

Artigo

Síntese do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico, um Azobenzeno Derivado do Acetaminofeno, e Avaliação do seu Potencial como Indicador de Valor de pH

Guimarães, D. G.; Gonsalves, A de Assis; Araújo, C. R. M.*

Rev. Virtual Quim., 2016, XX (XX), no prelo. Data de publicação na Web: 24 de agosto de 2016

<http://rvq.sbgq.org.br>

Synthesis of 4-((5-acetamido-2-hydroxyphenyl) diazenyl) benzenesulfonic, a Azobenzene Derivative of the Acetaminophen, and Evaluation its Potential as a pH Value Indicator

Abstract: Strong absorption and bright colours of the azobenzene have attracted attention for the development of chemical sensors of this class of compounds, such as acid-base indicators. The present work describes the synthesis of a derivative of the drug acetaminophen, the azobenzene 4 - ((5-acetamido-2-hydroxyphenyl) diazenil) benzenesulfonic, and evaluation of the potential of this as a pH value indicator. The azobenzene was obtained in 77% yield and low cost, and shown to be a promising pH value indicator with good solubility in water, readily distinguishable color change in the zone turning, wide range of usable concentration and pK_a values calculated: 9,072; 9,322 e 9,265. Thus it can be used as pH value indicator of basic band, and the results may contribute to the development of new synthetic compounds with acid-base indicator activity with low production cost.

Keywords: pH Value Indicator; Azobenzene; Organic Synthesis.

Resumo

As propriedades de forte absorção e cores brilhantes dos azobenzenos têm atraído atenção para o desenvolvimento de sensores químicos desta classe de compostos, tais como os indicadores ácido-base. À vista disso, o presente trabalho descreve a síntese de um azobenzeno derivado do fármaco acetaminofeno, o 4-((5-acetamido-2- hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico, e posterior avaliação do potencial deste como indicador de valor de pH. O azobenzeno foi obtido com rendimento de 77% e baixo custo, e demonstrou ser um promissor indicador de valor de pH, com boa solubilidade em água, mudança de cor prontamente distinguível na zona de viragem, ampla faixa de concentração utilizável e valores de pK_a calculados como sendo: 9,072; 9,322 e 9,265. O azobenzeno se mostrou como um eficiente indicador de valor de pH da faixa básica, e os resultados obtidos poderão contribuir para o desenvolvimento de novos compostos sintéticos com atividade indicadora ácido-base com baixo custo de produção.

Palavras-chave: Indicador de valor de pH; Azobenzeno; Síntese Orgânica.

* Universidade Federal do Vale do São Francisco, Colegiado de Ciências Farmacêuticas, Campus Petrolina Centro, CEP 56304-917, Petrolina-PE, Brasil.

✉ cleonia.araujo@univasf.edu.br

DOI:

Síntese do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico, um Azobenzeno Derivado do Acetaminofeno, e Avaliação do seu Potencial como Indicador de Valor de pH

Délis G. Guimarães, Arlan de Assis Gonsalves, Cleônia Roberta M. Araújo*

Universidade Federal do Vale do São Francisco, Colegiado de Ciências Farmacêuticas, Campus Petrolina Centro, CEP 56304-917, Petrolina-PE, Brasil.

* cleonia.araujo@univasf.edu.br

Recebido em 18 de dezembro de 2016. Aceito para publicação em 16 de agosto de 2016

1. Introdução

2. Parte experimental

2.1. Reagentes

2.2. Síntese do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico

2.3. Preparação das soluções do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico na faixa de valor de pH de 1 a 14 em diferentes concentrações

2.4. Espectros de varredura do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico em espectrofotômetro UV-Vis

2.5. Determinação do valor de pK_a do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico por técnicas de espectrofotometria UV-Vis

2.6. Titulação por neutralização empregando o 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico como indicador ácido-base

3. Resultados e discussão

3.1. Avaliação do potencial indicador de valor de pH do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico

3.2. Determinação do valor de pK_a do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico por técnicas de espectrofotometria UV-Vis

3.3. Avaliação da aplicabilidade do azobenzeno 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico para análise titrimétrica por neutralização

4. Conclusão

1. Introdução

A síntese orgânica é uma ciência em constante evolução. O avanço das estratégias sintéticas é resultante não só do desenvolvimento de novas técnicas laboratoriais e metodológicas, mas também do amadurecimento do planejamento estratégico-razional a ser seguido no processo de obtenção de um novo composto químico, seja este com atividade biológica ou analítica, para o emprego farmacológico ou não.^{1,2}

De estrutura geral $R-N=N-R'$, os azo compostos são caracterizados por uma dupla ligação entre nitrogênios sem caráter básico, ao contrário das aminas.³ R e R' podem ser uma arila ou uma alquila, no caso dos azobenzenos ou azo compostos aromáticos, onde R e R' são arilas, as moléculas são estáveis e possuem cores intensas em virtude da deslocalização eletrônica das ligações π presentes em sua estrutura. Esta característica permite que estes compostos absorvam luz na região do visível, o que possibilita sua ampla utilização para diversas aplicações, que vão desde corantes para alimentos e cosméticos, até materiais para pesquisas biológicas.³⁻⁵

A versatilidade desta classe de compostos deve-se em grande parte à facilidade com que podem ser sintetizados. Os azobenzenos podem ser obtidos através da reação entre um sal de diazônio ($Ar-N_2^+$) de aminas aromáticas e um composto aromático ativado, sendo esta reação denominada azoacoplamento.⁶

As características e propriedades de intensa absorção e cores brilhantes dos azobenzenos têm atraído considerável atenção para o desenvolvimento de sensores químicos que promova alteração visual facilmente detectada ao olho humano e de fácil utilização, como os indicadores de valor de pH.⁷ Um sensor químico ou quimiossensor é um produto que transforma informação química em um sinal analítico mensurável, podendo variar de acordo com a

concentração de um componente específico da amostra em relação à análise de composição total. Essa informação química pode ser ocasionada por uma reação química do analito ou uma propriedade física do sistema investigado.^{8,9} Alguns dos sensores químicos orgânicos mais antigos são os indicadores de valor de pH, também chamados de indicadores ácido-base. Os indicadores ácido-base são indicadores visuais que, conceitualmente, são substâncias capazes de sofrer alteração de cor a depender da concentração de íons hidrônio e hidroxila no meio.⁹⁻¹²

Os indicadores de valor de pH são substâncias orgânicas fracamente ácidas ou fracamente básicas que apresentam cores diferentes para suas formas protonada e desprotonada.^{9,10,12,13} Estes compostos são moléculas orgânicas cromóforas que absorvem radiação luminosa na região do visível, cuja sensibilidade à concentração de íons H_3O^+ permite indicar o grau de acidez do ambiente onde estão. Quando adicionados a soluções de ácidos ou bases, os indicadores de valor de pH sofrem a influência química dos íons H_3O^+ ou OH^- promovendo uma alteração conformacional ou do grau de associação/dissociação da molécula, com a consequente alteração de cor.^{11,14}

O acetaminofeno ou paracetamol é um analgésico-antipirético derivado do *p*-aminofenol que atualmente está entre os analgésicos mais utilizados, sendo um medicamento de venda livre comercializado principalmente na forma de cápsulas, drágeas ou comprimidos de 500 a 1.000 mg.¹⁵ É um sólido branco cristalino, inodoro e de leve sabor amargo. Possui fórmula química $C_8H_9NO_2$, massa molar de $151,16 \text{ g mol}^{-1}$ e faixa de fusão entre $168 \text{ }^\circ\text{C}$ e $172 \text{ }^\circ\text{C}$. É ligeiramente solúvel em água, facilmente solúvel em etanol e em solução aquosa de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e insolúvel em clorofórmio.¹⁶

O acetaminofeno é uma molécula interessante, do ponto de vista da síntese de azocompostos aromáticos, uma vez que representa um sistema nucleofílico insaturado que possui um grupo ativador

(OH) em posição favorável ao azoacoplamento. O azoacoplamento ocorre na posição de maior disponibilidade de elétrons, ou seja, na posição *orto* ou *para* em relação ao grupo ativador. Para esta molécula o azoacoplamento ocorre exclusivamente na posição *orto* em relação à hidroxila, uma vez que a posição *para* encontra-se ocupada pelo grupo amida.¹⁷

Nesse sentido, considerando a

necessidade de desenvolvimento de novos compostos químicos com aplicabilidade prática, o presente estudo sintetizou um azocomposto aromático, o 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico, empregando o fármaco acetaminofeno. E em seguida, analisou o potencial desse azo composto aromático como indicador de valor de pH (Figura 1).

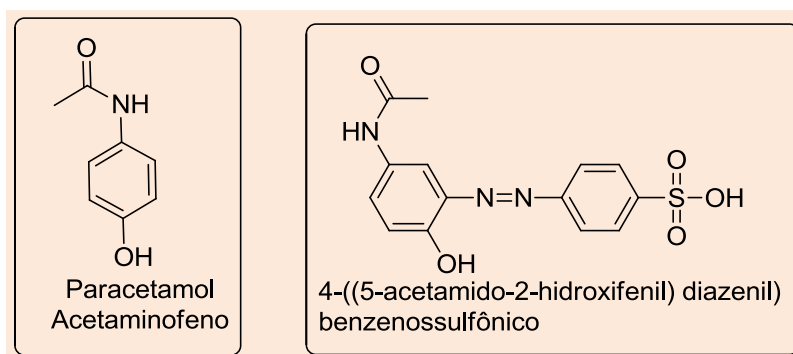


Figura 1. Estrutura molecular do acetaminofeno e do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico

2. Parte experimental

2.1. Reagentes

Os solventes e reagentes de grau de pureza PA foram utilizados sem purificação adicional. E comprimidos de acetaminofeno (500 mg) foram comprados em uma farmácia comercial de Petrolina-PE.

2.2. Síntese do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico

Diretamente em um balão de reação fundo redondo de 50,00 mL foram pesados em balança analítica 1,039 g (0,006 mol) de ácido sulfanílico PA. Posteriormente, adicionou-se 2,00 mL de uma solução aquosa 6,0 mol L⁻¹ de HCl e, por gotejamento, 3,0 mL de uma solução aquosa 2,0 mol L⁻¹ de NaNO₂

sob temperatura controlada entre 0 e 5 °C. A mistura permaneceu sob agitação por aproximadamente 30 minutos, passado esse tempo, a mistura reacional foi gotejada lentamente sobre uma solução de acetaminofeno 1,0 mol L⁻¹ (obtida de comprimidos comerciais de paracetamol) em meio básico, 2,0 mL de NaOH 10% (m/v), mantendo o controle de temperatura entre 0 e 5 °C, com agitação constante por 40 minutos. Ao fim desse tempo de reação ocorreu a formação de um precipitado (amorfo) de coloração avermelhada, que em seguida, foi filtrado à vácuo e deixado secar à temperatura ambiente (1,55 g). Rendimento 77%.^{6,18-20}

2.3. Preparação das soluções do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico na faixa de valores de pH de 1 a 14 em diferentes concentrações

Em balança analítica foram pesados 20 mg do azobenzeno ($335,34 \text{ g mol}^{-1}$) em 14 (quatorze) béqueres, em seguida, cada uma dessas massas foram solubilizadas em cerca de 45,00 mL de água isenta de CO_2 por aquecimento. Cada uma das soluções do azo composto sintetizado tiveram seus valores de pH ajustados com o auxílio de um pHmetro (MS TecnoPON® instrumentação modelo mPA210) e uso de soluções de NaOH e HCl 0,1 e 1 mol L^{-1} de forma que obteve-se 14 soluções com valores de pH entre 1 e 14, com variação de uma unidade de pH entre elas. A medida que era feito o ajuste do valor de pH, a solução era transferida para um balão volumétrico de 50,00 mL para ajuste do volume. Das soluções preparadas inicialmente, com concentração de 1,2 mM do azo composto, foram preparadas as demais soluções de concentrações: 1,0; 0,1 e 0,01 mM, por diluição adequada, com reajuste dos valores de pH através da adição de HCl e/ou NaOH e com o auxílio de um pHmetro, e por fim, ajuste dos volumes em balões volumétricos de 25,00 mL.⁴

2.4. Espectros de varredura do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico em espectrofotômetro UV-Vis

Em balança analítica foram pesados 20 mg do azobenzeno em onze béqueres, em seguida, essa massa foi solubilizada em cerca de 450,00 mL de água isenta de CO_2 por aquecimento. Cada uma das soluções dissolvidas tiveram os valores de pH ajustados com o auxílio de um pHmetro (MS TecnoPON® instrumentação modelo mPA210) e soluções de NaOH e HCl a 0,1 e 1,0 mol L^{-1} de forma que obteve-se soluções nos valores de pH de 2 a 12, com variação de uma unidade de pH entre elas. A medida que era feito o ajuste do valor de pH, a solução era transferida para um balão volumétrico de 500,00 mL para ajuste do volume. Além disso, foram preparados, com água isenta de CO_2 , "brancos" para cada valor de pH, para ajuste do zero de absorvância. Em seguida,

cada solução do azobenzeno nos valores de pH de 2 a 12, com concentração de 0,12 mM, e os seus respectivos brancos, foram lidos em espectrofotômetro UV-Vis. Os espectros de varredura foram realizados em cubetas de quartzo com caminho óptico de 1cm nos comprimentos de onda de 200 a 750 nm, no intervalo de 1 em 1 nm, em espectrofotômetro UV-Vis (Hach® modelo DR 5000).^{4,21}

2.5. Determinação do valor de pK_a do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico por técnicas de espectrofotometria UV-Vis

A determinação do valor de pK_a foi realizada a partir de quatro metodologias distintas. Em todas elas os valores de pK_a foram calculados através da intensidade de absorção da molécula de acordo com os espectros de varredura realizados nos comprimentos de onda de 200 a 750 nm. Assim, a determinação do valor de pK_a do azobenzeno foi realizado utilizando-se as seguintes metodologias:

a) aplicação da equação $\text{pK}_a = \text{pH} - \log \left[\frac{[Ind]}{[HInd]} \right]$ diretamente em cada uma das soluções de valor de pH e concentração definidas

Uma vez conhecido o valor do pH e o termo logarítmico, obtém-se matematicamente os valores de pK_a . Nesse caso, utilizou-se as soluções de valores de pH na faixa de viragem dos indicadores e assumiu-se o valor médio como sendo o valor de pK_a .^{14, 22} Os cálculos foram realizados com o auxílio do programa Microsoft Office Excel®.

b) gráfico de valores de pH versus $\log \left[\frac{(A_{\text{pH}} - A_{\text{f.ácida}})}{[A_{\text{f.básica}} - A_{\text{pH}}]} \right]$

Através desse método o valor de pK_a é calculado segundo o coeficiente linear da curva construída a partir da relação de valor de pH versus $\log \left[\frac{(A_{\text{pH}} - A_{\text{f.ácida}})}{[A_{\text{f.básica}} - A_{\text{pH}}]} \right]$

$A_{pH}]$.^{4, 14, 22} Onde: A_{pH} = Absorbância em um determinado valor de pH em um comprimento de onda específico; $A_{f.ácida}$ = Absorbância da forma ácida em um comprimento de onda específico e $A_{f.básica}$ = Absorbância da forma básica em um comprimento de onda específico. A representação gráfica foi feita pelo programa Microsoft Office Excel®.

c) gráfico de absorbância em função do valor de pH

O ponto médio ou ponto de inflexão da curva sigmoideal resultante da representação gráfica da absorbância em função do valor de pH fornece o valor de pK_a .^{4,13,14,23} A curva resultante foi ajustada à sigmoideal e o valor do ponto de inflexão obtido pelo programa Microcal Origin®.

d) determinação do ponto isobéstico no gráfico de absorbância em função do valor de pH entre dois comprimentos de onda

A partir desse método, empregando-se dois valores de comprimento de onda, construiu-se em um mesmo gráfico duas curvas de absorbância em função do valor de pH, onde o ponto isobéstico, isoabsortivo ou de intersecção entre as curvas resultantes forneceu o valor de pK_a .^{14,24} A representação gráfica foi realizada pelo programa Microcal Origin®.

2.6. Titulação por neutralização empregando o 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico como indicador ácido-base

Primeiramente foi feita a padronização do titulante (NaOH 0,1 M), em triplicata, usando biftalato de potássio como padrão primário, para isso, o biftalato de potássio foi anteriormente seco em estufa por cerca de 60 min. a aproximadamente 110 °C e armazenado em dessecador com sílica gel e sob vácuo. Em seguida, foram pesados em

balança analítica 204 mg do biftalato de potássio em três erlenmeyer. Essas massas foram solubilizadas em 10 mL de água deionizada isenta de CO₂ e em cada Erlenmeyer, foi adicionado 2 gotas de solução hidroalcolica de fenolftaleína 1% (m/v) como indicador. Por fim, a solução de NaOH foi padronizada sendo registrado os volumes de NaOH consumidos para cada erlenmeyer.

Posteriormente foi efetuada a titulação em triplicata, de uma solução de ácido acético aproximadamente 0,1 mol L⁻¹ com o NaOH padronizado anteriormente empregando-se fenolftaleína a 1% (m/v; solução alcoólica), como indicador (2 gotas). Depois a mesma titulação foi realizada, também em triplicata, utilizando-se 2 gotas da solução aquosa do azobenzeno 1% (m/v; solução aquosa) como indicador. Por fim, foram registrados os volumes de titulante consumido nas titulações empregando tanto a fenolftaleína quanto o azobenzeno sintetizado como indicadores.²⁵

3. Resultados e discussão

A síntese do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico foi realizada pelo azoacoplamento entre o sal de diazônio do ácido sulfanílico e o acetaminofeno. Sendo o primeiro obtido a partir da reação entre o ácido sulfanílico com o cátion nitrosilo (NO⁺) que foi gerado *in situ* no meio reacional através da reação entre as soluções aquosas de HCl e NaNO₂, conforme mecanismo relatado em Araújo e colaboradores.¹⁶ O produto reacional obtido, com rendimento de aproximadamente 77% (76,94%), é um sólido amorfo de coloração vermelho tijolo solúvel em água e metanol, pouco solúvel em acetona e insolúvel em clorofórmio.

3.1. Avaliação do potencial indicador de valor de pH do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico

Uma vez que a cor das soluções de indicadores de valor de pH em água é dependente da concentração e do pH, a avaliação do potencial indicador de valor de pH do azo composto aromático foi feita baseando-se na metodologia descrita por Cardona e Magri a partir da observação visual de mudanças na coloração de soluções deste em diferentes valores de pH (pH de 1 a 14) em quatro diferentes concentrações, sendo 1,2; 1,0; 0,1 e 0,01 mM.⁴

A uma concentração de 1,2 mM do azobenzeno há uma mudança de cor

prontamente distinguível de amarelo em valores de pH abaixo de 6 a vermelho em valores de pH acima de 8, devido à forma aniônica do indicador. Além disso, é possível observar que sua faixa de viragem está entre os valores de pH 6 e 9 o que permite inferir seu valor de pK_a aproximado considerando que, segundo Camões, a faixa de viragem de um indicador é definido como sendo seu valor de $pK_a \pm 1$, logo, o valor de pK_a do azobenzeno está entre 7 e 8, teoricamente (Figura 2a).²⁶

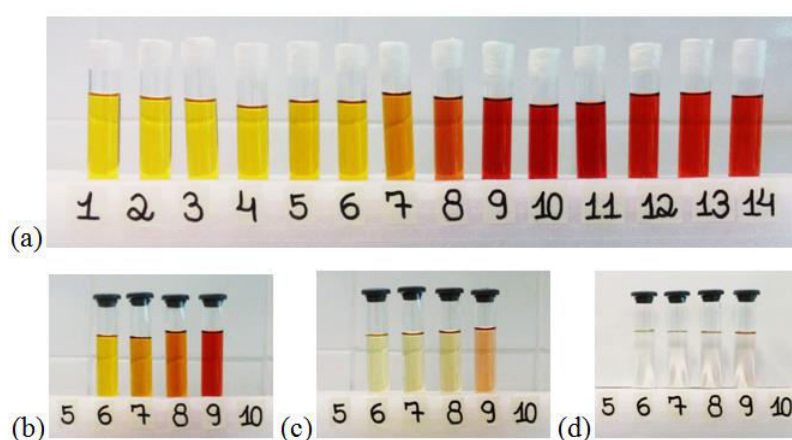


Figura 2. Soluções do azobenzeno em diferentes concentrações e valores de pH. (a) soluções do azobenzeno a 1,2 mM nos valores de pH entre 1 e 14. (b) soluções do azobenzeno a 1,0 mM nos valores de pH entre 6 e 9. (c) soluções do azobenzeno a 0,1 mM nos valores de pH entre 6 e 9. (d) soluções do azobenzeno a 0,01 mM nos valores de pH entre 6 e 9

Visto que, a sensibilidade ótica dos observadores não é a mesma para todas as cores, nem a mesma de um observador para outro, a faixa de viragem dos indicadores ácido-base correspondente ao valor de pH aproximadamente igual ao valor de $pK_a \pm 1$, que corresponde a um intervalo de pH de até uma unidade em torno do valor de pK_a do indicador.^{26,27}

A ampla faixa de viragem observada para o azobenzeno a 1,2 mM pode ser explicada pela concentração das espécies nas formas ácida (protonada) e básica (desprotonada), que variam conforme o valor do pH do meio, onde nas proximidades do valor de pK_a no qual ocorre a viragem do indicador, a cor passa por diferentes tons entre as cores da

forma ácida e básica. Nessa região é como se houvesse uma mistura das duas formas, já que no valor de pH aproximadamente igual ao valor de pK_a existem 50% de ambas as formas no meio.^{26,27}

A 0,1 mM a mudança de cor do azobenzeno ainda pode ser vista, no entanto, as cores são sutis e a faixa de viragem se estreita, ocorrendo entre os valores de pH 8 e 9 (Figura 2c). A 0,01 mM a mudança de cor já não pode ser notada devido a elevada diluição (Figura 2d). Assim, o azobenzeno tem uma faixa de concentração utilizável entre 1,2 e 0,1 mM como indicador.

3.2. Determinação do valor de pK_a do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico por técnicas de espectrofotometria UV-Vis

Os espectros de varredura da solução aquosa do azo composto aromático, nos comprimentos de onda compreendidos entre 200 e 750 nm, com intervalos de 1 nm entre cada ciclo foram realizados com uma solução do azo composto de concentração 0,12 mM com valores de pH entre 2 e 12 com variação de uma unidade de pH entre elas. Entretanto, tendo sido determinada visualmente sua faixa de viragem, e baseando-se nas metodologias seguidas por Cardona e Magri, Previdello e colaboradores e Simsen e equipe, foram admitidos os espectros apenas na sua faixa de viragem para determinação dos comprimentos de onda dos máximos de absorção e para avaliar as mudanças espectrais em função do valor de pH, sendo essas informações utilizadas para a determinação do valor de pK_a .^{4,14,22}

Para a determinação do valor de pK_a por técnicas de espectrofotometria UV-Vis, a escolha do comprimento de onda deve corresponder a uma banda de elevada intensidade de absorção da solução do cromóforo, ou seja, onde se tem o máximo de absorção e, de preferência, a com maior diferença de absorbância entre as formas ácida e básica.^{14,21,23} Assim, analisando os espectros obtidos, observou-se que ocorrem dois comprimentos de onda com bandas de máximo de absorção ($\lambda_{m\acute{a}x}$), sendo eles 320 e 489 nm (Figura 3). No entanto, é em 489 nm que observa-se a maior diferença de absorção nas soluções de valor de pH 3 e 9; nesses comprimentos de onda nota-se que as bandas de maior absorção são predominantes para os valores de pH acima de 9, porém, em aproximadamente 393 nm esse cenário se inverte, onde a banda de maior absorção é correspondente ao valor de pH 8 (Figura 4).

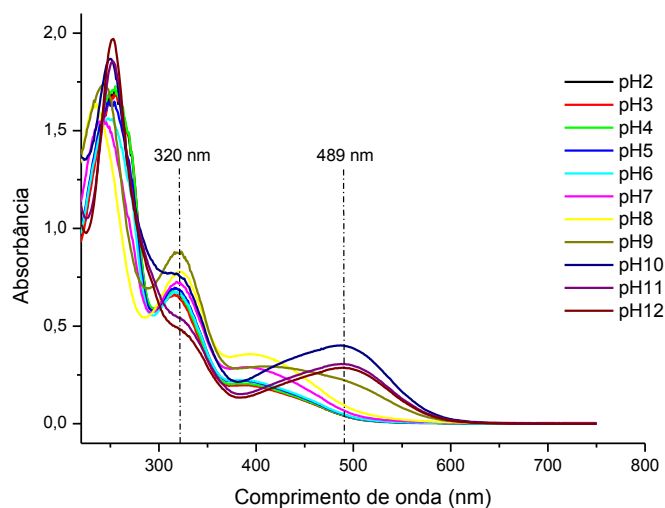


Figura 3. Espectro de varredura do azobenzeno (0,12 mM) em água nos valores de pH de 2 a

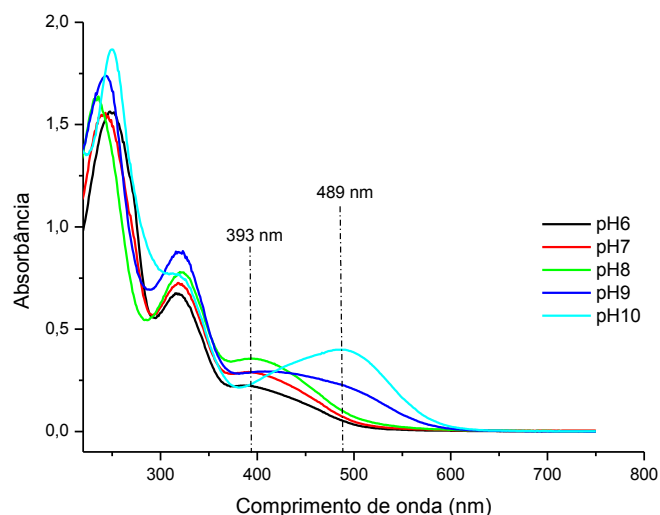
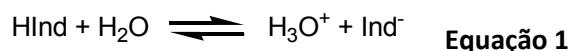


Figura 4. Espectro de varredura do azobenzeno (0,12 mM) em água nos valores de pH de 6 a 10

A relação entre a concentração de reagentes e produtos é definida como constante de equilíbrio. Em um equilíbrio ácido-base (equação 1) a relação entre as

concentrações das espécies para cada valor de pH varia conforme a expressão de Henderson-Hasselbalch, representada na equação 2.



$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log [\text{Ind}^-] / [\text{HInd}] \quad \text{Equação 2}$$

Segundo a lei de Beer, a concentração da espécie absorvente é proporcional à sua absorbância (A) desde que a concentração da espécie seja baixa, de acordo com a relação $A = \epsilon \cdot b \cdot C$, onde ϵ é a absorvidade molar, quando C é a concentração da espécie em mol L^{-1} e b é o caminho óptico.^{12,14} Logo, por espectrofotometria UV-Vis, obtendo-se o

comprimento de onda onde ocorre o máximo de absorção na forma ácida ou básica, empregando-se soluções com a mesma concentração de indicador, em valores de pH distintos, pode-se estabelecer a seguinte relação e reescrever a equação de Henderson-Hasselbalch em termos de absorbância:

$$A_{\text{pH}} - A_{\text{ácida}} / A_{\text{básica}} - A_{\text{pH}} = [\text{Ind}^-] / [\text{HInd}] \quad \text{Equação 3}$$

Assim, determinando-se o log da expressão $[\text{Ind}^-] / [\text{HInd}]$, por rearranjo da

equação de Henderson-Hasselbalch pode-se determinar que:

$$\text{pK}_a = \text{pH} - \log [\text{Ind}^-] / [\text{HInd}] \quad \text{Equação 4}$$

Uma vez escolhido o comprimento de onda referente a banda de $\lambda_{m\acute{a}x}$, 489 nm, a determinação do valor de pK_a do azobenzeno foi efetuado a partir de quatro métodos:

Método a

Tendo em mente os princípios mencionados anteriormente, uma vez conhecido o valor do pH e o termo logarítmico, obteve-se matematicamente os

valores de pK_a do azobenzeno a partir da aplicação da equação 4 diretamente em cada uma das soluções de pH e concentração definida. Nesse caso utilizou-se os valores médios obtidos para os valores de pH na faixa de viragem do azobenzeno a medida que o valor de pK_a dos indicadores está incluso na faixa de viragem.^{14,22,26} Assim, tomando-se a média entre os valores junto ao comprimento de onda 489 nm o valor de pK_a resultante foi de 8,354 (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de $\log [Ind^-] / [HInd]$ das soluções do azobenzeno (0,12 mM) em água para cada valor de pH juntamente com os valores de pK_a calculados. Em destaque os valores de pK_a obtidos para os valores de pH na faixa de viragem do azobenzeno

| pH | Abs. λ 489 nm | log [Ind ⁻] / | | pK_a |
|----|-----------------------|------------------------------|---------|---------------|
| | | [Ind ⁻] / [HInd] | [HInd] | |
| 2 | 0,044 | 0,00280 | -2,5514 | 4,5514 |
| 3 | 0,043 | 0 | - | - |
| 4 | 0,045 | 0,0056 | -2,2492 | 6,2492 |
| 5 | 0,049 | 0,0171 | -1,7671 | 6,7671 |
| 6 | 0,051 | 0,0229 | -1,6397 | 7,6397 |
| 7 | 0,071 | 0,0851 | -1,0700 | 8,0700 |
| 8 | 0,099 | 0,1860 | -0,7304 | 8,7304 |
| 9 | 0,226 | 1,0517 | 0,0219 | 8,9781 |
| 10 | 0,400 | 0 | - | - |
| 11 | 0,305 | 2,7579 | 0,4406 | 10,5595 |
| 12 | 0,287 | 2,1593 | 0,3343 | 11,6657 |

Método b

Através desse método o valor de pK_a foi calculado segundo o coeficiente linear da curva construída a partir da relação valor de pH versus $\log [(A_{pH} - A_{f,\acute{a}cida}) / (A_{f,b\acute{a}sica} - A_{pH})]$. Uma vez que $[(A_{pH} - A_{f,\acute{a}cida}) / (A_{f,b\acute{a}sica} - A_{pH})]$ é igual a $[Ind^-] / [HInd]$ e junto ao coeficiente linear (ou intercepto) o termo logarítmico igual a zero implica em $[Ind^-] / [HInd] = 1$, neste ponto tem-se que o valor de pH

corresponde ao valor de pK_a . Dessa forma, a resultante é uma reta cujo coeficiente linear fornece o valor de pK_a .^{4,14,22} Ou seja, considerando a equação de Henderson-Hasselbalch (equação 2) como sendo a equação da reta da curva determinada: $y = ax + b$, b seria igual ao $\log [Ind^-] / [HInd]$, e desse modo o valor de pK_a seria 9,072 conforme a Figura 5.

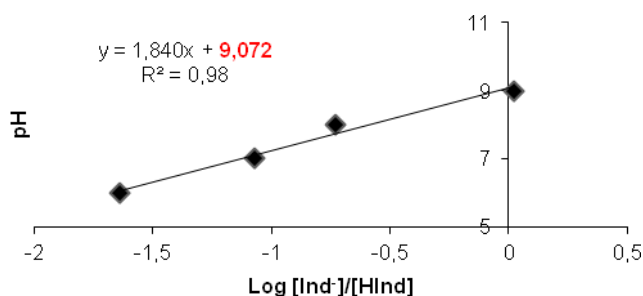


Figura 5. Log da razão entre a concentração do indicador, o azobenzeno, nas formas ácida e básica em função do valor do pH do meio

Método c

A representação gráfica de uma propriedade diretamente proporcional à razão de concentrações (ou a própria concentração de uma das espécies) em função do valor de pH tem uma forma de sigmóide. Desse modo, o ponto médio da curva sigmoidal ou ponto de inflexão, onde

ocorre inversão de concavidade, fornece o valor de pK_a .^{4, 13, 14, 23} Tendo isto em mente, a partir dos dados espectrofotométricos construiu-se o gráfico de absorvância em função do valor de pH, conforme ilustrado na Figura 6. A curva resultante foi ajustada à sigmoidal pelo programa Microcal Origin® e o ponto de inflexão resultante foi de 9,322.

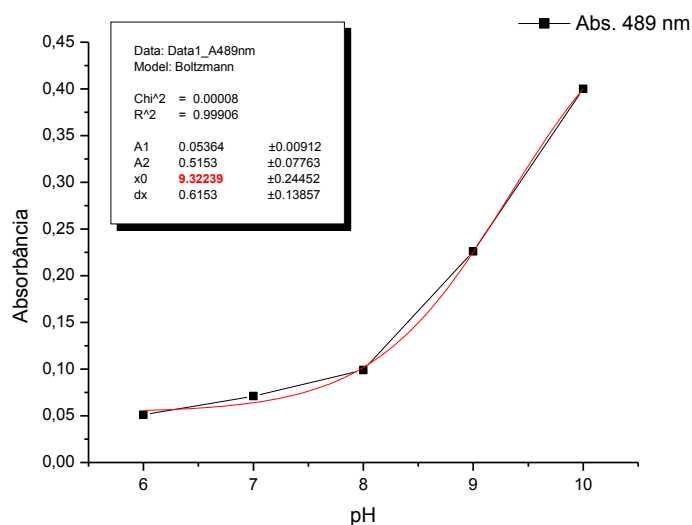


Figura 6. Determinação gráfica do ponto de inflexão da curva sigmoidal do azobenzeno obtida a partir da absorvância do indicador em função do valor de pH

Método d

De acordo com os princípios espectrofotométricos mencionados anteriormente, uma vez que no ponto isobéstico ou isoabsortivo, a concentração do indicador na forma ácida é igual à concentração do mesmo na forma básica. A partir da escolha dos comprimentos de onda

onde ocorre o máximo de absorção para as formas ácida e básica do indicador, e ao mesmo tempo a com maior diferença de absorvância entre elas; utilizando-se soluções com a mesma concentração de indicador em diferentes valores de pH, é possível, através da representação gráfica da absorvância em função do pH, determinar o valor de pK_a

deste. Visto que, segundo a equação de Henderson-Hasselbalch, nessa condição o valor de pH do meio é igual ao valor de pK_a conforme representado na equação 5.^{14,24,28,29}

$$[\text{Ind}^-] / [\text{HInd}] = 1$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log [\text{Ind}^-] / [\text{HInd}] \quad \text{Equação 5}$$

$$\text{pH} = \text{p}K_a$$

Assim, a partir dos comprimentos de onda 489 e 393 nm foi realizada a representação gráfica da absorbância em função do valor de pH, conforme Figura 7. O ponto onde as

curvas se cortam (ponto isobéptico) representa o valor de pK_a do indicador, sendo 9,265.

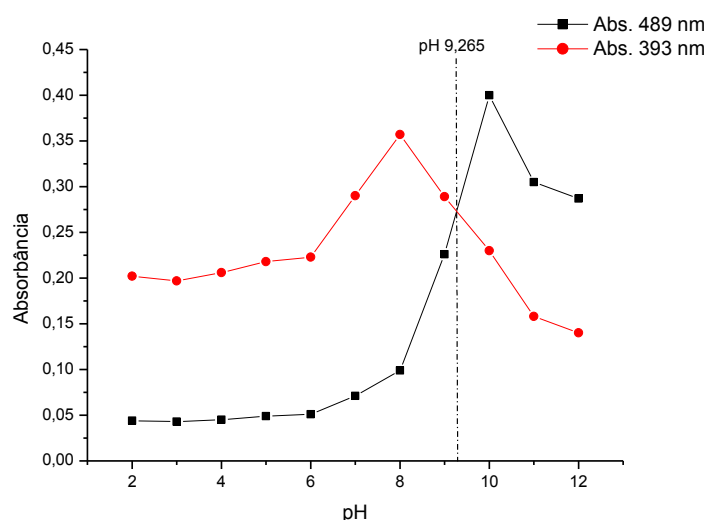


Figura 7. Representação gráfica da absorbância em função do valor de pH entre dois comprimentos de onda com absorção máxima do azobenzeno

Fazendo uma análise geral dos métodos espectrofotométricos empregados para a determinação do valor de pK_a do 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico neste trabalho, observou-se que o resultado obtido no método *a* não se mostrou adequado para determinação do valor de pK_a , uma vez que a quantidade de pontos experimentais não foram suficientemente significativos. Ou seja, ao se empregar esse método o ideal é que se disponha de vários pontos experimentais dentro da faixa de viragem estimada para o indicador ácido-base com variações pequenas de valores de pH.¹⁴ Entretanto, os

métodos *b*, *c* e *d* resultaram em valores muito próximos entre si, demonstrando concordância dos valores entre os referidos métodos.

3.3. Avaliação da aplicabilidade do azobenzeno 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico para análise titrimétrica por neutralização

Para ser útil como indicador de uma titulação, minimizando o erro desta (diferença de volume do titulante adicionado, entre o valor teoricamente previsível, o

Ponto de Equivalência - PE, e o valor usado até viragem do indicador, o Ponto Final - PF), o centro da faixa de viragem do indicador deve coincidir o máximo possível com o valor de pH do PE.^{11, 26} Para que pudesse ser feita uma comparação dos resultados obtidos as titulações foram realizadas sob as mesmas condições experimentais utilizando fenolftaleína, um indicador ácido-base convencional com faixa de viragem semelhante ao do azobenzeno. A fenolftaleína é um indicador ácido-base que na sua forma protonada apresenta-se incolor até pH cerca de 9,0 e em pH acima desse valor predomina sua forma desprotonada que apresenta coloração rosa.^{25,27}

Comparando os resultados obtidos entre as titulações com a fenolftaleína e com o azobenzeno notou-se que os volumes gastos

do titulante em ambas as titulações foram muito próximos, o que resultou em valores próximos para a concentração molar real da amostra, sendo 0,0948 mol L⁻¹ na titulação com fenolftaleína e 0,0950 mol L⁻¹ na titulação com o azobenzeno. Este foi um bom resultado, uma vez que pode-se inferir que o azobenzeno 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico pode ser utilizado como indicador ácido-base, com desempenho similar ao da fenolftaleína, ou seja, o azo composto é um indicador versátil, de baixo custo, fácil síntese, obtenção e purificação e pode substituir a fenolftaleína nas titulações ácido-base sem qualquer perda na precisão e exatidão dos resultados. Além disso, como apresentado na Figura 8 a transição de cores na titulação empregando o azobenzeno pode ser facilmente notada.

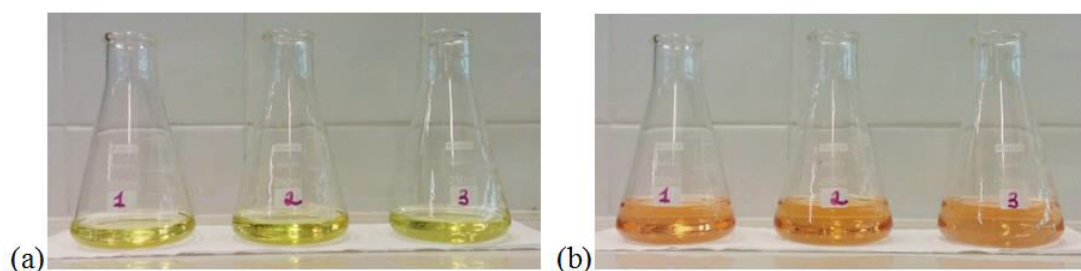


Figura 8. Titulação empregando o azobenzeno como indicador. (a) Coloração da solução do titulado antes da titulação. (b) Coloração da solução do titulado após a viragem do indicador

4. Conclusão

O azobenzeno 4-((5-acetamido-2-hidroxifenil) diazenil) benzenossulfônico, facilmente obtido por uma rota de síntese com alto rendimento e baixo custo, mostrou-se um promissor indicador de valor de pH da faixa básica, possuindo boa solubilidade em água, mudança de cor prontamente distinguível na zona de viragem, além de exibir uma ampla faixa de concentração utilizável. A partir de três métodos distintos foi determinado o valor de pK_a do azobenzeno através de dados obtidos por espectrofotometria de absorção molecular na região do visível, sendo estes: 9,072; 9,322 e 9,265. Além disso, o azobenzeno apresentou

resultados experimentalmente próximos aos encontrados utilizando-se a fenolftaleína como indicador, exibindo também, uma transição de cores nítida, claramente visível e distinta nas imediações do ponto final, com brusca mudança de cor nesse ponto.

Diante do exposto, infere-se que o azobenzeno sintetizado é mais uma alternativa de indicador para titulações e pode ser empregado na prática laboratorial como um novo indicador de valor de pH e aplicado na análise titrimétrica. Os resultados obtidos contribuem para o desenvolvimento de novos compostos sintéticos com atividade indicadora ácido-base com a vantagem de possuir elevada solubilidade em água e baixo custo de produção.

Referências Bibliográficas

- ¹ Correia, C. R. D.; Costa, P. R. R.; Ferreira, V. F. Vinte e cinco anos de reações, estratégias e metodologias em química orgânica. *Química Nova* **2002**, *25*, 74. [CrossRef]
- ² Correia, C. R. D.; Oliveira, C. C. A evolução da química orgânica sintética: Quo vadis? *Ciência e Cultura* **2011**, *63*, 33. [Link]
- ³ Boni, L.; Andrade, A. A.; Yamaki, S. B.; Misoguti, L.; Zilio, S. C.; Atvars, T. D. Z.; Mendonça, C. R. Two-photon absorption spectrum in diazoaromatic compounds. *Chemical Physics Letters* **2008**, *463*, 360. [CrossRef]
- ⁴ Cardona, M. A.; Magri, D. C. Synthesis and spectrophotometric studies of water-soluble amino[bis(ethanesulfonate)] azobenzene pH indicators. *Tetrahedron Letters* **2014**, *55*, 4559. [CrossRef]
- ⁵ Catanho, M.; Malpass, G. R. P.; Motheo, A. de J. Avaliação dos tratamentos eletroquímico e fotoeletroquímico na degradação de corantes têxteis. *Química Nova* **2006**, *29*, 983. [CrossRef]
- ⁶ Tsai, W.-J.; Shiao, Y.-J.; Lin, S.-J.; Chiou, W.-F.; Lin, L.-C.; Yang, T.-H.; Teng, C.-M.; Wu, T.-S.; Yang, L.-M. Selective COX-2 inhibitors. Part 1: Synthesis and biological evaluation of phenylazobenzenesulfonamides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter* **2006**, *16*, 4440. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷ Takashima, K.; Takata, N. H.; Nakamura, W. M. Separação e identificação de corantes sintéticos para fins alimentícios solúveis em água. *Semina* **1988**, *9*, 171. [Link]
- ⁸ Fatibello-Filho, O.; Capelato, M. D. Biossensores. *Química Nova* **1992**, *15*, 28. [Link]
- ⁹ Zimmermann-Dimer, L. M.; Machado, V. G. Quimiossensores cromogênicos e fluorogênicos para a detecção de analitos aniônicos. *Química Nova* **2008**, *31*, 2134. [CrossRef]
- ¹⁰ Eiggins, B. R; *Chemical sensors and biosensors*, 1a. ed., John Wiley & Sons: Northern Ireland, 2002.
- ¹¹ Khan, P. M. A.; Farooqui, M. Analytical applications of plant extract as natural pH indicator: a review. *Journal Advanced Scientific Research* **2011**, *2*, 20. [Link]
- ¹² Cuchinski, A. S.; Caetano, J; Dragunski, D. C. Extração do corante da beterraba (*Beta vulgaris*) para utilização como indicador ácido-base. *Eclética Química* **2010**, *35*, 17. [CrossRef]
- ¹³ Lucas, M.; Chiarello, L. M.; Silva, A. R. da; Barcellos, I. O. Indicador natural como material instrucional para o ensino de química. *Experiências em Ensino de Ciências* **2013**, *8*, 61. [Link]
- ¹⁴ Previdello, B. A. F.; Carvalho, F. R. de; Tessaro, A. L.; Souza, V. R.; Hioka, N. O pKa de indicadores ácido-base e os efeitos de sistemas coloidais. *Química Nova* **2006**, *29*, 600. [CrossRef]
- ¹⁵ Sebben, V. C.; Lugocho, R. de W.; Schlinker, C. S.; Arbo, M. D.; Vianna, R. L. Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica de paracetamol. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* **2010**, *46*, 143. [CrossRef]
- ¹⁶ Araújo, C. R. M.; Leite-Filho, C. A.; Santos, V. L. dos A.; Maia, G. L. de A.; Gonsalves, A. de A. Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual Scifinder®. *Química Nova* **2015**, *38*, 868. [CrossRef]
- ¹⁷ Sallo, A.; Crasmareanu, E.; RAD, R. Contribution to the elucidation of the ortho azo-coupling reaction mechanism. *Annals of West University of Timisoara: Series Chemistry* **2007**, *16*, 115. [Link]
- ¹⁸ Awad, I. M. A. Synthesis of some new azosulphonamides based on salicylic acid and thiosalicylic acid, and having antibacterial and antifungal activity. *Dyes and Pigments* **1991**, *17*, 123. [CrossRef]

- ¹⁹ Cunha, S.; Marques, M. F.; Rocha, V.; Lariucci, C.; Vencato, I. Acoplamento de cloreto de 4-nitrofenildiazônio com nucleófilos alifáticos: experimento integrado de síntese orgânica e cristalografia de raios x. *Química Nova* **2013**, *36*, 1453. [CrossRef]
- ²⁰ Haghbeen, K.; Tan, E. W. Facile synthesis of catechol azo dyes. *Journal Organic Chemistry* **1998**, *63*, 4503. [CrossRef]
- ²¹ Cortes, M. S.; Ramos, L. A.; Cavalheiro, E. T. G. Titulações espectrofotométricas de sistemas ácido-base utilizando extrato de flores contendo antocianinas. *Química Nova* **2007**, *30*, 1014. [CrossRef]
- ²² Simsen, V. L.; Lenz, G. F.; Kleinschimith, J. C.; Freitag, J. A.; Martin, C. A.; *Resumos do 3º Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica*, Toledo, Brasil, 2011.
- ²³ Pereira, P. C. S.; Freitas, C. F de; Chaves, C. S.; Estevão, B. M.; Pellosi, D. S.; Tessaro, A. L.; Batistela, V. R.; Scarminio, I. S.; Caetano, W.; Hioka, N. A quimiometria nos cursos de graduação em química: proposta do uso da análise multivariada na determinação de pKa. *Química Nova* **2014**, *37*, 1417. [CrossRef]
- ²⁴ Vidal-Salgado, L. E.; Vargas-Hernández, C. Spectrophotometric determination of the pKa, isosbestic point and equation of absorbance vs. pH for a universal pH indicator. *American Journal of Analytical Chemistry* **2014**, *5*, 1290. [CrossRef]
- ²⁵ Soares, M. H. F. B.; Cavalheiro, E. T. G.; Antunes, P. A. Aplicação de extratos brutos de flores de quaresmeira e azaléia e da casca de feijão preto em volumetria ácido-base. Um experimento para cursos de análise quantitativa. *Química Nova* **2001**, *24*, 408. [CrossRef]
- ²⁶ Camões, M. F. Zona de viragem. *Folhas de Química* **2006**, *100*, 85. [Link]
- ²⁷ Osawa; C. C.; Gonçalves, L. A. G. Titulação potenciométrica aplicada na determinação de ácidos graxos livres de óleos e gorduras comestíveis. *Química Nova* **2006**, *29*, 593. [CrossRef]
- ²⁸ Lyra, M. A. M.; Alves, L. D. S.; Fontes, D. A. F.; Soares-Sobrinho, J. L.; Rolim-Neto, P. J. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* **2010**, *31*, 117. [Link]
- ²⁹ Venturini, C. G.; Nicolini, J.; Machado, C.; Machado, V. G. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. *Química Nova* **2008**, *31*, 360. [CrossRef]