

RECONHECIMENTO DE TERRAS RARAS INDIVIDUAIS POR MEIO DE SEUS COMPLEXOS FLUORESCENTES COM TETRACICLINA

J.C.ZANOTTI-CAVAZZONI, J.C. BOVEDA V.
Facultad de Ciencias Químicas, Assunción, Paraguai

A. ABRÃO

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN)
Caixa Postal 11049 - Pinheiros, 05499 - São Paulo

RESUMO

Os autores descrevem testes para a identificação das diferentes terras raras e algumas de suas misturas por meio da fluorescência de seus complexos com tetraciclina(TC), observados visualmente sob luz ultravioleta.

As terras raras, na forma de cloretos, são adicionadas numa tira de papel de filtro impregnada com tetraciclina básica dissolvida em etanol e previamente secada antes do uso. Uma microgota da solução de terra raras é depositada sobre o papel de filtro e secada em estufa (30-60°C) e observada depois sob luz ultravioleta. Para a identificação de uma ou mais terras raras em mistura, após depositada a gota da solução no papel com TC, faz-se um desenvolvimento dos complexos fluorescentes com o solvente contendo etanol, acetona, éter e ácido acético 1%, na relação volumétrica 2:1:1:1, ajustando-se o pH da mistura a 5,8 com hidróxido de amônio.

Os elementos das terras raras apresentaram quelatos coloridos e fluorescentes sob a luz ultravioleta. Sc, Y, La, Dy, Ho e Lu apresentam intensa fluorescência amarela; Gd, Tm e Yb fluorescência fracamente amarela; Ce violeta intensa; Pr, Nd, Sm e Tb violeta; Eu intensa fluorescência vermelha e Er violeta castanho, pouco definida. É possível identificar por exemplo 0,3 ug Ce (concentração 6 mg/L) e 0,2 ug Eu (concentração 6 mg/L).

Ensaio preliminares indicaram que a formação de complexos entre a tetraciclina e as terras raras se presta para a identificação e determinação destes elementos por espectrofluorimetria.

ABSTRACT

In this paper the authors outlined a procedure for the identification of rare earth elements (REE) based on the complex formation with tetracycline(TC) and visual observation under ultraviolet light.

One microdrop of REE chloride is placed over the filter paper impregnated with tetracycline and previously dried before use. After dried (30-60°C) the paper is examined under the UV light. In a second procedure for the identification of mixture of REE a drop of the analyte is added over a filter paper strip impregnated with TC followed by a chromatographic development using a 2:1:1:1 (vol/vol) ethanol, acetone, ether and 1% acetic acid mixture of pH 5,8. After dried, the strip is observed under UV light. Sc, Y, La, Dy, Ho and Lu exhibited high yellow fluorescence; Gd, Tm and Yb a weak yellow; Ce an intense violet; Pr, Nd, Sm and Tb violet; Eu a high red fluorescence and Er a violet brownish, not well defined. It is possible to identify for instance 0.3 ug Ce (concentration 6 mg/L) and 0.2 ug Er (concentration 6 mg/L).

Preliminary experiments indicated that those REE-TC chelates can be used for the identification and determination of the REE by spectrofluorimetry.

INTRODUÇÃO

As moléculas dos antibióticos tetraciclina(TC) e seus derivados auromicina (clorotetraciclina) e terramicina (oxitetraciclina) formam complexos com os cátions de vários elementos.

Albert e Rees [1] determinaram, por titulações potenciométricas, as constantes de estabilidade dos complexos formados por tetraciclina, clorotetraciclina e oxitetraciclina com vários cátions bivalentes, entre eles: Cu(II), Ni(II), Fe(II), Co(II), Zn(II) e Mn(II) e de cátions trivalentes como Fe(III) e Al(III). Maxwell e colab. [2], também com o auxílio de titulações potenciométricas, determinaram as constantes de estabilidade de alguns quelatos dos metais alcalino-terrosos com a tetraciclina.

Auromicina e terramicina formam complexos com Fe(III), Cu(II), Ni(II), Fe(II), Co(II), Zn(II) e Mn(II). Os complexos com cobre e níquel são verdes e com Fe(II) e Fe(III) são vermelhos; os complexos dos outros elementos são amarelos [3]. A auromicina em solução alcalina forma complexos amarelos, estáveis, com os cátions bivalentes: Mg, Ca, Co, Ni, Cu e Sr. Estes complexos são solúveis em n-butanol. Os elementos Zn, Cd, Mn, Ba, Hg e Pb não formam complexos coloridos estáveis [4]. Há evidência de formação de complexos em pH diferentes para os cátions Hg(II), Bi(III), Co(II), Al(III), Cu(II), Ca(II), Mg(II), Zr(IV), Th(IV) e U(VI) [5]. As constantes de estabilidade de alguns complexos com a tetraciclina são [1]:

CATION	COR	LOG K
Fe(III)	vermelho	25,3
Fe(II)	vermelho	9,3
Al(III)	amarelo	19,2
Cu(II)	verde	12,8
Ni(II)	verde	11,0
Co(II)	amarelo	?
Mn(II)	amarelo	?

Baker e Brown [6] prepararam os complexos de tetraciclina com lantânio e tório. Williamson e Everett [7] mostraram, por ressonância nuclear magnética (NMR), a formação dos complexos Nd(III)-TC, Tb(III)-TC e La(III)-TC e também dos complexos entre TC e Cu(II), Mn(II), Co(II), Ca(II) e Mg(II).

Ishidate e Sakaguchi [5] mostraram que a auromicina pode ser usada para a determinação colorimétrica de Th(IV).

Saiki, Nastasi e Lima [8] demonstraram que os lantanídeos, tório e urânio formam complexos com a molécula da tetraciclina. A existência destes complexos foi demonstrada por espectrofotometria [9]. Extensos e interessantes estudos para a extração dos lantanídeos, escândio, tório e urânio foram feitos por estes mesmos pesquisadores [8], bem como para neptunio [10] e zinco [11] usando-se o sistema TC-álcool benzílico como agente extrator. Saiki e Lima [12] determinaram as constantes de estabilidade para os complexos formados pelas terras raras e a TC, bem como a do complexo tório-TC [13].

Khairy e colab. [14] confirmaram a formação de complexos de tetraciclina com o cátion uranilo (UO_2^{2+}) e usaram esta propriedade para a microdeterminação da própria tetraciclina. Sultan [15] explorou a reação entre tetraciclina e molibdato para a determinação da tetraciclina em preparações farmacêuticas. Por outro lado, Saha [16] fez a determinação colorimétrica de tetraciclina em preparações farmacêuticas baseando-se na reação da TC com cloreto de Cu(II). Vaselinovic e colab. [17] também determinaram tetraciclina em preparações farmacêuticas usando a reação entre TC e tungstato de sódio.

Os compostos tetraciclina, clorotetraciclina e oxitetraciclina, segundo Udenfriend et al. [18] são fluorescentes. Tetraciclina e oxitetraciclina têm máximo de excitação em 390 nm e máximo de emissão em 515-520 nm em pH 11. A clorotetraciclina (auromicina) tem máximo de excitação em 355 nm e máximo de emissão em 445 nm, apresentando fluorescência máxima também em pH 11. Considera-se que a fluorescência indicada para a clorotetraciclina é, pelo menos em parte, devida a um produto derivado, a isoclorotetraciclina, na qual o antibiotico é transformado rapida-

mente em solução alcalina [19,20] e mesmo em meio neutro [21]. De acordo com Feldman et al. [21], este produto derivado tem máximo de absorção em 350 nm, enquanto o máximo para a clorotetraciclina é aproximadamente 385 nm. Os autores indicam que o máximo de fluorescência está em 425nm (azul). Indicam-se ainda que todas as tetraciclinas fluoescem em 515-520 nm (amarelo ouro).

Por esta razão, encontram-se na literatura, várias publicações fazendo uso desta propriedade da tetraciclina como indicador fluorescente. Ashton [22] investigou a possibilidade de usar tetraciclina como indicador fluorescente na microdeterminação dos cátions do Grupo II. O método proposto por Ashton mostrou ser altamente sensível à luz ultravioleta para a titulação complexométrica de cálcio, estrôncio, magnésio e bário com EDTA. Tetraciclina dá uma fluorescência verde amarelada, com o máximo em pH 10, na presença destes cátions.

Hayes e Du-Buy [23] descreveram um método rápido e sensível para a determinação de tetraciclina em antibióticos por fluorescência. Clorotetraciclina foi determinada por transformação em isoclorotetraciclina [24,25], que é fluorescente, por tratamento com álcalis diluídos.

Kelly e colab. [26] publicaram um método para a determinação de tetraciclina no qual se emprega a conversão à anidrotetraciclina e formação de um complexo altamente fluorescente com solução etanólica de cloreto de alumínio.

Os complexos de cálcio, estrôncio e magnésio com tetraciclina em pH 10 (hidróxido de amônio) são fluorescentes. Os complexos de cádmio e zinco, no mesmo meio, são menos intensamente fluorescentes [2]. Não se encontram complexos fluorescentes da TC com prata, cobre, chumbo, bismuto, estanho(II), mercúrio (I e II), manganês(II) e ferro(III), em pH 10 [2].

Korkina e colab. [27] usaram clorotetraciclina como reagente fluorescente para cálcio, dada sua estabilidade em soluções alcalinas.

A auromicina tratada com NaOH a 30°C fica amarela e descora rápida e irreversivelmente, desenvolvendo uma fluorescência de cor púrpura. Esta é extraída com n-butanol.

Hirschy e colab. [28] fizeram a determinação de tetraciclina usando a luminescência de seus quelatos com Eu(III).

Hallet e colab. [29] fizeram uso de clorotetraciclina como reagente fluorescente para a localização e análise *in situ* de cálcio em membranas de nervos.

Kelly e colab. [30] usaram com muita vantagem a fluorescência dos complexos de cálcio e magnésio com a tetraciclina em sistemas biológicos.

Além da indicação da existência de quelato fluorescente da TC com Eu(III) feita por Hirschy e colab. [28] nenhuma outra referência para a fluorescência de complexos das terras raras (TR) com tetraciclina foi encontrada na literatura.

Neste trabalho os autores estudaram a formação de complexos fluorescentes das terras raras com a tetraciclina e procuraram explorar esta propriedade para a identificação destes elementos.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes e Equipamento

1. Solução Etanólica de Tetraciclina

Dissolver 1 grama de tetraciclina em 100 mL de etanol P.A.
Preparar e usar no dia esta solução.

2. Cloretos de Terras Raras

Prepararam-se as soluções das diversas terras raras dissolvendo-se os óxidos de elevada pureza em ácido clorídrico, evaporando-se a solução até consistência xaroposa e redissolvendo os cloretos em água. A partir das soluções estoque fizeram-se as diluições de acordo com a demanda. As soluções devem ser neutras ou levemente ácidas ao vermelho Congo.

3. Mistura de Solventes

Preparar esta mistura usando-se os solventes de qualidade P.A. na relação volumétrica 2:1:1:1 para etanol, acetona, éter sulfúrico e ácido acético 1%, ajustando-se o pH da mistura a 5,8 com hidróxido de amônio. Guardar em frasco âmbar e em geladeira.

4. Papel de Filtro Impregnado com Tetraciclina

Impregnar tiras de papel de filtro de qualidade cromatográfica usando a solução de tetraciclina 1% em etanol. Secar ao ar. Guardar em vidro tampado. O papel de filtro impregnado com TC e cuidadosamente guardado poderá ser usado até 2 meses depois de preparado. Preparar também papéis com dimensões aproximadas de 3 x 3 cm impregnados com TC, como descrito acima. Para o procedimento B impregnar tiras de papel de filtro, como já descrito, porém, deixando aproximadamente 1 a 1,5 cm de papel livre, i.e., sem tetraciclina.

Equipamento

1. Lâmpada ultravioleta

Usou-se uma lâmpada ultravioleta tipo mineralight de alta intensidade. De preferência, fazer a observação dos testes em câmara escura.

PROCEDIMENTO A

Sobre o papel de filtro-TC adicionar uma microgota ou uma gota, dependendo da concentração da solução de terras raras. Secar ao ar ou em estufa (50-60°C) por 1-3 minutos. Evitar um aquecimento mais prolongado. Observar sob luz ultravioleta.

PROCEDIMENTO B

Sobre a zona do papel de filtro livre de TC(usar as tiras preparadas como descrito anteriormente) depositar uma microgota ou gota , dependendo da concentração de terras raras. Em seguida, colocar a tira de papel, com a parte na qual fez-se a deposição da gota a ser analisada, num cilindro de vidro contendo alguns mL da mistura de solventes e deixar cromatografar por uns 5 a 10 minutos. Remover a tira e secar ao ar. Observar sob a luz ultravioleta.

RESULTADOS

Examinando-se os testes feitos com os papeis de filtro impregnados com TC (Procedimento A) sob a luz ultravioleta, observaram-se os seguintes resultados:

ELEMENTO	FLUORÊSCENCIA
Sc	amarelo laranja, intensa
Y	amarelo, intensa
La	amarelo, intensa
Ce	violeta anil, intensa
Pr	violeta
Nd	violeta
Sm	violeta
Eu	vermelho, intensa
Gd	amarelo, fraca
Tb	violeta
Dy	amarela, intensa
Ho	amarela, intensa
Er	violeta-castanho, pouco definida
Tm	amarela, fraca
Yb	amarela, fraca
Lu	amarelo, intensa

Os elementos Pr,Nd,Sm,Tb,Er apresentaram-se com tonalidade violeta escura, parecidos entre si; Er apresenta-se violeta, com pouca definição.

Examinando-se as tiras de papel reveladas pela mistura de solventes, as características da fluorescência para cada elemento são as mesmas, notando-se, contudo, espalhamento devido ao desenvolvimento do cromatograma. Európio, por exemplo, tem a fluorescência vermelha mais bonita e inconfundível. A fluorescência do cério, violeta anil, também aparece mais suave. Contudo, este procedimento B está destinado à resolução de misturas de terras raras, em desenvolvimento ainda.

Os quelatos terras raras-tetraciclina formados no papel como spot-test podem ser arquivados por muito tempo, mantendo a fluorescência característica. Os autores têm arquivados papéis com quatro meses de duração e ainda podem ser examinados sob a luz ultravioleta, com bons resultados.

Espectrofluorimetria

Com base nestes experimentos, iniciaram-se os experimentos para a identificação das terras raras pela técnica espectrofluorimétrica, trabalhando-se no sistema TR-TC-mistura de solventes orgânicos (etanol/acetona/éter/ácido acético).

AGRADECIMENTOS

Um dos autores (J.C.Z-C) agradece à FAPESP pelas diárias recebidas durante o Simpósio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBERT, A. and REES, C.W. *Nature*, 177, 433, (1956).
2. MAXWELL, D.C.; SMITH, P.J.A. and WILFORD, S.P. *Nature*, 198, 577, (1963).
3. ALBERT, A. *Nature*, 172, 201, (1953).
4. OXFORD, A.E. *Nature*, 172, 395, (1953).
5. ISHIDATE, M. and SAKAGUCHI, T. *Pharm.Bull.(Tokyo)*, 3, 147, (1955).
6. BAKER, W.A. and BROWN, P.M. *J.Am.Chem.Soc.*, 88, 1314, (1966).

7. WILLIAMSON, E.D. and EVERETT Jr., G.W. J.Am.Chem.Soc. 97, 2397, (1975).
8. SAIKI, M.; NASTASI, M.J.C. and LIMA, F.W. J.Radioanal.Chem. 64, 83-116, (1981).
9. NASTASI, M.J.C. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade de S.Paulo, Publicação IEA - Dissertações e Teses - IEA-45, 1978.
10. NASTASI, M.J.C. and LIMA, F.W. Radiochem.Radioanal.Letters, 29, 61, (1977).
11. SAIKI, M. and LIMA, F.W. Radiochem.Radioanal.Letters, 35, 63, (1978).
12. SAIKI, M. and LIMA, F.W. J.Radioanal.Chem., 36, 435, (1977).
13. SAIKI, M. and LIMA, F.W. J.Radioanal.Chem., 50, 77, (1979).
14. KHAIRY, E.M. and KASEM, A., J.Pharm.Sci., 63, 1451-55, (1974).
15. SULTAN, S.M. Analyst (London) 111, 97, (1986).
16. SAHA, U., J.Assoc.Off.Anal.Chem., 70(410), 686, (1987).
17. VASELINOVIC, D. and JELIKIC-STANKOV, M. Pharmazie, 42(31), 199, (1987).
18. UDENFRIED, S.; DUGGAN, E.E.; VASTA, B.M.; BRODIE, B.B. J. Pharmacol.Exptl.Therap., 120, 26, (1957).
19. LEVINE, J.; GARLOCK, E.A., Jr. and FISCHBACH, H., J.Am.Pharm.Assoc.Sci.Ed., 38, 473, (1949).

20. CHICCARELLI, F.S.; VAN GIESON, P. and WOOLFORD, M.H.Jr. J. Am. Pharm.Assoc.Sci.Ed. 45, 418, (1956).
21. FELDMAN, D.H.; KELSEY, H.S. and CAVAGNOL, J.C. Anal.Chem. 29, 1697,(1957).
22. ASHTON, A.A. Anal.Chim.Acta, 35, 543, (1966).
23. HAYES Jr., J.E. and DU-BUY, J.G. Anal.Biochem., 7, 322, (1964).
24. KATZ, S.E. and SPOCK, J., J.Assoc.Offic.Agric.Chemists, 47, 1157, (1964).
25. *ibid*, p.1395.
26. KELLY, R.G.; PEETS, L.M. and HOYT, K.D. Anal.Biochem. 28, 222, (1969).
27. KORKINA,L.G.; SOROKOVOI, V.I. and VLADIMROV, Y.A. Stud.Biophys., 39(3), 177-92, (1973).
28. HIRSCHY, L.M.; DOSE, E.V.; WINEFORDNER, J.D., Anal.Chim.Acta, 147, 311-6, (1983).
29. HALLETT, M.; SCHENIDER, A.S. and CARBONE, E. J.Membrane Biol. 10(1), 31, (1972).
30. KELLY, R.G.; FLOYD, H.A. and HOYDT, D.K. Antimicrobiol.Agents Chemotherapy, 666, (1966).