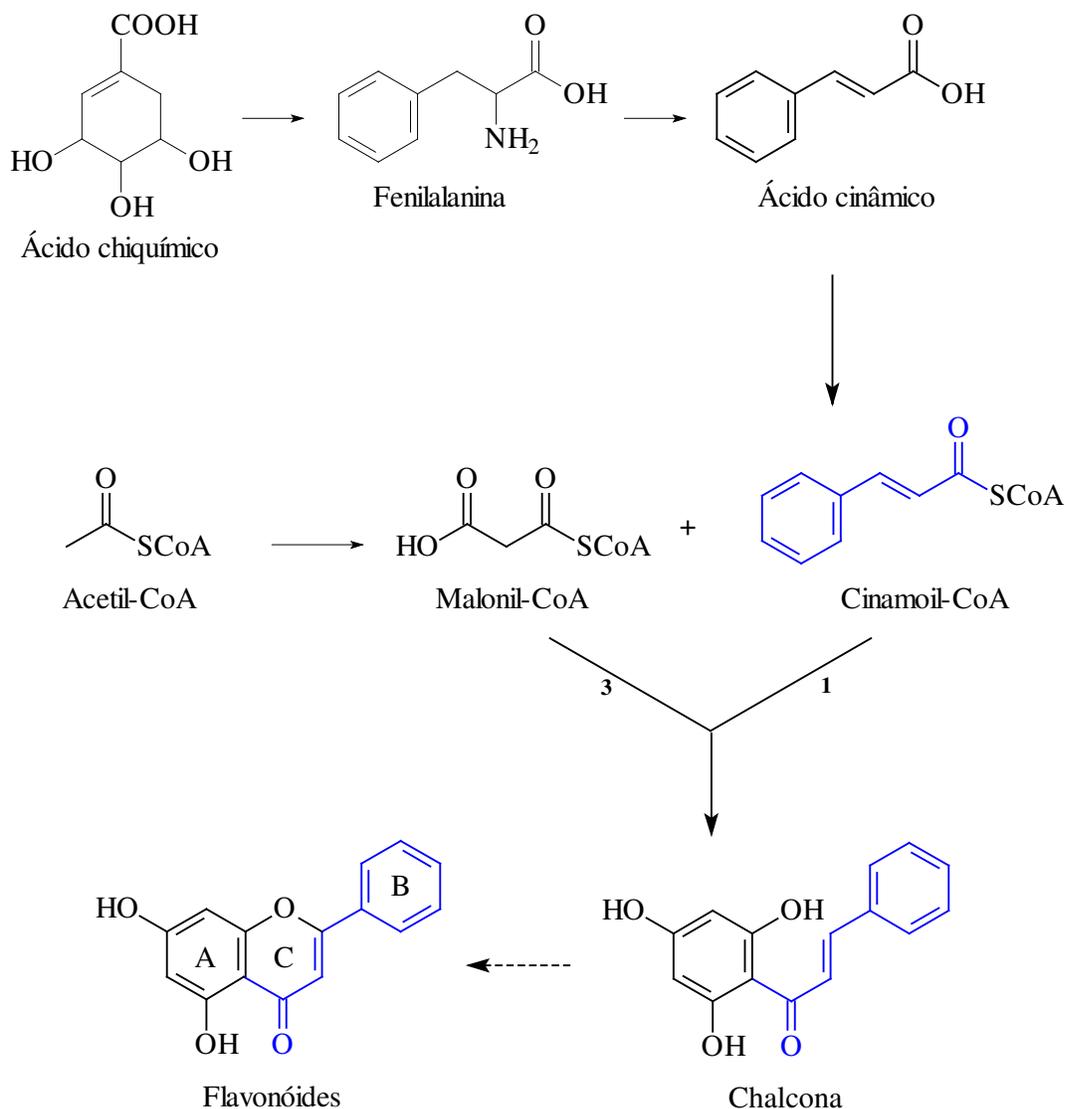


Figura 3. Representação simplificada para a rota biossintética de flavonóides.

Estudos confirmam que um decréscimo no risco de doenças cardiovasculares e câncer está associado a uma dieta rica em frutas e vegetais, assim, nos últimos anos aumentou o interesse pelos compostos naturais presentes nestes alimentos⁶. Uma atenção especial tem sido dada aos flavonóides desde sua descoberta, devido às suas numerosas atividades benéficas à

saúde humana, dentre as quais destaca-se a atividade antiinflamatória, analgésica, antialérgica, antiviral, anticarcinogênica e antioxidante⁷. Esta última em questão é de extrema importância no combate aos radicais livres, grandes responsáveis por doenças cardiovasculares e câncer. Visto que estes são produzidos em excesso por meios fisiopatológicos como poluição do ar, fumaça de cigarro, radiação UV, entre outros, e que os sistemas antioxidantes produzidos pelo corpo humano são insuficientes neste combate, é, então, necessária uma dieta que disponibilize antioxidantes eficazes no suprimento de tal carência¹.

Na indústria, as reações de oxidação são agravantes por proporcionar, por exemplo, no setor alimentício, a deterioração oxidativa de óleos e gorduras nos alimentos conferindo odor e gosto rançoso. Comumente são empregados para preservação de alimentos, antioxidantes sintéticos. No entanto, oxidantes sintéticos além de apresentar certo grau de toxicidade, apresentam alto custo em sua produção. Reações de oxidação não são preocupação exclusiva da indústria alimentícia, mas também da indústria farmacêutica, de cosméticos e de plásticos.

Assim, para substituir antioxidantes sintéticos um grande foco de pesquisas atuais é a descoberta e identificação de novas fontes de antioxidantes naturais.

As propriedades antioxidantes dos flavonóides estão associadas à capacidade de estabilização e/ou doação de elétrons e formação de quelatos com metais de transição (inibição da reação de Fenton e Haber-Weiss)¹, inibição de enzimas envolvidas na produção de espécies reativas de oxigênio⁸ e como seqüestradores de radicais livres⁹. Os flavonóides sofrem reações que envolvem mecanismos de transferência de carga, o que possibilita seu estudo via métodos eletroquímicos¹⁰. A eletroquímica é importante para a compreensão do mecanismo eletro-oxidativo envolvido durante a ação biológica dos antioxidantes e para a obtenção de uma correlação estrutura-atividade antioxidante^{11,12}. A literatura sobre a eletroquímica de flavonóides é bastante limitada, apesar de seu papel relevante dentro da química biomédica atuando de forma complementar nos estudos que visam comprovar seu potencial terapêutico.

Este trabalho pretende contribuir nos estudos eletroquímicos acerca dos flavonóides, dando ênfase nos processos redox da morina (5,7,2',4' tetra-hidróxi-flavonol); um flavonóide de vasta ocorrência na natureza e pertencente a classe dos flavonóis. A fórmula molecular da morina é $C_{15}H_{10}O_7$ e seu peso molecular é $302,2 \text{ g.mol}^{-1}$. A figura 4 mostra sua estrutura química bem como a denominação dos anéis e a numeração de seus átomos de carbono.

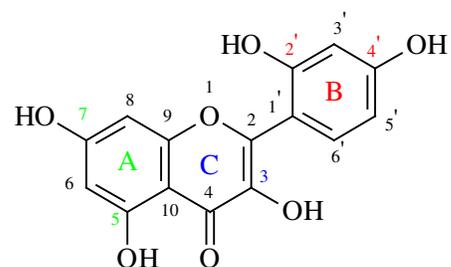


Figura 4. Estrutura química da morina.

O comportamento eletroquímico da morina em meio hidro-alcoólico será estudado com o auxílio das técnicas de voltametria cíclica, eletrólise com potencial controlado e técnicas espectroscópicas, no intuito de caracterizar os produtos de oxidação formados e, assim, compreender seu mecanismo de eletro-oxidação.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivos estudar o comportamento eletroquímico da morina em meio hidro-alcoólico e compreender o mecanismo de eletro-oxidação envolvido principalmente, durante a primeira etapa oxidativa. Para atingir estas finalidades serão empregados métodos eletroquímicos e espectroscópicos. As principais variáveis avaliadas neste trabalho foram a influência do pH, da velocidade de variação de potencial (v) e de modificações no potencial de inversão anódico ($E_{\lambda,a}$).

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste estudo são de grau analítico adquiridos da Sigma (morina), da Vetec (H_3PO_4 , KOH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), da Reagen (KH_2PO_4 , K_2HPO_4), da FMaia (acetona, acetato de Etila, hexano). Eles foram utilizados sem purificação prévia. Água destilada e desionizada foram utilizadas para a preparação de todas as soluções.

3.2. Métodos eletroquímicos

Para registrar as curvas (i) x (E) e (i) x (t), utilizou-se um potenciostato/galvanostato EG & G PARCTM, modelo 263 A, em conjunto com o software M 270 acoplado a um computador comercial. Os gráficos foram editados com auxílio do software ORIGINTM da empresa Microcal. Para a montagem das estruturas químicas utilizou-se o programa de computador CHEMWINDOWTM da empresa Softshell.

3.2.1. Voltametria cíclica

Os voltamogramas cíclicos foram obtidos em uma célula eletroquímica tendo como eletrodo de trabalho (E.T.) um disco de carbono vítreo (BAS MF - 2012), como eletrodo auxiliar (C.E.) um cilindro de grafite espectroscópico e como eletrodo de referência (E.R.) foi utilizado um eletrodo de calomelano saturado. Assim, os valores de potencial mencionados neste trabalho são referentes a este eletrodo de referência.

Antes de se obter os voltamogramas cíclicos, o eletrodo de trabalho foi polido cuidadosamente com uma pasta de alumina (0,05 μm), disposto em um banho de ultra-som para remover a alumina remanescente e, por fim, lavado com água desionizada. Este procedimento foi

realizado entre cada voltamograma cíclico acompanhado da desoxigenação através de nitrogênio borbulhado na célula eletroquímica por oito minutos.

A célula eletroquímica tem capacidade para 15 mL de solução. O eletrólito suporte foi formado por uma solução tampão de $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (ambos $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$) e $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (50/50) (v/v). O pH da fase aquosa foi ajustado com KOH e H_3PO_4 . O flavonóide em estudo, neste caso específico a morina, foi adicionado no estado sólido após a obtenção de um voltamograma prévio em sua ausência. A concentração da morina foi de $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$.

A faixa de potencial utilizada nos estudos da influência da velocidade de variação de potencial e da influência do pH sobre o perfil voltamétrico da morina foi de -700 mV a 1300 mV. Nos estudos da influência da modificação do potencial de inversão anódico, o potencial aplicado foi de 100 mV mais positivo que o potencial de pico anódico (E_p^1).

3.2.2. Eletrólise com potencial controlado

Foi realizada uma cronoamperometria a fim de se determinar o número de elétrons transferidos e caracterizar os produtos formados na primeira etapa (pico I) do processo de eletro-oxidação da morina. Neste método utilizou-se uma célula eletroquímica contendo dois compartimentos. Num compartimento estavam três cilindros de grafite (eletrodos de trabalho-anôdo) e o eletrodo de calomelano saturado (referência). No outro compartimento estava o cilindro de grafite (contra eletrodo-cátodo). O contato elétrico entre os dois compartimentos foi feito através de uma ponte salina preenchida com solução saturada de KCl e ágar-ágar 1,5 % em massa. As extremidades da ponte salina foram vedadas com algodão impedindo, assim, um contato direto da solução em questão com o KCl.

A eletrólise com potencial controlado foi realizada em etanol puro, na presença de NaNO_3 $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ como eletrólito suporte. O potencial aplicado aos eletrodos de trabalho foi de 800 mV/ECS. A adição da morina se deu no compartimento dos ânodos, com concentração final de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$.

Iniciou-se a eletrólise após a obtenção de um voltamograma cíclico sob as mesmas condições descritas anteriormente no item voltametria cíclica. A eletrólise foi interrompida por algumas vezes para que houvesse a reativação do eletrodo de trabalho, o qual foi lavado com água, etanol e acetona e disposto num banho de ultra-som por alguns segundos para remoção dos

produtos de oxidação aderidos na superfície e, em seguida, lavado novamente com água desionizada e etanol. Antes de se reiniciar a eletrólise a partir da reativação do eletrodo de trabalho, o progresso da reação foi monitorado por voltametria cíclica.

A eletrólise com potencial controlado foi terminada quando a corrente apresentou um decréscimo de 95% de seu valor inicial. A carga foi obtida pela integração da curva resultante e o número de elétrons foi calculado.

3.3. Purificação

Os procedimentos de cromatografia em camada delgada e de fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Collins e colaboradores¹³. Um esquema simplificado sobre a purificação da solução resultante da eletrólise com potencial controlado e obtenção dos produtos de oxidação da morina está mostrado na figura 5.

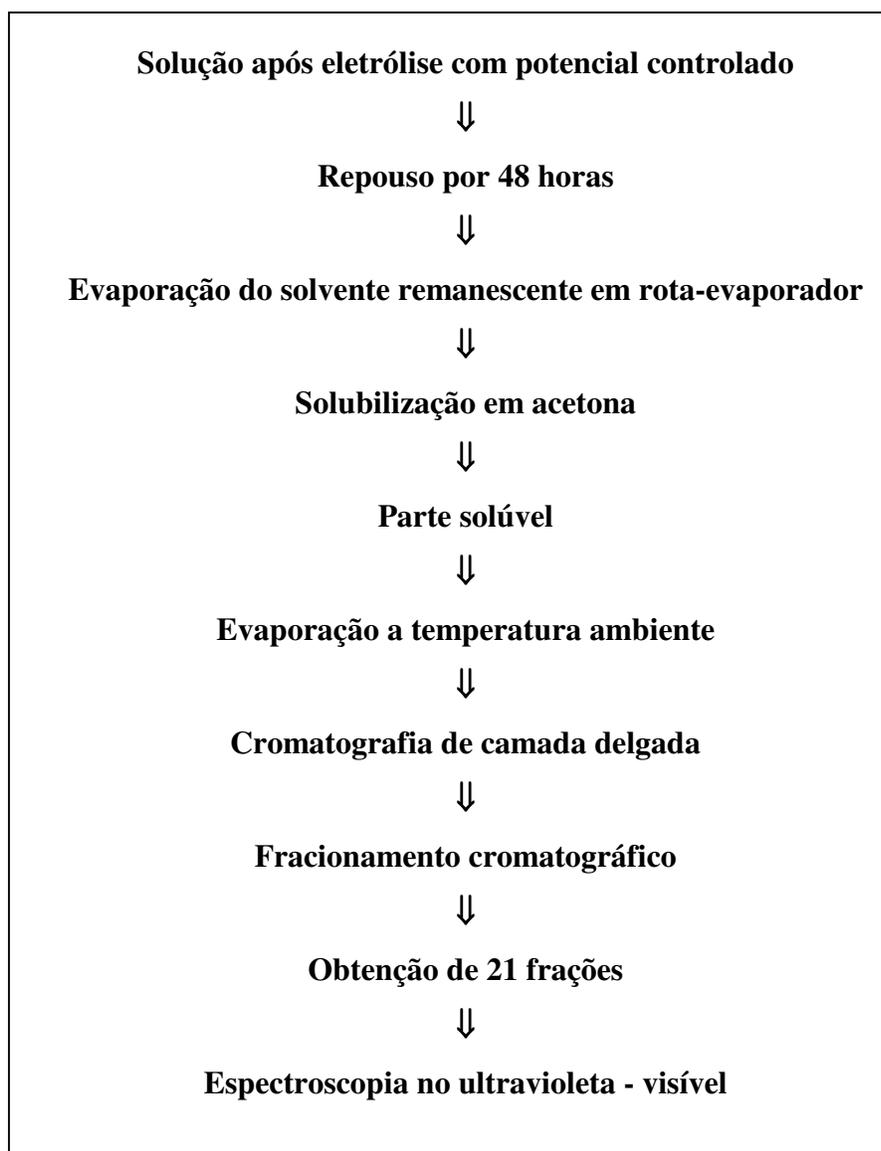


Figura 5. Seqüência simplificada para a obtenção dos produtos de oxidação da morina.

Após a eletrólise com potencial controlado a solução foi deixada em repouso em capela por 48 horas a fim de se obter um precipitado a partir da evaporação do solvente, neste caso o etanol. Após o repouso e com o auxílio do rota-evaporador, se concentrou o sólido formado que, posteriormente, foi solubilizado em acetona. O material resultante foi preparado para o fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel utilizando o sistema de eluentes hexano/acetato de etila. O fracionamento cromatográfico em coluna de sílica gel resultou na coleta de 21 frações as quais foram analisadas por espectroscopia no UV-visível.

3.4. Métodos espectroscópicos

3.4.1. Espectroscopia no ultravioleta - visível

Os espectros no ultravioleta foram realizados em espectrofotômetro Shimadzu situado no Laboratório de Química Inorgânica (Graduação) no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina. A faixa de comprimento de onda foi de 200 nm a 500 nm, sendo que desta fazem parte duas regiões espectrais: UV de quartzo (200-380 nm) e visível (380-780 nm).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Comportamento eletroquímico da morina em meio hidro-alcoólico

4.1.1. Perfil voltamétrico

A figura 6 mostra o voltamograma cíclico da morina $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ obtido com um eletrodo de carbono vítreo em meio etanol/solução aquosa de $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (ambos $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$) 50/50 (v/v). A faixa de potencial foi previamente determinada de -700 a $+1300 \text{ mV}$ / ECS, a velocidade de variação de potencial de 100 mV.s^{-1} e o pH 7,4.

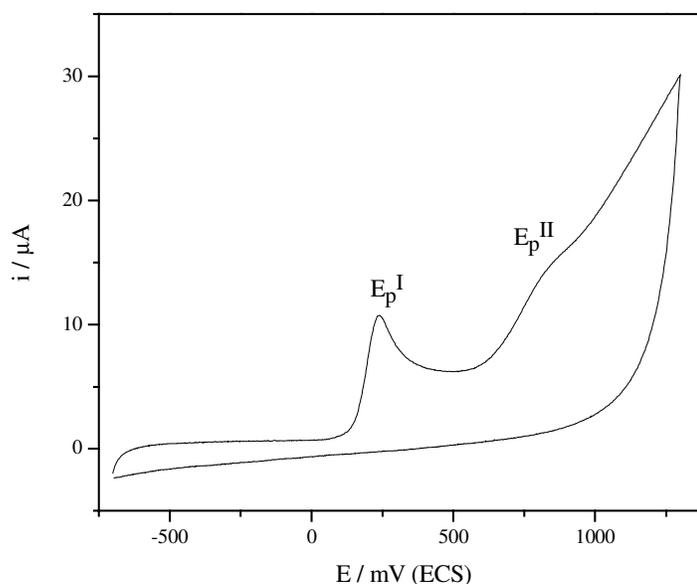


Figura 6. Voltamograma cíclico para a morina $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ em meio hidro-alcoólico. 50/50 (v/v) (Condições: $C_{\text{vítreo}}$, pH 7,4 e $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$).

Através da figura pode-se claramente observar a presença de dois picos de oxidação: E_p^I em 241 mV e E_p^{II} em 855 mV . Apesar do mecanismo de eletro-oxidação da morina não estar completamente decifrado, os dois picos podem ser correlacionados com a oxidação dos grupos

substituintes 2',4'-dihidróxi presentes no anel B e à oxidação dos grupos substituintes 5,7-dihidróxi presentes no anel A, respectivamente. Sugere-se, assim, que os produtos destes processos oxidativos sejam as quinonas correspondentes¹⁴. A atribuição do primeiro pico à oxidação a tal substituinte fundamenta-se na maior tendência à doação de elétrons dessas hidroxilas nas posições 2' e 4' do anel B, facilitando assim a oxidação. Essa proposta inicial está de acordo com o proposto por outros autores para o flavonóide quercetina, que tem estrutura química semelhante à morina^{11, 15}. A figura 7 mostra as estruturas químicas da morina e quercetina a fim de elucidar suas similaridades estruturais.

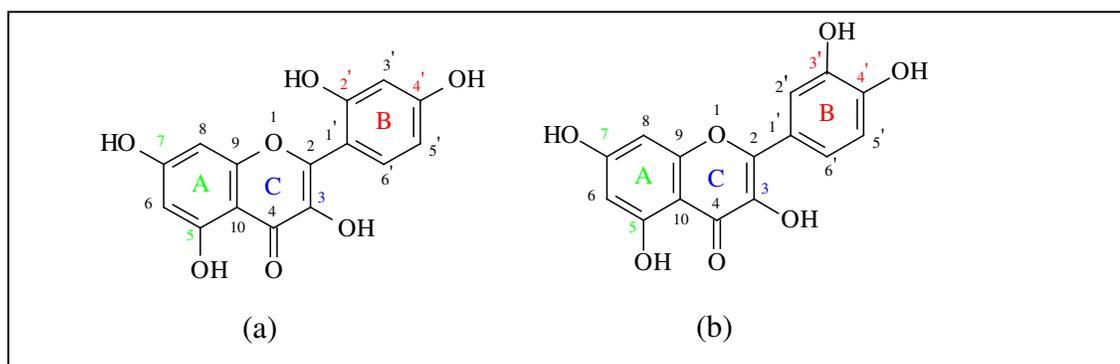


Figura 7. Estruturas químicas em (a) morina e em (b) quercetina.

4.1.2. Influência da velocidade de variação de potencial (v)

A figura 8 mostra a influência da velocidade de variação (v) de potencial sobre o perfil voltamétrico da morina para a concentração de $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ e pH 7,4.

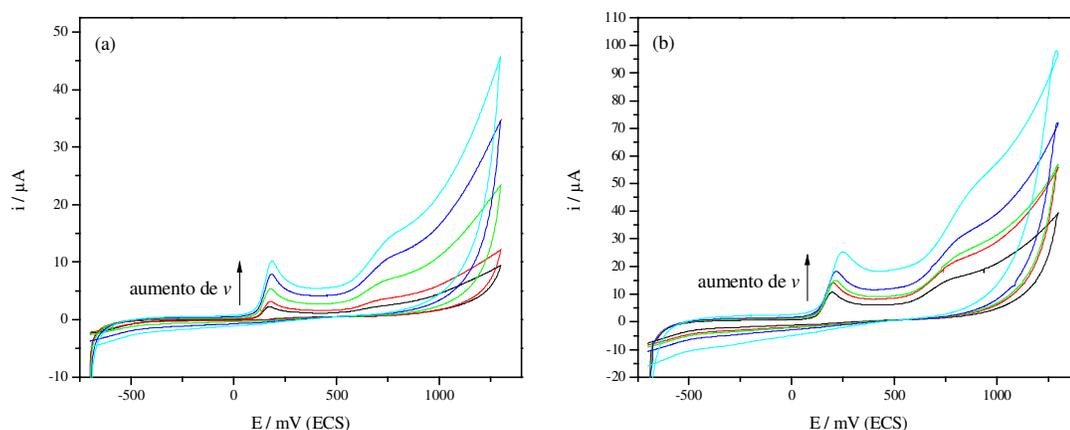


Figura 8. Voltamogramas cíclicos para a morina $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ e pH 7,4 em meio hidroalcoólico para diferentes velocidades de variação de potencial (v). Em (a) $v = 5, 10, 25, 50, 75 \text{ mV.s}^{-1}$; em (b) $v = 100, 150, 200, 250, 500 \text{ mV.s}^{-1}$.

De acordo com as figuras 8a e 8b é possível notar um aumento significativo nos valores de densidades de corrente de pico com o aumento das velocidades de variação de potencial. É de importância ímpar destacar também o efeito da velocidade de variação de potencial no segundo processo de oxidação: conforme v aumenta o pico II torna-se mais nítido. Para velocidades mais lentas o pico II praticamente não é observado. Este comportamento sugere que o produto de oxidação formado no pico I é eletroquimicamente ativo e instável, sofrendo assim reações químicas homogêneas subsequentes. Portanto, para velocidades de variação de potencial elevadas é possível visualizar o pico II com maior clareza, pois atinge-se a região de potencial do pico II antes da espécie formada no pico I sofrer decomposição e formar espécies eletroquimicamente inativas. Esse tipo de reação acontece de acordo com um mecanismo do tipo EC (do inglês, EC – electrochemical-chemical)¹⁶⁻¹⁸, onde uma etapa com transferência de carga na superfície do eletrodo (etapa eletroquímica) precede uma reação química em solução (etapa química).

4.1.3. Influência de v e de modificações no potencial de inversão anódico

Foi sugerida anteriormente uma reação química homogênea subsequente à formação do produto de oxidação no primeiro pico de oxidação da morina. Desta forma, um artifício eficiente para um melhor entendimento do comportamento específico dos processos envolvidos em cada pico, é fazer o uso da modificação no potencial de inversão anódico. A figura 8 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos com um eletrodo de carbono vítreo para a morina $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ em meio etanol/solução aquosa de $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (ambos $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$) 50/50 (v/v). A faixa de potencial aqui utilizada foi de -700 à 100 mV além do potencial do pico I, para diferentes velocidades de variação de potencial e em pH 7,4.

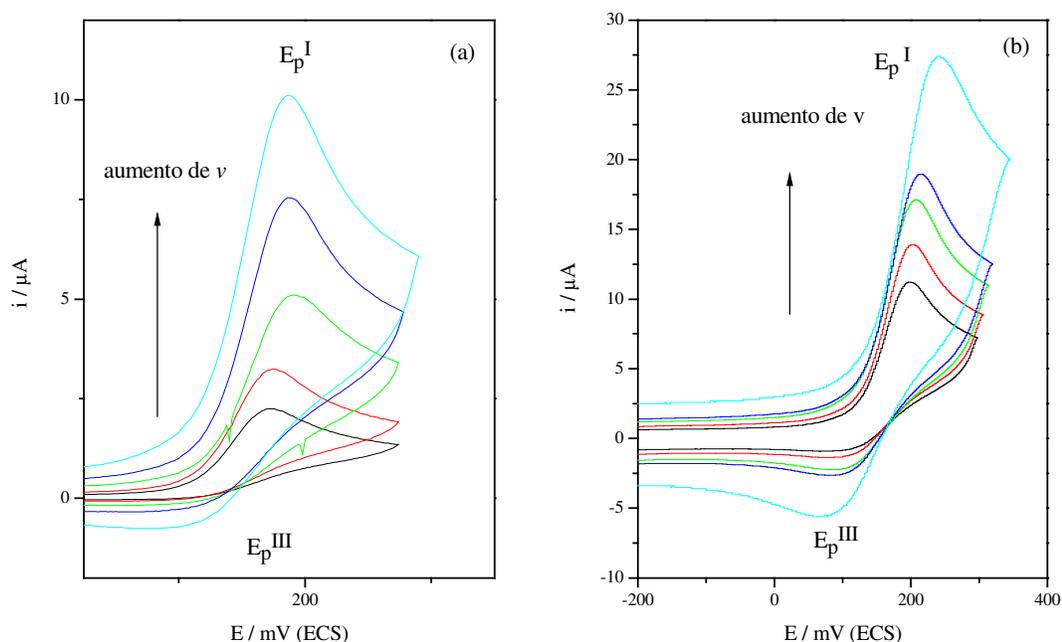


Figura 9. Voltamogramas cíclicos ($E_{\lambda,c} = -700 \text{ mV}$ e $E_{\lambda,a} = (E_p^I + 100) \text{ mV/ECS}$) para a morina $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ em pH 7,4 para diferentes velocidades de variação de potencial (v). Em (a) $v = 5, 10, 25, 50$ e 75 mV.s^{-1} ; em (b) $v = 100, 150, 200, 250$ e 500 mV.s^{-1}

A figura 9 mostra um pico anódico referente, conforme dito anteriormente, à oxidação dos grupos substituintes 2',4'-dihidróxi presentes no anel B e, conseqüentemente, a formação da meta-quinona correspondente. Além deste, ainda se faz presente o pico catódico E_p^{III} , o qual pode ser atribuído à redução do produto formado em I. Todavia, o pico de redução III só é visível quando v é elevada, indicando a pouca estabilidade do produto de oxidação da morina. Ainda, conforme a velocidade de variação de potencial aumenta, ocorre um deslocamento dos potenciais de pico: o E_p^I deslocou-se para valores mais positivos e o E_p^{III} para valores mais negativos, apresentando ainda um aumento das respectivas densidades de correntes, sinalizando que quanto maior for a velocidade de variação de potencial, mais evidente é o pico correspondente à redução do produto gerado no pico I e, para baixas velocidades de variação de potencial, não é possível observar com a mesma intensidade este sinal de redução. A eletro-oxidação da morina no pico I, portanto, pode ser classificada como sendo quase-reversível¹⁷.

4.1.4. Influência do pH

A figura 10 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos em condições de pH distintas para a morina $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ para $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

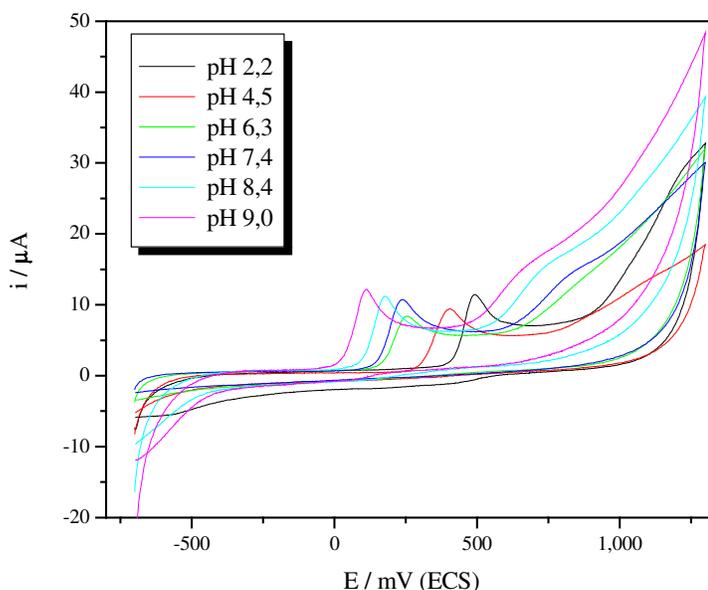
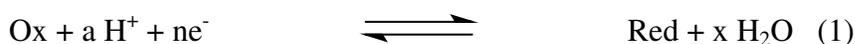


Figura 10. Voltamogramas cíclicos para a morina em diferentes condições de pH. (morina $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$, $C_{\text{vítreo}}$, e $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$).

De acordo com a figura 10, são significativas as alterações que a concentração do próton produz no perfil voltamétrico da morina, indicando uma participação efetiva do íon H_3O^+ no mecanismo de eletro oxidação em ambas as etapas, E_p^I e E_p^{II} . O aumento do pH, em geral, provocou um aumento na tendência à doação de elétrons, traduzido neste caso específico pelo deslocamento dos potenciais de oxidação para valores menos positivos. Observa-se, também, que o E_p^{II} só aparece claramente a partir de pH 4,5, indicando que a etapa eletroquímica que ocorre nesse potencial não ocorre em soluções demasiadamente ácidas. O deslocamento dos potenciais dos picos de oxidação para valores menos positivos com o aumento do pH sugere, ainda, um aumento da nucleofilicidade da espécie eletroativa¹⁸ e que a atividade antioxidante da morina é termodinamicamente favorecida com o acréscimo do pH.

Para reações eletroquímicas reversíveis dependentes do pH, pode-se escrever, genericamente:



A reação acima é controlada pelo potencial do eletrodo de acordo com a equação:

$$E = E^\circ + (0,0592/n) \log [\text{Ox}] [\text{H}^+]^a / [\text{Red}] [\text{H}_2\text{O}]^x \quad (2)$$

Pode-se escrever também:

$$E = E^\circ + (0,0592/n) \log [\text{Ox}] / [\text{Red}] [\text{H}_2\text{O}]^x + (a/n) 0,0592 \log [\text{H}^+] \quad (3)$$

O voltamograma cíclico para sistemas reversíveis apresenta um pico de oxidação e um de redução separados pela distância $0,0592 / n$. A metade dessa distância é $(E_{pc} + E_{pa}) / 2$. Nesse potencial, $[\text{Ox}] = [\text{Red}]$. Considerando ainda a atividade da água unitária (líquido puro), o segundo termo do lado direito da equação 3 desaparece, podendo-se escrever:

$$E = E^\circ + (a/n) 0,0592 \log [\text{H}^+] \quad (4)$$

ou

$$E = E^\circ - (a/n) 0,0592 \text{ pH} \quad (5)$$

Considerando, aproximadamente, $E = E_p$, tem-se

$$E_p = E^\circ - (a/n) 0,0592 \text{ pH} \quad (6)$$

Portanto um gráfico E_p vs pH terá uma inclinação negativa de onde se pode retirar a fração entre o número de prótons e de elétrons e, também, E° para a reação considerada.

A figura 11 mostra a variação de E_p^I em função de pH.

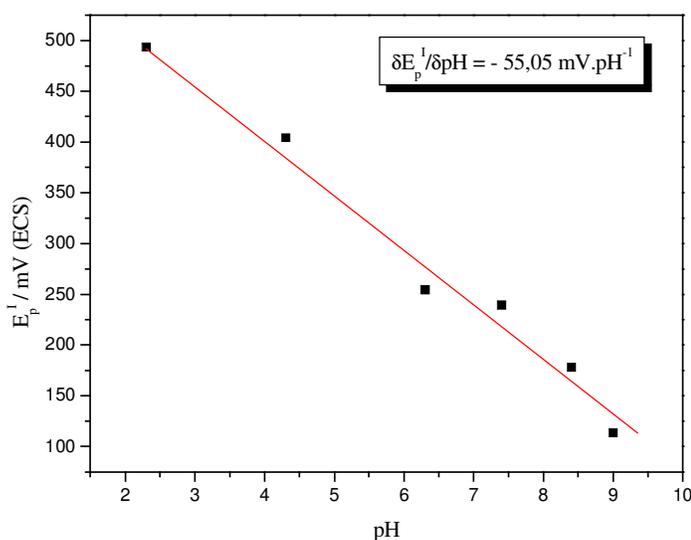


Figura 11. Variação de E_p^I em função do pH para a morina $0,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ e $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

Em relação à primeira etapa de oxidação (E_p^I), a figura 11 mostra claramente que a medida que há um acréscimo no pH, há um decréscimo linear de E_p^I com uma inclinação de $-55,05 \text{ mV.pH}^{-1}$ (coeficiente de correlação linear de 0,99974). Esse valor está de acordo com o previsto teoricamente pela equação (6). Desse modo, a razão a/n calculada foi de 0,929,

indicando que na primeira etapa de oxidação da morina estão envolvidos iguais números de prótons e de elétrons.

A equação 6 é válida para sistemas reversíveis, onde a transferência de elétrons é seguida de desprotonação. As aproximações para sistemas reversíveis, quase-reversíveis e irreversíveis estão descritas na literatura pertinente¹⁶⁻¹⁸. Especificamente para a morina, as reações podem ser consideradas quase-reversíveis, pelo menos para o primeiro pico de oxidação, conforme mostrada na figura 11. Portanto, pode-se concluir à luz dos nossos resultados, que no pico I ocorre uma reação de transferência de carga seguida de desprotonação envolvendo igual número de elétrons e de prótons.

4.2. Eletrólise com potencial controlado

Para a determinação do número de elétrons transferidos e caracterização dos produtos formados na primeira etapa (pico I) do processo de eletro-oxidação da morina foi realizada uma eletrólise com potencial controlado em meio etanólico. A eletrólise foi finalizada quando a corrente apresentou um decréscimo de 95 % de seu valor inicial. Destacamos que o potencial aplicado foi de 800 mV. A carga total consumida foi obtida pela integração e soma das curvas $i \times t$ mostradas na figura 12. Os cálculos efetuados para a determinação do número de elétrons transferidos são mostrados a seguir.

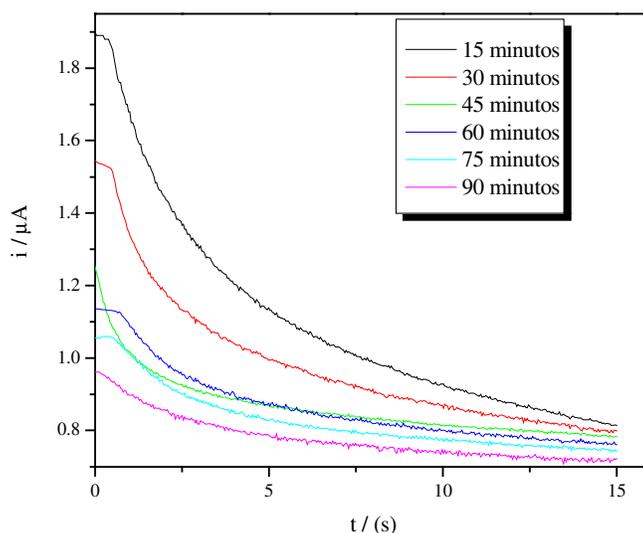


Figura 12. Curvas obtidas durante cada 15 minutos de eletrólise com potencial.

Sabendo-se que na solução de partida (80 mL) a massa da morina foi de 0,02417 gramas e que a carga consumida até o término da eletrólise foi de 6,6238 coulombs, foi possível calcular o número de elétrons transferidos no processo correspondente à primeira etapa de oxidação:

$$\begin{aligned} 1 \text{ mol de elétrons} & \text{ — } 96485 \text{ C} \\ x \text{ mol de elétrons} & \text{ — } 6,6238 \text{ C} \\ x & = 6,8651 \times 10^{-5} \text{ mol de elétrons} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 0,02417 \text{ gramas} & \text{ — } 6,8651 \times 10^{-5} \text{ mol de elétrons} \\ 302,2 \text{ gramas} & \text{ — } y \\ y & = 0,8581 \text{ elétrons} \end{aligned}$$

Embora a eletrólise com potencial controlado tenha sido realizada apenas uma vez (necessitando, portanto, confirmação), ela indicou o consumo de apenas 1 elétron para o processo de oxidação no pico I. Além disso, apenas no final da eletrólise a solução adquiriu a coloração marrom, característica da coloração de quinonas em solução.

Esses resultados sugerem, a primeira vista, que no pico I ocorre uma reação com o envolvimento de 1 elétron e 1 próton. Essa reação poderia ocorrer no anel B, na posição 2' ou 4', pois essas posições são mais susceptíveis à oxidação conforme comentado anteriormente. Todavia, eletrólises realizadas para a quercetina e a rutina, flavonóides com estruturas semelhantes à da morina, indicaram o consumo de dois elétrons para a oxidação no pico I. Nos casos da quercetina e da rutina, as oxidações nas posições 3' e 4' no anel B, envolvendo 2 elétrons e 2 prótons, levam à formação das orto-quinonas correspondentes^{15,19}. No caso da morina, se ocorresse o mesmo tipo de oxidação, levaria à formação da meta-quinona correspondente. Sabidamente, a formação de meta-quinonas não é favorecida (nada consta na literatura pertinente). Por outro lado, voltamogramas cíclicos para a quercetina¹⁵, a rutina¹⁹ e a morina obtidos nas mesmas condições (figura 14) mostram o mesmo perfil na oxidação que ocorre no pico I, sugerindo que nos três casos a mesma reação está envolvida. Essa questão, por enquanto,

permanece em aberto e será fruto de nossos estudos dentro do grupo de pesquisa. Para fins comparativos são mostradas na figura 13 as estruturas químicas dos três flavonóides em questão.

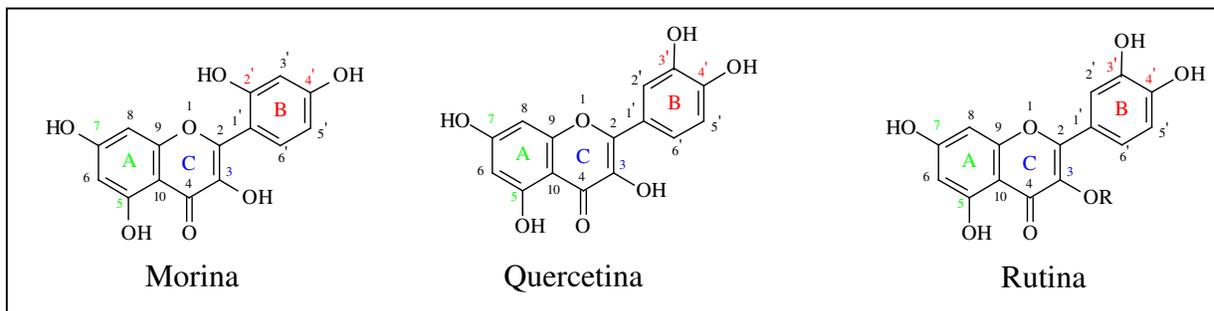


Figura 13. Estruturas químicas para os flavonóides: morina, quercetina e rutina.

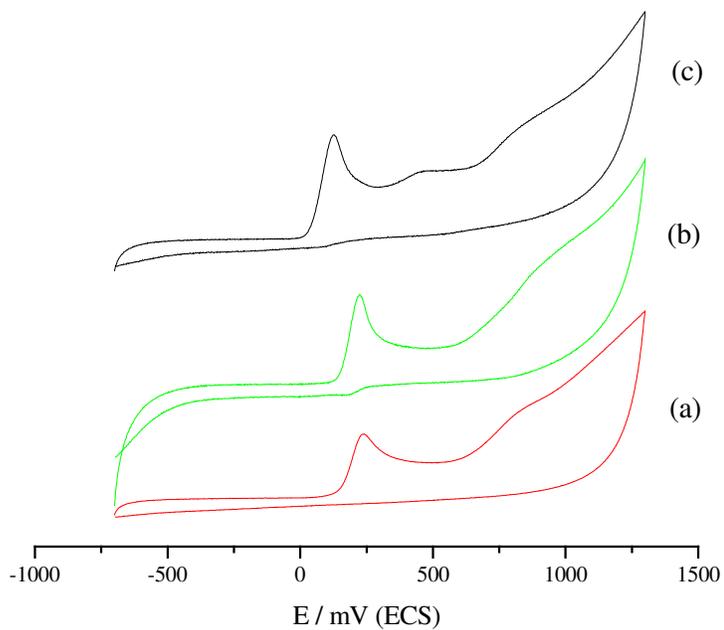


Figura 14. Voltamogramas cíclicos para a (a) morina, (b) rutina e (c) quercetina.

4.3 Espectroscopia no ultravioleta - visível

Após a eletrólise com potencial controlado a solução resultante foi tratada com a seqüência mostrada na figura 5. O fracionamento cromatográfico resultou em 21 frações, às quais foram submetidas à análise comparativa de cromatografia em camada delgada com a morina. Esse procedimento permitiu identificar 2 compostos, sendo um deles o material de partida. Portanto, a eletrólise da morina resultou na separação e identificação de apenas um produto, isolado das frações 17 e 18. A morina que não reagiu durante a eletrólise foi separada e identificada a partir da fração 7.

A figura 15 mostra os espectros da morina pura (figura 15 A (a)), da morina separada na fração 7 (figura 15 A (b)) e das frações 17 e 18 (figura 15 B (c e d)). Esses espectros indicam claramente que temos, então, a morina (figura 15 A) e um outro composto resultante da eletrólise com potencial controlado (figura 15 B).

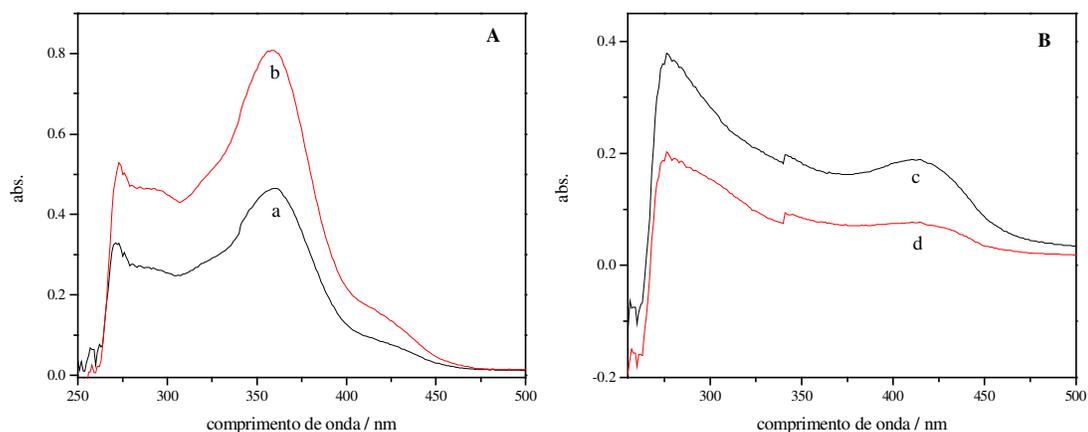


Figura 15. Espectros no ultravioleta da morina pura (a) e das frações 7 (b), 17 (c) e 18 (d).

O espectro da morina (figura 15 A) apresenta dois máximos de absorção: um em 272 nm e outro em 360 nm, referentes às duplas ligações presentes nos anéis A e B, respectivamente.

O espectro do produto da eletrólise com potencial controlado (figura 15 B), mostra que o máximo de absorção situado em 272 nm permaneceu, indicando que o produto da eletrólise contém o anel A de modo semelhante à morina. Por outro lado, a máxima de absorção em 360 nm desapareceu, indicando claramente que as duplas ligações do anel B foram significativamente alteradas após a eletrólise.

Esses estudos sugerem que a eletro-oxidação da morina (pico I) ocorre preferencialmente no anel B; A identificação e a caracterização desse produto ainda será tema de estudo no grupo de pesquisa.

5. CONCLUSÃO

A eletroxidação da morina foi estudada com o auxílio de métodos voltamétricos, coulométricos e espectroscópicos. A voltametria cíclica mostrou que a oxidação da morina ocorre em duas etapas dependentes da velocidade de variação de potencial. Isso sugere, portanto, um mecanismo do tipo eletroquímico-químico. Foi demonstrado também que o número de prótons e de elétrons envolvidos no primeiro processo de oxidação é o mesmo. A eletrólise com potencial controlado não permitiu definir claramente o número de elétrons envolvidos, mas dessa eletrólise conseguiu-se separar cromatograficamente e identificar no UV um produto de oxidação diferente do material de partida. Esse produto de oxidação apresenta modificações no espectro de UV-Visível que sugerem modificações estruturais importantes no anel B da morina.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pietta, P. *Journal of Natural Products*, 2000, 63, 1035-1042.
2. Larson, R. A. *Phytochemistry* 1988, 27, 969-978.
3. Mazza, G.; Miniati, E. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1993.
4. Shirley, B. W. *Trends Plant Sci.* 1996, 31, 377-382.
5. Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick P. R.; *Farmagnosia: da Planta ao Medicamento*, 3rd ed., Editora da UFSC, Florianópolis – SC, 2001, p. 499.
6. Jorgensen, L. V.; Cornett, C.; Justesen, U; Skibsted, L. H.; Dragsted, L. O.; *Free Radical Research*, 1998, 29, 339-350.
7. Korkina, L. G.; Afanas'ev, I. B. *Antioxidants in Disease Mechanisms and Therapy. Série Advanced in Pharmacology*. Sies, 1997, 38, 152.
8. Nematollahi, D.; Malakzadeh, M.; *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2003, 547, 191-195.
9. Janeiro, P.; Brett, A. M. O.; *Analytica Chimica Acta*, 2004, 518, 109-115]
10. Sacagami, H.; Satoh, K. *Anticancer Research*, 1997, 17, 221.
11. Hendrickson, H. P.; Kaufman, A.D.; Lunte, C. E. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*. 1994, 12(3), 325.
12. Galato, D.; Ckless, K.; Susin, M. F.; Giacomelli, C.; Ribeiro-do-Valle, R. M.; Spinelli, A. *Redox Report*, 2001, 6, 243.
13. Collins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P.S.; *Introdução a Métodos Cromatográficos*, 6th ed. Editora da Unicamp, In: Campinas-SP, 1995, p.77.
14. Lourenço, M. A. T.; de Souza, C. D.; Timbola, A. K.; Giacomelli, C.; Spinelli, A. *Estudo Eletroquímico da Morina em Meio Hidroalcoólico*. Livro de resumos, XII Encontro de Química da Região Sul. Guarapuava, PR, QA 081, aceito, 2004.

15. Timbola, A. K. *Dissertação de Mestrado: Eletro-oxidação da Quercetina em Solução Hidro-Alcoólica*. Universidade Federal De Santa Catarina – UFSC, 2004.
16. Bard, A. J.; Faulkner, L. R.; *Electrochemical Methods, Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons Inc: New York, 1980, p. 451.
17. Sawyer, D. T.; Sobkowiak, A.; Roberts Jr., J. L.; *Electrochemistry for Chemists*, 2nd ed., John Wiley & Sons Inc: New York, 1995, p. 442.
18. Brett, C. M. A.; Brett, A. M. O.; *Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*, Oxford University Press: New York, 1993, p. 180.
19. de Souza, C. D.; Lourenço, M. A. T.; Timbola, A. K.; Giacomelli, C.; Spinelli, A. *Estudo eletroquímico da rutina em meio hidro-alcoólico*. Livro de resumos, XII Encontro de Química da Região Sul. Guarapuava, PR, QA 007, aceito, 2004.