

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

“ESTUDOS DE REAÇÕES DE CETONAS E ALDEÍDOS
MODELOS DA REAÇÃO DE MAILLARD”

Tese submetida à Universidade Federal de Santa Catarina para a
obtenção do grau de Doutor em Química

ROSEANE FETT

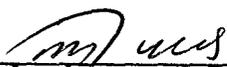
Florianópolis
Santa Catarina - Brasil

1996

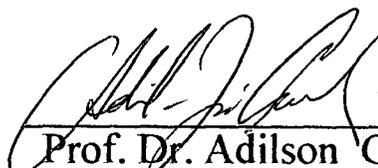
**Estudo de reações de cetonas e aldeídos.
Modelos da Reação de Maillard**

ROSEANE FETT

Esta tese foi julgada e aprovada em sua forma final pelo orientador e membros da banca examinadora.

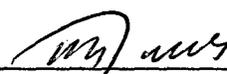


Prof. Dr. Rosendo Augusto Yunes
(Orientador)

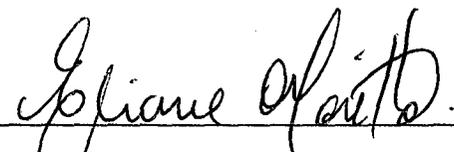


Prof. Dr. Adilson Curtius
(Coordenador do curso de Pós-Graduação)

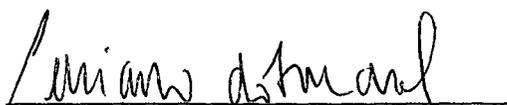
Banca examinadora



Prof. Dr. Rosendo Augusto Yunes
Universidade Federal de Santa
Catarina



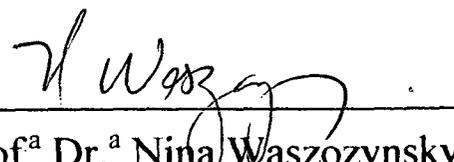
Prof.ª Dr.ª Eliane Moretto
Universidade Federal de Santa
Catarina



Prof. Dr. Luciano do Amaral
Instituto de Química - USP



Prof.ª Dr.ª Inês Maria Costa
Brighente
Universidade Federal de Santa
Catarina



Prof.ª Dr.ª Nina Waszozynsky
Universidade Federal do Paraná

AGRADECIMENTOS

- Ao Marcelo, Rafael e Gustavo, pelas inúmeras horas de ausência
- Ao Cesar, por sua paciência, carinho, compreensão e apoio.
- Ao Prof. Dr. Rosendo Augusto Yunes, pela disponibilidade, paciência, amizade e competência com que me orientou, dando condições de trabalho profissional e sobretudo por acreditar no meu potencial.
- A Prof^a Inês Maria Costa Brighente, pela amizade, incentivo e sugestões no sentido de enriquecer ainda mais este trabalho, e por jamais esquecer-se do lado humano, o meu mais profundo reconhecimento.
- Aos colegas e professores do Lab 309, pelo convívio alegre e participativo durante a realização deste trabalho.
- Aos estudantes do LEC/Labmat, pelo apoio, amizade e pela possibilidade de utilização de seus equipamentos.
- A todos os professores e amigos do Departamento de Química, que de alguma forma contribuíram.
- Aos professores e colegas do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.
- Ao CNPq .

RESUMO

A reação de Maillard ocorre através de um mecanismo complexo, cuja primeira etapa envolve a condensação de um grupo amino não ionizado com um grupo carbonílico de um açúcar redutor, resultando em compostos conhecidos como base de Schiff.

Considerando a similaridade entre reações de formação de oximas com a etapa inicial da Reação de Maillard, estudou-se a reação entre hidroxilamina e diferentes compostos carbonílicos: butanona, diacetilmonoxima, 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído e ainda dois intermediários carbonílicos da reação de Maillard - 2,3-butanodiona (diacetila) e 3-hidroxi-2-butanona (acetoína).

Na região de desidratação, que independe do pH, a velocidade de formação da dioxima a partir de diacetila com excesso de hidroxilamina, que forma rapidamente a monoxima, e desta, lentamente a dioxima, é cerca de 215 vezes menor que a velocidade de formação da monoxima usando excesso de diacetila.

As velocidades de reação mudam segundo o pH da mesma, de forma diferente para os diversos compostos estudados. O composto α -dicarbonílico (diacetila), para formar o monoderivado correspondente, reage mais lentamente que os monocarbonílicos (butanona e acetoína) em pH ácido (até pH 5,0), enquanto reage com a mesma velocidade destes se a pH aproximadamente 6,0, e muito mais rapidamente se a pH básico. Torna-se assim evidente que o estudo da reação de Maillard através destes modelos simples fornece indícios mecanicísticos do porquê da proporção de diferentes produtos mudar com o pH.

O efeito do íon cálcio foi estudado para a reação entre acetoína e hidroxilamina. A pH 0,5, onde a etapa de ataque não catalisado da amina ao composto carbonílico é a etapa determinante da velocidade da reação, não se observou o efeito do íon cálcio. Porém, a pH 7,5 e 8,5, o aumento da concentração do íon cálcio causa um aumento na constante de velocidade na região que corresponde à etapa de desidratação não catalisada como etapa lenta. A causa seria a formação de um complexo com o intermediário de adição através dos grupos hidroxilas facilitando a saída de água.

Verificou-se ainda que, nas reações estudadas considerando a etapa de desidratação como etapa lenta, a presença de ácido bórico provoca um surpreendente aumento na constante de velocidade de segunda ordem. O ponto correspondente ao ácido bórico na linha de Brønsted apresenta um forte desvio positivo, indicando um mecanismo diferente da catálise ácida geral.

Foi observado também que o ponto correspondente à catálise ácida geral pela água apresenta um forte desvio positivo da correspondente linha de correlação de Brønsted no caso da acetoína e diacetila com hidroxilamina. Isto, juntamente com outras evidências sugere a existência de catalise ácida geral intramolecular.

ABSTRACT

The Maillard reaction occurs through a complex mechanism, in which the first step involves a condensation reaction between an amino group of a free amino acid or a protein and the carbonyl group of a reducing sugar such as glucose, resulting in a product known as Schiff's base.

In view of the similarity between the reactions of oxime formation with the initial step of the Maillard reaction, we studied the reaction between the hydroxylamine and different carbonyl compounds: butanone, diacetylmonoxime, 2,2-dimethyl-3-hydroxypropionaldehyde. In addition, two carbonyl intermediates of the Maillard reaction - 2,3-butanodione (diacetyl), 3-hydroxy-2-butanone (acetoin) are studied. The influence of boric acid, and metallic ions on the reaction were also investigated.

In the dehydration region, where is pH independent, the rate of dioxime formation from the diacetyl with excess of hydroxylamine, is 215 times lower than the rate of monoxima formation working with excess of diacetyl. The reaction rate changes according with the pH, in different ways for the compounds under study. The α -dicarbonyl (diacetyl) to form the corresponding monoderivative reacts slower than the monocarbonyl (butanone e acetoin) at acid pH values (\cong pH-5), while reacts at the same rates pH of 6.0, and more rapidly at basic pH. In this way, these simple model provide good mechanistic insight for why the ratios of different products are affected by the pH, in the Maillard reaction.

The calcium ion effect was investigated for reactions between the acetoin and hydroxylamine. At pH of 0.5, where the rate-determining step is the uncatalyzed attack of amine to the carbonyl compound, no effect was observed. However, at pH 7,5 and 8,5 the increase of the calcium ion concentration causes the increase of the rate constant, a that corresponds to the spontaneous dehydration step that is the slow step reaction. The effect can be interpreted by the formation of a complex between the hydroxyl groups of the addition intermediate and the Ca^{2+} ion inducing the leaving of water.

It was also observed, that in the region that corresponds to the spontaneous dehydration as rate-determining step of the reaction, the presence of boric acid causes a surprising increasing in the second order rate constant. The corresponding point to the boric acid in the Brønsted line represents a strong positive deviation, indicating a different mechanisms of general acid catalysis.

We demonstrated that the point that would correspond to a mechanism of general acid catalysis by water gives a strong positive deviation from to the Brønsted correlation in the case of acetoin and diacetyl with hydroxylamine. This fact, and other related evidences, suggests the existence of intramolecular general catalysis.

ÍNDICE GERAL

RESUMO

ABSTRACT

1- Introdução	01
1.1 Importância do Tema	
1.1.1 - Química da Reação de Maillard	02
1.1.2 - Etapas da Reação	
a) - Condensação de Maillard e Rearranjo de Amadori	04
b) - Degradação de Strecker	07
c) - Etapas finais da reação	08
1.1.3- Alguns fatores que afetam a velocidade da Reação de Maillard	
a) - Efeito das espécies reagentes	08
b) - Efeito do pH	09
c) - Efeito da temperatura	09
1.2 - Mecanismo de reação de compostos carbonílicos e bases nitrogenadas	11
1.2.1 - Etapa de ataque	
Mecanismo da reação de ataque	12
1.2.2 - Etapa de desidratação	
Mecanismo da reação de desidratação	18
1.2.3 - Catálise intramolecular na etapa de desidratação	20
1.2.4 - Efeito de íons metálicos	21
1.2.5 - Efeito do ácido bórico	23
2 - Objetivos	25
3 - Parte experimental	
3.1 - Equipamentos	26
3.2 - Reagentes	26
3.3 - Medidas cinéticas	26
3.4 - Determinação da constante de equilíbrio para a formação do intermediário neutro	27
3.5 - Determinação das constantes de velocidade	28
3.6 - Construção do perfil de velocidade de reação	28
3.7 - Determinação das constantes catalíticas do íon hidrônio, hidróxido, da água e constante catalítica independente do pH	29
3.8 - Determinação da constante catalítica ácido ou básica geral experimental	30

4 - Resultados parciais das reação entre diferentes compostos carbonílicos e hidroxilamina	
4.1 - Reação com 3-hidroxi-3-butanona (acetoína)	32
4.2 - Reação com 2,3-butanodiona (diacetila)	48
4.3 - Reação com excesso de 2,3-butanodiona.	57
4.4 - Reação com 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído	61
4.5 - Reação com diacetilmonoxima	69
4.6 - Reação com butanona	73
5 - Resultados gerais	77
6 - Discussão	
6.1 - Comparação entre a reação de hidroxilamina com diacetila, diacetilmonoxima, acetoína e butanona	82
6.2 - Catálise intramolecular	86
6.3 - Efeito de íons metálicos	88
6.4 - Efeito do ácido bórico	91
7- Conclusões	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

Índice de Figuras

Figura 1	Perfil do tipo A : representação de $\log k_2$ em função do pH	15
Figura 2	Perfil do tipo B: representação de $\log k_2$ em função do pH	16
Figura 3	Perfil do tipo C: representação de $\log k_2$ em função do pH	17
Figura 4	Perfil do tipo D: representação de $\log k_2$ em função do pH	17
Figura 5	Logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre 3-hidroxi-2-butanona e hidroxilamina (O) em presença de ácido bórico 0,1 M (x) e CaCl_2 0,1 M (\square)	35
Figura 6	Gráfico de Brønsted para a etapa de desidratação da reação de 3-hidroxi-2-butanona e hidroxilamina, utilizando-se diferentes catalisadores, em água $25,0 \pm 0,1$ °C, $\mu = 1,0$ (KCl)	38
Figura 7	Efeito da concentração de íons cálcio na etapa de desidratação a pH 7,5 e 8,5 na reação entre 3 -hidroxi-2 butanona (0,01M) e hidroxilamina (0,1M) em água, $\mu = 1,0$ (KCl).	43
Figura 8	Espectro UV-VIS do complexo acetoína- Ca^{2+} (a) e da acetoína (b)	45
Figura 9	Espectro de UV-VIS da oxima formada da reação de 3-hidroxi-2-butanona (0,1M) e hidroxilamina ($1,6 \times 10^{-3}$ M) a pH 9,05 na presença de CaCl_2 (a) e na ausência (b).	45
Figura 10	Espectro de IV da acetoína em filme.	46
Figura 11	Espectro de IV do complexo acetoína - Ca^{++} em filme.	46
Figura 12	Espectro de ^1H NMR da acetoína em clorofórmio deuterado.	47
Figura 13	Espectro de ^1H NMR do complexo acetoína - Ca^{++} em clorofórmio deuterado.	47
Figura 14	Logaritimos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre hidroxilamina e 2,3-butanodiona na ausência (O) em presença de ácido bórico 0,01M (x).	
Figura 15	Gráfico de Brønsted para a etapa de desidratação da reação de 2,3-butanodiona e hidroxilamina utilizando-se diferentes	

	catalisadores em água $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, $\mu = 1,0$ (KCl).	53
Figura 16	Logaritimos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre 2,3-butanodiona em excesso e hidroxilamina na ausência (O) em presença de ácido bórico 0,025 M (x).	59
Figura 17	Logaritimos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre 2,2 -dimetil-3-hidroxi-propionaldeído e hidroxilamina na ausência (O) e em presença de ácido bórico 0,02M (x).	63
Figura 18	Gráfico de Brønsted para a etapa de ataque da reação de 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído e hidroxilamina utilizando-se diferentes catalisadores em água $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, $\mu = 1,0$ (KCl).	66
Figura 19	Logaritimos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre hidroxilamina e diacetilmonoxima (O).	71
Figura 20	Logaritimos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre hidroxilamina e 2-butanona (O)	75
Figura 21	Logaritimos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre hidroxilamina e excesso de diacetila (□), diacetila (□), 2-butanona (□), diacetilmonoxima (□) e acetoina (□).	83

Índice de Tabela

Tabela 1	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona	34
Tabela 2	Constantes de velocidade de segunda ordem para a reação entre 3-hidroxi-2-butanona com hidroxilamina em presença de diferentes concentrações de tampões	36
Tabela 3	Constantes catalíticas para a etapa de desidratação da reação de hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona	37
Tabela 4	Constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro a partir da hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona	38
Tabela 5	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH, para a reação de hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona, em presença de ácido bórico 0,01M	40
Tabela 6	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona em presença de CaCl_2 0,1 M	41
Tabela 7	Constantes de velocidade observadas para a reação entre 3-hidroxi-2-butanona e hidroxilamina em presença de íons cálcio a diferentes pHs	42
Tabela 8	Constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro a partir da hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona em presença de 0,1M de CaCl_2^a	44
Tabela 9	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,3-butanodiona	49
Tabela 10	Constantes de velocidade de segunda ordem para a reação entre 2,3-butanodiona com hidroxilamina em presença de diferentes concentrações de tampões	51
Tabela 11	Constantes catalíticas para a etapa de desidratação da reação de hidroxilamina e 2,3-butanodiona	52
Tabela 12	Constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro a partir da hidroxilamina e 2,3-butanodiona	54

Tabela 13	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,3-butanodiona em presença de ácido bórico 0,01 M	55
Tabela 14	Constantes de velocidade da reação entre hidroxilamina e 2,3-butanodiona em diferentes concentrações de DMSO(dimetilsufóxido)	56
Tabela 15	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina (3.3×10^{-4} M) e 2,3-Butanodiona	58
Tabela 16	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,3-Butanodiona em presença de ácido bórico 0,025 M	60
Tabela 17	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído	61
Tabela 18	Constantes de velocidade de segunda ordem para a reação entre 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído com hidroxilamina em presença de diferentes concentrações de tampões	64
Tabela 19	Constantes catalíticas para a etapa de ataque da reação de hidroxilamina e 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído	65
Tabela 20	Variação da absorvância da 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído ($\lambda = 285\text{nm}$) em função da concentração da hidroxilamina [N]	67
Tabela 21	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído em presença de ácido bórico 0.02 M	68
Tabela 22	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e diacetilminoxima	70
Tabela 23	Constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro a partir da hidroxilamina e diacetilmonoxima	72
Tabela 24	Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e butanona	74
Tabela 25	Variação da absorvância da butanona ($\lambda = 264\text{ nm}$) em função da concentração da hidroxilamina [N]	76
Tabela 26	Condições experimentais, relação entre o tipo de perfil e constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro na reação entre diferentes compostos carbonílicos e hidroxilamina	78

	hidroxilamina	79
Tabela 28	Constantes catalíticas para a etapa de desidratação da reação entre hidroxilamina e diferentes compostos carbonílicos	80
Tabela 29	Constantes de equilíbrio e constantes de velocidade catalisadas pelo íon hidrônio, pelo íon hidróxido e espontânea para a etapa de desidratação do aminoálcool formado a partir de diferentes compostos carbonílicos e hidroxilamina	81

1 - Introdução

1.1 - Importância do tema

O tratamento térmico em alimentos ricos em açúcares redutores pode resultar na reação de Maillard ou escurecimento não-enzimático. Esta reação ocorre entre açúcares e aminoácidos, peptídios ou proteínas, produzindo mudança na cor, aroma, propriedades funcionais e no valor nutricional dos alimentos.¹ É uma reação muito importante para o aparecimento de pigmentos e para a formação de numerosos compostos heterocíclicos responsáveis pelo sabor em alimentos elaborados e, de uma maneira direta, está ligada à qualidade dos alimentos.²⁻⁵

A reação de Maillard recebe este nome do químico francês Louis Camille Maillard (1878-1936) porque foi quem primeiro observou esta reação entre glicina e glicose.⁶

Toda pesquisa em reações de escurecimento utilizando sistemas modelo publicada desde 1940 envolve reações do grupo carbonila com compostos contendo o grupo amino.

Na literatura, as reações de amino-açúcares envolvem muitas e diferentes etapas, que, se sabe, ocorrem durante o escurecimento.⁷

Nos alimentos, temos duas transformações químicas envolvendo carboidratos que merecem destaque pela sua frequência e pelos seus efeitos: a reação de Maillard com degradação de Strecker e a caramelização. Em ambos os casos, ocorre degradação dos carboidratos. A reação de Maillard se dá com a intervenção de aminoácidos e açúcares redutores, enquanto que a caramelização, com açúcares redutores e não-redutores, sem a necessidade de aminoácidos.⁸

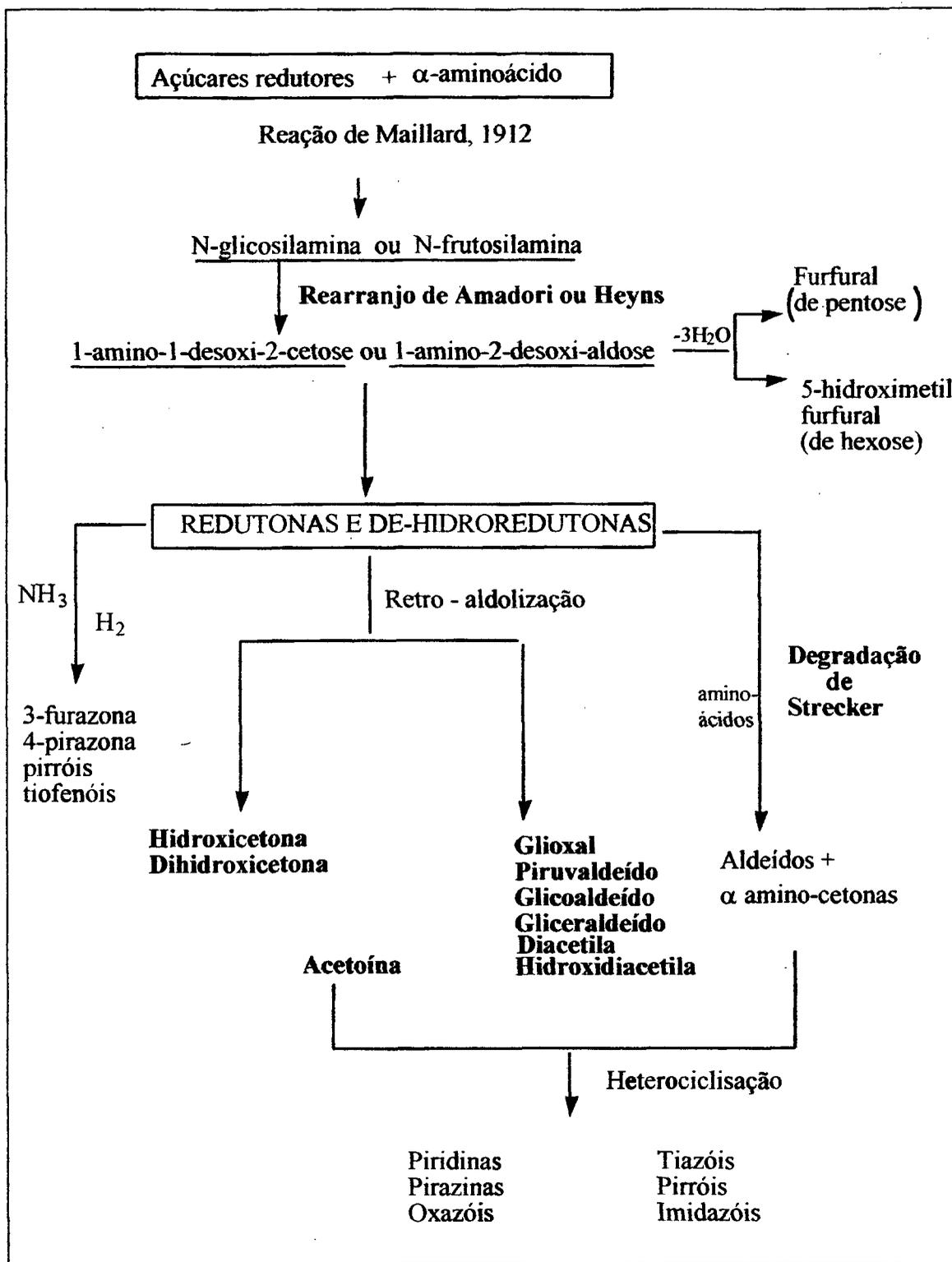
Quando a transformação é devida à reação de Maillard, formam-se produtos voláteis responsáveis pelo odor característico e que provêm, em grande parte, da degradação de Strecker.³

A reação de Maillard, apesar de ser chamada de "escurecimento não-enzimático", é diferente da reação de escurecimento produzida por enzimas comuns em plantas, as peroxidases, que atuam sobre compostos fenólicos (polifenóis), formando produtos de intensa coloração escura.⁹

1.1.1 Química da Reação de Maillard

A reação de Maillard consiste em vários processos interligados. Hodge⁷ integrou várias informações em um esquema simplificado (Esquema 1), descrevendo as principais etapas da reação de Maillard, que são:

- i) formação de bases de Schiff instáveis, que rapidamente se isomerizam em aldossilaminas através do rearranjo de Amadori ou Heyns;
- ii) formação de numerosos derivados carbonílicos e policarbonílicos insaturados (redutonas e desidrorredutonas), alguns destes podendo reagir com aminas e aminoácidos através da degradação de Strecker; e
- iii) a formação de heterocíclicos contendo como heteroátomo nitrogênio, oxigênio ou enxofre.



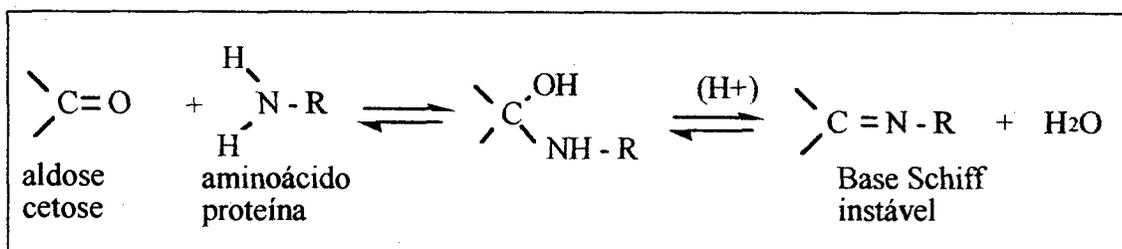
Esquema 1 - Principais etapas da reação de Maillard.⁷

1.1.2 - Etapas da Reação

a) Condensação de Maillard e Rearranjo de Amadori

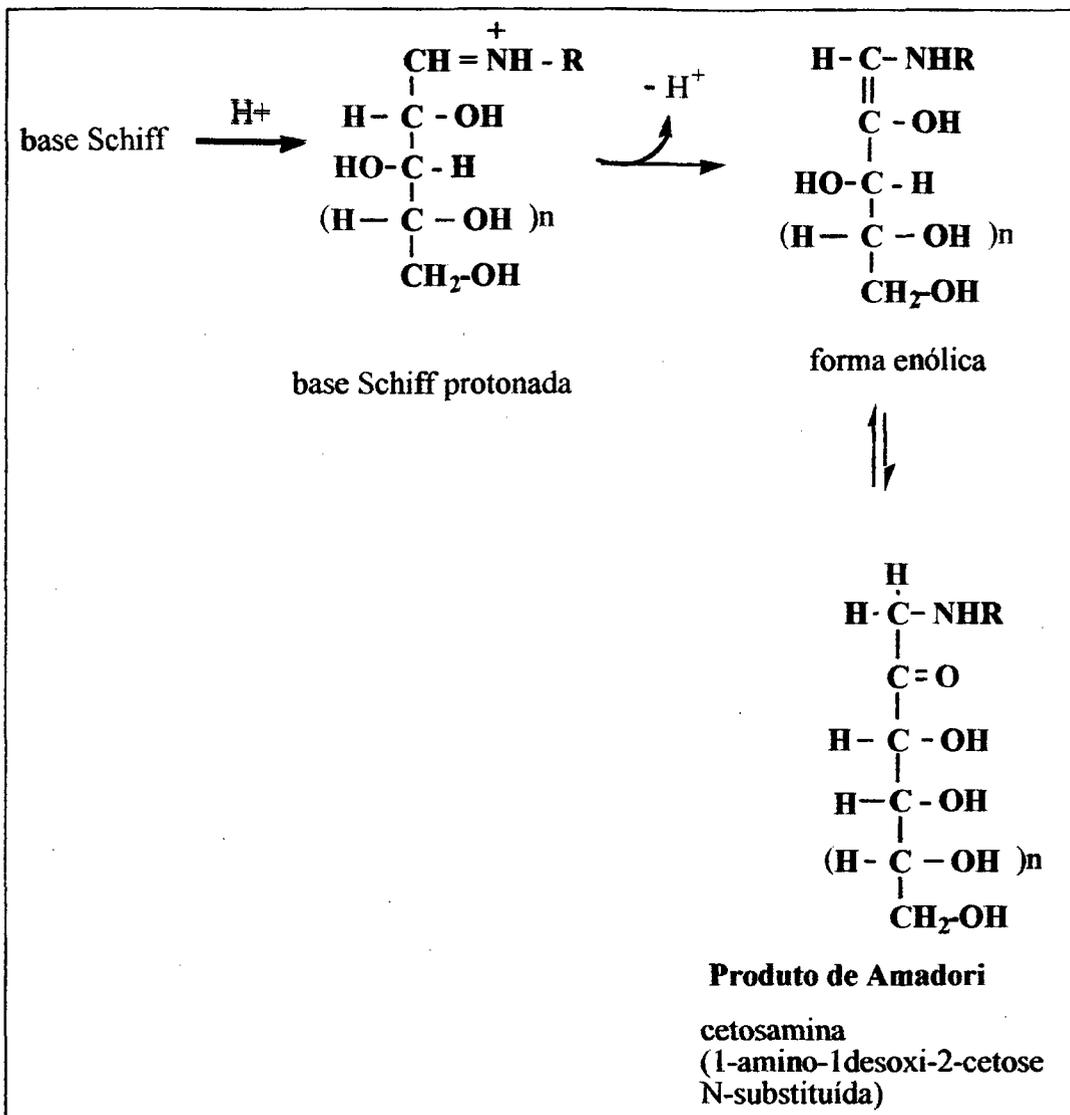
A primeira etapa desta reação ocorre através de uma simples condensação entre um grupo amino não ionizado e o grupo carbonílico de um açúcar redutor.

O produto da condensação, a N-glicosilamina correspondente, perde rapidamente uma molécula de água e, assim, é convertido em uma base de Schiff instável (Esquema 2). No caso de uma aldose, a base de Schiff isomeriza-se rapidamente em cetosamina N-substituída e, no caso de uma cetose, em aldossilamina N-substituída.



Esquema 2 - Etapa inicial da Reação de Maillard.

A reação é reversível e a glicosilamina pode ser hidrolizada em solução aquosa restituindo os componentes de partida. As glicosilaminas derivadas de aminas mostram certa estabilidade, enquanto as formadas a partir de aminoácidos são extremamente difíceis de serem isoladas, pois o intermediário é imediatamente convertido através de seu rearranjo em cetosamina, também conhecido como produto de Amadori^{10,11} (Esquema 3).

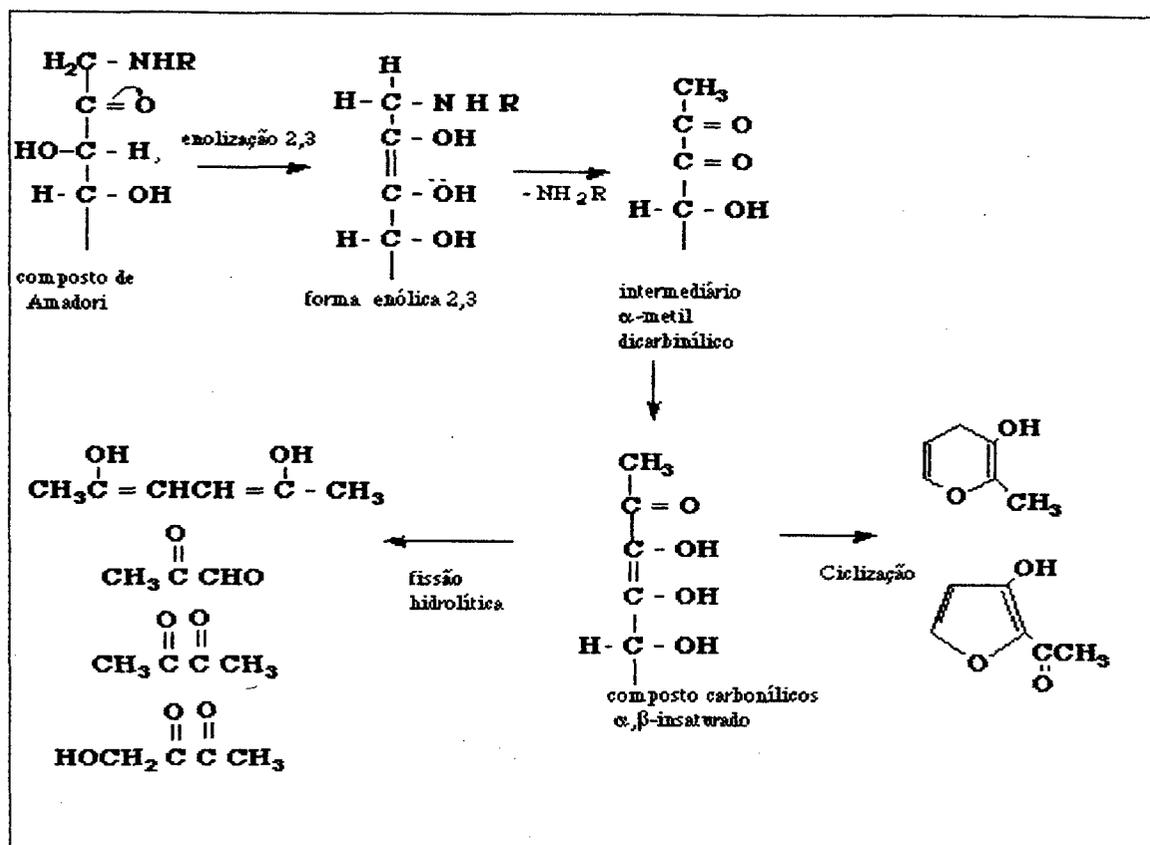


Esquema 3 - Formação dos compostos de Amadori nas etapas iniciais da reação de Maillard.⁷

A degradação do composto de Amadori via enolização 1,2 constitui a rota predominante em condições ácidas. Em condições levemente alcalinas e em presença de aminas secundárias fortemente básicas, a degradação do composto de Amadori ocorre via enolização 2,3.

A enolização 2,3 é irreversível e o composto de Amadori, por β -eliminação do grupo amino do C_1 , forma intermediários metil α -dicarbonílicos. A enolização rápida deste intermediário dicarbonílico instável dá origem a produtos carbonílicos α,β -

insaturados (redutonas, compostos *O*-heterocíclicos), isto é, produtos-chaves para as reações subseqüentes e degradações de grande importância para as transformações dos atributos característicos dos alimentos⁵ (Esquema 4).

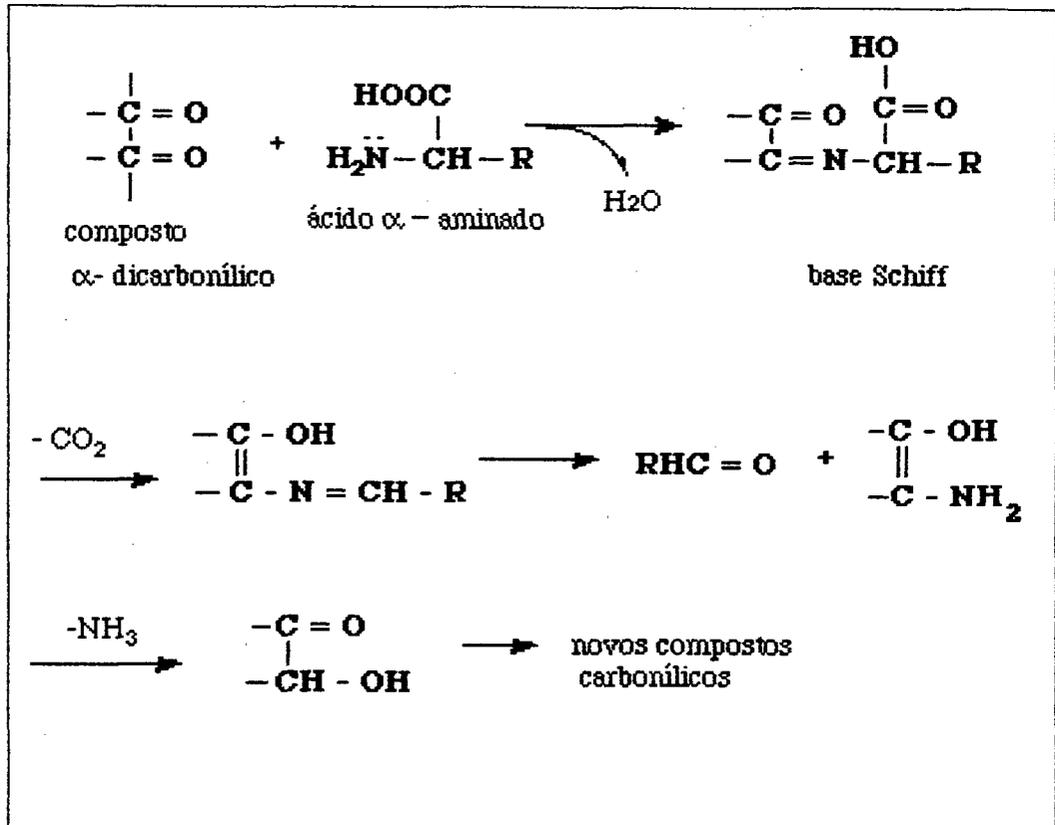


Esquema 4 - Degradação dos compostos de Amadori.

Reações intermediárias, como as eliminações no C_4 , que ocorrem posteriormente à formação do produto de Amadori, mas antes da hidrólise da base de Schiff, sofrem uma ciclodesidratação com perda de duas ou três moléculas de água para formação de furfural e redutonas. Nesta etapa também ocorre uma fissão por aldolização com formação de compostos dicarbônicos insaturados como glioxal, diacetila, piruvaldeído e outros¹² conforme já apresentado no esquema 1.

b) Degradação de Strecker

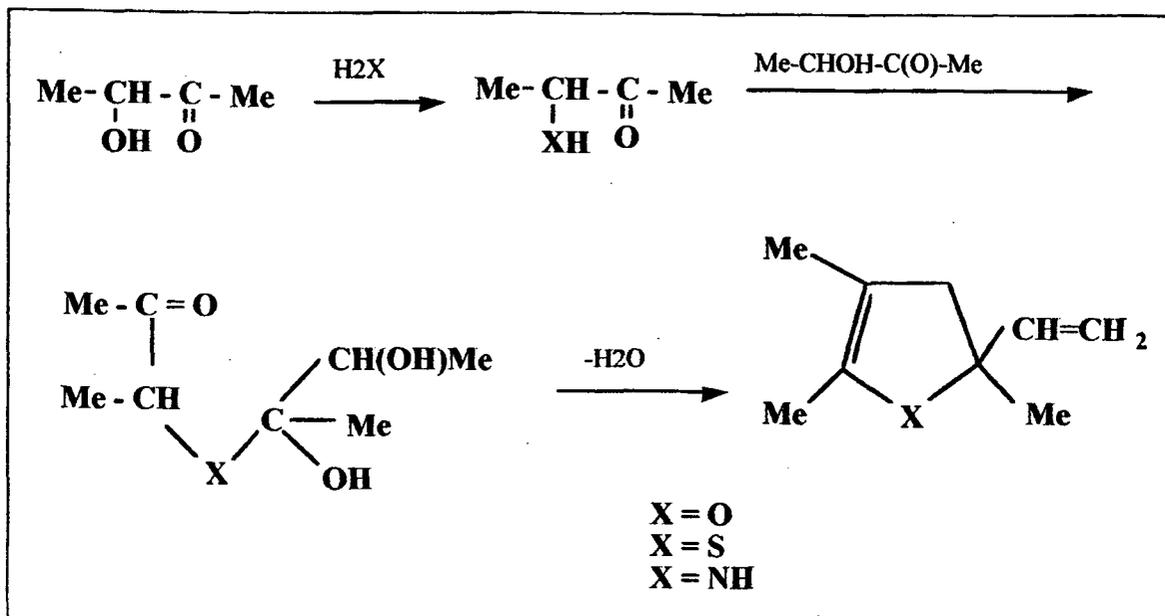
Os compostos α,β -dicarbonílicos, ao se formarem como resultantes da decomposição de cetosaminas, podem reagir com o grupo α -amino de um aminoácido para formar uma base de Schiff (Degradação de Strecker).⁷



Esquema 5 - Degradação de Strecker.

Os aldeídos derivados da degradação de Strecker são compostos com importante repercussão sobre o sabor e aroma dos alimentos. A degradação de Strecker tem sido muito usada para produção de aromas de pão, chocolate e mel.^{13,14}

Vernin e col.², utilizando sistemas modelos, mostraram a diversidade dos vários produtos obtidos de reações envolvendo acetoína (intermediário da reação de Maillard), e obtiveram uma variedade de compostos heterocíclicos contendo oxigênio, enxofre e nitrogênio, responsáveis pelo sabor em alimentos (Esquema 6).



Esquema 6 - Compostos heterocíclicos com anel de cinco membros obtidos a partir de sistemas modelos de acetoína-sulfeto de amônia.²

c) Etapas finais da reação

Durante as reações finais, os derivados policarbonílicos insaturados, produtos da etapa intermediária, podem reagir entre si com aldeídos ou com as substâncias amínicas, produzindo diversos compostos com aromas agradáveis ou não.^{13,14}

Os derivados policarbonílicos sofrem reações de polimerização com aparecimento de pigmentos solúveis ou insolúveis, pardos ou negros - as melonoidinas-, de estrutura muito complexa e de elevada massa molar.¹⁵

1.1.3 - Alguns fatores que afetam a velocidade da Reação de Maillard

a) Efeito das espécies reagentes

Compostos de baixo peso molecular tendem a ser mais reativos do que os compostos de alto peso molecular. O efeito da estrutura do açúcar sobre o grau de escurecimento foi observado por Maillard^{6,15}. Desta forma, aldopentoses são geralmente mais reativas do que aldohexoses, e monossacarídeos são mais reativos do que di- e

oligossacarídeos. Aldoses, em geral, parecem ser mais reativas que cetoses, aparentemente devido ao maior impedimento estérico do grupo carbonila da cetose.

Por exemplo, a glicose é mais reativa do que a lactose e a velocidade de escurecimento em lactose hidrolizada no leite em pó é grande quando comparada com a velocidade em leite não hidrolizado. Desta maneira, a velocidade de destruição da lisina é mais rápida em produtos de leite nos quais a lactose foi hidrolizada ou substituída por glicose.¹⁶

A velocidade de escurecimento está relacionada com a quantidade de forma acíclica que cada açúcar tem em solução, já que depende da presença de grupos carbonilas para reagir com o nucleófilo.¹³

A natureza da molécula do aminoácido também afeta a velocidade da reação de escurecimento. Por exemplo, a lisina é mais reativa do que outros aminoácidos devido à presença do grupo ϵ -amino.¹⁷ Naturalmente as velocidades relativas são afetadas pelo pH, dependendo do ponto isoelétrico de cada aminoácido.

b) Efeito do pH

O efeito do pH sobre o escurecimento de Maillard é muito significativo, verificando-se muito pouco ou praticamente nenhum escurecimento em solução de pH 6,0 ou inferior. A faixa ideal fica em torno de 7,8 - 9,2.^{15,18}

Tanto o pH dos reagentes e dos produtos, quanto a capacidade tampão do sistema influenciam na velocidade e caminho da reação. A velocidade de escurecimento é baixa a valores de pH ácido e aumenta com o aumento de pH, atingindo um máximo a pH ~10. A diminuição da velocidade a valores de pH acima de 10 poderia ser devido à deficiência de íons H^+ , que são necessários para catalisar ambos os rearranjos de Amadori e Heyns.¹⁸⁻²¹

A degradação de compostos de Amadori, que pode seguir rotas diferenciadas, também é influenciada pelo valor do pH. Contudo, é sabido que durante esta reação o pH do sistema decresce devido ao desaparecimento de grupos amino básicos.

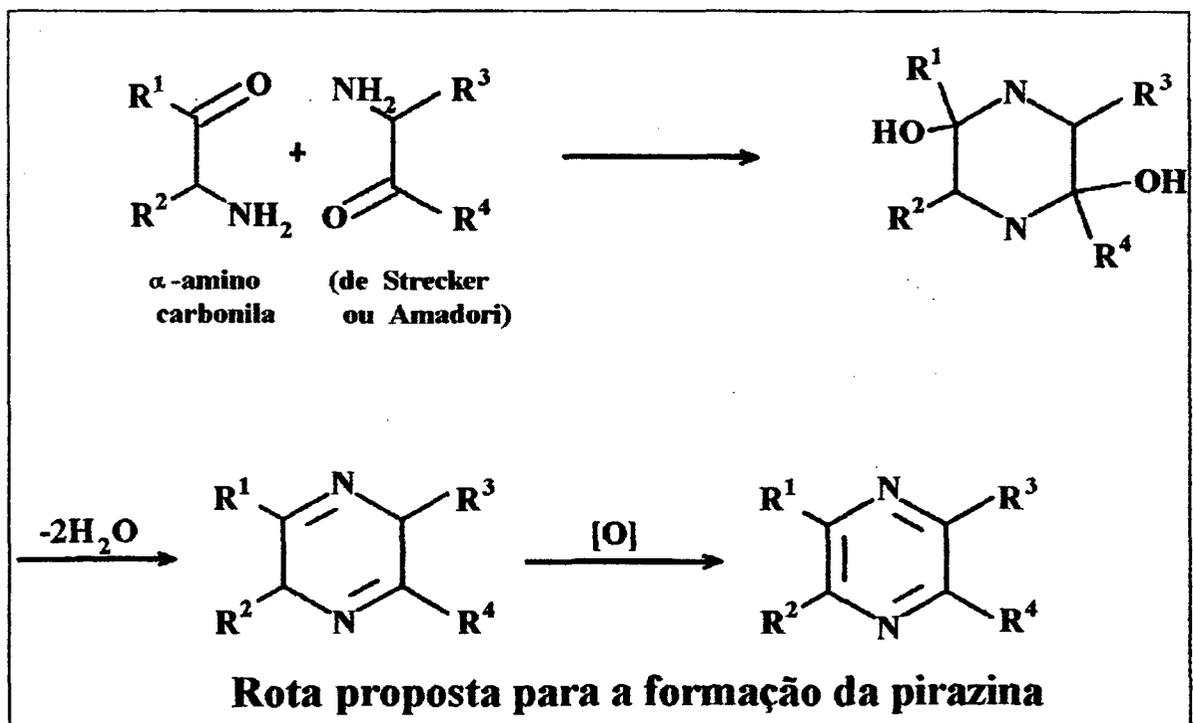
c) Efeito da temperatura

Embora a reação de Maillard possa ocorrer a temperatura ambiente ou mais baixa, o aumento da temperatura acelera a velocidade da reação. Isto está bem demonstrado em

numerosos trabalhos sobre processo e armazenagem de alimentos sobre várias condições.²²⁻²⁴

Em temperaturas comumente encontradas na armazenagem de alimentos, a reação de Maillard segue até a degradação de Strecker, quando são produzidos furfural, hidroximetilfurfural (HMF), compostos α -dicarbonílicos, redutonas e de-hidrorredutonas, podendo posteriormente gerar as melanoidinas.^{13,15}

A alta temperatura aplicada em alguns alimentos processados origina o desenvolvimento da reação de Maillard, seguida da degradação de Strecker. Após esta etapa são produzidos produtos da fragmentação de açúcares, assim como pirazinas, que se combinam para produzir aromas associados a alimentos cozidos.^{3,13,14}

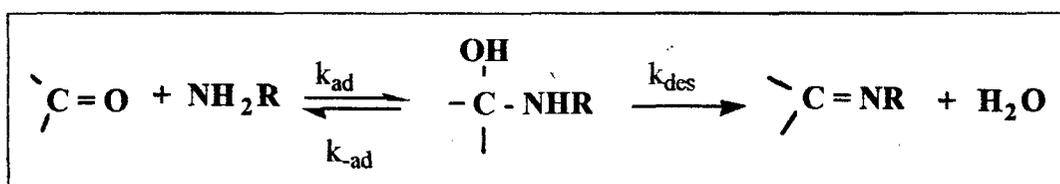


1.2 - Mecanismo da Reação de Compostos Carbonílicos e Bases Nitrogenadas

A cinética do processo de interação de carbonilas de aldeídos e cetonas com compostos nitrogenados - aminas, hidroxilaminas e semicarbazidas - tem sido bastante estudada desde o trabalho de Conat e Bartlet em 1932, quando foi evidenciada, por medidas espectrofotométricas, a formação do composto de adição entre carbonilas com hidroxilaminas e semicarbazidas.²⁵

A reação de aminas com compostos carbonilados pode ser classificada como uma reação de adição nucleofílica da amina à dupla $>C=O$, sendo que o ataque do agente nucleofílico se dá no carbono da carbonila. Este carbono é deficiente de elétrons devido à ligação com o oxigênio, elemento mais eletronegativo, que polariza os elétrons da ligação dupla.²⁶

A reação entre nucleófilos nitrogenados com compostos carbonílicos ocorre por um mecanismo que envolve duas etapas (Equação 1). A primeira, denominada reação de ataque, é aquela em que o reagente nitrogenado adiciona-se à carbonila, formando um composto intermediário tetraédrico (T^0), etapa determinante da velocidade de reação em meio ácido (k_{ad}). A segunda etapa, denominada reação de desidratação, é aquela em que o intermediário de adição formado desidrata-se, dando origem ao produto de condensação, etapa determinante da velocidade de reação em meio alcalino e neutro (k_{des}).²⁶⁻³⁰



(eq.1)

Uma inflexão do perfil de velocidade de reação em função do pH reflete esta mudança de etapa lenta sob diferentes condições de pH.²⁷⁻³⁰

A etapa de formação do intermediário neutro pode ser catalisada por ácido ou não catalisada, enquanto que a etapa de desidratação possui três regiões distintas: região catalisada por ácido, não catalisada e catalisada por base. Podemos observar ainda que pode existir catálise ácida ou básica de acordo com tampões adicionados.²⁷⁻³²

Pesquisadores,³³⁻³⁶ estudando a reação de formação de fenilhidrazonas, constataram que esta reação também se realizava em duas etapas: i) reação de ataque, que é etapa determinante da velocidade da reação a pH ácido, conduzindo à formação de um

intermediário neutro de adição; e ii) a desidratação deste, etapa determinante da reação a pH neutro e alcalino, dando origem à fenilhidrazona.

Verificaram também que a reação de ataque e a reação de desidratação são susceptíveis à catálise ácida pelo íon hidrônio, e ainda que a reação de ataque é bastante sensível à catálise ácida geral, enquanto que a reação de desidratação apresenta pequena sensibilidade a este tipo de catálise.

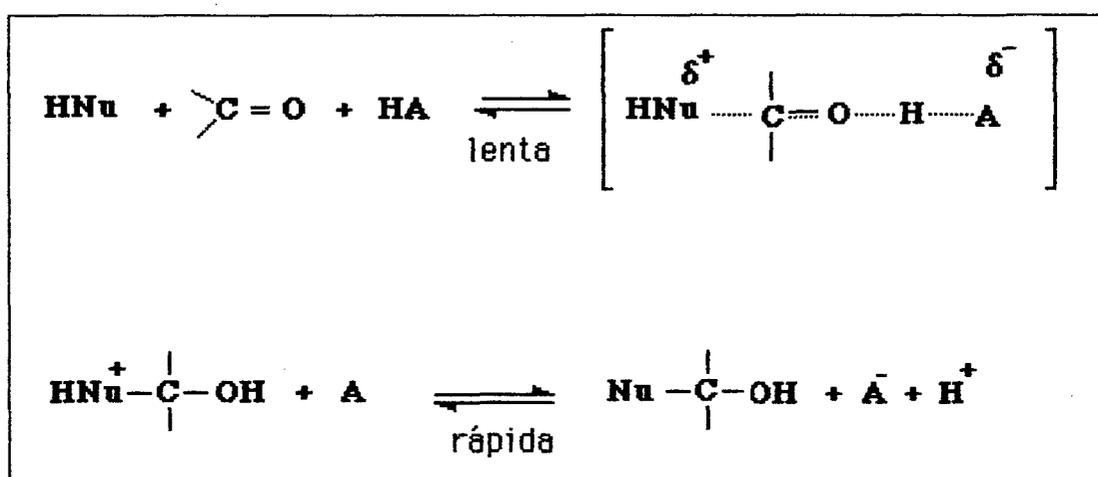
1.2.1 Etapa de Ataque

Mecanismo da reação de ataque

Para o ataque de reagentes nucleofílicos fortes, pouca ou nenhuma catálise é observada, enquanto que, para reagentes nucleofílicos mais fracos, é observada catálise ácida geral.^{26,28}

Em estudos feitos sobre a reação entre semicarbazida e aldeídos e cetonas foi observada a presença de catálise ácida geral.³⁷ Observou-se também que o ataque catalisado de nucleófilos nitrogenados como a semicarbazida ao grupo carbonila de uma série de benzaldeídos substituídos ocorre através de catálise ácida geral observada experimentalmente.³⁰

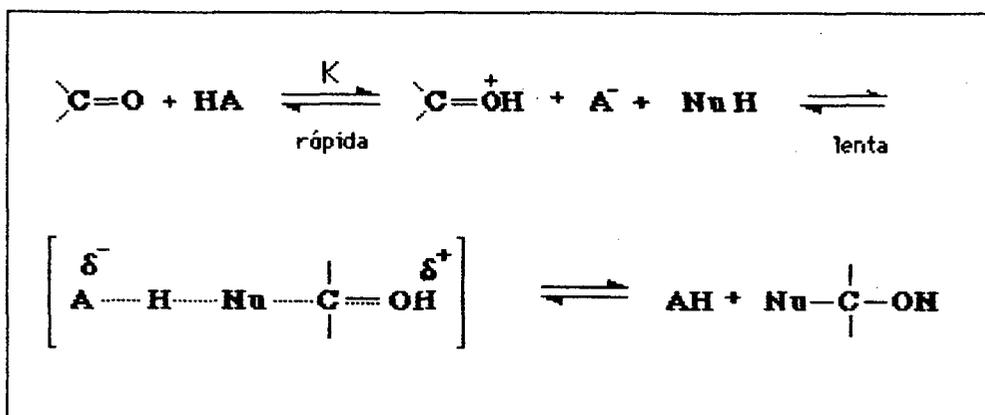
A catálise ácida geral, observada experimentalmente, é cineticamente indistinguível da catálise básica geral associada à catálise ácida específica, embora mecanisticamente haja grande diferença entre ambas.³⁰ O mecanismo da equação 2 envolve uma verdadeira catálise ácida geral, em que ocorre a doação de próton por um ácido à carbonila para auxiliar a adição do nucleófilo na reação direta.



Catálise ácida geral

(eq.2)

O mecanismo de catalise ácida específica-básica geral, equação 3, envolve catálise ácida específica em um pré-equilíbrio, isto é, uma transferência de próton à carbonila, deixando-a mais eletrofílica, seguida de catálise básica geral, em que a base remove o próton do nucleófilo quando este ataca a carbonila.³⁸



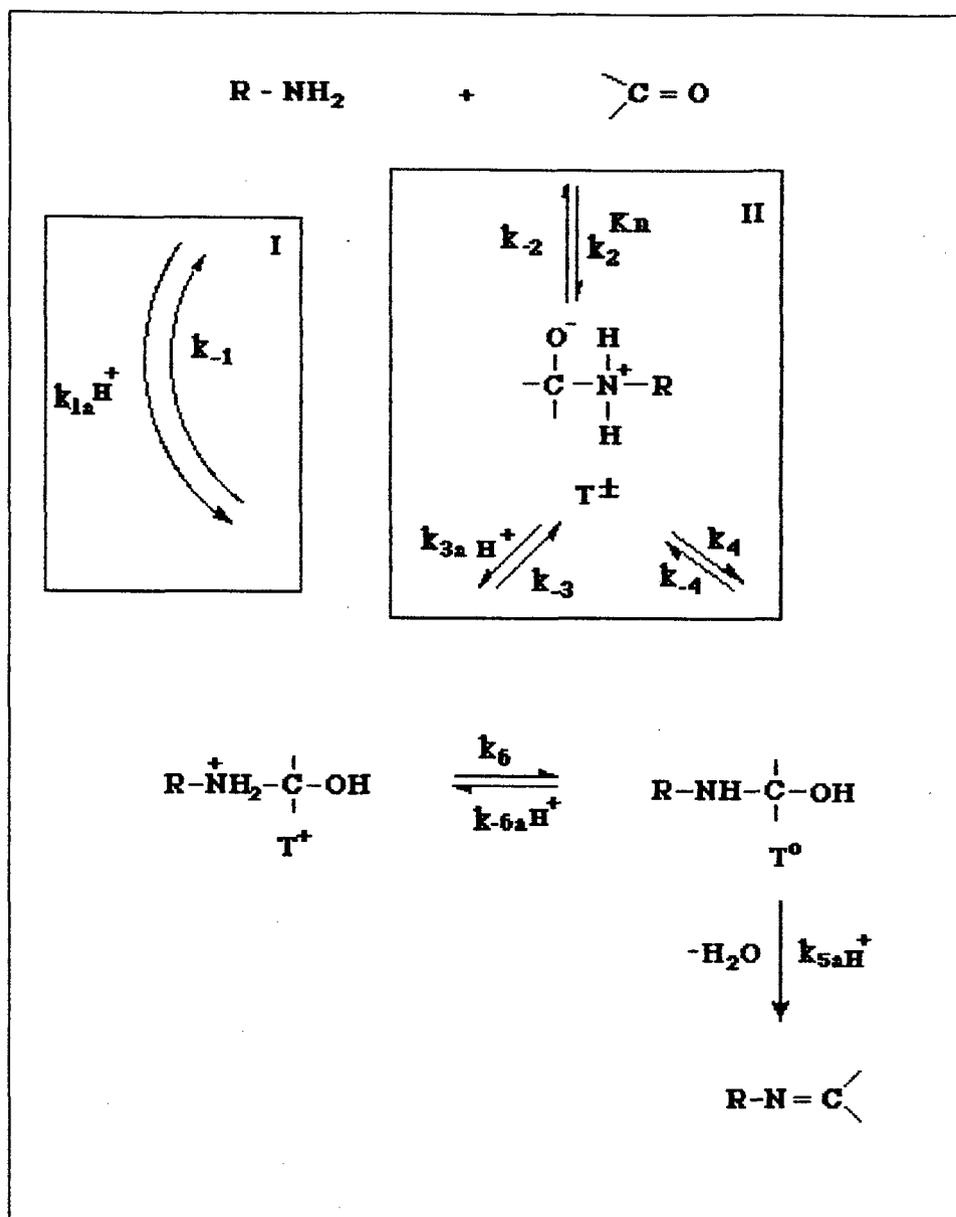
Catálise ácida específica - básica geral

(eq.3)

Sayer e Jencks³⁹ propõem que a etapa de ataque catalisada por ácido pode ser efetuada por dois diferentes mecanismos:

I) "Mecanismo Concomitante", no qual a formação da ligação C-N ocorre juntamente com a protonação do oxigênio carbonílico, formando um intermediário catiônico (T^+) que, posteriormente perde um próton e dá origem ao intermediário neutro (T^0).

II) "Mecanismo por Etapas", através do qual se obtém inicialmente a formação da ligação C-N, dando origem a um intermediário zwitteriônico (T^\pm), que, posteriormente, através de uma transferência de próton intramolecular ou a partir de um ácido, dá origem ao intermediário neutro (T^0) (Esquema 7).



Esquema 7 - Mecanismos propostos para etapa de ataque catalisado por ácido.³⁹

Sayer e col.⁴⁰ formularam um mecanismo geral para a formação de intermediário tetraédrico a partir de compostos carbonílicos e nitrogenados nucleofílicos. Para aminas ligeiramente básicas ou aminas e aldeídos que apresentam valores de constante de equilíbrio - K_{ad} pequenos - para a formação do intermediário neutro, predomina o mecanismo “concomitante”, enquanto que, para aminas mais fortemente básicas ou aminas e aldeídos com maior valor de K_{ad} , o intermediário (T^\pm) formado pelo mecanismo “por etapas” é estabilizado, favorecendo, portanto, este mecanismo.

Em estudos de reação de metoxiamina e benzaldeídos substituídos, observa-se a presença de ambos os mecanismos: “concomitante” e “por etapas”.^{40,41} Uma das razões para prever se uma reação seguirá o mecanismo “concomitante” ou “por etapas” está fundamentada na estabilidade de (T^+) e (T^\pm) relativos ao estado de transição. A estabilidade de (T^\pm) aumenta com o aumento do pK_a da amina ou com o aumento da constante de equilíbrio para a formação do intermediário neutro.⁴⁰

Foi proposto por Yunes e col.⁴² que a estabilidade do intermediário tetraédrico depende não somente da basicidade da amina e da constante de equilíbrio para a formação do intermediário neutro, como estabelecido por Sayer e col.⁴⁰, como depende também dos efeitos eletrônicos, conformacionais e ponte de hidrogênio.

O perfil de velocidade de $\log k_2$ (constante velocidade de segunda ordem) em função do pH depende das magnitudes dos dois tipos de mecanismos mencionados, sendo que a não linearidade da lei cinética significa mudança da etapa determinante da velocidade de reação. Estes perfis de velocidade determinados experimentalmente podem ser classificados como⁴⁰:

Perfil tipo A - É observado se o mecanismo “por etapas” (II) para a formação catalisada por ácido do intermediário de adição não é favorecido sobre o mecanismo “concomitante” (I). Neste caso, o mecanismo “concomitante” é a única rota significativa para catálise pelo íon hidrônio da etapa de adição. Neste tipo de perfil, observa-se apenas uma quebra a valor de pH mais alto. A reação que independe do pH ocorre através de transferência de próton mediada pelo solvente ($K_n k_4$), onde $K_n = k_2/k_{-2}$ envolve a isomerização de (T^\pm) a (T^0). A valores mais altos de pH, a etapa de desidratação torna-se determinante da velocidade da reação ($K_{ad} k_5$).⁴⁰

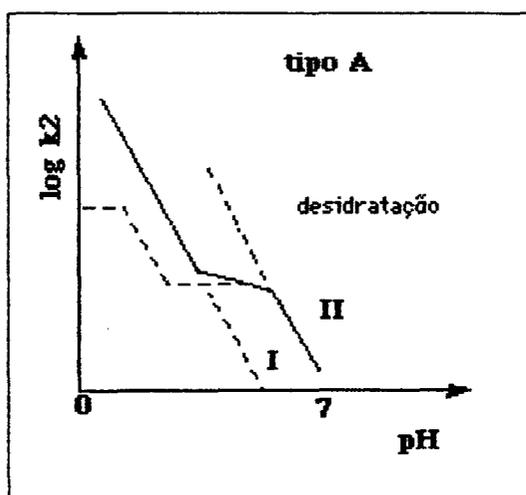


Figura 1 - Perfil do tipo A : representação de $\log k_2$ em função do pH.⁴⁰

Perfil do tipo B - A valores de pH muito baixo, o mecanismo "concomitante" (I) é a etapa determinante da velocidade. Aumentando-se o pH ocorre a primeira inflexão que reflete a mudança na etapa determinante da velocidade do ataque não catalisado (k_2/k_{-2}) para uma transferência de próton catalisada pelo íon hidrônio ($K_H k_3$). Uma segunda inflexão é observada neste tipo de perfil e igualmente reflete uma mudança na etapa determinante de velocidade. Dessa vez, a etapa lenta deixa de ser a transferência de prótons mediada pelo solvente ($K_H k_4$) para ser a desidratação do intermediário de adição, catalisada pelo íon hidrônio ($K_{ad} k_5$). Portanto, existem neste perfil duas inflexões e cinco regiões distintas correspondentes a cinco constantes de velocidade cineticamente significativas. Este tipo de perfil é observado quando catálise pelo hidrônio via mecanismo "por etapas" (II) é significativa em relação ao mecanismo "concomitante" (I).⁴⁰

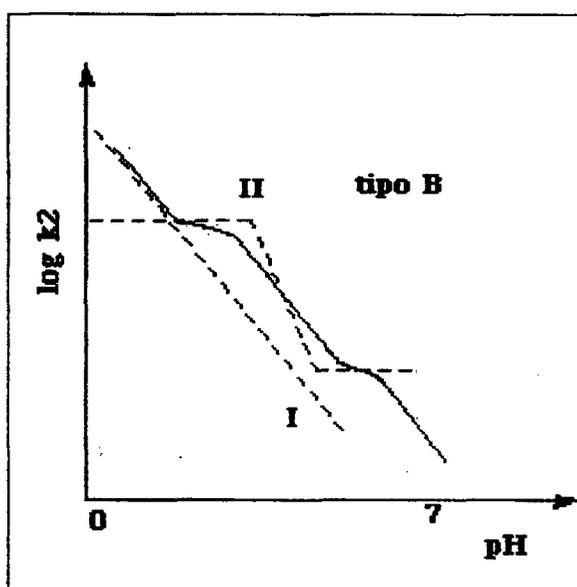


Figura 2 - Perfil do tipo B: representação de $\log k_2$ em função do pH.⁴⁰

Perfil do tipo C - É observado se o mecanismo "por etapas" para a formação do intermediário neutro catalisado pelo íon hidrônio é ainda mais predominante, de maneira que $K_H k_3$ seja maior que a constante de desidratação catalisada pelo íon hidrônio. Neste caso, a transferência de próton que interconverte (T^\pm) a (T^0) é rápida e este processo nunca se torna cineticamente significativo. A única mudança na etapa determinante da velocidade de reação que é observada é a transição do ataque não catalisado para a desidratação catalisada pelo íon hidrônio com o aumento de pH.⁴⁰

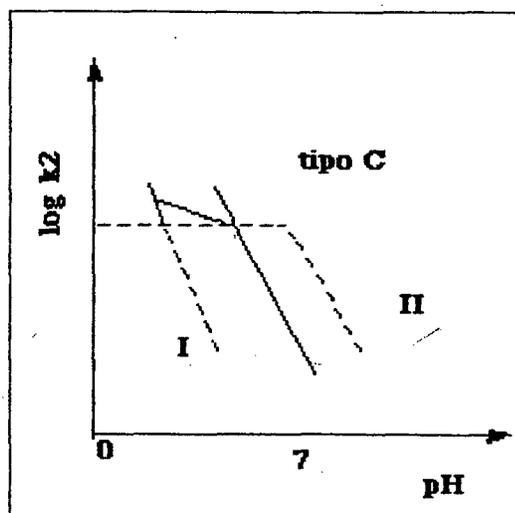


Figura 3 - Perfil do tipo C: representação de $\log k_2$ em função do pH.⁴⁰

Perfil do tipo D - Este perfil foi observado para reações em que a etapa de desidratação é determinante da velocidade da reação em toda a faixa de pH estudada. Este perfil é esperado para aminas fortemente básicas; no entanto, o mesmo perfil também foi observado para reação entre fenilhidroxilamina e aldeídos aromáticos, em que o nucleófilo apresenta um comportamento especial^{43,44}. Do Amaral,⁴⁵ estudando a reação de formação de fenil-hidrazona, semicarbazona e oxima a partir do íon 2-,3- e 4-formil-1-metilpiridinium, também observou este tipo de perfil.

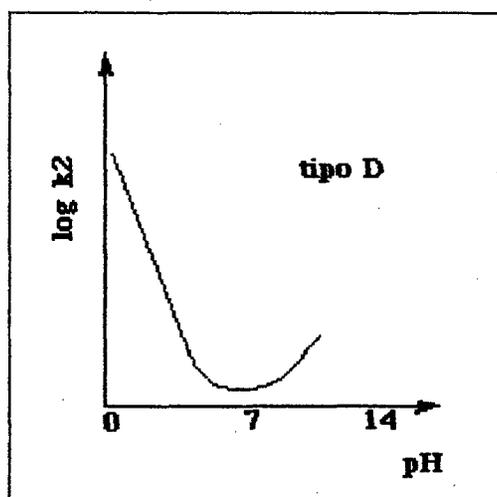


Figura 4 - Perfil do tipo D: representação de $\log k_2$ em função do pH.⁴⁰

Portanto, de uma maneira geral, foi considerado que aminas de moderada basicidade e moderada constante de equilíbrio para a formação do intermediário neutro

exibirão um perfil de velocidade do tipo B com duas inflexões negativas e cinco regiões cineticamente significativas. Diminuindo a basicidade da amina, diminuirá a estabilidade de (T^{\pm}) e o perfil de velocidade em função do pH mudará para o tipo A. Aminas mais fortemente básicas apresentarão um perfil do tipo C.⁴⁰ O perfil do tipo D é observado para aminas muito básicas, capazes de formar intermediários de adição estáveis ou aminas que apresentam comportamento especial como nucleófilos.⁴³⁻⁴⁵

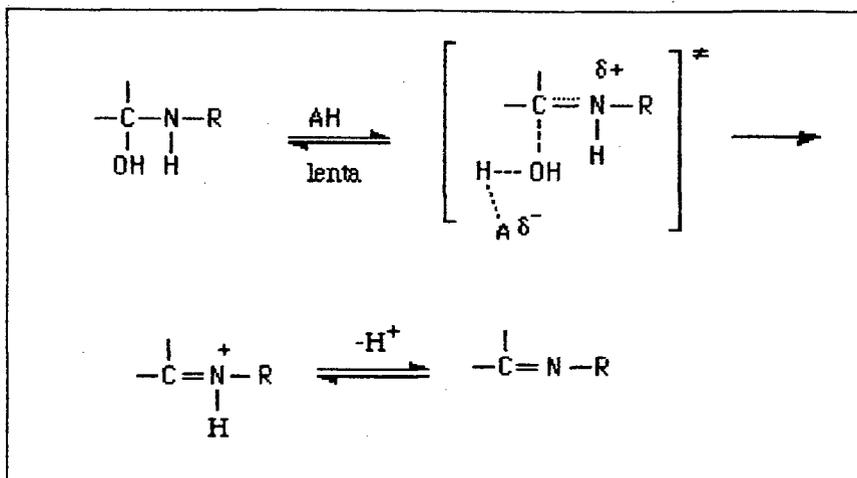
1.2.2 - Etapa de desidratação

Mecanismo da reação de desidratação

São muitos os pesquisadores^{30,46-48} que estudaram o mecanismo da desidratação do intermediário de adição entre compostos carbonílicos e nitrogenados. Pesquisaram sobre a hidrólise de bases de Schiff, reação inversa da desidratação, que ocorre na condensação de reagentes nitrogenados com compostos carbonílicos. Constataram que a hidrólise de tais compostos também se realiza em duas etapas, passando por um intermediário tetraédrico. A primeira etapa da reação, hidratação da dupla ligação $>C=N$, que conduz à formação do intermediário, é o inverso da segunda etapa, da condensação de reagentes nitrogenados com compostos carbonílicos. Pelo princípio da reversibilidade microscópica, ambas as reações passam pelo mesmo complexo ativado, e estão sujeitas à catálise ácido-básica.⁴⁹⁻⁵¹

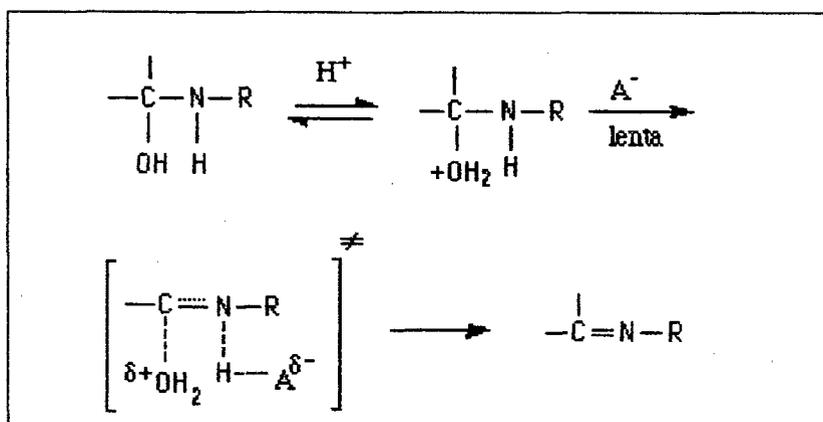
Na formação de nitronas e de oximas, a etapa de desidratação de ambas as reações é susceptível à catálise ácido geral observada experimentalmente, em que se constatou que o mecanismo é de verdadeira catálise ácido geral.^{49,52,53}

Por outro lado, a catálise ácido geral observada experimentalmente pode ser mecanisticamente catálise ácido geral, em que ocorre doação do próton ao grupo OH do intermediário neutro, tornando-o um melhor grupo de saída (Equação 4), ou pode ser ou catálise ácido específica-básica geral, em que a base remove o próton do nitrogênio do intermediário na etapa determinante da reação para ajudar na expulsão do grupo- OH_2^+ anteriormente protonado (Equação 5) em um pré-equilíbrio.



Catálise ácida geral

(eq.4)



Catálise ácida específica - básica geral

(eq.5)

Por sua vez, a catálise básica geral observada experimentalmente pode ocorrer através de um mecanismo de catálise básica geral ou catálise básica específica-ácida geral.³⁰

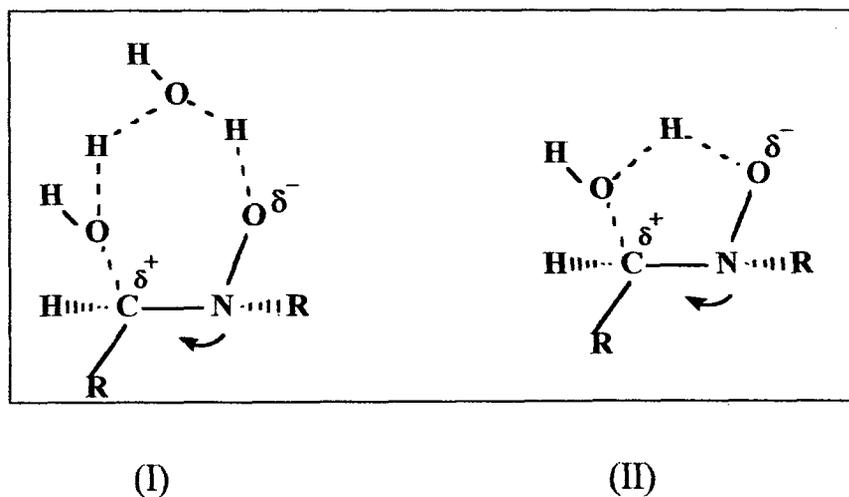
1. 2. 3 - Catálise intramolecular na etapa de desidratação

Na reação de desidratação espontânea, isto é, que independente do pH, a reação pode ser considerada como catalisada pela água. No entanto, quando o valor da constante catalítica da água, considerando que segue um mecanismo de catálise ácida geral, sofre um desvio positivo da linha de correlação de Bronsted, deve-se atentar para a existência de uma maior estabilização do estado de transição com respeito ao estado de transição da reação, o que corresponderia à água como catalisador ácido geral.^{48,54,55}

Cox e Jencks⁵⁶ obtiveram, para metoxiaminólise de acetato de fenila, uma constante catalítica para a água 100 vezes maior do que a correspondente à linha de correlação de Bronsted. Justificaram este resultado como uma catálise bifuncional provocada pela água através da formação de um anel de 7 membros ou, de um anel de 9 membros com duas moléculas de água (Estrutura I).

Do Amaral e col.⁵⁴, estudando a reação de formação de fenilhidrazona a partir de piridinocarboxaldeído, observaram que a transferência de próton no intermediário de adição tetraédrico ocorre intramolecularmente, ou através de uma molécula de água, com uma velocidade semelhante à controlada por difusão.

Yunes e col.⁴⁴, num de seus estudos, sugerem que a desidratação não catalisada do intermediário neutro formado a partir do furfural e fenil-hidroxilamina ocorre através de catálise intramolecular. A transferência de próton é realizada intramolecularmente como indicada na estrutura (II). Isto é razoável quando: i) a saída do grupo hidroxila como íon hidróxido está bastante avançada no estado de transição; e ii) a hidroxila ligado ao nitrogênio no intermediário deve ser mais ácida que a água.



1.2.4 - Efeito de íons metálicos

Íons de cobre e ferro são catalisadores efetivos da reação de Maillard a pH ácido, favorecendo o escurecimento, sendo que o Fe (III) é mais efetivo que o Fe (II), enquanto o magnésio parece inibir a reação de escurecimento.⁵⁷

Rendlemam⁵⁸ demonstrou que os produtos da reação de Maillard se ligam com íons metálicos em alimentos. Fatias de pão torradas preparadas com leite têm forte afinidade com cálcio e cobre, comparadas com torradas preparadas sem leite.

Ellis¹⁸ relata que em xarope de glicose o escurecimento não enzimático era inibido a valores de pH ácido e em presença de traços de cobre, ferro e zinco. O cobalto parece acelerar a reação, mas somente em solução ácida, e não tem nenhum efeito em solução neutra. Entretanto, foi evidenciado em trabalhos de Powel and Spark⁵⁹ que a troca de pH inibe a ação dos íons metálicos, tais como alumínio e zinco, em sistemas modelo com redução de pH.

A reação de Maillard também é acelerada pela presença de ânions como fosfato e citrato (encontrados em praticamente todos os alimentos) e também, em menor escala, por outros ânions orgânicos como o acetato.⁶⁰

Um dos assuntos mais estudados nas últimas décadas, e que vem sendo estudado ainda hoje, refere-se às reações de hidrólise dos compostos imínicos conhecidos como base de Schiff. A reação de hidrólise envolvendo compostos desta natureza ocorre nos mais variados campos da química biológica, assumindo importância em grande número de reações enzimáticas, dentre as quais se pode citar a reação envolvendo o piridoxal - 5'-fosfato (vitamina B12).⁶¹

Bai e Leussing⁶² demonstraram que certos íons metálicos promovem a formação de bases de Schiff pela formação de complexos estáveis e, desta forma, proporcionam uma reação de energia livre mais favorável.

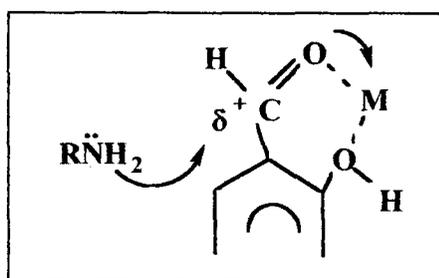
O papel do cálcio, bem estabelecido em muitos sistemas bioquímicos, assim como o reconhecimento da fundamental dependência de sua concentração nestes processos, justifica os variados estudos sobre sua complexação.^{63,64}

Estudos com álcool de fenacila, uma simples α -hidroxicetona, mostraram que se obtém um discreto complexo com cloreto de cálcio em ambos solventes orgânicos metanol/clorofórmio. Estudos feitos em solução e no estado sólido do complexo álcool de fenacila com cloreto de cálcio mostraram que houve uma efetiva complexação e completa quelação com ambas funções álcool e cetona da α -hidroxicetona, retratando, portanto, a quelação do cálcio com uma α -hidroxicetona.⁶³

Os íons metálicos que complexam com os reagentes podem diminuir ou aumentar a velocidade de reação se os complexos formados forem, respectivamente, menos ou mais reativos.⁶⁵

Íons metálicos divalentes são cineticamente ativos na formação de N-salicilidenglicinato. No entanto, Cu^{2+} , Co^{2+} e Ni^{2+} não foram ativos.⁵¹ Estes íons também não foram ativos trabalhando-se em condições nas quais eles formavam complexos com base de Schiff. Isto significa que eles somente capturam a base de Schiff por um processo independente.⁶⁶

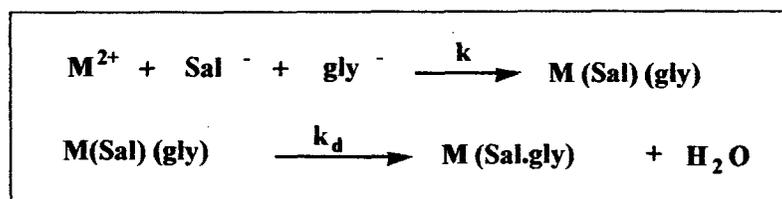
Leusing⁶⁶ demonstrou que os íons metálicos polarizam os reagentes e poderiam favorecer o ataque da amina sobre a carbonila conforme estrutura (III):



(III)

No entanto, este efeito parece não ser importante no caso de salicilaldeído e compostos relacionados, visto que complexos de salicilaldeído com Cu^{2+} e Ni^{2+} , que interagem fortemente entre si, não apresentam reatividade. A interação da amina pelos íons metálicos deve ser eliminada já que uma coordenação da amina com o metal deveria diminuir a velocidade.

Segundo Leusing⁶⁶, o salicilaldeído (Sal^-), a glicina (gly^-) e o íon metálico (M^{2+}) formam um complexo reativo e esta etapa é seguida pela formação de um complexo de adição e de sua desidratação em produtos na esfera de coordenação do íon metálico (Equação 6).



(eq.6)

Os metais não ativos apresentam uma geometria de coordenação bem definida e alta afinidade pelo nitrogênio amínico. Estas duas propriedades inibem a capacidade do nitrogênio de associar-se com o carbono carbonílico.

Esta mobilidade e quebra de ligação são necessárias para a formação do composto de adição na esfera de coordenação primária ou secundária do íon metálico. Assim, a função do íon metálico nestas reações parece ser simplesmente juntar os ligantes em um complexo sem restringir a sua capacidade de reagir posteriormente entre eles.⁶⁶

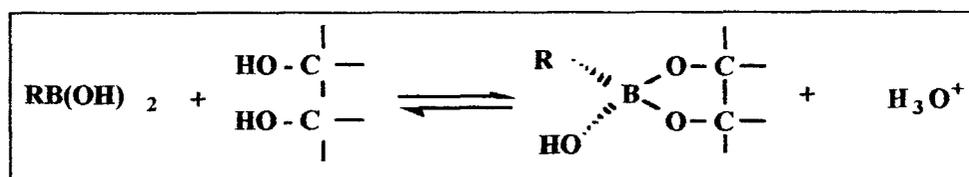
1.2.5 - Efeito do ácido bórico

A reação de Maillard e o rearranjo de Amadori são catalisados em presença de compostos tais como malonato de etila, fenilcetonas, sais de amina terciária e trifluoreto de boro.⁶⁷

A família do boro, compreendendo os ácido bóricos, borônicos e borínicos, tem sido usada como reações modelo, tendo em vista sua similaridade com o mecanismo de catálise enzimática⁶⁸ e de ser constituída por pequenas moléculas que apresentam ligação reversível antes da etapa catalítica.⁶⁹

O boro em compostos trivalentes tem um orbital p vazio que pode formar uma ligação covalente com qualquer átomo elétron doador. Ácidos bóricos e borônicos têm estruturas trigonais, se ionizam para adquirir uma estrutura tetraédrica pela aceitação de um par de elétrons e formam complexos aniônicos tetracoordenados com ligantes quelantes bidentados.⁷⁰

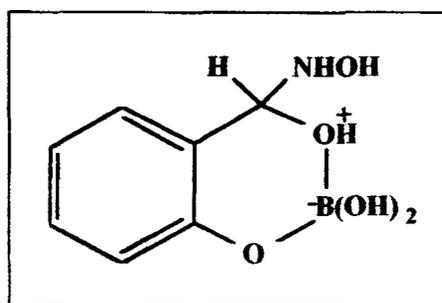
Demonstrou-se que uma série de reações orgânicas é acelerada pelo ácido bórico. A maior parte dos trabalhos que tratam desse efeito de catálise refere-se à hidrólise de ésteres e bases de Schiff, ou seja, o inverso da reação de desidratação, em que as reações passariam através da formação de um complexo borato-substrato similar ao que o ácido bórico forma com dióis (Equação 7).⁷¹⁻⁷³



(eq.7)

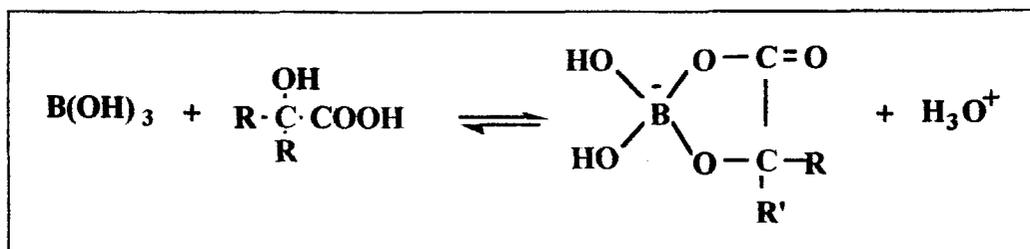
Pesquisadores,⁷⁴⁻⁷⁶ estudando a hidrólise de bases de Schiff, verificaram que o ácido bórico aumenta a velocidade da reação e atribuíram esta aceleração à formação de um complexo borato-substrato seguido da decomposição deste aos produtos de hidrólise. A constante de formação do complexo apresenta um perfil de velocidade em função do pH em forma de sino; porém, a constante de velocidade para a decomposição do complexo esteve sempre acima de pH 7,0. Um mecanismo envolvendo uma transferência intramolecular do íon hidróxido pelo boro tetracoordenado para o carbono imínico foi proposto.

Rao⁶⁹ observou que a hidrólise de iminas derivadas de salicilaldeído também é catalisada pelos ácidos bórico, aril bórico substituído e pelo ácido fenilbórico, propondo a formação primeiramente de ésteres pelo ácido de boro com o grupo fenólico da imina e, depois, de complexação com o carbono imínico, formando um anel de seis membros estável (Estrutura IV), que se decompõe nos produtos de hidrólise.



(IV)

Na reação de complexação do ácido fenilbórico com o ácido láctico, o ácido forma complexos em que o próton da hidroxila do ácido é substituído pelo boro, ocorrendo mudança no número de coordenação do boro de 3 para 4 com a formação de um anel de 5 átomos (Esquema 8).⁷⁷



Esquema 8 - Complexo do ácido fenilbórico com ácido láctico.

2 - Objetivos

A reação de Maillard (escurecimento não enzimático) ocorre durante o tratamento e armazenamento de alimentos protéicos que contenham glicídios redutores e compostos carbonílicos, tais como aldeídos, cetonas e derivados da oxidação de lipídios. O mecanismo desta reação é complexo e após várias etapas dá origem a produtos voláteis que geralmente possuem aroma e sabor.⁷

Todos os estudos sobre reações de escurecimento utilizando sistemas modelo empregam reações do grupo carbonil com compostos contendo o grupo amino.

O presente trabalho teve como objetivo principal o estudo da reação entre diferentes intermediários carbonílicos e dicarbonílicos da reação de Maillard como a acetoína (3-hidroxi-2-butanona), diacetila (2,3-butanodiona), e também os compostos carbonílicos como diacetilmonoxima, butanona, 2,2-dimetil-3-hidroxi-3-oxopropionaldeído, utilizando-se como reagente nucleófilo a hidroxilamina.

Estudaram-se mais especificamente os seguintes itens:

a) análise do perfil de velocidade do logaritmo da constante de velocidade de segunda ordem ($\log k_2$) em função do pH para as reações de diferentes compostos carbonílicos com a hidroxilamina com a finalidade de analisar o tipo de mecanismo envolvido;

b) estudo da catálise ácida e básica geral observada experimentalmente por diferentes tampões em meio aquoso e aplicação da equação de Brønsted a esses valores com o objetivo de analisar o mecanismo de catálise, em especial a possibilidade da catálise intramolecular na etapa de desidratação;

c) análise do efeito de íons metálicos sobre a velocidade de reação; e

d) estudo do efeito do ácido bórico sobre a velocidade destas reações.

3 - Parte Experimental

3.1 - Equipamentos

Os espectros de UV-VIS e as medidas cinéticas foram obtidos com um espectrofotômetro Varian DMS-80 da Intralab, calibrado com termostato para $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, e acoplado a um microcomputador IBM-XT, obtendo um sistema de aquisição e tratamento de dados cinéticos (MQI12/8PCA). Foram utilizadas cubetas de quartzo com tampa esmerilhada e com 10 mm de caminho óptico.

O pH das soluções foi determinado em potenciômetros digitais da Digimed - DMPH-2 e Micronal-B374, equipados com eletrodos de vidro tipo Ingold, calibrados a $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ com tampões padrões (Merck).

Os espectros infravermelho na região de 4.000 à 600 cm^{-1} foram realizados em pastilhas de KBr ou filme, em espectrofotômetro Perkin Elmer modelo IGPC FT-IR.

Os espectros ^1H RNM foram realizados em piridina e clorofórmio deuterados, a 400 MHz em um espectrofotômetro modelo Bruker AC 200F.

3.2 - Reagentes

Os reagentes orgânicos e inorgânicos utilizados na preparação das soluções de reação foram obtidos comercialmente (Merck, Aldrich e/ou Sigma), com grau de pureza P.A. e purificados quando necessário.

3.3 - Medidas cinéticas

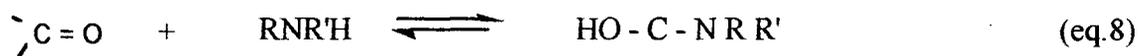
A cinética da reação entre os compostos carbonílicos e os reagentes nucleófilos foi seguida espectrofotometricamente a $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, através da formação do produto, sempre em duplicata. As determinações cinéticas foram efetuadas em solução aquosa, com força iônica 1,0 mantida com KCl 4M.

Empregou-se sempre excesso de um dos reagentes para assegurar um comportamento de pseudoprimeira ordem, calculando-se desta maneira a constante de velocidade de pseudoprimeira ordem (k_{obs}) com erros experimentais nunca superiores a 2%, através de um programa de regressão linear, sendo que em todos os casos o coeficiente de correlação foi de 0,999. A solução aquosa de hidroxilamina foi preparada instantes antes de seu uso, e a concentração utilizada variou entre 10^{-1} e 10^{-3} M para a maioria das reações.

A solução contendo o nucleófilo foi preparada seguindo as condições de reação descritas acima e devidamente tamponadas com soluções tampões na concentração de 10^{-2} M, para atingir o pH desejado.

3.4 - Determinação da constante de equilíbrio para formação do intermediário neutro

As constantes de equilíbrio (K_{ad}) para a formação do intermediário neutro foram determinadas espectrofotometricamente,²⁹ quando quantidades crescentes de nucleófilo foram adicionadas à solução contendo uma quantidade fixa de composto carbonílico provocando, dessa forma, uma queda imediata em sua absorvância, causada pela conversão parcial do reagente ao composto de adição. As absorvâncias no tempo zero, referentes às quantidades de nucleófilo adicionadas, foram obtidas extrapolando-se os valores das leituras feitas em intervalos fixos de tempo. Relacionando-se a absorvância obtida sem a adição do nucleófilo e a absorção no tempo zero a diferentes concentrações de nucleófilo, obtinha-se a percentagem do composto de adição formado (I). Diminuindo-se este valor de 100%, obtinha-se a percentagem de composto carbonílico (CO). A constante de equilíbrio para a formação do intermediário neutro de adição foi obtida utilizando-se diretamente a equação 9.



[I]

$$K_{ad} = [I] / [\text{CO}]_l [N] \quad (\text{eq.9})$$

Outro método também utilizado considera que a concentração total do aldeído $[C]_t$ vai ser parte como carbonila livre $[\text{CO}]_l$ e parte como intermediário [I]

$$[\text{CO}]_t = [\text{CO}]_l + [I] \quad (\text{eq.10})$$

$$[\text{CO}]_l = [\text{CO}]_t - [I] \quad (\text{eq.11})$$

então

$$K_{ad} = [I] / ([\text{CO}]_t - [I]) [N] \quad (\text{eq.12})$$

$$K_{ad} [\text{CO}]_l [N] = [I] (1 + K_{ad} [N]) \quad (\text{eq.13})$$

$$[I] = K_{ad} [\text{CO}]_l [N] / 1 + K_{ad} [N] \quad (\text{eq.14})$$

Fazendo-se o inverso de [I] para a equação acima teremos a seguinte equação da reta:

$$1/[I] = 1/K_{ad} [CO]_t [N] + 1/[CO]_t \quad (\text{eq.15})$$

onde a concentração do intermediário [I] é obtida pela diferença da absorbância apresentada pelo composto carbonílico antes e após a adição da base nitrogenada.

$$1/\Delta A = 1/[CO]_t + 1/K_{ad} [CO]_t \cdot [N] \quad (\text{eq.16})$$

Dessa maneira, a constante de equilíbrio também pode ser determinada pelo intercepto negativo da abscissa, utilizando-se a equação 16.

Este experimento é realizado onde a etapa determinante da velocidade de reação é a desidratação.

3.5 - Determinação das constantes de velocidade

As constantes de velocidade de segunda ordem aparentes foram calculadas dividindo-se a constante de pseudoprimeira ordem pela concentração do nucleófilo como base livre - $(Nu)_l$ - (Equação 17), obtida a partir da equação de Henderson-Hasselbalck (Equação. 18) e da concentração do nucleófilo. As constantes catalíticas de terceira ordem foram obtidas do coeficiente angular de um gráfico de constante de velocidade de segunda ordem (k_2) em função da concentração da espécie catalítica.

$$k_{2ap} = k_2 \cdot K_{ad} = k_{obs} / [Nu]_l \quad (\text{eq.17})$$

$$pH = pK_a + \log [Nu]_l / [NuH^+] \quad (\text{eq.18})$$

3.6 - Construção do perfil de velocidade de reação

Os perfis de velocidade para as reações foram obtidos graficando-se os logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem ($\log k_2$), que são constantes aparentes em função do pH.

Para a região de pH inferior a 2,0, utilizou-se ácido clorídrico, cuja concentração foi de 1,00 M a 0,01 M e, acima de pH 2,0, foram utilizados tampões adequados, cuja concentração foi de 10^{-2} M.

O tratamento do estado estacionário para o mecanismo, segundo o esquema 1, fornece a equação 19, onde k_2 é a constante de velocidade de segunda aparente para as reações com excesso do reagente nucleofílico.

$$k_2 = k_{ad} \cdot k_{des} / (k_{ad} + k_{des}) \quad (\text{eq.19})$$

$$k_{ad} = \{k_{obs} / [\text{NH}_2\text{OH}]_i\} = k_1 [\text{H}^+] + k_2 (K_{nk4} + K_{nk3} [\text{H}^+] / k_2 + K_{nk4} + K_{nk3} [\text{H}^+]) \quad (\text{eq.20})$$

e

$$k_{des} = k_{obs} \cdot f_c / [\text{NH}_2\text{OH}]_i \quad K_{ad} = \{ k_{H_3O^+} (\text{H}^+) + k_o + k_{OH^-} (\text{OH}^-) \} \quad (\text{eq.21})$$

Em pH onde a constante de equilíbrio e/ou a concentração do nucleófilo livre é grande, utiliza-se um fator de correção ($f_c = 1 + K_{ad} [\text{Nu}]_i$).

Para as reações entre hidroxilamina e excesso de 2,3-butanodiona, o cálculo das constantes de segunda ordem aparentes foi obtido através da equação 23, onde foi feita uma correção, considerando a constante de equilíbrio para hidratação-desidratação do composto carbonílico.

$$k_2 = \{k_{obs} / [\text{C=O}] \cdot f_c\} K' \quad (\text{eq.23})$$

onde

$$f_c = K_a / (K_a + [\text{H}^+]) \quad (\text{eq.24})$$

e

$$K' = [\text{RCOCOR}'] / [\text{RCOC}(\text{OH}_2) \text{R}'] \quad (\text{eq.25})$$

O valor de K' para as reações de 2,3-butanodiona obtido na literatura é de 0,30.⁷⁸

3.7 - Determinação das constantes catalíticas do íon hidrônio (k_{H^+}), hidróxido (k_{OH^-}), da água (H_2O) e constante catalítica independente do pH (k_o).

Através dos perfis de velocidade de reação, foram obtidas as constantes de velocidade de terceira ordem do íon hidrônio ($k_{\text{H}^+} \text{M}^{-2} \text{s}^{-1}$), graficando-se o valor de k_2 (constante de velocidade de segunda ordem) em função da concentração hidrogeniônica

referente às distintas etapas de reação: formação e desidratação do intermediário de adição. Da mesma maneira, as constantes catalíticas do íon hidróxido ($k_{OH^-} M^{-2} s^{-1}$) foram determinadas graficando-se a constante de velocidade de segunda ordem em função da variação da concentração dos íons hidroxilas, sendo os valores das constantes de velocidade de segunda ordem obtidos através dos perfis de velocidade das reações estudadas.

Na região de desidratação, estas constantes catalíticas devem ser divididas pela constante de equilíbrio para a formação do intermediário neutro, a fim de se obter a verdadeira constante catalítica de desidratação.

Quando a etapa de ataque do nucleófilo sobre a carbonila é a determinante da velocidade da reação, as constantes de velocidade relativas à etapa de ataque foram corrigidas, considerando a influência da constante de velocidade para a desidratação do intermediário de adição^{29,33} (Equação 26).

$$k_{ad} = k_{ad \text{ não corrig.}} / (1 - k_{ad \text{ não corrig.}} / k_{des}) \quad (\text{eq.26})$$

Quando a etapa de desidratação do intermediário neutro de adição é determinante da velocidade da reação, as constantes de velocidade são obtidas através da equação 21.

As constantes de velocidade de segunda ordem, para as etapa de desidratação do intermediário de adição, que independem do pH ($k_o M^{-1} s^{-1}$), foram obtidas experimentalmente extrapolando-se até o eixo das ordenadas, considerando a diferença entre a constante de velocidade obtida pelo perfil e a constante de velocidade teórica obtida através da equação 27, ambas na região independente do pH do perfil de velocidade.

$$k_{o \text{ teor}} = k_{H_3O^+} [H_3O^+] + k_{OH^-} [OH^-] \quad (\text{eq.27})$$

A constante catalítica da água ($k_{H_2O} M^{-2} s^{-1}$) foi obtida dividindo-se a constante de velocidade para a reação espontânea pela concentração molar da água (55,5 M):

$$k_{H_2O} = k_o / 55,5 \quad (\text{eq.28})$$

3.8 - Determinação da constante catalítica da catálise ácida ou básica geral

As constantes catalíticas foram calculadas mantendo-se o pH constante e variando-se a concentração do tampão através de um gráfico da constante de velocidade de segunda ordem em função da concentração do tampão. Se houver aumento da constante de

velocidade com o aumento da concentração do tampão, é observada catálise, que pode ser devida à fração ácida ou fração básica do catalisador.

Trabalhando-se com soluções tampões no valor de pH igual ao pKa do tampão e com outros dois valores de pH, considerando uma variação de $\pm 0,6$ unidades deste valor de pKa, obtém-se o tampão 80%, 50% e 20% na sua forma ácida, ou básica (20%, 50% e 80%, respectivamente). Quando se graficam as constantes catalíticas ($k_r M^{-2} s^{-1}$) obtidas nos diferentes pHs em função da fração molar ácida ou básica (X_{AH} ou X_{A^-}), pode-se obter uma reta passando pela origem do eixo, onde a fração molar básica é igual a zero, e um valor passando pelo intercepto do eixo, onde a fração molar ácida é igual a um, indicando a presença detectável de catálise ácida geral.

Outro método utilizado para a distinção experimental entre catálise ácida geral e catálise básica geral é feita através da comparação entre as constantes catalíticas para a catálise ácida geral e básica geral respectivamente a diferentes valores de pH (pH igual ao pKa do tampão e outros dois valores seguindo uma variação de $\pm 0,6$ unidades). Se obtivermos valores iguais para as constantes catalíticas relativas à catálise ácida geral e diferentes valores para a catálise básica geral nos diferentes valores de pH empregados, teremos então a presença de catálise ácida geral.

4 - Resultados parciais das reações entre diferentes compostos carbonílicos e hidroxilamina

4.1 - Reação entre 3-hidroxi-2-butanona (acetoina) e hidroxilamina

A reação entre 3-hidroxi-2-butanona (acetoina) e hidroxilamina foi estudada espectrofotometricamente através do monitoramento da formação da oxima a 236 nm, utilizando-se excesso de composto nucleófilo (0,05- 0,2 M) para se obter condições de pseudoprimeira ordem. A concentração da 3-hidroxi-2-butanona não excedeu a $1,66 \times 10^{-3}$ M. Observou-se para esta reação um perfil do tipo C, obtido graficando-se os logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem ($\log k_2$), que são constantes aparentes em função do pH, como pode ser visto na figura 5, tabela 1. A curva sólida da figura 5 foi calculada empregando-se a equação 19 (com as respectivas simplificações).

Este tipo de perfil exhibe uma inflexão a baixo valor de pH, indicando mudança de etapa lenta do ataque não catalisado da amina sobre o composto carbonílico (k_2), ocorrendo entre pH 0,5 e 1,0, para desidratação do intermediário de adição (T^0) catalisado por ácido que ocorre entre pH 1,0 e 7,5 ($k_{H_3O^+}$). Entre pH 7,5 e 9,0, a reação ocorre através da desidratação não catalisada (k_0) e, entre pH 9,0 e 11,0, através da desidratação catalisada pelo íon hidróxido (k_{OH^-}). A constante de velocidade para o ataque não catalisado (k_2) foi de $3,98 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Na tabela 28 estão relacionados os dados das constantes de velocidade de terceira ordem correspondentes à região de desidratação catalisada pelo íon hidrônio e pelo íon hidróxido, assim como os correspondentes à região não catalisada.

Na região de desidratação catalisada por ácido, observou-se experimentalmente a presença de catálise ácida geral, com os catalisadores ácido fórmico, ácido acético, ácido cacodílico, fosfato monoânion, morfolina, imidazol e ácido bórico (Tabela 2).

O gráfico de Brønsted para a etapa de desidratação apresenta um valor de α igual a 0,75 ($r=0,939$) (Tabela 3 e Figura 6).

A constante catalítica da água ($k_{H_2O} \text{ M}^{-2} \text{ seg}^{-1}$) foi obtida dividindo-se a constante de velocidade para a reação espontânea pela concentração molar da água. Um desvio positivo acima da linha de correlação de Bronsted da catálise ácida geral de 4365 vezes é observado na figura 6.

A constante de equilíbrio média para a formação do intermediário neutro para estes reagentes é de $1,22 \pm 0,06 \text{ M}^{-1}$. Os dados se encontram na tabela 4.

Na figura 5 observa-se o efeito especial do ácido bórico, na região de desidratação compreendida entre pH 6,0 e 10,5, apresentando um desvio positivo acima da linha de

Bronsted de 282 vezes. Os dados relativos às constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH na presença de ácido bórico 0,01M encontram-se na tabela 5.

Na figura 5 pode-se ainda observar que íons cálcio (0,1M) provocam um aumento na velocidade da reação na região compreendida entre os pHs 7,0 e 10,0, que corresponde à etapa de desidratação não catalisada como etapa lenta, mantendo a força iônica constante. Na tabela 6, estão relacionados os dados obtidos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH, na presença de 0,1M de CaCl_2 .

O efeito do íon cálcio foi estudado a pH 0,5; 7,5 e 8,5. A pH 0,5, no qual a etapa de ataque não catalisado da amina ao composto carbonílico é a etapa determinante da velocidade da reação, não se observou efeito do íon cálcio. Porém, a pH 7,5 e 8,5, o aumento da concentração do íon cálcio causa um aumento na constante de velocidade como apresentado na tabela 7.

Na figura 7 observa-se que, à medida que a concentração de íons cálcio aumenta, a constante de velocidade inicialmente aumenta até chegar a um platô.

Para interpretar o mecanismo de efeito do Ca^{2+} , determinaram-se os valores das constantes de equilíbrio para a formação do intermediário tetraédrico de adição na ausência e presença de íons cálcio. Os valores são $K_{ad} = 1,22 \pm 0,06$ na ausência de íons cálcio e $K_{ad} = 0,917 \pm 0,09$ na presença de (0,1M), como representado nas tabelas 4 e 8 ,respectivamente.

A formação do complexo acetoina- Ca^{2+} foi determinada através de espectroscopia de UV-Vis, em solução aquosa, pH \cong 7,5 em que se observou que o λ máximo correspondente à absorção do grupo carbonila a 272 nm aumenta em função da concentração Ca^{2+} (Figura 8).

Observa-se que o produto da reação de acetoina com hidroxilamina a oxima também complexa-se com íons de cálcio em solução. O complexo oxima- Ca^{2+} apresenta no UV uma diminuição da banda correspondente à dupla $>\text{C}=\text{N}$ (224nm), quando a concentração de Ca^{2+} é aumentada (Figura 9).

No espectro de IV, em filme, detectou-se a formação do complexo acetoina- Ca^{2+} através da observação da banda $\nu\text{-C}=\text{O}$ da acetoina, que muda de 1716 cm^{-1} a 1712 cm^{-1} e a banda de $\nu\text{-OH}$ de 3434 cm^{-1} a 3402 cm^{-1} na presença de Ca^{2+} (Figuras 10 e 11).

No espectro de $^1\text{H-NMR}$, em clorofórmio deuterado, o hidrogênio ligado ao C_3 da acetoina muda de 4.265 ppm a 4.324 ppm, quando Ca^{2+} é adicionado à solução, indicando a existência de coordenação de Ca^{2+} na acetoina através dos grupos hidroxila e carbonila, como pode ser observado comparando-se as figuras 12 e 13.

Tabela 1 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona.^a

pH	$10^3 \cdot k_{\text{obs,seg}}^{-1}$	$[\text{Nu}]_t$	f_c	$\log k_2^b$
1,10	21,60	0,2	1.00	3,93
1,50	21,20	0,1	1.00	3,83
2,00	27,70	0,1	1.00	3,44
2,90	15,40	0,05	1.00	2,59
3,50	56,00	0,2	1.00	1,95
3,90	53,80	0,2	1.00	1,53
4,50	52,20	0,2	1.00	0,93
4,90	12,30	0,05	1.00	0,52
5,60	9,87	0,05	1.02	-0,16
6,20	5,77	0,05	1.04	-0,72
6,58	6,68	0,1	1.10	-1,03
7,00	3,91	0,2	1.12	-1,59
7,70	0,60	0,1	1.12	-2,17
8,10	0,59	0,1	1.12	-2,17
8,50	0,51	0,1	1.12	-2,24
9,00	0,50	0,1	1.12	-2,25
9,90	2,52	0,1	1.12	-1,55
10,50	7,68	0,1	1.12	-1,07
10,80	15,20	0,1	1.12	-0,77

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1,0 (KCl), $\lambda = 236 \text{ nm}$

Concentração 3-hidroxi-2-butanona = $1,66 \times 10^{-3} \text{ M}$

^b $k_{2ap} = \{k_{\text{obs}} / [\text{NH}_2\text{OH}]_t\} \cdot f_c = k_2 K_{ad}$

$f_c = 1 + K_{ad} [\text{NH}_2\text{OH}]_t$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão $\text{M}^{-1} \text{seg}^{-1}$.

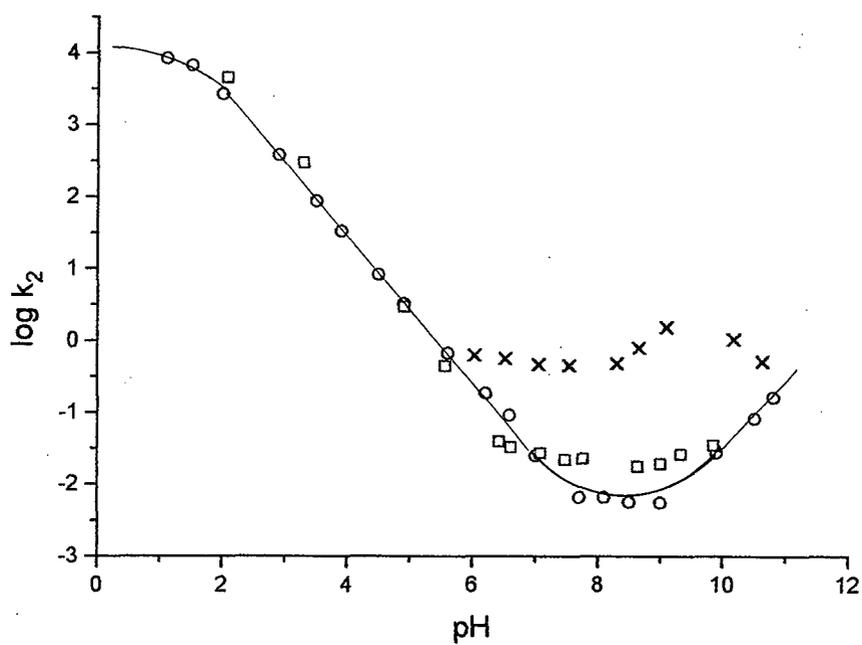


Figura 5 - Logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre 3-hidroxi-2-butanona e hidroxilamina (o) em presença de ácido bórico 0,01 M (x) e CaCl₂ 0,1 M (□).

Tabela 2 - Constantes de velocidade de segunda ordem para a reação entre 3-hidroxi-2-butanona com hidroxilamina em presença de diferentes concentrações de tampões.^a

Tampão	[NH ₂ OH] M	pH	[Conc.] M	k ₂ M ⁻¹ seg ⁻¹
ác. fórmico	0,05	3,56	0,1	1,21 x 10 ⁻²
			0,2	1,29 x 10 ⁻²
			0,3	1,38 x 10 ⁻²
			0,4	1,46 x 10 ⁻²
ác. acético	0,05	4,65	0,1	6,50 x 10 ⁻³
			0,2	7,02 x 10 ⁻³
			0,3	7,07 x 10 ⁻³
			0,4	7,39 x 10 ⁻³
ác. cacodílico	0,1	5,16	0,1	0,56 x 10 ⁻¹
			0,2	0,78 x 10 ⁻¹
			0,3	1,00 x 10 ⁻¹
			0,4	1,22 x 10 ⁻¹
fosfato monoânion	0,1	6,60	0,1	1,77 x 10 ⁻²
			0,2	1,93 x 10 ⁻²
			0,3	2,10 x 10 ⁻²
			0,4	2,26 x 10 ⁻²
Imidazol	0,1	7,21	0,1	1,29 x 10 ⁻²
			0,2	1,39 x 10 ⁻²
			0,3	1,48 x 10 ⁻²
			0,4	1,56 x 10 ⁻²
morfolina	0,05	8,40	0,1	8,15 x 10 ⁻³
			0,2	9,76 x 10 ⁻³
			0,3	1,14 x 10 ⁻²
			0,4	1,30 x 10 ⁻²
ác. bórico	0,05	8,85	0,1	1,29 x 10 ⁻²
			0,2	1,50 x 10 ⁻²
			0,3	1,71 x 10 ⁻²
			0,4	1,91 x 10 ⁻²

^a Água, 25,0 ± 0,1°C, força iônica 1,0 (KCl), λ = 236 nm
 Concentração 3-hidroxi-2-butanona = 1.66 x 10⁻³ M.

Tabela 3 - Constantes catalíticas para a etapa de desidratação da reação de hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona.^a

Catalisador	pK _a '	k _{AH} /M ⁻² seg ⁻¹	log(k _{AH} /p)	pK _a ' + log p/q
hidrônio	-1,74 ^b	3,162 x 10 ⁵	5,02	-1,26
ác.fórmico	3,56 ^c	170,4	2,23	3,26
ác.acético	4,65 ^b	4,010	0,60	4,35
ác.cacodílico	6,15	0,444	-0,35	5,85
imidazol	7,21 ^d	0,019	-1,72	6,91
morfolina	8,36	0,032	-1,49	8,36
ác.bórico	8,85	4,18	0,15	9,33
H ₂ O	15,74 ^b	6,07 x 10 ⁻⁵	-4,51	16,04

^a Água, 25,0 ± 0,1 °C, força iônica 1,0 (KCl), λ = 236 nm

^b L.P.Hammett, *Physical Organic Chemistry*, 2ed.p.23 McGraw-Hill, New York (1970)

^c J.M.Sayer and W.P.Jencks, *J.Am.Chem.Soc.* **91**, 6353 (1969)

^d W.P.Jencks and M.Glchrist, *J.Am.Soc.* **90**, 2622 (1968)

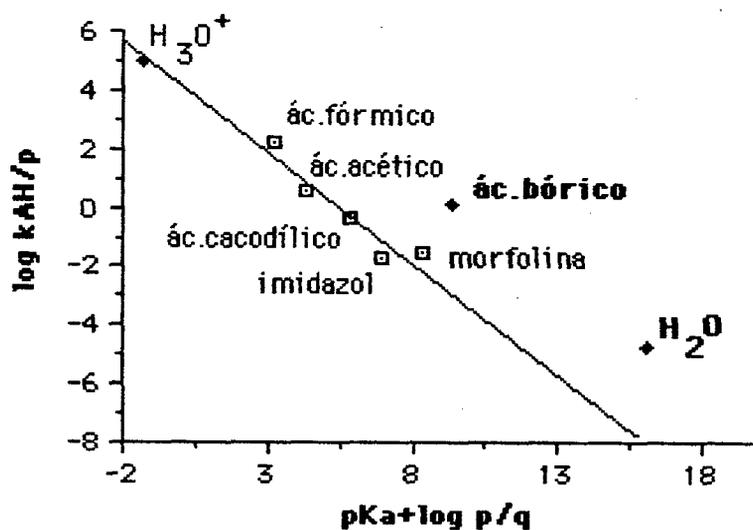


Figura 6 - Gráfico de Bronsted para a etapa de desidratação da reação de 3-hidroxi-2-butanona e hidroxilamina, utilizando-se diferentes catalisadores, em água $25,0 \pm 0,1$ °C, $\mu = 1,0$ (KCl). Os parâmetros de ajuste teórico da reta são: $y = 0,754x + 4,188$, $r = 0,939$, $n = 5$.

Tabela 4 - Constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro formado a partir da hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona.^a

[NH ₂ OH]	Ab _x ^b	% C=O	% I	K _{ad}
0.05	0.980	0.945	0.055	1.16
0.10	0.918	0.885	0.115	1.30
0.15	0.879	0.847	0.152	1.20
0.20	0.833	0.803	0.196	1.22

^a Água, 25,0 ± 0,1° C, força iônica 1,0 (KCl), λ = 272 nm

Ab₀ = 1.037 (absorbância inicial da carbonila)

pH = 8.5 (Tampão morfolina 0,01M)

K_{ad} = 1.22 ± 0,06

^b Ab_x = a absorbância de 3-hidroxi-2-butanona em presença de concentrações crescentes de NH₂OH

3-hidroxi-2-butanona = 1,66 x 10⁻³ M

Tabela 5 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH, para a reação de hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona em presença de ácido bórico 0,01M.^a

pH	$10^2 \cdot k_{\text{obs,seg}}^{-1}$	[Nu]t	f_c	$\log k_2^b$
6,03	3,04	0,1	1,06	-0,20
6,52	4,06	0,1	1,09	-0,24
7,05	3,95	0,1	1,11	-0,32
7,54	3,98	0,1	1,12	-0,34
8,30	4,31	0,1	1,12	-0,31
8,65	7,18	0,1	1,12	-0,09
9,10	0,14	0,1	1,12	0,20
10,18	9,53	0,1	1,12	0,03
10,63	4,65	0,1	1,12	-0,28

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1.0 (KCl), $\lambda = 236 \text{ nm}$

Concentração 3-hidroxi-2-butanona = $1.66 \times 10^{-3} \text{ M}$

^b $k_{2ap} = \{k_{\text{obs}} / [\text{NH}_2\text{OH}]_i\} \cdot f_c = k_2 K_{ad}$

$f_c = 1 + K_{ad} [\text{NH}_2\text{OH}]_i$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão $\text{M}^{-1} \text{seg}^{-1}$.

Tabela 6 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona em presença de CaCl₂ 0,1 M.^a

pH	$10^3 \cdot k_{\text{obs,seg}}^{-1}$	[Nu]t	f_c	$\log k_2^b$
2,07	0,54	0,1	1,00	3,66
3,29	0,59	0,1	1,00	2,48
4,90	0,22	0,1	1,02	0,48
5,56	0,12	0,1	1,02	-0,35
6,42	2,70	0,1	1,07	-1,40
6,61	2,52	0,1	1,07	-1,48
7,08	2,36	0,1	1,08	-1,56
7,47	2,00	0,1	1,09	-1,65
7,75	2,07	0,1	1,09	-1,64
8,64	1,97	0,1	1,09	-1,75
9,00	1,79	0,1	1,09	-1,71
9,33	2,44	0,1	1,09	-1,58
9,85	3,23	0,1	1,09	-1,45

^a Água, 25,0 ± 0,1°C, força iônica 1.0 (KCl), λ = 236 nm

Concentração 3-hidroxi-2-butanona = 1.66 x 10⁻³ M

^b $k_{2ap} = \{k_{\text{obs}} / [\text{NH}_2\text{OH}]_i\} \cdot f_c = k_2 K_{\text{ad}}$

$f_c = 1 + K_{\text{ad}} [\text{NH}_2\text{OH}]_i$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão M⁻¹ seg⁻¹

Tabela 7 - Constantes de velocidade observadas para a reação entre 3-hidroxi-2-butanona e hidroxilamina em presença de íons cálcio a diferentes pHs.^a

[CaCl ₂],M	k ₂ ,M ⁻¹ s ⁻¹		
	pH = 0,5	pH = 7,5	pH = 8,5
-	2,27 x 10 ⁴	1,46 x 10 ⁻³	0,46 x 10 ⁻³
0,05	2,22 x 10 ⁴	2,78 x 10 ⁻³	1,48 x 10 ⁻³
0,10	2,26 x 10 ⁴	3,90 x 10 ⁻³	1,99 x 10 ⁻³
0,15	2,17 x 10 ⁴	4,70 x 10 ⁻³	2,47 x 10 ⁻³
0,20	2,25 x 10 ⁴	5,30 x 10 ⁻³	2,81 x 10 ⁻³

^a Água, 25,0 ± 0,1°C e força iônica 1.0 (KCl), λ = 236 nm
 Concentração hidroxilamina = 0.1 M
 Concentração 3-hidroxi-2-butanona = 1.66 x 10⁻³ M

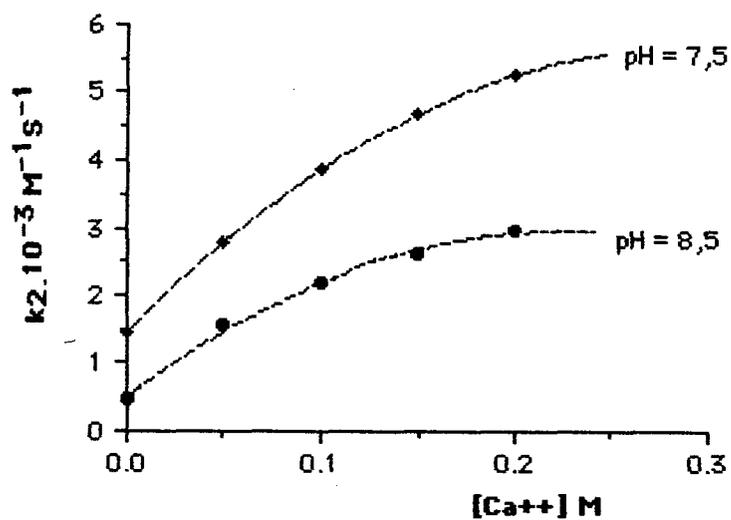


Figura 7 - Efeito da concentração de íons cálcio na etapa de desidratação a pH 7,5 e 8,5 na reação entre 3-hidroxi-2-butanona (0,01M) e hidroxilamina (0,1M) em água, $\mu = 1,0$ (KCl).

Tabela 8 - Constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro a partir da hidroxilamina e 3-hidroxi-2-butanona em presença de 0,1M de CaCl_2 .^a

$[\text{NH}_2\text{OH}]_t$	Ab_x ^b	%C=O	% I	K_{ad}
0,05	0,947	0,955	0,044	0,929
0,10	0,901	0,909	0,091	0,998
0,15	0,882	0,890	0,109	0,823
0,20	0,844	0,852	0,148	0,870
0,25	0,798	0,805	0,194	0,967

^a Água, $25,0 \pm 1,0^\circ \text{C}$, força iônica 1,0 (KCl), $\lambda = 272 \text{ nm}$

$\text{Ab}_0 = 0,991$ (absorbância inicial da carbonila)

pH = 8,5 (tampão morfolina 0,01M)

$K_{ad} = 0,917 \pm 0,06$

^b Ab_x = a absorbância de 3-hidroxi-2-butanona em presença de concentrações crescentes de NH_2OH

3-hidroxi-2-butanona = $1,3 \times 10^{-3} \text{ M}$.

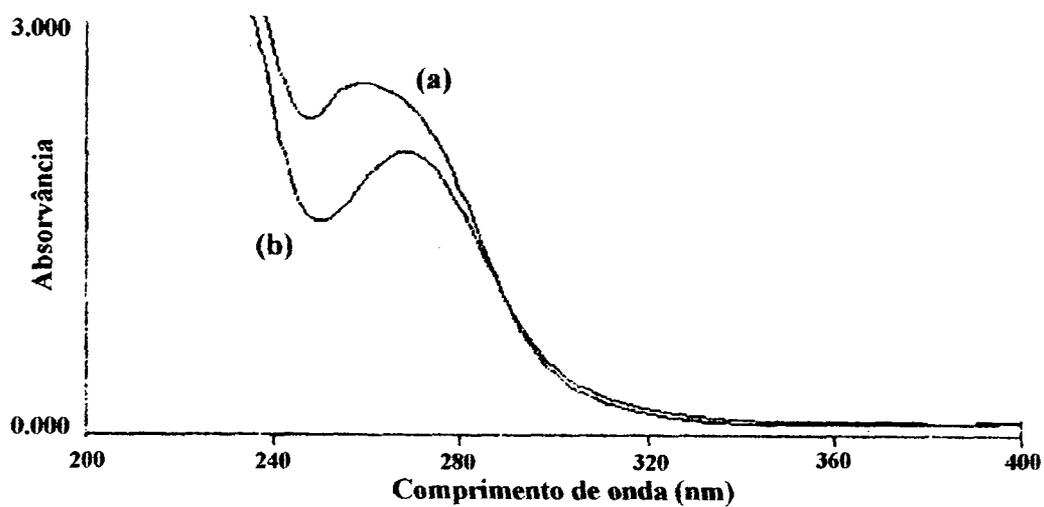


Figura 8 - Espectro UV-VIS , em solução aquosa, pH \cong 7,5 do complexo acetoina - Ca⁺⁺ (a) e da acetoina (b).

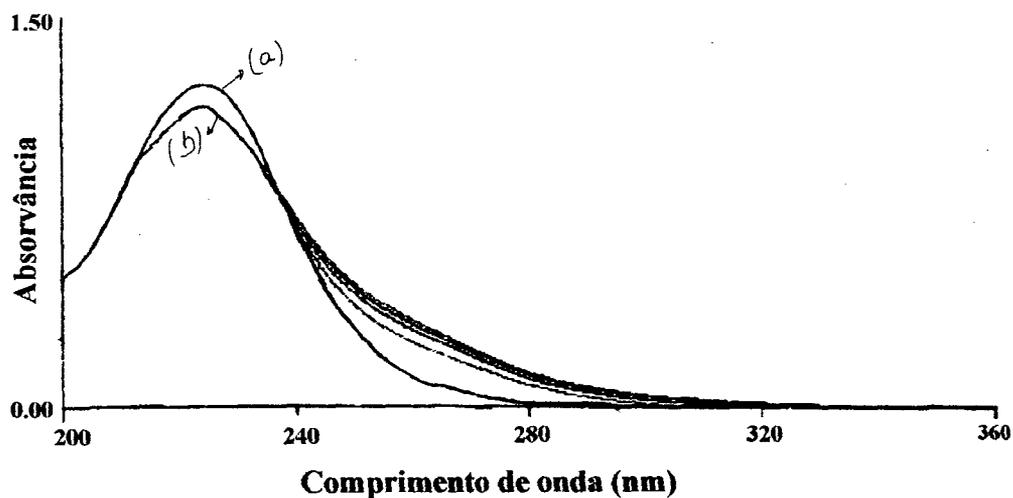


Figura 9 - Espectro de UV-VIS , solução aquosa, da oxima formada da reação de 3-hidroxi-2-butanona ($1,6 \times 10^{-3}$ M) e hidroxilamina (0,1M) a pH 9,05 na presença de CaCl₂ (a) e

na ausência (b).

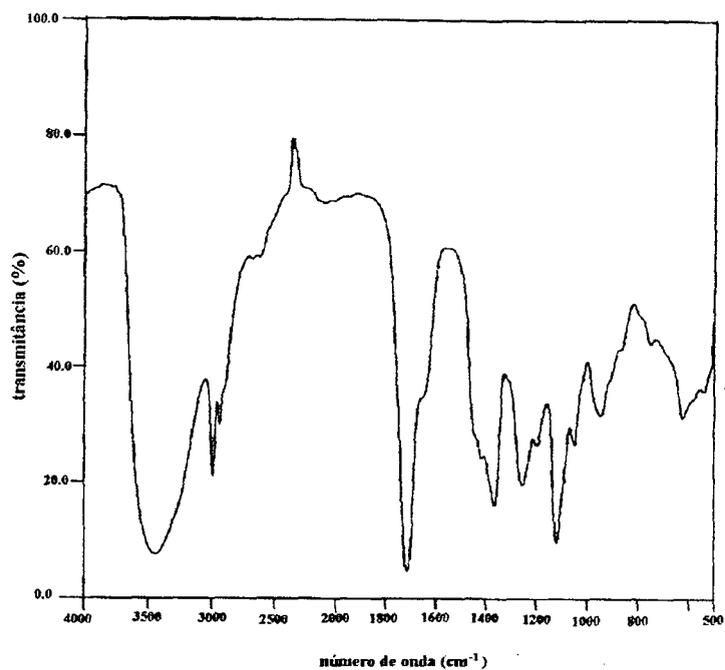


Figura 10 - Espectro de IV da acetona em filme

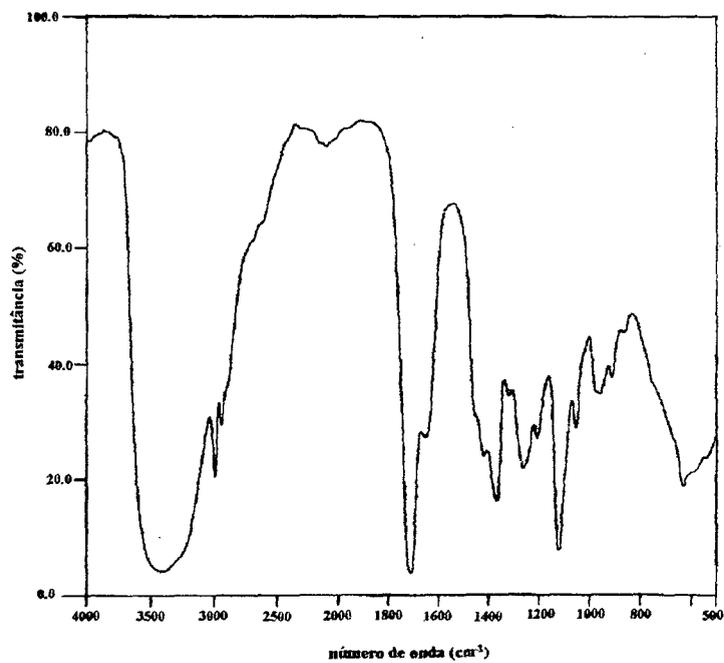


Figura 11 - Espectro de IV do complexo acetona-Ca⁺⁺ em filme.

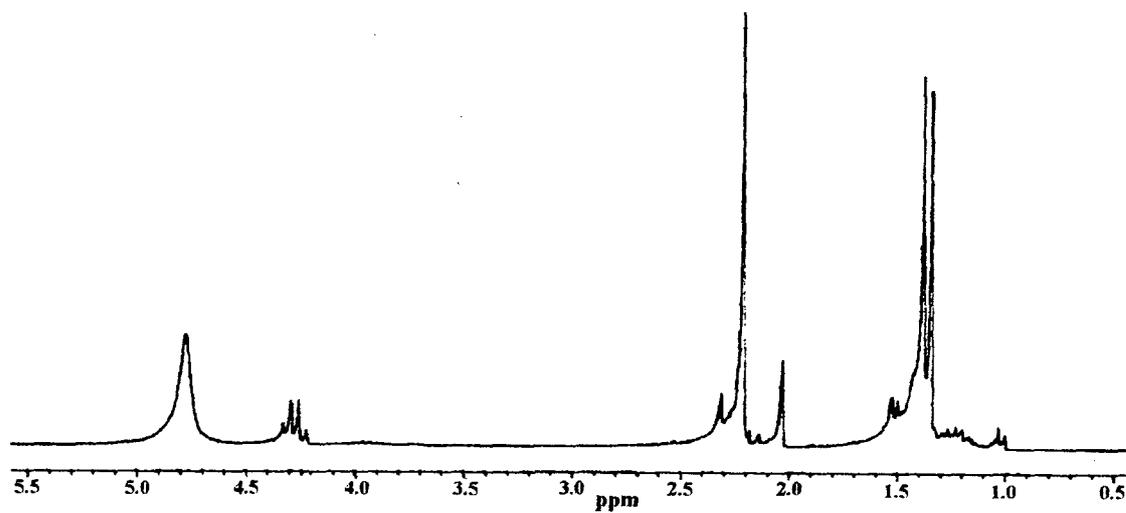


Figura 12 - Espectro de H^1 NMR da acetoína em clorofórmio deuterado.

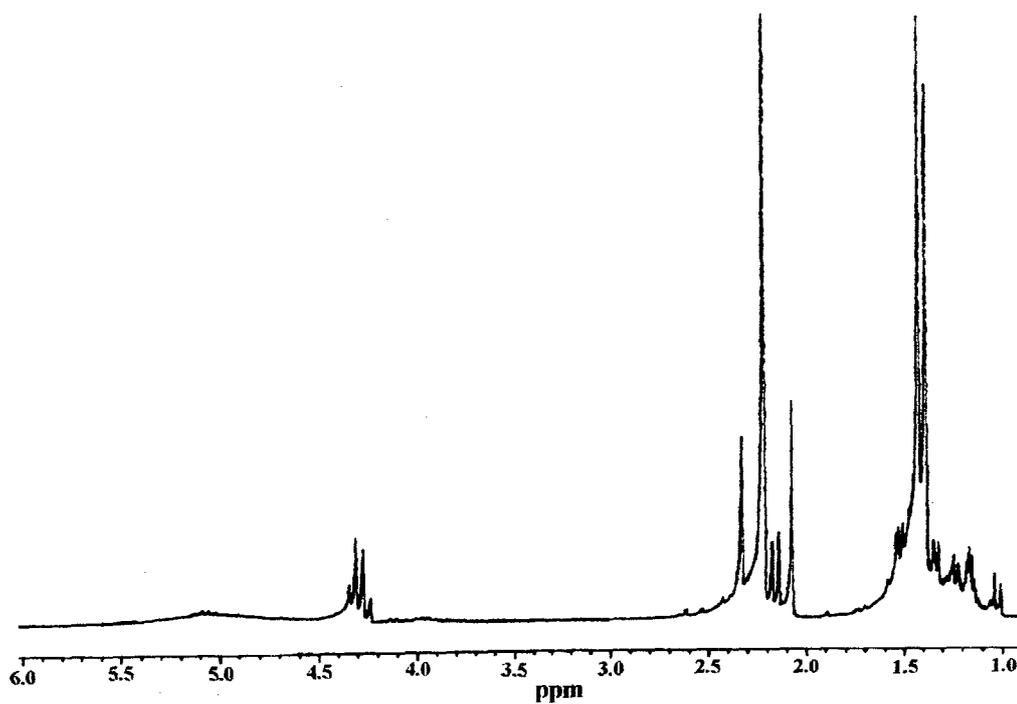


Figura 13 - Espectro de H^1 NMR do complexo acetoína- Ca^{++} em clorofórmio deuterado.

4.2 - Reação entre 2,3-butanodiona e hidroxilamina

Esta reação entre 2,3-butanodiona e hidroxilamina foi acompanhada através da formação da dioxima correspondente a 266 nm, utilizando-se excesso de composto nucleofílico para obter-se condições de pseudo primeira ordem. A concentração de 2,3-butanodiona não excedeu a $1,6 \times 10^{-3}$ M.

Na figura 14 estão graficados os logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem aparente ($\log k_2$) em função do pH. Em toda a faixa de pH estudada, o perfil não apresenta nenhuma inflexão, indicando que a desidratação é determinante da velocidade. As constantes de velocidade de segunda ordem aparentes estão listadas na tabela 9 e foram calculadas utilizando-se a equação 21.

Entre pH 2,0 e 6,0, temos a etapa de desidratação catalisada por ácido ($k_{H_3O^+}$); entre pH 7,0 e 8,0, a reação ocorre através da desidratação não catalisada (k_0); e, entre pH 8,0 e 10,0, a reação ocorre através da desidratação catalisada pelo íon hidróxido (k_{OH^-}).

As constantes de velocidade de terceira ordem referentes à região de desidratação catalisada por ácido ($k_{H_3O^+}$), catalisada por base (k_{OH^-}) e não catalisada (k_0) encontram-se na tabela 28.

Na região de desidratação catalisada por ácido, observou-se experimentalmente a presença de catálise ácida geral com os catalisadores ácido fórmico, ácido acético, ácido succínico, fosfato monoânion, imidazol e ácido bórico (Tabela 10).

O gráfico de Brønsted para a etapa de desidratação apresenta um valor de α igual a 0,93 ($r = 0,99$) (Tabela 11 e Figura 15).

A constante de equilíbrio média para a formação do intermediário neutro - Kad - para esta reação é de $6,42 \pm 0,03 \text{ M}^{-1}$. Os dados desta determinação encontram-se na tabela 12.

Observando-se a figura 14, fica comprovado o efeito do ácido bórico (0,01M) sobre esta reação, provocando um aumento de 13 vezes na velocidade da reação. Os dados relativos a esta observação encontram-se na tabela 13.

No gráfico de Brønsted, figura 15, observa-se que a constante catalítica do ácido bórico apresenta um desvio positivo acima da linha de correlação de 302 vezes.

O ponto relativo à catálise exercida pela água como catalisador ácido na região independente do pH mostra um desvio positivo do traçado obtido a partir desta correlação de 1.071519 vezes (Figura 15).

Na tabela 14 estão relacionadas as constantes de velocidade obtidas para a reação da 2,3-butanodiona ($1,66 \times 10^{-3}$ M) e hidroxilamina (0,1 M) em diferentes concentrações de solvente DimetilSufóxido (DMSO).

Tabela 9 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,3-butanodiona.^a

pH	$10^3 \cdot k_{\text{obs,seg}}^{-1}$	[Nu] _t	f _c	log k ^{2b}
2,29	14,90	0,05	1,00	2,49
2,60	16,60	0,05	1,00	2,23
3,00	12,60	0,05	1,00	1,71
3,53	11,60	0,05	1,00	1,14
4,00	11,00	0,05	1,00	0,66
5,10	4,43	0,05	1,04	-0,77
5,50	6,79	0,05	1,08	-0,92
6,03	4,01	0,05	1,17	-1,44
6,52	2,06	0,05	1,25	-1,89
7,21	0,95	0,05	1,30	-2,27
7,60	0,63	0,05	1,31	-2,47
8,00	0,92	0,05	1,32	-2,31
8,60	1,97	0,05	1,32	-1,98
9,20	8,67	0,05	1,32	-1,33
9,50	13,70	0,05	1,32	-1,13
9,70	24,20	0,05	1,32	-0,87

^a Água, 25,0 ± 0,1°C, força iônica 1,0 (KCl), λ = 266 nm
 Concentração hidroxilamina = 0,05 M
 Concentração 2,3-butanodiona = 1,6 x 10⁻³ M.

^b $k_2 = \{k_{\text{obs}} / [\text{Nu}]_t\} f_c \cdot K$

$f_c = 1 + K_{\text{ad}} [\text{Nu}]_t$

$K = [\text{RCOCOR}'] / [\text{RCOC(OH)}_2 \text{R}']$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão M⁻¹ seg⁻¹.

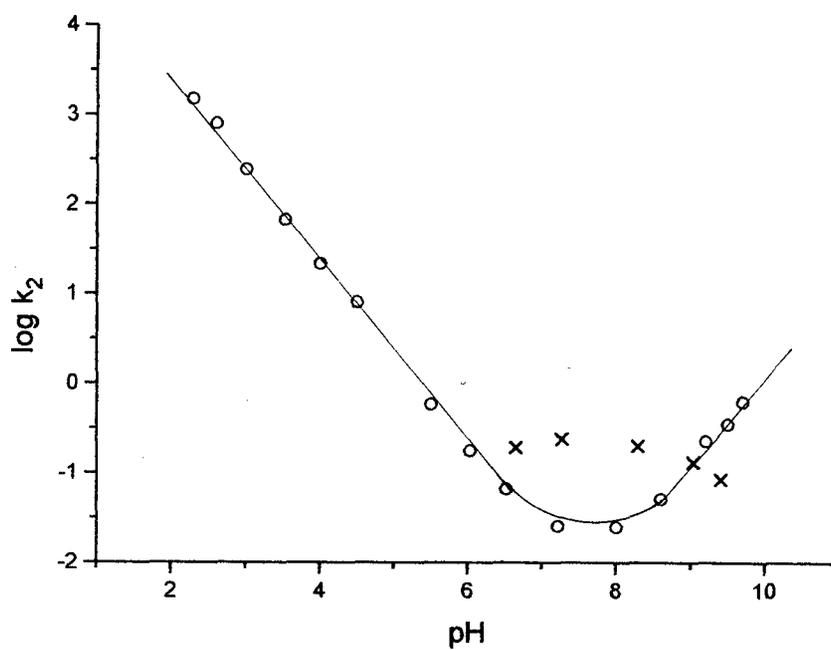


Figura 14 - Logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre hidroxilamina e 2,3-butanodiona na ausência (o), e em presença de ácido bórico 0,01M (x).

Tabela 10 - Constantes de velocidade de segunda ordem para a reação entre 2,3-butanodiona com hidroxilamina em presença de diferentes concentrações de tampões.^a

Tampão	[NH ₂ OH] M	pH	[Conc.] M	k ₂ M ⁻¹ seg ⁻¹
ác.fórmico	0,05	3,56	0,1	4,42 x 10 ⁻¹
			0,2	4,80 x 10 ⁻¹
			0,3	5,19 x 10 ⁻¹
			0,4	5,57 x 10 ⁻¹
ác.acético	0,05	4,65	0,1	3,94 x 10 ⁻⁰
			0,2	4,23 x 10 ⁻⁰
			0,3	4,52 x 10 ⁻⁰
			0,4	4,81 x 10 ⁻⁰
ác.succínico	0,1	5,48	0,1	3,21 x 10 ⁻¹
			0,2	3,70 x 10 ⁻¹
			0,3	4,16 x 10 ⁻¹
			0,4	4,64 x 10 ⁻¹
fosfato monoânion	0,1	6,60	0,1	3,10 x 10 ⁻²
			0,2	3,60 x 10 ⁻²
			0,3	4,20 x 10 ⁻²
			0,4	4,80 x 10 ⁻²
imidazol	0,1	7,21	0,1	2,29 x 10 ⁻²
			0,2	2,46 x 10 ⁻²
			0,3	2,62 x 10 ⁻²
			0,4	2,79 x 10 ⁻²
ác.bórico	0,05	8,85	0,01	9,87 x 10 ⁻²
			0,02	1,88 x 10 ⁻¹
			0,03	2,77 x 10 ⁻¹
			0,04	3,67 x 10 ⁻¹

^a Água, 25,0 ± 0,1°C, força iônica 1,0 (KCl), λ = 266 nm.
Concentração 2,3-butanodiona = 1.66 x 10⁻³ M

Tabela 11 - Constantes catalíticas para a etapa de desidratação da reação de hidroxilamina e 2,3-butanodiona.^a

Catalisador	pK _a '	k _{AH} /M ⁻² seg ⁻¹	log(k _{AH} /p)	pK _a ' + log p/q
hidrônio	-1,74 ^b	3,26 x 10 ⁵	5,04	-1,26
ác.fórmico	3,56 ^c	76,7	1,88	3,26
ác.acético	4,65 ^b	5,79	0,76	4,35
ác.succínico	5,48 ^d	0,95	-0,023	4,88
fosfato monoânion	6,60 ^d	0,114	-1,25	6,42
imidazol	7,21 ^e	0,033	-1,48	6,91
ác.bórico	8,85	13,07	0,64	9,33
H ₂ O	15,74 ^b	2,9 x 10 ⁻⁴	-3,84	16,04

^a Água, 25,0 ± 0,1°C, força iônica 1.0 (KCl), λ = 236 nm

^b L.P.Hammett, *Physical Organic Chemistry*, 2nd ed. p.23 McGraw-Hill, New York (1970)

^c J.M.Sayer and W.P.Jencks, *J.Am.Chem.Soc.* **91**, 6353 (1969)

^d J.J.Tufariello, *Acc. Chem. Res.* **12**, 396 (1979)

^e W.P.Jencks and M.Glchrist, *J. Am. Soc.* **90**, 2622 (1968)

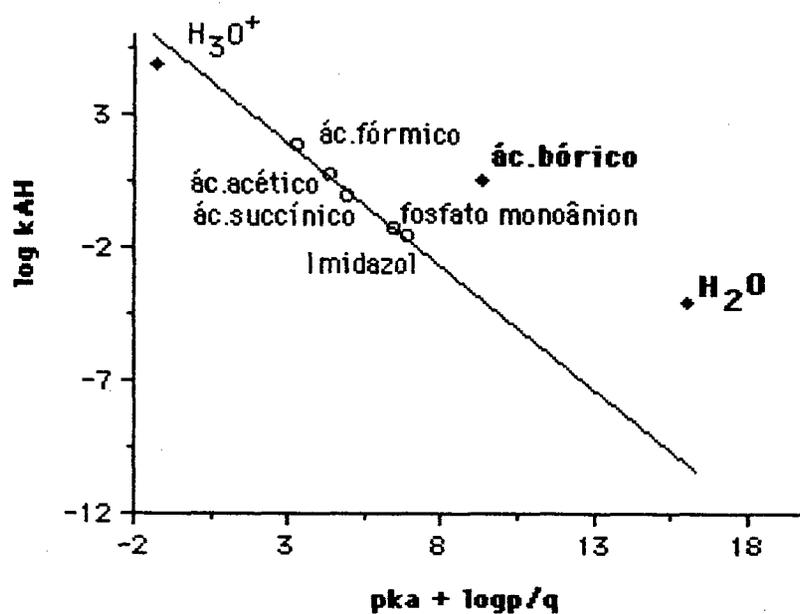


Figura 15 - Gráfico de Bronsted para a etapa de desidratação da reação de 2,3-butanodiona e hidroxilamina utilizando-se diferentes catalisadores em água $25,0 \pm 0,1^\circ C$, $\mu = 1,0$ (KCl). Os parâmetros de ajuste teórico da reta são: $y = 0,928x + 4,77$, $r = 0,992$, $n = 5$.

Tabela 12 - Constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro a partir da hidroxilamina e 2,3-butanodiona.^a

$[\text{NH}_2\text{OH}]_t$	Ab_x^b	%C=O	% I	K_{ad}
0,03	1,063	0,747	0,158	7,05
0,10	1,281	0,529	0,376	7,10
0,15	1,367	0,443	0,462	6,95
0,20	1,375	0,435	0,470	5,40
0,25	1,433	0,377	0,528	5,60

^aÁgua, $25,0 \pm 0,1^\circ \text{C}$, força iônica 1,0 (KCl), $\lambda = 272 \text{ nm}$

$\text{Ab}_0 = 0,905$ (absorbância inicial da carbonila)

^b Ab_x = a absorbância de 2,3-butanodiona em presença de concentrações crescentes de NH_2OH

pH = 7,5 (Tampão fosfato 0,01M)

$K_{ad} = 6,42 \pm 0,8$

2,3-butanodiona = $1,66 \times 10^{-3} \text{ M}$

Tabela 13 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,3-butanodiona em presença de ácido bórico 0,01 M.^a

pH	$10^{-3} k_{\text{obs,seg}}^{-1}$	$[\text{Nu}]_t$	f_c	$\log k_2^b$
6,64	6,27	0,05	1.26	-0,93
7,26	8,85	0,05	1.30	-0,80
8,28	7,71	0,05	1.32	-0,90
9,03	5,02	0,05	1.32	-1,14
9,40	3,23	0,05	1.32	-1,39

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1,0 (KCl), $\lambda = 266 \text{ nm}$

Concentração hidroxilamina = 0.05 M

Concentração 2,3 butanodiona = $1.6 \times 10^{-3} \text{ M}$

$$^b k_2 = \{k_{\text{obs}} / [\text{Nu}]_t\} f_c \cdot K'$$

$$f_c = 1 + K_{\text{ad}} [\text{Nu}]_t$$

$$K' = [\text{RCOCOR}'] / [\text{RCOC(OH)}_2 \text{R}']$$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão $\text{M}^{-1} \text{seg}^{-1}$.

Tabela 14 - Constantes de velocidade da reação entre hidroxilamina e 2,3 -butanodiona em diferentes concentrações de DMSO (dimetilsufóxido).

DMSO %	$k_2 \text{ M}^{-1}\text{seg}^{-1}$
100%	$2,97 \times 10^{-1}$
95%	$3,62 \times 10^{-2}$
90%	$4,17 \times 10^{-2}$
50%	$5,17 \times 10^{-2}$

^a DMSO/ água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1,0 (KCl).
Concentração hidroxilamina = 0.1 M
Concentração 2,3-butanodiona = 1.66×10^{-3} M.
pH = 6,00 , $\lambda = 270 \text{ nm}$

4.3 - Reação entre 2,3 - butanodiona em excesso e hidroxilamina

A reação de formação da monoxima a partir de excesso de 2,3-butanodiona ($5,0 \times 10^{-3}$ M) e hidroxilamina ($3,3 \times 10^{-4}$ M) foi acompanhada a 250 nm. O perfil de velocidade é mostrado na figura 16. As constantes de velocidade de segunda ordem aparentes estão na tabela 15.

Na figura 16 observa-se ainda o efeito especial do ácido bórico na região de desidratação compreendida entre o pH 6,0 e 9,0, mostrando um aumento na velocidade de reação de duas vezes. Os dados relativos às constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH na presença de ácido bórico 0,025 M encontram-se na tabela 16.

As constantes de velocidade de desidratação catalisada por ácido ($k_{\text{H}_3\text{BO}_3}$), catalisada por base (k_{OH^-}) e não catalisada (k_0) encontram-se na tabela 28.

Esta reação apresenta catálise em presença de 0,1M de CaCl_2 (cloreto de cálcio).

Tabela 15 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina (3.3×10^{-4} M) e 2,3- Butanodiona.^a

pH	$10^3 \cdot k_{\text{obs,seg}}^{-1}$	f_c	$\log k_2^b$
1,95	1,78	$8,92 \times 10^{-4}$	2,91
2,58	2,18	$3,80 \times 10^{-4}$	2,37
3,06	2,49	$1,15 \times 10^{-3}$	1,95
3,30	2,87	$1,99 \times 10^{-3}$	1,77
3,52	2,60	$3,30 \times 10^{-5}$	1,51
4,06	2,97	$1,14 \times 10^{-2}$	1,03
4,72	3,72	$4,99 \times 10^{-2}$	0,48
5,04	3,45	$9,88 \times 10^{-2}$	0,15
6,03	11,10	$5,17 \times 10^{-1}$	-0,06
6,39	12,20	$7,11 \times 10^{-5}$	-0,16
6,78	14,60	$8,58 \times 10^{-1}$	-0,16
7,03	21,20	$9,15 \times 10^{-1}$	-0,01
7,69	37,70	$9,80 \times 10^{-1}$	0,19
8,09	77,20	$9,92 \times 10^{-1}$	0,50
8,47	160,00	$9,96 \times 10^{-1}$	0,81

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1.0 (KCl), $\lambda = 250$ nm
 Concentração 2,3-butanodiona = $5,0 \times 10^{-3}$ M
 Concentração de hidroxilamina = $3,33 \times 10^{-4}$ M

^b $k_2 = \{k_{\text{obs}} / [\text{C=O}] \cdot f_c\} K'$
 $f_c = K_a / K_a + [\text{H}^+]$
 $K' = [\text{RCOCOR}'] / [\text{RCOC(OH)}_2\text{R}']$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão $\text{M}^{-1} \text{seg}^{-1}$.

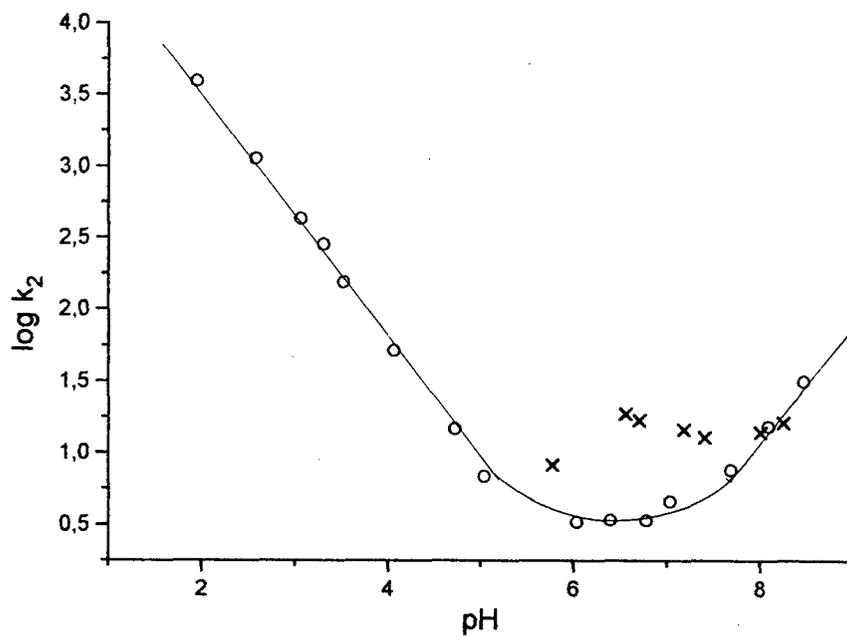


Figura 16 - Logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre 2,3-butanodiona em excesso e hidroxilamina na ausência (○), e em presença de ácido bórico 0,025 M (x).

Tabela 16 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,3-Butanodiona em presença de ácido bórico 0,025 M^a

pH	$10^{-2} \cdot k_{\text{obs,seg}}^{-1}$	f_c	$\log k_2^b$
5,77	1,40	0,339	1,19
6,55	7,12	0,755	1,66
6,70	6,91	0,813	1,60
7,18	6,82	0,929	1,52
7,40	6,12	0,945	1,45
8,00	6,95	0,989	1,49
8,25	8,14	0,993	1,58
8,60	9,68	0,997	1,67

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1.0 (KCl), $\lambda = 250 \text{ nm}$

Concentração 2,3- butanodiona = $5,0 \times 10^{-3} \text{ M}$

Concentração de hidroxilamina = $3,3 \times 10^{-4} \text{ M}$

^b $k_2 = \{k_{\text{obs}} / [\text{C}=\text{O}] \cdot f_c\} K'$

$f_c = K_a / K_a + [\text{H}^+]$

$K' = [\text{RCOCOR}'] / [\text{RCOC(OH)}_2\text{R}']$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão $\text{M}^{-1} \text{seg}^{-1}$

4.4 Reação entre 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído e hidroxilamina.

A reação entre 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído e hidroxilamina foi estudada espectrofotometricamente através da formação da oxima a 228 nm, utilizando-se excesso do composto nucleófilo (0,1 - 0,2 M) para obter-se condições de pseudo primeira ordem. A concentração do 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído foi de $1,66 \times 10^{-3}$ M. A reação apresenta um perfil do tipo A, obtido graficando-se os logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem ($\log k_2$), que são constantes aparentes em função do pH, como pode ser visto na tabela 17, figura 17.

A curva da figura 17 foi calculada empregando-se as equação 19.

O perfil do tipo A apresenta uma etapa de ataque catalisada pelo íon hidrônio (k_1), em que se observou a presença de catálise ácida geral experimental pelos ácido acético, ácido succínico, ácido cacodílico, fosfato monoânion, morfolina e ácido bórico. Esta catálise pode ser observada na tabela 18.

O gráfico de Bronsted para etapa de ataque da reação apresenta um valor α de Bronsted igual a 0,54 ($r=0,961$) (Tabela 19 e Figura 18). O ponto relativo à catálise pelo íon hidrônio ajusta-se sobre o traçado obtido desta correlação. Na tabela 27 encontra-se a constante de velocidade do ataque catalisado para esta reação.

Na região de desidratação, observam-se três regiões distintas: região catalisada por ácido, não catalisada e catalisada pelo íon hidróxido. Estas constantes estão listadas na tabela 28.

A constante de equilíbrio média para a formação do intermediário neutro para esta reação foi de $6,50 \text{ M}^{-1}$ (Tabela 20).

Na figura 17 pode-se ainda observar o efeito especial do ácido bórico na região de desidratação compreendida entre pH 6,5 e 10,0. Os dados relativos às constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH na presença de 0,02 M de ácido bórico encontram-se na tabela 21. Sua constante catalítica no gráfico de Bronsted fica 53 vezes acima da linha de correlação.

Tabela 17 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído.^a

pH	$10^3 \cdot k_{\text{obs}}, \text{seg}^{-1}$	$[\text{Nu}]_t$	f_c	$\log k_2^b$
0.97	7.45	0.2	1.00	3.60
1.60	7.00	0.2	1.00	2.94
2.13	8.08	0.2	1.00	2.48
2.65	4.82	0.1	1.00	2.03
3.10	3.66	0.1	1.00	1.46
3.70	3.10	0.1	1.00	0.79
4.00	3.03	0.1	1.00	0.49
4.29	3.31	0.1	1.01	0.29
4.90	2.26	0.1	1.05	-0.49
5.10	2.95	0.1	1.07	-0.55
5.40	2.67	0.1	1.13	-0.82
6.10	6.77	0.1	1.36	-0.78
6.55	9.17	0.1	1.51	-0.75
6.90	9.96	0.1	1.58	-0.76
7.40	10.5	0.1	1.62	-0.75
7.85	5.51	0.1	1.64	-1.04
8.00	2.76	0.1	1.64	-1.34
8.50	1.19	0.1	1.65	-1.70
8.90	1.29	0.1	1.65	-1.67
9.20	1.30	0.1	1.65	-1.67
9.50	1.40	0.1	1.65	-1.64
9.90	3.79	0.1	1.65	-1.20
10.32	8.18	0.2	1.65	-0.87
10.50	13.79	0.1	1.65	-0.64

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1.0 (KCl), $\lambda = 228 \text{ nm}$

Concentração 2,2 -dimetil-3-hidroxi-propionaldeído = $1.66 \times 10^{-3} \text{ M}$

^b $k_{2ap} = \{k_{\text{obs}} / [\text{NH}_2\text{OH}]_t\} \cdot f_c = k_2 K_{ad}$

$f_c = 1 + K_{ad} [\text{NH}_2\text{OH}]_t$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão $\text{M}^{-1} \text{seg}^{-1}$.

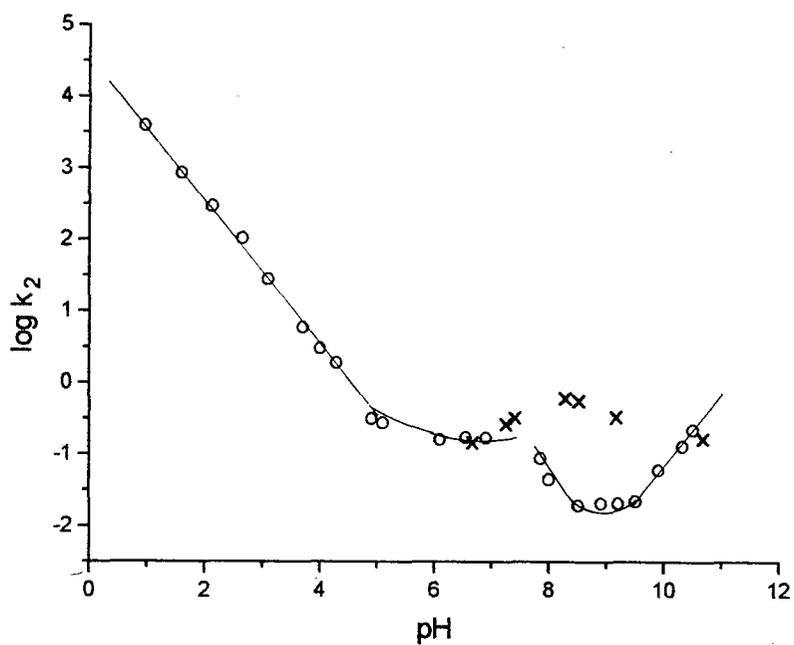


Figura 17 - Logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre 2,2 -dimetil-3-hidroxi-propionaldeído e hidroxilamina na ausência (○) e em presença de ácido bórico 0,02 M (x).

Tabela 18 - Constantes de velocidade de segunda ordem para a reação entre 2,2 dimetil-3-hidroxi-propionaldeído com hidroxilamina em presença de diferentes concentrações de tampões.^a

Tampão	[NH ₂ OH] M	pH	[Conc.] M	k ₂ M ⁻¹ seg ⁻¹
ác.acético	0,05	4,65	0,05	0,57
			0,08	0,77
			0,10	0,91
			0,13	1,10
ác.succínico	0,05	5,48	0,05	0,27
			0,08	0,29
			0,10	0,30
			0,13	0,33
ác.cacodílico	0,05	5,00*	0,05	0,20
			0,08	0,22
			0,10	0,23
			0,13	0,24
fosfato monoânion	0,05	5,00*	0,1	0,24
			0,2	0,28
			0,3	0,32
			0,4	0,36
morfolina	0,05	5,00*	0,1	0,22
			0,2	0,23
			0,3	0,24
			0,4	0,25
ác.bórico	0,05	5,00*	0,01	0,06
			0,02	0,08
			0,03	0,10
			0,04	0,12

^a Água, 25,0 ± 0,1°C, força iônica 1,0 (KCl), λ = 228 nm

* ác.acético como tampão secundário

Concentração 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído = 1.66 x 10⁻³ M.

Tabela 19 - Constantes catalíticas para a etapa de ataque da reação de hidroxilamina 2,2 - dimetil-3-hidroxi-propionaldeído.^a

Catalisador	pK _a '	k _{AH} /M ⁻² seg ⁻¹	log (k _{AH} /p)	pK _a ' + log p/q
hidrônio	-1,74 ^b	3,16 x 10 ⁴	4,02	-1,26
ác. acético	4,65 ^b	13,4	1,13	4,35
ác. succínico	5,48 ^c	1,5	0,18	4,88
ác. cacodílico	6,15	1,035	0,02	5,85
fosfato monoânion	6,60 ^c	0,812	-0,39	6,42
morfolina	8,36	0,104	-1,28	8,36
ác. bórico	8,85	4,238	0,15	9,32

^a Água, 25,0 ± 0,1°C, força iônica 1.0 (KCl), λ = 228 nm

^b L.P. Hammett, *Physical Organic Chemistry*, 2nd ed. p.23 McGraw-Hill, New York (1970)

^c J.J. Tufariello, *Acc. Chem. Res.* **12**, 396 (1979)

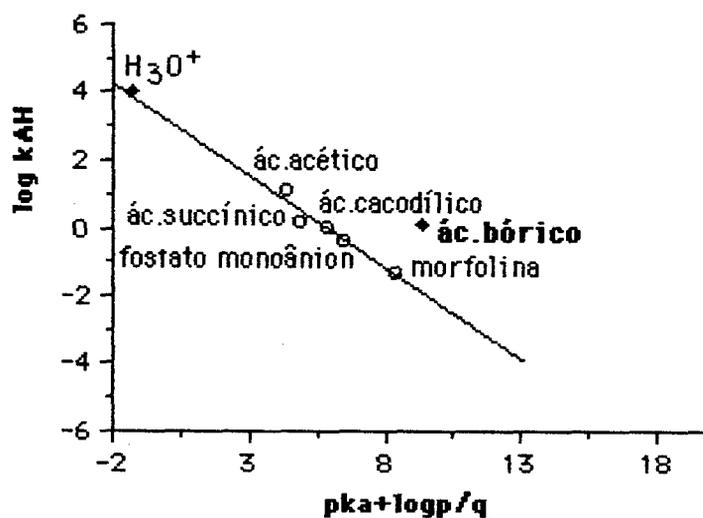


Figura 18 - Gráfico de Bronsted para a etapa de ataque da reação de 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído e hidroxilamina utilizando-se diferentes catalisadores em água $25,0 \pm 0,1$ °C, $\mu = 1,0$ (KCl). Os parâmetros de ajuste teórico da reta são: $y = 0,540x + 3,16$, $r = 0,961$, $n = 5$.

Tabela 20 - Variação da absorvância da 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído ($\lambda = 285\text{nm}$) em função da concentração da hidroxilamina [N]^a

$\Delta A [C=O]_{t=0}$	[N].M	1 / ΔA	1 / [N]
0,318	0.10	3,144	10.0
0,391	0.20	2,557	5.0
0,404	0.25	2,531	4.0

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1,0 (KCl), $\lambda = 285\text{ nm}$
 Concentração hidroxilamina = 0.1 - 0,25M
 Concentração 2,2 -dimetil-3-hidroxi-propionaldeído = $1.66 \times 10^{-3}\text{ M}$.
 pH 9,0 (tampão morfolina 0,01M)
 $K_{ad} = 6,50$

Tabela 21 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído em presença de ácido bórico 0,02 M.^a

pH	$10^2 k_{\text{obs,seg}}^{-1}$	f_c	$\log k_2^b$
6,66	0,80	1,53	-0,83
7,24	1,58	1,61	-0,57
7,40	1,96	1,62	-0,48
8,28	3,83	1,65	-0,20
8,51	3,51	1,65	-0,24
9,16	2,11	1,65	-0,46
10,67	1,02	1,65	-0,77

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1,0 (KCl), $\lambda = 228 \text{ nm}$

Concentração hidroxilamina = 0.1 M

Concentração 2.2 dimetil-3-hidroxi-propionaldeído = $1.66 \times 10^{-3} \text{ M}$.

^b $k_{2ap} = \{k_{\text{obs}}/[\text{NH}_2\text{OH}]_1\} \cdot f_c = k_2 K_{\text{ad}}$

$f_c = 1 + K_{\text{ad}} [\text{NH}_2\text{OH}]_1$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão $\text{M}^{-1} \text{seg}^{-1}$.

4. 5 - Reação entre diacetilmonoxima e hidroxilamina

A reação entre diacetilmonoxima e hidroxilamina foi acompanhada através da formação da dioxima a 260 nm utilizando-se excesso de composto nucleofílico (0,1M) e uma concentração de $(1,66 \times 10^{-3} \text{ M})$ de diacetilmonoxima. As constantes de velocidade de segunda ordem aparente encontram-se na tabela 22.

Na figura 19 observa-se o perfil de velocidade para esta reação, obtido graficando-se os logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem ($\log k_2$) que são constantes aparentes em função do pH.

Na tabela 28 estão relacionados os dados das constantes de velocidade de terceira ordem correspondentes à região de desidratação catalisada pelo íon hidrônio e à região de desidratação independente do pH.

A constante de equilíbrio média para a formação do intermediário neutro foi de $0,46 \pm 0,05 \text{ M}^{-1}$ (Tabela 23).

Tabela 22 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e diacetilmonoxima.^a

pH	$10^4 \cdot k_{\text{obs,seg}}^{-1}$	[Nu] ^t	f _c	log k ₂ ^b
3,08	0,21	0,1	1,00	1,25
3,45	0,19	0,1	1,00	0,84
4,18	0,27	0,1	1,00	0,26
4,47	0,18	0,1	1,00	-0,20
5,15	9,84	0,1	1,00	-1,10
5,85	9,85	0,1	1,02	-2,05
6,11	3,63	0,1	1,02	-2,19
6,41	1,83	0,1	1,03	-2,58
7,20	1,01	0,1	1,04	-2,97
7,41	1,06	0,1	1,04	-2,96

^a Água, 25,0 ± 0,1°C, força iônica 1.0 (KCl), λ = 260 nm

Concentração diacetilmonoxima = 1.66 x 10⁻³ M

^b $k_{2ap} = \{k_{\text{obs}}/[\text{NH}_2\text{OH}]_i\} \cdot f_c = k_2 K_{ad}$

$f_c = 1 + K_{ad}[\text{NH}_2\text{OH}]_i$

Todas as constantes de velocidade possuem dimensão M⁻¹ seg⁻¹.

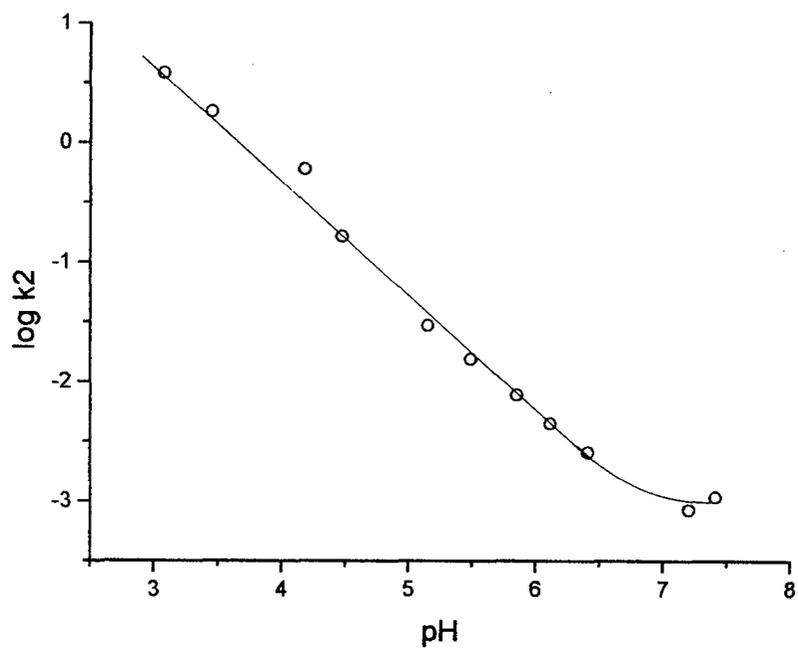


Figura 19 - Logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre hidroxilamina e diacetilmonoxima.

Tabela 23 - Constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro a partir da hidroxilamina e diacetilmonoxima.^a

$[\text{NH}_2\text{OH}]_t$	Ab_x^b	%C=O	% I	K_{ad}
0,10	1,847	95,30	4,695	0,49
0,15	1,826	94,22	5,779	0,41
0,25	1,705	87,97	12,02	0,54
0,30	1,727	89,11	10,88	0,41
0,35	1,685	86,94	13,05	0,43

^a Água, $25,0 \pm 1,0^\circ \text{C}$, força iônica 1,0 (KCl)
 $\text{Ab}_0 = 1,938$ (Absorbância inicial da carbonila)

^b Ab_x = a absorbância de diacetilmonoxima em presença de concentrações crescentes de NH_2OH
 $\text{pH} = 6,70$ (tampão fosfato 0,01M)
 $K_{ad} = 0,46 \pm 0,05\text{M}^{-1}$

4.6 - Reação entre butanona e hidroxilamina

Acompanhou-se espectrofotometricamente a formação da oxima para a reação entre 2-butanona e hidroxilamina a 248 nm, utilizando-se excesso de composto nucleofílico (0,01-0,1M). Na figura 20 estão graficados os logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem aparente ($\log k_2$) em função do pH. As constantes estão listadas na tabela 24.

A constante de velocidade para o ataque não catalisado encontrada foi de $1,58 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{seg}^{-1}$ (Tabela 27) e as constantes de velocidade de terceira ordem correspondentes à região de desidratação catalisada pelo íon hidrônio e não catalisada estão na tabela 28.

A constante de equilíbrio média para a formação do intermediário neutro para estes reagentes foi de 0.93 M^{-1} (Tabela 25).

Tabela 24 - Constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de hidroxilamina e butanona.^a

pH	$10^3 \cdot k_{\text{obs}} \cdot \text{seg}^{-1}$	$[\text{Nu}]_i$	f_c	$\log k_2^b$
0,30	0,32	0,01	1,00	4,21
0,50	0,49	0,01	1,00	4,19
1,00	1,03	0,01	1,00	4,01
2,73	6,68	0,01	1,00	3,09
3,08	8,06	0,01	1,00	2,83
3,23	7,84	0,01	1,00	2,67
3,65	7,95	0,01	1,00	2,25
3,95	7,82	0,01	1,00	1,95
4,52	7,87	0,01	1,00	1,39
4,62	8,38	0,01	1,00	1,32
4,89	7,04	0,01	1,00	0,99
6,74	22,10	0,1	1,08	-0,55
6,76	19,70	0,1	1,08	-0,60
7,24	6,17	0,1	1,09	-1,15
7,56	4,02	0,1	1,09	-1,40
8,27	0,74	0,1	1,09	-2,09
8,74	0,34	0,1	1,09	-2,43
9,11	0,30	0,1	1,09	-2,48
9,45	0,28	0,1	1,09	-2,52
9,81	0,33	0,1	1,09	-2,45

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, força iônica 1.0 (KCl), $\lambda = 248 \text{ nm}$

Concentração butanona = $1.66 \times 10^{-3} \text{ M}$

^b $k_{2ap} = \{k_{\text{obs}} / [\text{NH}_2\text{OH}]_i\} \cdot f_c = k_2 \cdot K_{ad}$

$f_c = 1 + K_{ad} [\text{NH}_2\text{OH}]$

Todas as constantes de velocidade k_2 possuem dimensão $\text{M}^{-1} \text{seg}^{-1}$.

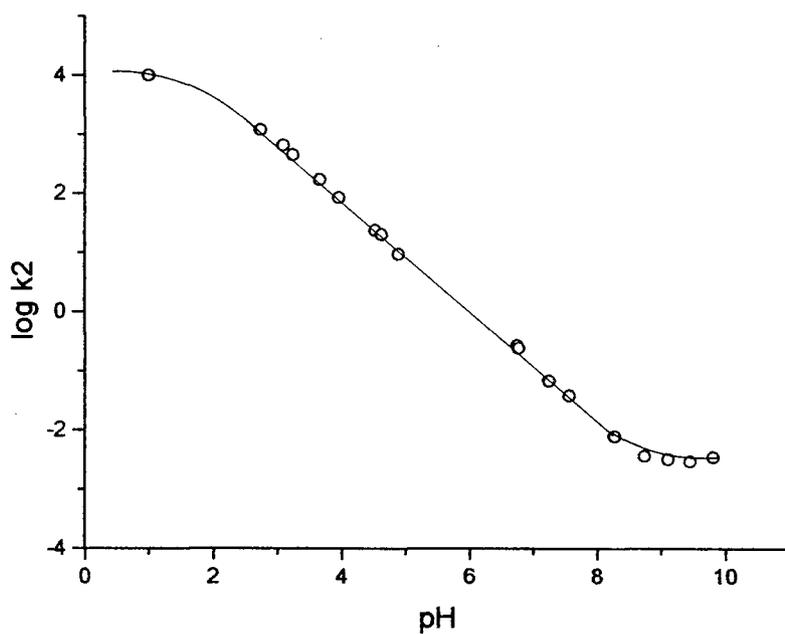


Figura 20 - Logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre hidroxilamina e butanona.

Tabela 25 - Variação da absorvância da butanona ($\lambda = 264 \text{ nm}$) em função da concentração da hidroxilamina [N].^a

$\Delta A [C=O]_{t=0}$	[N] · M	1 / ΔA	1 / [N]
0,560	0,05	27,77	20,00
0,518	0,15	12,82	6,66
0,509	0,20	11,49	5,00
0,490	0,25	9,43	4,00
0,474	0,35	8,19	2,85

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ \text{ C}$, força iônica 1,0 (KCl)
 $Ab_0 = 0.596$ (absorvância inicial da carbonila)
 pH = 8,7 (tampão morfolina 0,01M)
 Concentração da butanona = 0,05 - 0,35 M.
 $K_{ad} = 0.927 \text{ M}^{-1}$

5 - Resultados Gerais

Na tabela 26 encontra-se a relação entre o tipo de perfil para as diferentes reações já relacionadas com as respectivas constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro das reações entre diferentes compostos carbonílicos e hidroxilamina.

As constantes de velocidade para o ataque catalisado (k_1) e não catalisado (k_2), assim como o α de Brønsted para a etapa de ataque catalisado por ácido, determinados para a reação entre 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído, são mostrados na tabela 27.

As constantes catalíticas aparentes para a etapa de desidratação catalisada pelo íon hidrônio ($k_{H_3O^+}$), não catalisada (k_o), catalisada pelo íon hidróxido (k_{OH^-}), assim como os valores de α de Bronsted para a etapa de desidratação na reação entre hidroxilamina e diferentes compostos carbonílicos encontram-se na tabela 28 e 29.

Tabela 26 - Condições experimentais, relação entre o tipo de perfil e constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro na reação entre diferentes compostos carbonílicos e hidroxilamina.^a

[Composto carbonílico]M	[NH ₂ OH], M	K _{ad} M ⁻¹	Tipo de perfil	λ, nm
3-hidroxi-2-butanona 1,66 x 10 ⁻³	0,05 - 0,2	1,22 / 0,91 ^b	C	236
2,2-dimetil-3- hidroxipropionaldeído 1,66 x 10 ⁻³	0,1 - 0,2	6,50	A	228
2,3-butanodiona 1,66 x 10 ⁻³	5,00 x 10 ⁻²	6,42		260
2,3-butanodiona 5,00 x 10 ⁻³	3,30 x 10 ⁻⁴	6,42		250
diacetilmonoxima 1,66 x 10 ⁻³	1,00 x 10 ⁻¹	0,46		266
butanona 1,66 x 10 ⁻³	(0,1 - 1,0) x 10 ⁻³	0,93		248

^a Água, 25,0 ± 0,1°C, força iônica 1,0 (KCl)

^b K_{ad} em presença de 0,1M de Ca⁺⁺

Tabela 27 - Constantes de velocidade de ataque não catalisado e catalisado pelo íon hidrônio para as reações entre diferentes compostos carbonílicos e hidroxilamina^a

Composto carbonílico	Ataque catalisado $M^{-2} \text{ seg}^{-1}$	Ataque não catalisado $M^{-1} \text{ seg}^{-1}$	α de ataque
3-hidroxi-2- butanona		$3,98 \times 10^3$	
2,2-dimetil-3-hidroxi- propionaldeído	$3,16 \times 10^4$		0,54
butanona		$1,58 \times 10^4$	

^a Água, $25,0 \pm 0,1$ °C, força iônica 1,0 (KCl)

Tabela 28 - Constantes catalíticas para a etapa de desidratação da reação entre hidroxilamina e diferentes compostos carbonílicos.^a

Composto carbonílico	$K_{ad.} k_{H_3O^+}$ $M^{-2} \text{seg}^{-1}$	$K_{ad.} k_O$ $M^{-1} \text{seg}^{-1}$	$K_{ad.} k_{OH^-}$ $M^{-2} \text{seg}^{-1}$	α da desidratação
3-hidroxi-2- butanona	$3,16 \times 10^5$	$3,37 \times 10^{-3}$	$1,83 \times 10^2$	0,75
2,2-dimetil-3-hidroxi- propionaldeido	$5,62 \times 10^6$	$4,93 \times 10^{-3}$	$1,00 \times 10^3$	
2,3- butanodiona	$1,67 \times 10^5$	$1,24 \times 10^{-2}$	$1,00 \times 10^4$	0,92
2,3- butanodiona excesso	$5,62 \times 10^5$	$2,66 \times 10^0$	$1,00 \times 10^7$	
diacetilmonoxima	$1,12 \times 10^4$	$7,96 \times 10^{-4}$		
butanona	$1,01 \times 10^6$	$2,82 \times 10^{-3}$		

^a Água, 25, \pm 0,10 °C, força iônica, $\mu = 1,0$ (KCl)

Tabela 29 - Constantes de equilíbrio e constantes de velocidade catalisadas pelo íon hidrônio, espontânea e catalisadas pelo íon hidróxido para a etapa de desidratação do aminoálcool formado a partir de diferentes compostos carbonílicos e hidroxilamina.^{a,b}

composto carbonílico	produto formado	k_{H^+} $M^{-1}s^{-1}$	k_0 s^{-1}	k_{OH^-} $M^{-1}s^{-1}$	K_{ad} M^{-1}
diacetila (Exc. NH_2OH)	dioxima	$2,61 \times 10^4$	$1,93 \times 10^{-3}$	$1,56 \times 10^3$	6,42
diacetila (Exc. diacetila)	monoxima	$8,75 \times 10^4$	$4,15 \times 10^{-1}$	$1,56 \times 10^6$	6,42
diacetilmonoxima	dioxima	$2,43 \times 10^4$	$1,73 \times 10^{-3}$		0,46
butanona	oxima	$1,09 \times 10^6$	$3,03 \times 10^{-3}$		0,93
acetoína	oxima	$2,59 \times 10^5$	$2,76 \times 10^{-3}$	$1,50 \times 10^2$	1,22

^a Água, $25,0 \pm 0,1^\circ C$, força iônica 1,0 (KCl)

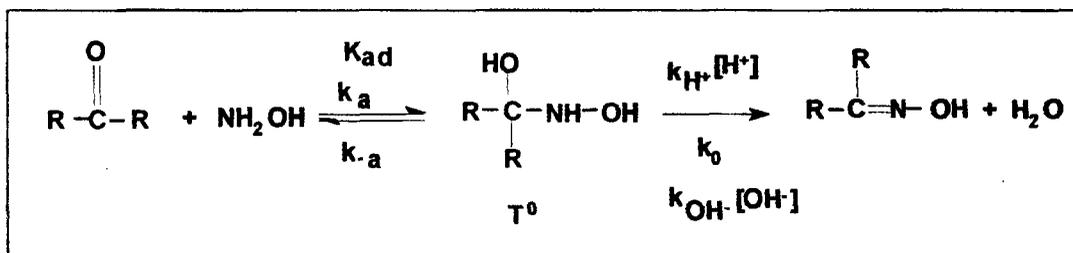
^b No caso das reações de diacetila com hidroxilamina, as constantes de velocidade foram corrigidas considerando a constante de hidratação da diacetila.⁷⁸

6 - Discussão

A formação de oximas,²⁶ semicarbazidas,^{26,30} tiosemicarbazonas,²⁹ fenil-hidrazonas²⁷ e bases de Schiff³⁷ ocorre, de uma maneira geral, em duas etapas: i) ataque do reagente nucleofílico ao grupo carbonílico, formando um intermediário de adição neutro (T^0), que é a etapa determinante da velocidade em pH ácido; e ii) desidratação do intermediário de adição formado, que é a etapa determinante da velocidade em pH neutro e/ou alcalino.

A mudança de etapa determinante da velocidade de ataque para desidratação é observada através de uma inflexão no perfil de velocidade em função do pH.²⁷⁻³⁰

O ataque nucleofílico ao grupo carbonílico pode ser catalisado pelo íon hidrônio ou não catalisado, ao passo que a desidratação pode ser catalisada por ácido, espontânea, ou catalisada por base.²⁸



Esquema 9.

6.1 - Comparação entre a reação de hidroxilamina com diacetila, diacetilmonoxima, acetoina e butanona.

Na reação da hidroxilamina com os diferentes compostos carbonílicos, os perfis de velocidade em função do pH, observados entre o pH 2 e 10, mostram a existência de uma única etapa determinante da velocidade da reação (Figura 21).

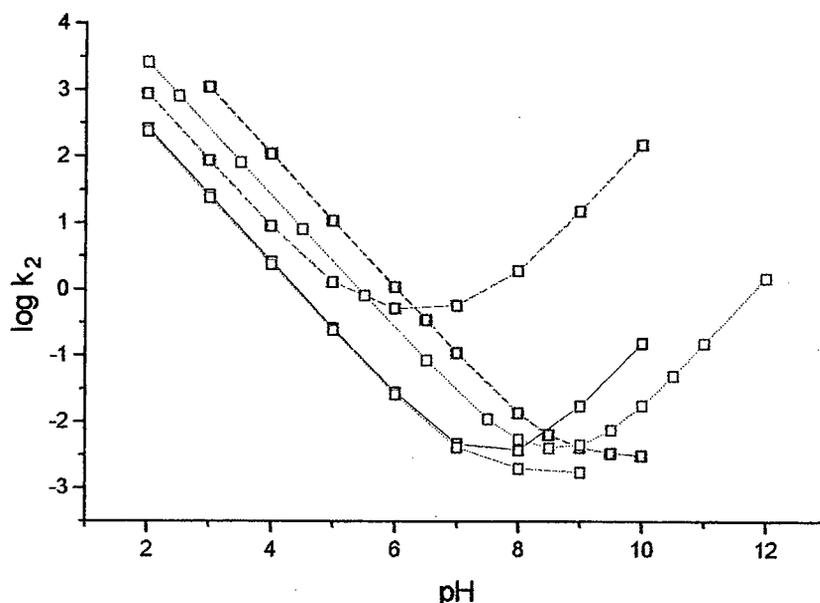


Figura 21 - Logaritmos das constantes de velocidade de segunda ordem em função do pH para a reação de condensação entre hidroxilamina e excesso de diacetila (□), diacetila (□), 2- butanona (□), diacetilmonoxima (□) e acetoina (□).

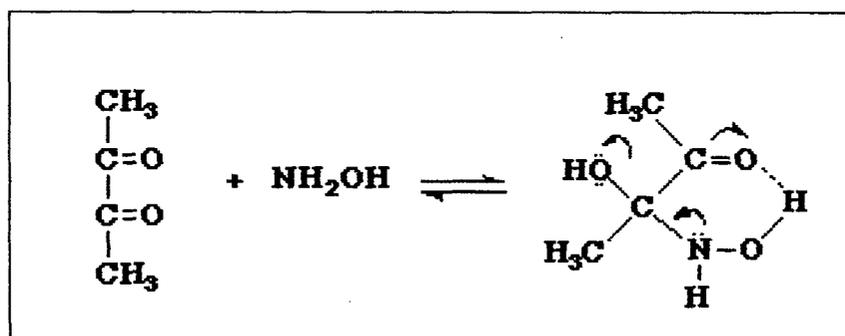
Através da figura 21, conclui-se que a etapa de desidratação é determinante da velocidade em toda a faixa de pH estudada.^{43,44} As constantes de desidratação graficadas são as constantes verdadeiras, isto é, divididas pela constante de equilíbrio.

As constantes de equilíbrio para a formação do intermediário neutro de adição (T^0) e as constantes de velocidade catalisadas pelo íon hidrônio, não catalisadas e catalisadas pelo íon hidróxido para as diferentes reações encontram-se na tabela 29.

Na região de desidratação catalisada pelo íon hidrônio, a reação de formação de oxima a partir de 2-butanona com hidroxilamina é cerca de 12 vezes mais rápida que a reação entre hidroxilamina com excesso de diacetila para formar a diacetilmonoxima. Isto é explicado por ser a carbonila da diacetila um grupo que atrai elétrons, dificultando a saída de água. Conseqüentemente, a constante de equilíbrio para a formação do intermediário neutro é cerca de 7 vezes menor no caso da butanona em relação à diacetila. Considerando a formação da dioxima na reação entre diacetila e diacetilmonoxima com excesso do nucleófilo - hidroxilamina, observa-se que as constantes de velocidade de desidratação catalisadas pelo íon hidrônio, assim como a constante de desidratação não catalisada, são praticamente iguais, demonstrando que a reação entre diacetila e

hidroxilamina forma rapidamente a monoxima e depois, lentamente, a dioxima na etapa determinante da velocidade de reação.

Na região de desidratação, que independe do pH, a velocidade de formação da dioxima a partir de diacetila com excesso de hidroxilamina, que forma rapidamente a monoxima, e desta, lentamente, a dioxima, é cerca de 215 vezes menor que a velocidade de formação da monoxima usando excesso de diacetila. Este fato pode ser explicado pela natureza do intermediário de adição formado. No caso da formação da monoxima, existiria a formação de uma ponte de hidrogênio entre o oxigênio carbonílico com a hidroxila da hidroxilamina, formando um anel de 6 membros (Estrutura V). Anéis de 6 membros são termodinamicamente mais estáveis que outros anéis. Este fato favorece a saída da hidroxila e a formação da dupla ligação $>C=N$ devido ao deslocamento de elétrons da carbonila, deixando conseqüentemente o oxigênio da hidroxilamina mais eletronegativo, facilitando desta maneira a transferência do par de elétrons não compartilhado do nitrogênio para favorecer a saída da hidroxila como íon hidróxido (Esquema 10).

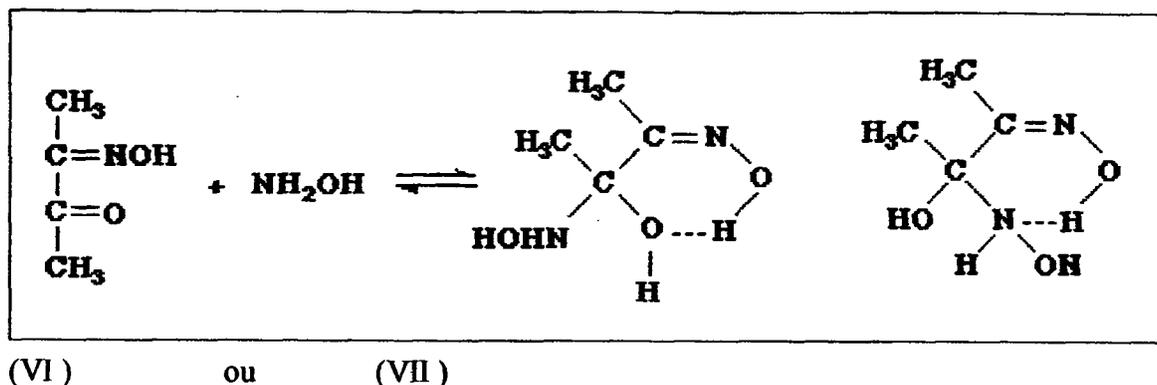


Esquema 10

(V)

No caso da formação da dioxima, no intermediário de adição, existiriam duas possibilidades com formação de ponte de hidrogênio intramolecular através de um anel de 6 membros: i) formar-se-ia uma ponte de hidrogênio entre a hidroxila da oxima com a hidroxila ligada ao carbono, favorecendo a reação de desidratação (Estrutura VI); ou ii) formar-se-ia uma ponte de hidrogênio entre a hidroxila da oxima e o nitrogênio da hidroxilamina, a qual dificultaria a saída da água (Estrutura VII do Esquema 11). Esta última possibilidade deve ser predominante, considerando-se a maior basicidade do par de elétrons no nitrogênio do que no oxigênio, e a menor velocidade de reação para a formação da dioxima em relação à formação da monoxima. Estudos de modelagem molecular utilizando o método semi-empírico AM1,⁷⁹ programa MOPAC 6.0⁸⁰ e PCMODEL (Serena Software, versão 5.13, 1995, nº 43122445A) mostraram que as conformações mais estáveis VI e VII podem formar pontes de hidrogênio na ausência de

solvente. Rotações em torno da ligação C₂C₃ (incrementos de 15°) foram efetuadas com a obtenção de 24 conformações que foram minimizadas através do método AM1. No PCMODEL, a estrutura VII é 2,3 Kcal/mol mais estável que a estrutura VI.



Esquema 11

Quando analisamos a relação entre a velocidade de desidratação não catalisada da formação da monoxima a partir de diacetila com a correspondente velocidade para a formação da oxima a partir de butanona e acetoína, observamos que a primeira é aproximadamente 137 vezes mais rápida. Observamos também que a desidratação não catalisada para formar a oxima da butanona e acetoína é apenas 1,5 vezes mais rápida que a formação da dioxima a partir da diacetilmonoxima. Este fato está sugerindo que o efeito do anel formado através da ponte de hidrogênio na estrutura do intermediário (Estrutura V) para a reação de formação da monoxima a partir da diacetila, favorecendo a saída de água, é o mais importante fator na desidratação espontânea destes compostos. No entanto, o fato mais relevante que deve ser salientado é o de que as velocidades de reação mudam segundo o pH da mesma, de forma diferente para os diversos compostos estudados. O composto α -dicarbonílico (diacetila) para formar o monoderivado correspondente reage mais lentamente que os monocarbonílicos (butanona e acetoína) em pH ácido (até pH 5,0), enquanto reagem com a mesma velocidade a pH \cong 6,0 e muito mais rapidamente a pH básico. Em pH próximo da neutralidade (pH biológico), os compostos monocarbonílicos reagem mais rapidamente que os monoderivados do composto α -dicarbonílico.

6.2 - Catálise intramolecular

Na região de desidratação catalisada por ácido, foi demonstrada experimentalmente a existência de catálise ácida geral. Os valores de α de Brønsted, considerando a correlação feita entre as diferentes constantes catalíticas em função do pKa dos catalisadores, são os seguintes: $\alpha = 0.75$ ($r=0,939$) para a reação de hidroxilamina com acetoína e $\alpha = 0.93$ ($r=0,974$) para a reação da hidroxilamina com diacetila, com formação da dioxima.

É interessante salientar que, na reação entre acetoína e hidroxilamina, o ponto correspondente ao íon hidrônio cai na linha da correlação de Bronsted, não mostrando nenhum efeito especial. Porém, a constante de velocidade espontânea (k_{H_2O}), que independe do pH, considerada como a região onde a catálise é causada pelo solvente, apresenta um grande desvio positivo que corresponde a uma velocidade aproximadamente 4.365 vezes maior que a calculada no ponto correspondente ao pKa da água na linha de Bronsted, considerando o mecanismo de catálise ácida geral.

Na reação entre a diacetila e hidroxilamina para formar a dioxima, o desvio positivo é de 1.071.519 vezes.

Estes dados poderiam ser explicados considerando-se que existe catálise bifuncional da água^{81,82}, onde a transferência de próton provavelmente ocorre entre átomos de oxigênio em anéis que variam entre cinco a dez membros, dependendo do número de moléculas de água.⁸⁴

Outra explicação seria dada pela existência de catálise intramolecular pelo grupo hidroxila ligado ao nitrogênio, como foi sugerido para a reação de formação de nitronas a partir de furfural e fenilhidroxilamina.⁴⁴

Através de estudos de modelagem molecular utilizando o método semi-empírico⁸⁰, mostra-se a possibilidade de formação de uma ponte de hidrogênio entre o hidrogênio da hidroxila ligada ao nitrogênio e ao oxigênio da hidroxila, formando um de anel de 6 membros (Figura 22), na reação entre a diacetila e hidroxilamina. A formação da ponte neste caso apóia a existência de catálise intramolecular.

Na tabela 14 as constantes de velocidade obtidas em diferentes concentrações de solvente dimetilsulfóxido (DMSO) também levam à interpretação da existência da catálise intramolecular, para a reação acima mencionada.

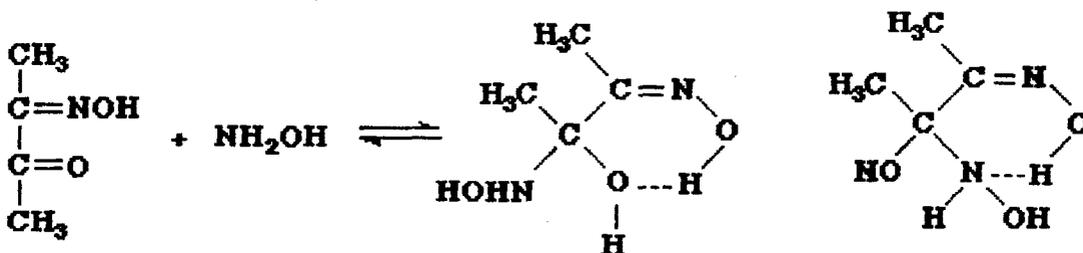


Figura 22 - Esquema para o intermediário de adição da reação entre diacetila e hidroxilamina, confirmado por estudos de modelagem molecular utilizando o método semi-empírico⁸⁰

Cox e Jencks obtiveram para a metoxiaminólise do acetato de fenila uma constante catalítica para a água 100 vezes maior que a correspondente à linha de correlação de Brønsted.⁵⁶ Este resultado foi por eles interpretado como havendo uma catálise bifuncional pela água através de um anel de 8 membros.

Se nas reações estudadas houvesse catálise bifuncional, o fosfato monoânion também deveria apresentar catálise bifuncional, fato que não é observado. Por outro lado, a analogia na reação de formação de nitronas a partir de furfural e fenil-hidroxilamina⁴⁴ e os valores do desvio positivo no caso da acetoína e diacetila levam a pensar que a catálise intramolecular deve ser o mecanismo preferido.

Na reação entre 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído, na etapa de ataque catalisada pelo íon hidrônio, observou-se a existência experimental de catálise ácida geral, obtendo-se um valor de $\alpha=0,54$ ($r=0,961$). O mecanismo de catálise ácida geral experimental observado é mecanisticamente de catálise ácida geral, como foi também sugerido para a reação de formação de semicarbazona a partir de benzaldeídos substituídos.³⁰

6.3 - Efeito de íons metálicos

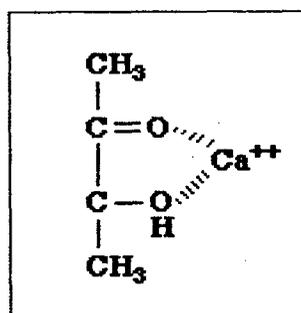
A reação entre acetoína e hidroxilamina apresenta perfil de velocidade em função do pH do tipo C, segundo a classificação de Sayer⁴⁰ (Figura 5). Este tipo de perfil é observado para aminas moderadamente básicas e exibe uma inflexão a baixo valor de pH, indicando mudança de etapa lenta do ataque não catalisado da amina sobre o composto carbonílico (k_a) ocorrendo entre pH 0,5 e 1,0 para desidratação do intermediário de adição (T°) catalisada por ácido que ocorre entre pH 1,0 e 7,5 (k_{HBO^+}). Entre pH 7,5 e 9,0, a reação ocorre através da desidratação não catalisada (k_0) e, entre pH 9,0 e 11,0, através da desidratação catalisada pelo íon hidróxido (k_{OH^-}) (Esquema 9).

Na figura 5 observa-se que íons cálcio (0,1M) aumentam a velocidade da reação na região compreendida entre os pHs 7,0 e 10,0, que corresponde à etapa de desidratação não catalisada como etapa lenta.

O efeito do íon cálcio foi estudado a pH 0,5 ; 7,5 e 8,5 (Tabela 7). A pH 0,5, quando a etapa de ataque não catalisado da amina ao composto carbonílico é a etapa determinante da velocidade da reação, não se observou efeito do íon cálcio. Porém, a pH 7,5 e 8,5, o aumento da concentração do íon cálcio causa um aumento na constante de velocidade, como é mostrado na figura 7.

Para interpretar o mecanismo de efeito do Ca^{2+} , determinaram-se os valores das constantes de equilíbrio para a formação do intermediário tetraédrico de adição na ausência e presença de íons cálcio. Os valores são $K_{ad} = 1,22 \pm 0,06$ na ausência de íons cálcio e $K_{ad} = 0,91 \pm 0,09$ na presença de 0,1 M de íons cálcio.

Segundo a literatura,⁸⁴ as α -hidroxicetonas alifáticas exibem pontes de hidrogênio intramolecular. Exemplo, foi demonstrado também que α -hidroxicetonas formam complexos com íons cálcio, provavelmente através de “ α -quelação”.⁶³ As análises dos espectros de UV (Figura 8), IV (Figura 11) e H^1 NMR (Figura 13) levam a considerar que existe uma complexação entre a acetoína e os íons cálcio na faixa de pH de 7,0 a 10,0 (Estrutura VIII).



Estrutura VIII

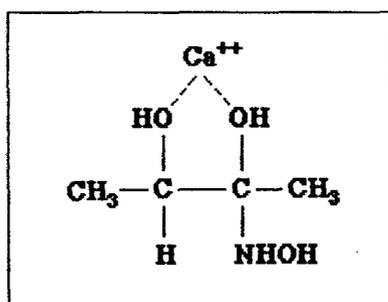
É interessante observar que a análise da oxima em presença de íons cálcio mostra também uma complexação na mesma faixa de pH (Figura 9).

Os íons metálicos freqüentemente funcionam como catalisadores por polarização dos grupos funcionais reativos. Neste caso, o íon cálcio poderia ser capaz de polarizar os grupos carbonílicos, facilitando, assim, o ataque da hidroxilamina. No entanto, não há interação entre a acetoína e o íon cálcio na região de pH onde o ataque é a etapa determinante da velocidade da reação, pois nenhum efeito na constante de velocidade é observado (Tabela 7).

Na formação de base se Schiff, por duas moléculas de *o*-amino benzaldeído com $(\text{PtCl}_4)^{2-}$, Sheeran e Mertes⁸⁵ sugeriram que o íon metálico é mais parecido com ácido de Lewis na estabilização do intermediário de adição tetraédrico.

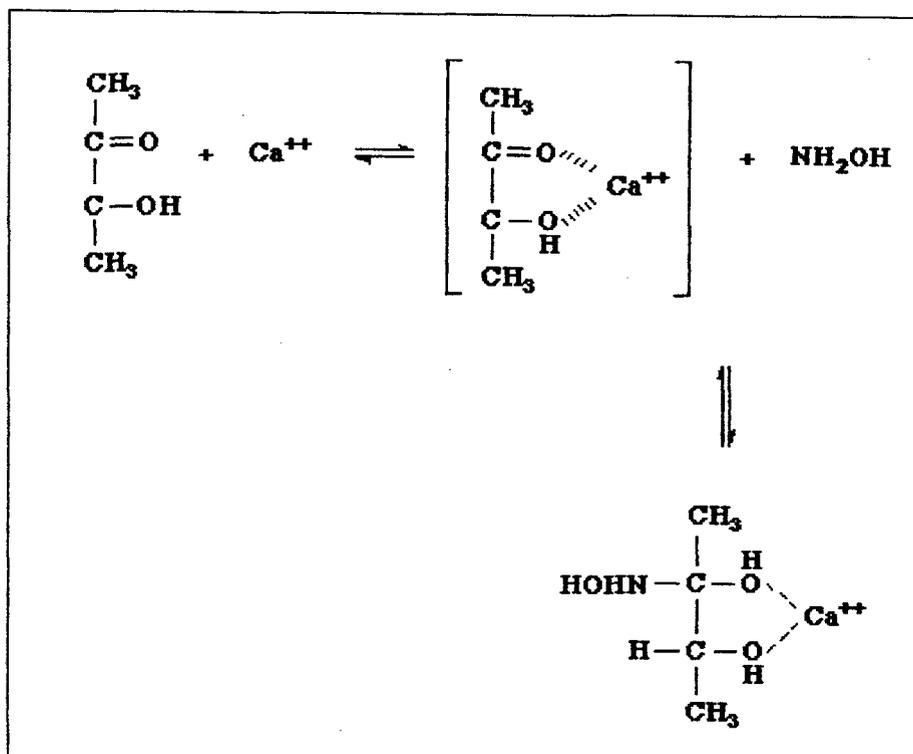
De acordo com Leussing⁶⁶, o desempenho cinético dos íons metálicos neste tipo de reação parece ser o de simplesmente juntar os ligantes em um complexo misto, sem restringir a sua capacidade de reagir posteriormente entre eles.

Na figura 7 observa-se que, à medida que a concentração de íons cálcio aumenta, a constante de velocidade inicialmente aumenta até chegar a um platô. Este tipo de comportamento indica a formação de um complexo entre o intermediário de adição e o Ca^{2+} , sendo que a etapa determinante da velocidade é a quebra deste complexo (Estrutura IX).



Estrutura (IX)

Para interpretar os fatos experimentais observados nesta reação, em que a presença do Ca^{2+} diminui a constante de equilíbrio para a formação do intermediário neutro, mas aumenta a constante de velocidade de desidratação na região de pH entre 7,0 e 10,0, é necessário assumir que a “ α -quelção” entre Ca^{2+} e acetoína diminui mais a energia dos reagentes que a energia do intermediário de adição da reação (Esquema 12, Figura 23).



Esquema 12

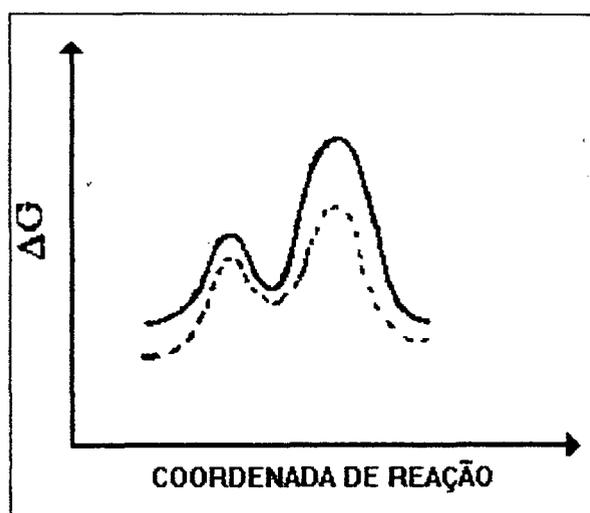


Figura 23 - Diagrama ilustrativo da coordenada de reação na presença (--) e na ausência (-) de íons cálcio da reação entre acetona e hidroxilamina.

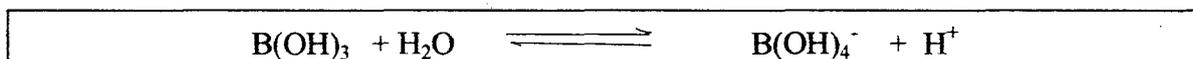
A interação assumida entre Ca^{2+} e o intermediário de adição da reação entre acetoina e hidroxilamina pode ser similar ao que ocorre com os açúcares,⁸⁶ isto é, através dos dois grupos hidroxilas facilitando a saída do OH^- quando a etapa determinante da velocidade é a desidratação não catalisada, aumentando assim a constante de velocidade global da reação.

Este mecanismo é semelhante ao demonstrado para o ácido bórico na etapa de desidratação em reações similares.⁷²

6.4 - Efeito do ácido bórico

Estudos demonstraram que uma série de reações orgânicas é acelerada extraordinariamente pelo ácido bórico. A maior parte dos trabalhos que tratam desse efeito de catálise refere-se à hidrólise de ésteres de bases de Schiff, ou seja, o inverso da desidratação.^{26,70,71,76} As reações passariam através da formação de um complexo borato-substrato similar ao que o ácido bórico forma com dióis.⁷³

O ácido bórico tem estrutura trigonal. É provável que em soluções diluídas somente duas espécies de compostos de boro estejam presentes: o ácido bórico trigonal e o ânion borato tetraédrico. Deste modo, a ionização do ácido bórico pode ser descrita da seguinte maneira:



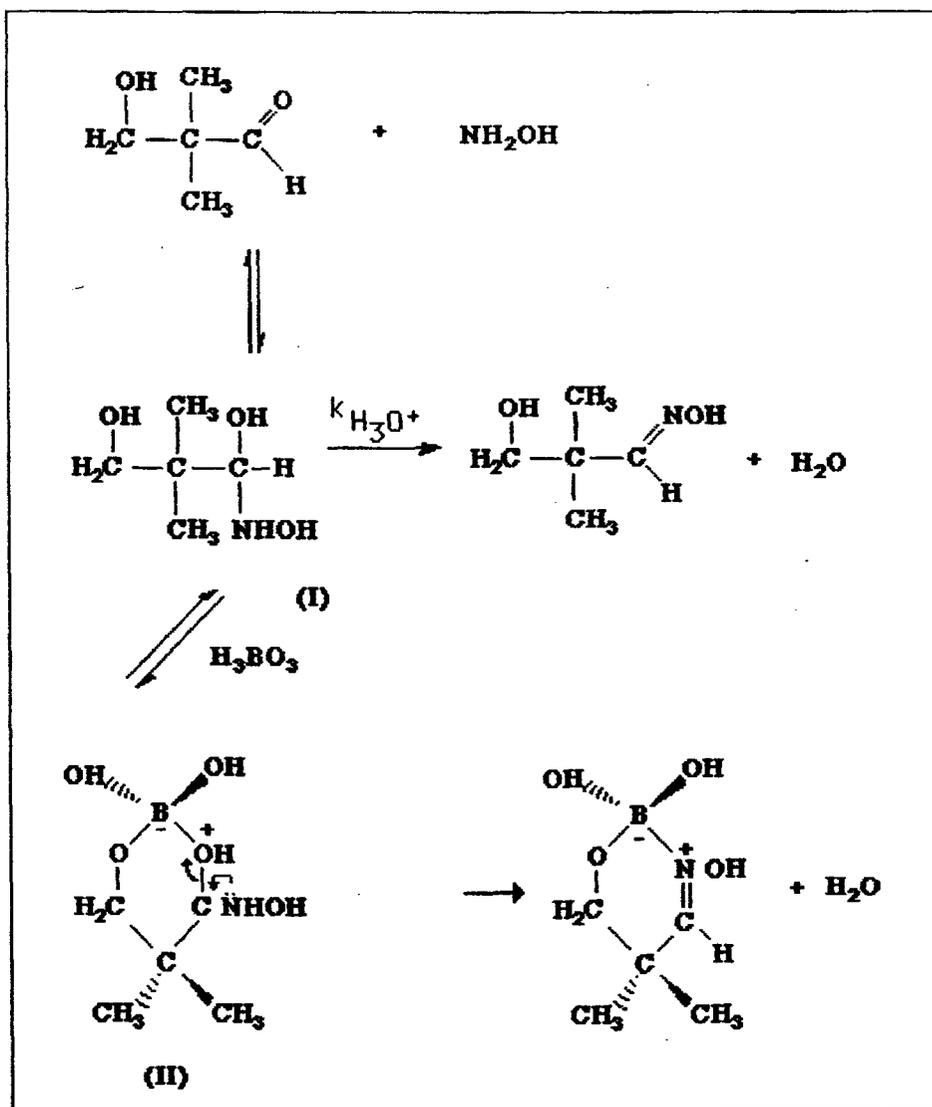
e a constante de equilíbrio é $K_{\text{eq}} = (\text{H}^+) (\text{B(OH)}_3) / (\text{B(OH)}_4^-)$

O valor do pKa para esta dissociação é $\cong 9,14$.⁸⁷

A reação do 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído com hidroxilamina para formar a respectiva oxima ocorre em duas etapas. Na presença de ácido bórico, a reação apresenta um aumento na velocidade na faixa de pH entre 7,0 e 10,5 (Figura 17), atingindo um máximo em pH 8,5. A constante de velocidade de segunda ordem k_2 ($k_2 = k_{\text{obs}}/[\text{NH}_2\text{OH}]_i$) sem a presença de ácido bórico para pH 8,5 é de $1,99 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, enquanto que na presença de 0,01 M de ácido bórico passa a ser de $2,86 \times 10^{-1} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, ou seja, 14 vezes mais rápida.

Este aumento é surpreendente, considerando-se que outros tampões de pKa semelhantes não produzem o mesmo efeito em concentração de 0,02 M (por exemplo monoânion fosfato, morfolina e outros). Podemos analisar o efeito do ácido bórico sobre a

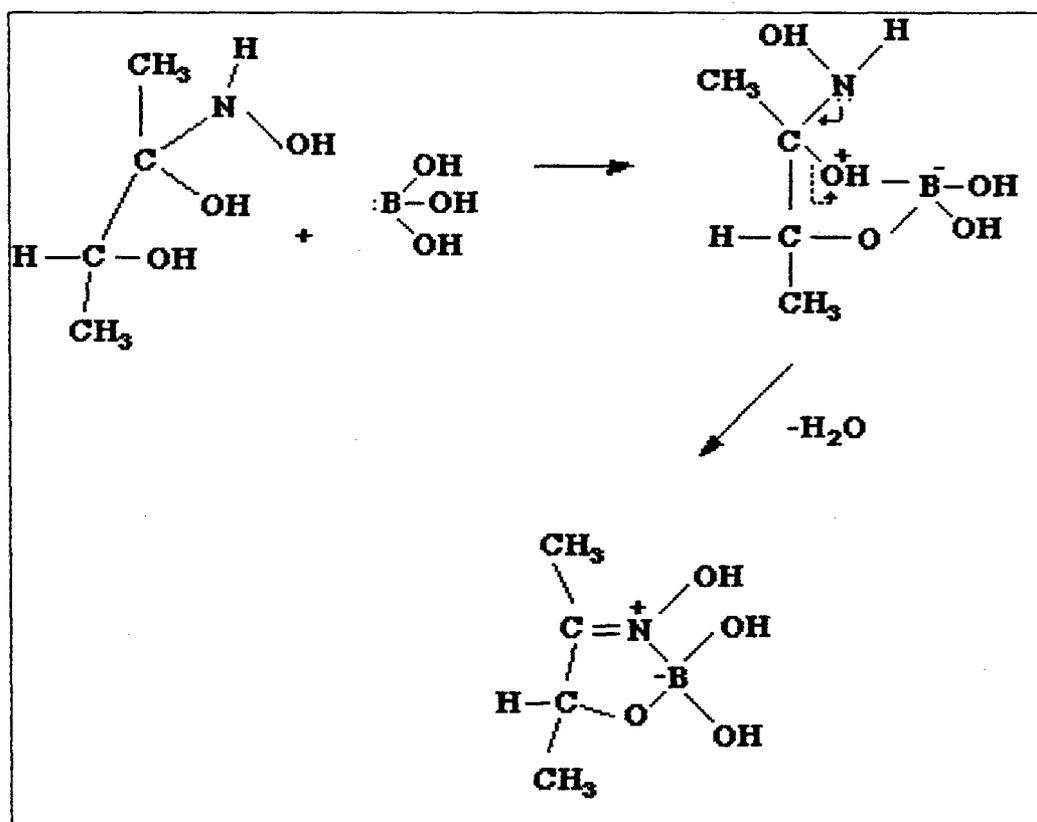
reação levando-se em conta os seguintes aspectos: i) não se conhece nenhuma interação do ácido bórico ou borato com hidroxilamina ou mesmo com o 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído em toda faixa de pH em estudo; ii) na faixa de pH na qual o ácido bórico acelera a reação, o mecanismo tem como etapa determinante da velocidade a desidratação; iii) a inversão do boro trigonal para dar um borato tetraedricamente coordenado é muito rápida,⁸⁸ levando a estabilização do complexo que se forma; e iv) há a formação de um complexo entre o ácido bórico ou borato com a oxima que se forma. Tudo isto leva a sugerir que o ácido bórico atua no estado de transição da etapa de desidratação através da formação do complexo II, e de seis átomos a partir do intermediário de adição complexo I. (Esquema 13) O complexo facilita a saída da água dando como produto o complexo oxima-ácido bórico.



Esquema 13

A reação da acetoina com hidroxilamina também apresenta, na etapa de desidratação, entre pH 4,5 e 10,5 (Figura 5), um surpreendente aumento de velocidade na presença de 0,1 M de ácido bórico, apresentando, no gráfico de logaritmo da constante catalítica em função do pKa, um desvio positivo de 282 vezes acima da linha de correlação.

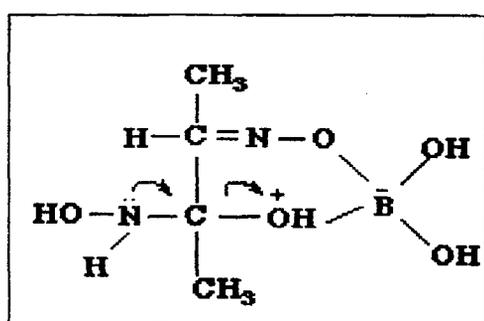
Observa-se aqui que o ácido bórico também participa da etapa de desidratação da reação. A constante de velocidade de segunda ordem k_2 sem a presença de ácido bórico para pH 9,0 é de $5,7 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, enquanto que, na presença de 0,01M e ácido bórico, é de $1,58 \times 10^{-1} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, ou seja, 28 vezes mais rápida. Propõe-se que a participação do ácido bórico nesta reação obedece ao mesmo mecanismo da reação anterior, formando, porém, um complexo cíclico intermediário com 5 átomos (Esquema 14). Um possível mecanismo para esta reação é apresentado no esquema abaixo.



Esquema 14

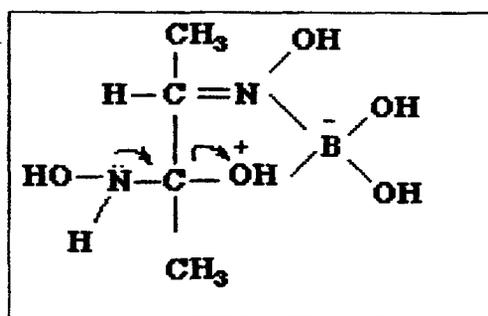
A reação da **diacetila** com excesso de hidroxilamina apresenta, em presença de 0,01 M de ácido bórico, um efeito especial na faixa de pH 6,5 a 8,5 (Figura16), em que a etapa determinante da velocidade é a desidratação.

A constante de velocidade de segunda ordem k_2 sem a presença de ácido bórico para pH 7,6 é de $1,69 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, enquanto que, na presença de 0,01 M de ácido bórico, é de $2,23 \times 10^{-1} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, ou seja, 13 vezes mais rápida. Propõe-se que nesta reação o ácido bórico forme um complexo cíclico com o intermediário, conforme estruturas (X) ou (XI).



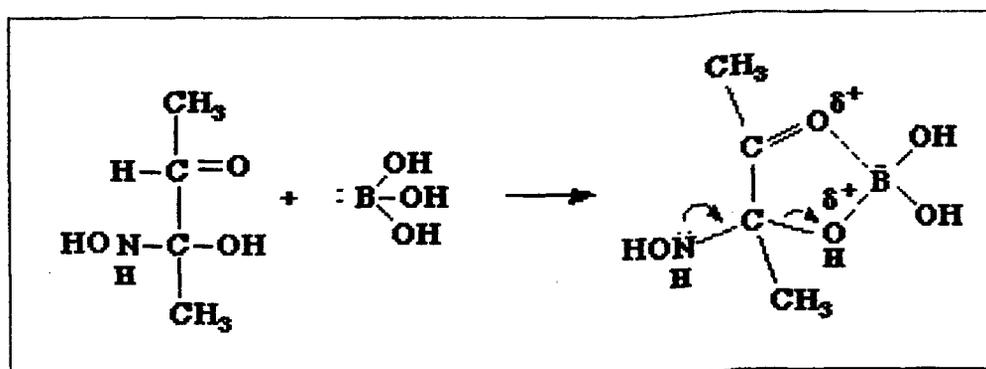
(X)

ou



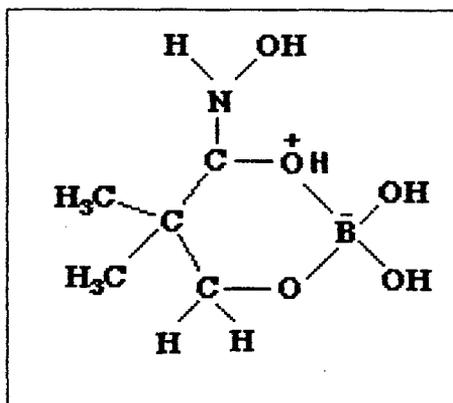
(XI)

Sob outras condições, utilizando **excesso de composto carbonílico** (Figura18), a constante de velocidade de segunda ordem k_2 sem a presença de ácido bórico para pH 6,7 é de $3,4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, enquanto que, na presença de 0,01 M de ácido bórico, é de $6,76 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, ou seja, um aumento de apenas duas vezes. Propõe-se que esta reação deve seguir um mecanismo seguindo o esquema 15.



Esquema 15

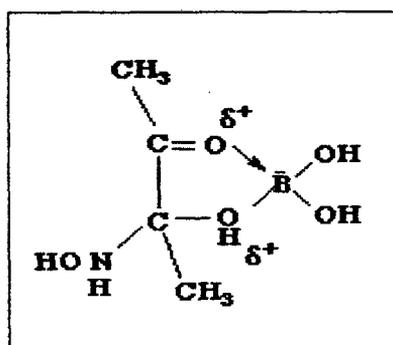
A diferença no aumento de velocidade da reação de acetoína (28 vezes), comparada com a 2,2 dimetil-3-hidroxi-propionaldeído (14 vezes), é possivelmente devida a que, na formação do anel com 6 átomos, que deveria ser mais estável, existe repulsões estéricas pelos grupos dois metil que instabilizariam o complexo (Estrutura XII).



(XII)

Na reação da acetoína, forma-se um anel de 5 membros onde não existe este tipo de efeitos estéricos.

Na reação com excesso de diacetila, apesar de também formar um anel com 5 átomos (Estrutura XIII), existe a formação de uma ligação fraca entre o oxigênio da carbonila e o átomo de boro, dando um menor aumento de velocidade.



(XIII)

7 - CONCLUSÕES

Considerando os dados apresentados, podemos concluir que:

1) Estudos da reação de Maillard utilizando sistemas modelo de glicose e glicina demonstram que a percentagem de diferentes produtos depende do pH com o qual é realizada a reação. Foi demonstrado também que a formação de pirazinas, importantes produtos na área de sabores e aromas, depende do pH e da temperatura. Em nosso caso, no estudo de reações envolvendo os intermediários da reação de Maillard, o fato mais relevante que deve ser salientado é o de que as velocidades de reação mudam segundo o pH da mesma. O composto α -dicarbonílico (diacetila) para formar o monoderivado correspondente reage mais lentamente que os monocarbonílicos (butanona e acetoína) em pH ácido (até pH-5,0), enquanto reagem com a mesma velocidade a pH aproximadamente 6,0 e muito mais rapidamente a pH básico. Em pH próximo da neutralidade (pH biológico), os compostos monocarbonílicos reagem mais rapidamente que os monoderivados do composto α -dicarbonílico. Resulta assim evidente que o estudo da reação de Maillard através destes modelos simples fornece indícios mecanísticos de porquê a proporção de diferentes produtos muda com o pH.

2) Na reação de diacetila com hidroxilamina, a constante correspondente a H_2O como catálise, que independe do pH, apresenta um grande desvio positivo com respeito a linha de correlação de Bronsted ($\log k_{cat}$ em função do pKa). Este fato é atribuído à existência de catálise intramolecular.

3) Foi demonstrado que o cálcio, um íon comum nos sistemas bioquímicos, catalisa a reação de formação de oximas a partir da acetoína. O efeito catalítico sobre a velocidade se produz quando a etapa determinante é a desidratação. A causa seria a formação de um complexo com o intermediário de adição através dos grupos hidroxilas, facilitando a saída de água. A pH 0,5, onde a etapa de ataque não catalisado da amina ao composto carbonílico é a etapa determinante da velocidade, não se observou o efeito do íon cálcio. É interessante salientar que o Ca^{++} também acelera a velocidade de reação da diacetila com hidroxilamina.

4) Por fim, foi observado que, nas reações de formação de oxima a partir de acetoína, diacetila e 2,2-dimetil-3-hidroxi-propionaldeído, o ácido bórico aumenta significativamente a velocidade de reação na faixa de pH de aproximadamente 6 a 8, onde

a desidratação é a etapa limitante. Este efeito se deve à formação de um complexo com o intermediário de adição da reação, o que facilita a saída de água. Na reação de acetoina, onde o complexo forma um anel de 5 átomos, o ácido bórico mostrou ser mais efetivo.

Referências Bibliográficas

01. BALTES, W., "Chemical Changes in Food by the Maillard Reaction" *Food Chemistry* n. 9, p.59 - 73 ,1982.
02. VERNIN, G.; METZGER, J.; SULTAN, A; EI-SHAFEI, A and PÀRKÀNYI, C.; In *Food Flavor and Safety.*; SPANIER, A. M.; OKAI, H. and TAMURA, M.; Eds.; ACS Symposium Series 528; American Chemical Society : Washington, DC, 1993; pp 36.
03. PARLIMENT, T. H.; In *Thermally Generated Flavors.*; Eds.; ACS Symposium Series 543, Washington, DC: American Chemical Society 1994; p 3 - 11.
04. THOMPSON, D. R.; WOLF, J.C., "Available lysine losses in a real food system". *Trans Am. Soc. Agric. Eng.*, n.22, p.202 - 205, 1979.
05. WONG, D.W.S. *Mechanism and Theory in Food Chemistry*; AVI Book, Van Nostrand Reinhold : New York, 1989; p.105.
06. MAILLARD, L. C., "Action of amino acids on sugars. Formation of melanoidins in a methodical way." *Compt. Rend.*n.154, p. 66-68 , 1912.
07. HODGE, J. E., " Chemistry of Browning Reactions in Model Systems" *J.Agr.Food.Chem.*, n.1 , p.928-943, 1953.
08. BEHTZ, H. D. ; GROSCHE, W. ; *Química de los Alimentos.* Eds.; Acirbia Zaragoza, Espanã, 1988. p - 230.
09. WHISTLER, R L.; DANIEL, J. R.; "Carboidratos" In: *Química de los Alimentos.* FENNEMA,O.R. Eds Acirbia, SA Zaragoza , Espanã , 1993, p.81.
10. MAURON, J.,; "A critical Review From The Nutritional Standpoint." In: The Maillard Reaction in Food . *Prog. Fd. Nutr. Sci.*, 1981, n. 5, p.5-35.
11. HODGE, J. E., " The Amadori rearrangement." *Advances Carbohydrate Chem* n.. 10, p.169 - 173 ,1955.
12. NURSTEN, H.E., " Recent developments in studies of the Maillard Reaction." *Food Chemistry* n. 6, p.263 -2 77, 1981.
13. HODGE, J.E., and OSMAN, E.M.; "Carbohydrates". In: Part I. *Food Chemistry* , FENNAMA, O. R., Ed.; Marcel Dekker,Inc.: New York, 1976,;p.85.

14. MOTTRAM, D.; In *Thermally Generated Flavors*.; Parlimente, T.H.; McGorin, R. J.; Morello, M. J.; Eds.; ACS Symposium Series 543; American Chemical Society: Washington, DC : 1994; p 105 -109.
15. SALTMARCH, M.; LABUZA, T. P., " Noenzymatic Browning via the Maillard Reaction in Food." *Diabetes* n.31 v.3 p.29 - 31, 1982.
16. BURVALI, A.; ASP, N. G.; BOSSON, A.; SAN JOSE. C.; DAHLQVIST, A., "Storage of lactose hydrolysed dried milk: effect of water activity on the protein nutritional value." *J. Dairy Res.*, n. 45, p.81 - 385, 1978.
17. WOLF, J.C.; THOMPSON, D.R.; REINECCIUS, G.A., "Initial losses of available lysine in model systems." *J. Food Sci.* n. 42, p.1540-1545, 1977.
18. ELLIS, G. P., "The Maillard Reaction" *Advances in Carbohydrate Chemistry*, n.14, p.63 -133, 1959.
19. NURSTEN, H. E., " Recente developments in studies of the Maillard reaction." *Food Chem.*, n.6, p.263 - 266, 1980.
20. ASHOOR, S. H.; ZENT, J. B. "Maillard browning of common amino acids and sugar." *J. Food Sci.*, n.49, p.1206 - 1210 , 1984.
21. ISBELL, H. S.; FRUSH, H. L., " Mutarotaion, hydrolysis and rearrangement reactions of glycosylamines." *J. Org. Chem.*, n.23, p.1309 - 1311, 1958.
22. HURRELL, R. F.; CARPENTER, K.J.; In: *Physical, Chemical and Biological Changes in Food Caused by Thermal Processing*, Eds : HOTEEM,T., and KVALE,O. Applied Science Publishers Ltd., London, 1977; p.10.
23. FEENEY, R.E., and WHITAKER, J.R.; *Food Protein Deterioration: Mechanism and Functionality*.,Eds:Cherry, J.P. Amer. Chem. Soc. Symp.206, Washington, DC, 1982; p.201.
24. LABUZA,T.P., and SALTMARCH,M: "The non-enzymatic browning reaction as affected by water in foods.; In *Water Relations in Food*, vol.II. ROCK-LAND, L., Eds. Academic Press, New York, 1981; p. 605.
25. CONAT, J. B.; BARTLET, P.D., "Quantitative study of Semicarbazone formation." *J. Am. Chem. Soc.*, n.54 , p.2893 - 2899, 1932.
26. JENCKS, W. P., " Studies on the Mechanism of Oxime and Semicarbazone Formation." *J. Am. Chem.Soc.*, n. 81, p.475 - 481, 1959.
27. Do AMARAL, L.; SANDSTROM, W. A.; CORDE, E.H., " Some aspects of mechanism and catalysis for carbonyl addition reactions." *J. Am. Chem. Soc.*, n. 88, p. 2225 - 2233, 1966.

28. JENCKS, W. P., "Mechanism and Catalysis of Simple Carbonyl Group Reactions " *Progr. Phys. Org. Chem.*, n.2,p. 63 - 128, 1964.
29. SAYER, J. M.; JENCKS, W. P., "General Base Catalysis of Thiosemicarbazide Formation " *J Am. Chem. Soc.*, n.91, p.6353 - 6361, 1969.
30. CORDES, E. H.; JENCKS, W. P., "General acid Catalysis of Semicarbazone Formation." *J. Am. Chem. Soc.*, n. 84, p.4319 - 4328, 1962.
31. JENCKS, W. P., "Enforced General Acid-Base Catalysis of Complex Reactions and its limitations." *Acc Chem. Res.*, n. 9, p. 425 - 433, 1976.
32. KERSHNER, L. D.; SHOWEN, R. L., " Proton transfer and heavy atom reorganization in amide hydrolysis valence isomeria transition states." *J. Am. Chem. Soc.*, n. 93 , p.2014 - 2016, 1974.
33. Do AMARAL, L., "Mechanismo and Catalysis for Furfural Phenylhydrazone Formation." *J. Org. Chem.*, n.37, p.1433 - 1436, 1972.
34. OKANO, V.; BASTOS, M. P.; Do AMARAL, L.; " Kinetics and Mechanism for Pyridine N-Oxide Carboxaldehyde Phenylhydrazone Formations." *J. Am. Chem. Soc.*, n.102, p.4155 - 4159, 1980.
35. Do AMARAL L.; ALVES, K. B.; BASTOS, M. P., "Mechanism and Catalysis for o-Hydroxyacetophenone Phenylhydrazone Formation." *J. Org. Chem.* n.43, p.4032 - 4047, 1978.
36. MOSCOVICI , R.; OKANO, V.; Do AMARAL, A.T.; Do AMARAL L., "Kinetic and Mechanism for Pyridinecarboxaldehyde Phenylhydrazone Formation." *J. Org. Chem.*, n. 47, p. 5157 - 5160, 1962.
37. CORDES, E.H.; JENCKS, W. P., " Semicarbazone Formation from Pyridoxal, Pyridoxal Phosphate, and Their Schiff Bases." *Biochemistry*, n..5, p.773 - 778, 1962.
38. SAYER, J. M.; EDMAN, C.; "The timing of the proton transfer process in acid catalyzed carbonyl addition. Evidence for a preassociation mechanism for catalysis of carbinolamine formation." *J. Am. Chem. Soc.*, n.101, p.3010-3115, 1979.
39. ROSEMBERG, S.; SILVER, S. M.; SAYER, J. M. and JENCKS, W. P., " Evidence for two concurrent mechanism and a kinetically significant proton transfer process in acid-catalyzed o-methyloxime formation." , *J. Am. Chem. Soc.*, n.96, p.7986 - 7998, 1974.
40. SAYER, J.M.; PINSKY, B.; SCHONBRUNN, A.; WASHTTEN, W. , "Mechanism of carbinolamine formation." *J. Am. Chem. Soc.*, n. 96, p.7998 - 8009, 1974.

41. SAYER, J. M.; SILVER, S. M., "Still another change in rate determining step for a simple carbonyl addition reactions. Proton transfer step in acid-catalyzed o-methyloxime formation." *J. Am. Chem. Soc.*, n. **95**, p.5073 - 5075, 1973.
42. BRIGHENTE, I.; VOTTERO, L. R.; TEREZANI, A. J. and YUNES, R. A., "Addition of hydroxylamine to cyclohexanone and bicyclic ketones. Steric, electronic and hydrogen bonding effects on the general mechanism of addition of amines to carbonyl compounds." *J. Phy. Org. Chem.*, n. **4**, p.107 - 112, 1991.
43. BRIGHENTE, I. M. C.; BUDAL, R.; YUNES, R. A., "Reaction between various Benzaldehydes and Phenylhydroxylamine: Special Behaviour compared with other amines." *J. Chem. Soc. Perkin II*, n. **11**, p.1961 - 1864, 1991.
44. FETT, R.; SIMIONALTO, E.L. ;YUNES, R.A., "General-acid,specific-base and intramolecular catalysis of the dehydration step in nitron formation from furfural and phenylhydroxylamine." *J. Phys. Org. Chem.*, n. **3**, p.620 - 626, 1990.
45. SOJO, P.; VITOLIA, F.; MALAVE, L.; POSSAMAI, R; CALZADILLA, M.; BAUMRUCKER, J.; MALPICA, A.; MOSCOVICI, R.; Do AMARAL, L., "Kinetics and Mechanism for Addition of Amines to Formyl-1-methyl pyridinium Ions." *J. Am. Chem. Soc.*, n. **98**, p.4519 - 4525, 1976.
46. CORDES, E.H.; JENCKS, W. P., "On the mechanism of Schiff Base Formation and Hydrolysis." *J. Am. Chem. Soc.*, n. **84**, p. 832 - 837, 1962.
47. CHATURVEDI, R. K.; CORDES, E. H., " The temperature dependence of the hydrolysis of a series of substituted benzylidene-1,1-dimethylethylamines" *J. Am. Chem. Soc.*, n. **89**, p.1230 - 1233, 1967.
48. Do AMARAL, L.; KOEHLER, K.; BARTENBACH, D.; PLETCHER, T. and CORDES, E. H., "General Acid and General Base Catalysis for the Methoxyaminolysis of Phenyl Acetates." *J. Am. Chem. Soc.*, n. **89**, p.3537 - 3545, 1967.
49. CORDES, E. H.; JENCKS, W. P., " The Mechanism of Hydrolysis of Schiff Bases derived from Aliphatic Amines." *J. Am. Chem. Soc.*, n. **85**, p.2843.-2848, 1963.
50. REEVES, R. L., "Schiff Bases Kinetics of Hydrolysis of p - tri methyl ammoniumbenzylidene-p-hydroxyaniline Chloride in Aqueous Solution from pH 1 to 11,5." *J. Am. Chem. Soc.*, n. **84**, p.3332 - 3337, 1962.
51. WILLI, A. V.; Robertson, R. E. , "A Kinetic of the Hydrolysis of Benzylideneaniline." *Can. J. Chem.*, n. **31**, p.361 -376, 1953.
52. REIMAN, J. E.; JENCKS, W. P. , "The mechanism of Nitron Formation. A defense of Anthropomorphic Electrons." *J. Am. Chem. Soc.*, n. **88**, p.3973 - 3982, 1966.

53. MASUI, M.; YIJIMA, C., "Kinetic of Aliphatic Nitronne Formation on the Addition of N-Alkyl-hydroxylamines to Aliphatic Aldehydes in Aqueous Solution." *J. Chem. Soc (B)*; n.56, p.62 - 68, 1966 .
54. Do AMARAL, L. ; MOSCOVICI, R. ; OKANO, V. ; Do AMARAL, A." Kinetics and Mechanism for Pyridinecarboxalcehyde Phenylhydrazone Formation." *J.Org. Chem.*, n.47, v.26, p.5160 - 5167, 1982.
55. Do AMARAL, L.; MOSCOVICI, R.; FERRAZ, J. P.; NEVES, E. A.; TOGNOLI, O. J.; El SEOUD, M. I., " Mechanism and Catalysis for Phenylhydrazone Formation from Aromatic Heterocyclic Aldehydes." *J.Org. Chem.*, n. 41, v.26, p. 4093 - 4096, 1976.
56. COX, M.; JENCKS, W. P., " Concerted Bifuncional Proton Transfer and General-Base Catalysis in the Methoxyaminolysis of Phenyl Acetate." *J. Am Chem. Soc.*, v.103, p.580 - 587, 1981.
57. KATO, Y.; WATANABE, K.; SATO, Y., " Effect of Some Metals on the Maillard Reaction of Ovalbumin." *J. Agric. Food Chem.*, n.29, p.540 - 543, 1981.
58. RENDLEMAN, J. A. Jr; " Complexation of Calcium by Melanoidin and Its Role in Determing Bioavailability" *J. Food Sci.*, n. 52, v.6, p.1699 - 1705, 1987 .
59. POWELL, R.C.T.; SPARK, A.A., "Effect of zirconium and aluminium compounds and pH ou the Maillard reaction." *J. Sci. Food Agric.*, n.22, p.596 - 601, 1971.
60. REYNOLDS, T. M., "Chemistry of non-enzymatic browning. III. Effect of bisulphite, phosphite and malate on the reaction of glycine and glucose." *Aust. J. Chem.*, n.12, p.265 - 269, 1959.
61. LEUSSING, D. L.; "Vitamin B₆ Pyridoxal Phosphate" (Coenzymes and cofactors). In *Model Reactions*; DOLPHIN, D.; POULSON, R.; AVRAMOVIC, O. Eds.; Wiley-Interscience, 1986 ; p.69 - 116.
62. BAI, K.S. ; LEUSSING, D. L., "Kinetics of Formation of N - Salicylidene glycinato nickel (II) -copper (II), and zinc (II). Elucidation of the Template Mechanism." *J. Am. Chem. Soc.*, n. 89, v.24, p.6126 - 6130, 1967.
63. DOXSES, M. K.; FERGUSON, M. C.; WASH, L.; SAULSBERY, R.; HOPE, H., " Calcium complexation by α hidroxy ketones. Characterization of a calcium complex of phenacyl alcohol." *J. Org. Chem.*, n. 58, p.7557 - 7559, 1993.

64. HARTE, W. E. , and BAJORATH, J., " Synergism of Calcium and Carbohydrate Binding to Mammalian Lectin" *J. Am. Chem. Soc.*, n.116, p.10394 - 10398, 1994.
65. LEUSING, D.L., " Kinetic and equilibrium studies of formation of N-salicylidene glycinato complexes. The promnastic effect of the divalent ions magnesium, manganese, zinc, cadmium adn lead" *J. Am. Chem. Soc.*, n. 91, p.4698 - 4702, 1969.
66. LEUSING, D.L., *Metal ions in Biological Systems* vol. 5; SIGEL, H.; Eds., M.Dekker, Inc New York-USA: 1976; p.2 - 74.
67. YOSHIMURA, J.; FUNABASHI, M.; Simon, H., "On the catalysis of the Amadori rearrangement" *Carbohydr. Res.*, n.11, p. 276 - 279, 1969.
68. JENCKS, W.P., *Catalysis in Chemistry and Enzymology*, Ed. Mac Graw-Hill Apêndice New York: 1987.
69. RAO, G.; PHILLIPP, M. , "Boranic Acid Catalyzed Hydrolysis of Salicylaldehyde Imines" *J.Org.Chem.*, n.56, p.1505 - 1512, 1991.
70. HOFMANN, J.; SIERBA, V., *Collection Czechoslov Chem. Commun.*, n.37, p.204-2051, 1972.
71. CAPON, B.; GHOSH, B., "The mechanism of the Hydrolysis of Phenyl Salicylate and Catechol Monobenzoate in the presence and absence of Borate ions" *J. Chem. Soc. (B)*, p. 472 - 478, 1966.
72. SIMIONATTO, E. L.; YUNES, P.R.; YUNES, R.A., "The Effect of Boric Acid on the Dehydration Step in the Formation of Oxime from Salicylaldehyde" *J. Chem. Soc. Perkin Trans. n.2*, p.1 - 4, 1993.
73. TANNER, D. W.; BRUICE, A., "Boric Acid Ester.IA general Survey of Aromatic Ligands and the Kinetics and Mechanism of the Formation and Hydrolysis of Boric Acid Esters of Salicylamide, N-Phenylsalicylamide, and Disalicylimide." *J. Am. Chem. Soc.*, n. 89, p.6954 - 6971, 1967.
74. MATSUDA, H.; NAGAMATSU, H., " Influence of Boric Acid on the Hydrolysis Rate of a Hydroxy Schiff Base" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, n.57, p.500- 505, 1984.
75. NAGAMATSU, H.; OKUYAMA, T.; TAKAYULSE, F., "Hydrolysis of N-Salicylidene-2-methoxyethylamine. Intramolecular General Base Catalysis and Specific Effects of Boric Acid" *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, n. 57, p. 2502 - 2507, 1984.
76. OKUYAMA, T.; NAGAMATSU, H.; FUENO, T., "Mechanism of Hydrolysis of Hydroxy Thioesters in the Presence of Boric Acid" *J. Org. Chem.*, n. 46, p. 1336 - 1342 , 1981.

77. FRIEDMAN, S. ; PACE, B.; PIZER, R., "Complexation of Phenylboronic Acid with Lactic Acid. Stability Constant and Reactions Kinetics" *J. Am. Chem Soc.*, n.96, v.17, p.5381 -8 4, 1974.
78. SEGRETARIO, J .P.; SLESZNSKI, N. ; PARTCH, R .F.; ZUMAN. P., "Structural Effects affecting Hydration of 1,2-diones studied by linear sweep voltammetry" *J. Org. Chem.* n.51, p.5393 - 5396, 1986.
79. DEWAR, M.J.S. et al., "A new general purpose quantum mechanical molecular model." *J. Am. Chem. Soc.*, n.107, p.3902 - 3906, 1985.
80. STEWART, J. J. P. et al. **MOPAC version 6.00**, F. J. Seller Research Laboratory, US Air Force Academy, Colorado Springs, 1990.
81. LEE, Y. N ; SCHMIR, G. L., "Concurrent General Acid and Base Catalysis in the Hydrolysis of an Imidate Ester. 2. Bifuncional Catalysis" *J. Am. Chem. Soc.* n. 101, p.3026 - 3028, 1979.
82. POCKER, Y.; MEANY, J. E., "The Acid-Base Catalyzed Hydration of Acetaldehyde. Buffer and Metal Ion Catalysis" *J. Phys. Chem.* n.71, p.3113 - 3118, 1967.
83. CHANG, K. C. ; GRUNWALD, E., "Participation in Proton Transfer Reactions of Glycine and Glycine Methyl Ester" *J. Phys. Chem.* n. 80, p.1422 -1425, 1976
84. JORIS, L. ; SCHLEYER, P. von R., "Intramolecular Hydrogen Bonding in Aliphatic Hydroxy Ketones" *J. Am. Chem. Soc.*, n.90, p.4595 - 4611, 1968.
85. SHEERAN, D. J. ; MERTES, P. J. "Metal Template Assisted Schiff Base Condensations: An Evaluation of Thermodynamic versus Kinetic Control" *J. Am. Chem Soc.*, n.112, p.1055 - 1059, 1990.
86. MOREL-DESROSIERS, M. ; MOREL, P. J. "Interactions between Cations and Sugars. Part 5" *J. Chem. Soc. Faraday Trans 1*, n.85, p.461- 3468, 1989.
87. GOULD, R. F.; *Carbohydrates in Solution*, Eds.; Advanced in Chemistry Series 117, American Chemical Society: Washington (USA), 1973 ; p.208 -219.
88. KUSTIN, K. ; PITZER, R. "Temperature -Jump Study of the Rate and Mechanism of the Boric Acid-Tartaric acid Complexations" *J. Am. Chem. Soc.*, n.91, p.317- 322, 1969.