

Neiva Deliberali Rosso¹
Regina Cristina A. de Lima²
Célia Regina Carubeli³
Egon Schnitzer⁴

**ESTUDOS DE EQUILÍBRIO,
ESPECTROSCÓPICOS E TÉRMICOS PARA
CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO FORMADO
ENTRE O ASPARTAME E O ÍON Cu(II)**

RESUMO: Estudos de equilíbrio, usando a titulação potenciométrica, do ligante N-L-a-aspartil-L-fenilalanina metil ester (aspartame) foram realizados com o objetivo de determinar as constantes de protonação do aspartame e as constantes de complexação com o íon Cu(II). Estes estudos foram conduzidos sob condições de força iônica constante, $m = 0,100 \text{ mol dm}^{-3}$ (KCl), em solução aquosa e a temperatura constante, $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$. A partir dos estudos de equilíbrio sintetizou-se o complexo, espécie ML_2 . Análises espectroscópicas e térmicas foram realizadas para verificar a interação e a estequiometria do complexo cobre(II)-aspartame. As constantes de estabilidade e os resultados das análises espectroscópicas e térmicas são relatados e discutidos.

PALAVRAS-CHAVE: Constantes; Complexos de Cobre(II); Aspartame.

SUMMARY: Equilibrium studies, using potentiometric titration of N-L-a-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester (aspartame), were conducted with the objective of determining the protonation constants of aspartame and complexation constants of formation with Cu(II). These studies were carried out under conditions of constant ionic force, $m = 0.10 \text{ mol/L}$ (KCl) in aqueous solution and at constant temperature, $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Spectroscopic and thermal analyses were carried out to confirm the interaction and the stoichiometry of Cu(II)-aspartame complex. The stability constants and the analyses' results are reported and discussed.

KEYWORDS: Constants; Copper complex; Aspartame.

Data de recebimento: 02/11/05. Data de aceite para publicação: 26/08/06.

¹ Doutora em Química Inorgânica. Professora Adjunta do Departamento de Química da Univ. Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Endereço eletrônico: ndrosso@uepg.br.

² Acadêmica do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

³ Doutora em Química Inorgânica. Professora Adjunta do Departamento de Química da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

⁴ Doutor em Química Analítica. Professor Associado do Departamento de Química da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

1. INTRODUÇÃO

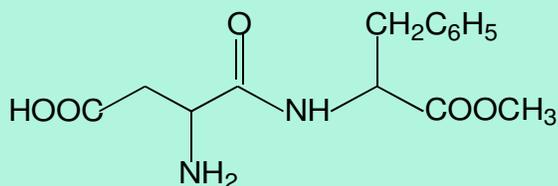
O dipeptídeo, N-L-a-aspartil-L-fenilalanina metil ester (aspartame), Estrutura 1, é um aminoácido sintético usado como adoçante de baixo valor calórico, sendo 200 vezes mais doce que a glucose (HALGAS, 1992). Sua estrutura apresenta sítios possíveis de coordenação, conforme mostra a Estrutura 1, podendo interagir com íons de metais de transição e lantanídeos, os quais podem formar diferentes espécies de complexos com o aspartame, dependendo do pH. O aspartame apresenta estabilidade limitada nos sistemas em solução aquosa, hidrolisa-se a valores de pH maiores de 9 e na presença de íons Zn(II) (TOUCHE, & WILLIAMS, 1976). Esse ligante existe em várias formas cristalinas (SUZUKI et al., 2000), contudo, essas formas apresentam diferenças na estabilidade e no grau de hidratação (MEGURO, et al., 2000). Estudos espectrofotométricos para determinar a presença de aspartame em adoçantes comerciais foram realizados por injeção em fluxo, em um reator em fase sólida que continha fosfato de zinco (II) imobilizado em resina de poliéster (PEREIRA, et al., 2000). Segundo DESIDERIO, ATURKI, & FANALI (1994), a separação de enantiômeros α -hidroxi ácidos pode ser realizada por eletroforese, usando-se complexos de Cu(II)-aspartame como seletivo quiral. Nessa pesquisa outros complexos de Cu(II)- α -aminoácidos foram utilizados para separação da mesma mistura de enantiômeros, porém os melhores resultados foram obtidos com o aspartame como ligante quiral.

O aspartame é metabolizado e digerido como qualquer outro dipeptídeo. As esterases intestinais hidrolisam o metiléster e logo as peptidases liberam os aminoácidos. Os produtos da hidrólise são utilizados pelo corpo da mesma maneira que quando derivados de outros alimentos, como carne, leite, frutas e vegetais em geral (SCHOR et al., 1993). Segundo BUTCHKO (2002), a ingestão dos produtos metabolizados do aspartame (L-fenilalanina, ácido aspártico e metanol), não deveria acarretar problemas à saúde, uma vez que, na alimentação normal, as quantidades destes três componentes são muito superiores. Por exemplo, um copo de leite desnatado contém 6 vezes mais fenilalanina e 13 vezes mais ácido aspártico, enquanto que um copo de suco de tomate contém 6 vezes mais metanol que um volume equivalente de bebida adoçado com 100% de aspartame. Além disso, a fenilalanina é um aminoácido essencial para o crescimento, manutenção e desenvolvimento da vida. Apenas indivíduos com uma

doença genética rara, a fenilcetonúria, devem ter uma dieta rigorosa restringindo o consumo de fenilalanina (ODACT et al., 2004).

Estudos potenciométricos realizados por Aihara, et al. (1992), para determinar a estequiometria e as constantes de estabilidade de formação dos complexos entre aspartame e Cu(II), em solução aquosa, revelaram a formação de duas espécies, a ML e ML₂. Estudos de equilíbrio (KHOLEIF, ANDEREGG, 1997), do aspartame e seus produtos de degradação com o íon Cu(II) informam que o ligante encontra-se coordenado ao íon metálico nas proporções de 1:1 e 2:1. Estudos espectroscópicos e térmicos (ÇAKIR et al., 2002) do complexo Cu(II)-aspartame sintetizado em pH 5 mostraram que o ligante encontra-se coordenado na estequiometria de 2 : 1. No entanto, nesse valor de pH o grupo amino, NH₂, encontra-se protonado. Portanto, este grupo não está livre para coordenar-se com o íon Cu(II).

O objetivo deste trabalho é determinar as constantes de protonação do ligante e as constantes de formação dos complexos entre aspartame e o íon Cu(II), bem como sintetizar o complexo aspartame com o íon Cu(II), no valor de pH em que o grupo amino, -NH₂, do ligante encontra-se totalmente livre, deprotonado, para coordenar-se ao íon metálico. Estudos de equilíbrio espectroscópicos e térmicos foram realizados para determinar as condições de formação do complexo, bem como a sua estabilidade.



ESTRUTURA 1

2. PARTE EXPERIMENTAL

As titulações potenciométricas foram realizadas em solução aquosa num pH-metro, com precisão de três casas decimais, Micronal B474, equipado com dois eletrodos, um de referência (Ag/AgCl) e o outro de medida, sensível aos íons hidrogênio, previamente calibrados segundo método de Martell & Motekaitis (1992). A atmosfera foi mantida inerte por um fluxo de argônio e a temperatura reacional de 25,0 ± 0,1

°C foi mantida constante com um banho termostático (Microquímica). A célula de titulação utilizada foi de vidro de parede dupla, com capacidade de 100 cm³, sob agitação suave e constante. Para calibração diária do sistema, foram utilizadas soluções aquosas de HCl, padronizada com valor próximo de pH = 2, de força iônica 0,100 mol dm⁻³ (KCl). A solução metálica foi preparada a partir do sal cloreto de cobre (II) dihidratado (CuCl₂·2H₂O, Vetec), e padronizada por titulação quantitativa com EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético, Sigma), segundo Schwarzenbach & Flaschka (1969). Amostras de aspartame, obtido da NutraSweet, 0,200 mmol, foram dissolvidas com água ultrapura e tituladas com uma solução de hidróxido de potássio, KOH, isento de dióxido de carbono e previamente padronizado. O sistema contendo ligante e metal foi estudado utilizando-se 0,200 mmol de ligante para 0,100 mmol de Cu (II). A força iônica foi mantida constante 0,100 mol dm⁻³ com cloreto de potássio p.a. (Reagen). Os dados potenciométricos foram tratados com o programa BEST7 e as curvas de distribuição das espécies desenhadas com o programa SPEPLOT. Os dois programas utilizados são de autoria de MARTELL & MOTEKAITIS (1992).

O complexo CuL₂, com estequiometria de um mol do íon metálico para dois mols de ligante, foi preparado pela reação de cloreto de cobre(II) dihidratado, CuCl₂·2H₂O, e aspartame. Pesou-se 0,042 g de CuCl₂·2H₂O (0,25 mmol) e solubilizou-se em 5 cm³ de água destilada e desionizada. Em seguida pesou-se 0,147 g aspartame (0,5 mmol) e solubilizou-se em 25 cm³ de água destilada e desionizada. As duas soluções foram misturadas e então se ajustou o pH para 7,7 com uma solução de KOH, isenta de CO₂, mantendo-se a mistura sob agitação por dez minutos. Deixou-se a solução resultante em repouso à temperatura ambiente e, após duas horas, observou-se a formação de cristais azuis. Filtrou-se a solução após 24 horas. Os cristais foram lavados com água destilada e gelada. Os cristais foram acondicionados em um dessecador para, na seqüência, caracterizá-los por análises de infravermelho e térmica.

As análises de espectroscopia de infravermelho foram realizadas com um equipamento FTIR – 8400, SHIMADZU, para verificar a complexação do ligante com o íon metálico. O estudo termoanalítico foi realizado, para determinar a estabilidade e a estequiometria do complexo sólido, num equipamento da TA Instruments modelo TSDT 2960. A razão de aquecimento utilizada foi de 20°C por minuto, em atmosfera dinâmica de ar sintético com razão de 50 cm³/min, usando-se como suporte de amostra a a-Al₂O₃.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira curva (Figura 1), refere-se ao aspartame isolado. Mostra duas regiões tamponadas na faixa de pH de 3 a 4 e pH de 7 a 8, evidenciando a presença de hidrogênios ionizáveis. A curva apresenta uma forte inflexão na região de pH de 4 a 7. Isto indica que não existem hidrogênios ionizáveis nessa faixa de pH. As duas reações de protonação ocorrem na região de pH 3 a 8, disponível para o cálculo das constantes de protonação. As constantes são definidas pela Equação 1 e estão listadas na Tabela 1, com os respectivos valores da literatura para comparação. A segunda curva de titulação (Figura 1), referente ao aspartame em presença de Cu(II), encontra-se distintamente abaixo da curva do aspartame isolado. Isso indica forte interação, a partir de pH 3,5, entre o ligante e o íon metálico. A curva finaliza próximo a p[H] 8, porque, a valores de p[H] superiores se observou que o aspartame é instável, como relatado na literatura por Touche & Williams (1976).

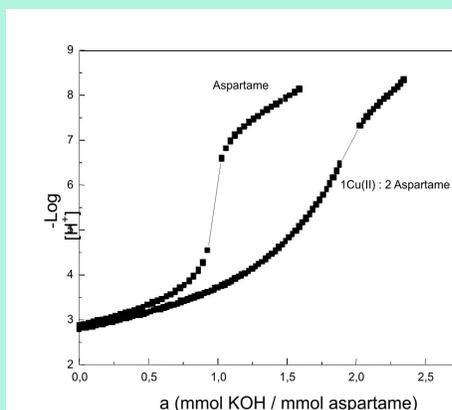
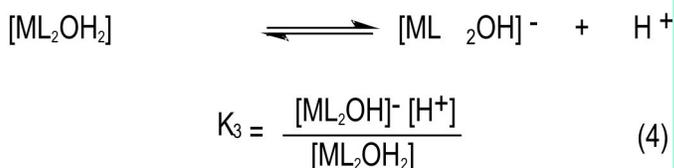
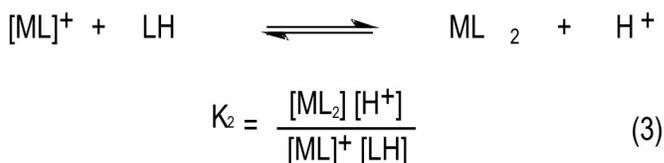
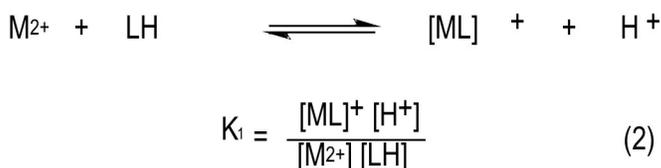
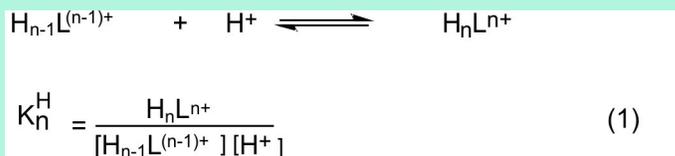


FIGURA 1 - Curvas de titulação potenciométrica para soluções contendo aspartame 0,2 mmol; aspartame 0,2 mmol e Cu(II) 0,1mmol sob condições anaeróbicas. $T = 25 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ e $m = 0,100 \text{ mol dm}^{-3}$ (KCl).

As constantes de protonação e de formação dos complexos, definidas pelas Equações 1 – 4, foram calculadas a partir dos dados potenciométricos e são mostradas na Tabela 1. Foram detectadas quatro espécies de complexos na região de [pH] estudado. A primeira espécie formou-se na proporção de um ligante para um íon Cu(II), a

segunda espécie corresponde a dois ligantes para um íon Cu(II) e as outras duas espécies também ocorrem nessa mesma proporção, porém, são espécies hidrolisadas.



Analisando a Estrutura 1 do aspartame, percebe-se que a primeira protonação com log de K 7,68 refere-se ao grupo amino, enquanto que a segunda protonação refere-se ao grupo carboxílico, com um log de K de 3,09.

TABELA 1 - Log das constantes de protonação e complexação do aspartame com o íon Cu(II) em solução aquosa a 25,00°C e m = 0,100 mol dm⁻³ (KCl)

Quociente de Equilíbrio	Log K	
$[HL] / [L][H]$	7,68 (3)	7,39 ^a
$[H_2L] / [HL][H]$	3,09 (2)	3,00 ^a
$[CuL] / [Cu][L]$	6,16	6,10 ^a
$[CuL_2] / [CuL][L]$	4,84	4,74 ^a
$[Cu L_2(OH)][H^+] / [CuL_2(OH_2)]$	-8,34	
$[Cu L_2(OH)_2][H^+] / [Cu L_2(OH)(OH_2)]$	-9,06	

^a Valores da literatura (ÇAKIR et al., 2002)

A Figura 2 mostra as curvas de distribuição das espécies do aspartame. A espécie L predomina a pH acima de 9,0 e indica que o ligante encontra-se totalmente deprotonado a [pH] = 10,5. Já a espécie HL encontra-se 99,2 % formada a [pH] = 5,4, enquanto a espécie H₂L atinge um máximo de formação de 92,3 % a [pH] = 2,0.

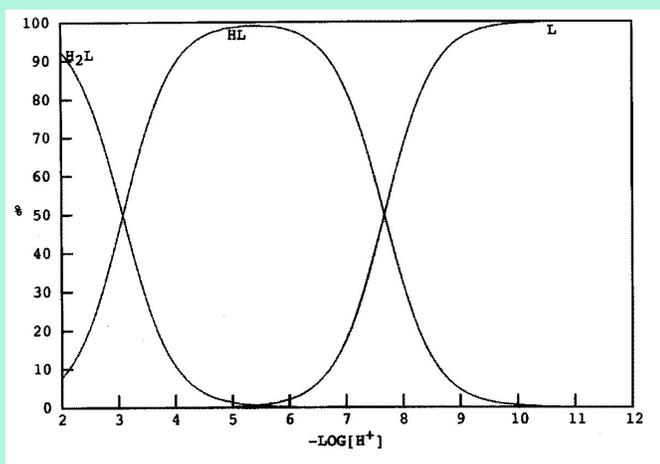


FIGURA 2 - Curvas de distribuição das espécies contendo aspartame, sob condições anaeróbicas em função do [pH]. L é o ligante completamente deprotonado, HL e H₂L são as formas mono e diprotonada do aspartame, respectivamente.

O diagrama de distribuição das espécies (Figura 3) mostra que a espécie ML atinge um máximo de formação de 69,6 % a p[H] 4,9. Essa concentração decresce a valores de p[H] mais elevados, enquanto a proporção da espécie ML_2 aumenta até atingir um máximo de formação de 81,5 % a p[H] 7,2. As espécies $MH_{-1}L_2$ e $MH_{-2}L_2$ são as formas hidrolisadas do complexo ML_2 e encontram-se formadas a valores de p[H] mais elevados.

Estudos espectroscópicos na região do Uv-Vis de uma solução 2×10^{-4} mol dm^{-3} de ligante e 1×10^{-4} mol dm^{-3} do íon Cu(II) (Figura 04) revelam uma banda de transferência de carga do ligante para o metal, com um máximo de absorção em 250 nm. À medida que o ligante se torna deprotonado, a intensidade dessa banda tende a aumentar devido à interação do aspartame com o íon Cu(II). A Figura 5 mostra o espectro Uv-Vis de uma solução 2×10^{-3} mol dm^{-3} de aspartame em presença do íon Cu(II) 1×10^{-3} mol dm^{-3} , a diferentes valores de pH (conforme a Figura 3), curvas de distribuição das espécies. No espectro da Figura 5, observa-se uma banda em 620 nm, que corresponde à transição do tipo d-d no complexo. A intensidade dessa banda aumenta com o aumento do pH.

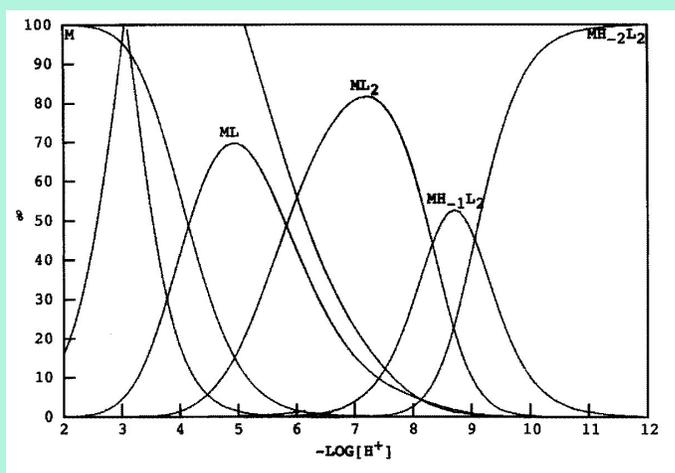


FIGURA 3 - Diagrama de distribuição das espécies em função do p[H], para o sistema contendo aspartame 1×10^{-3} mol dm^{-3} e Cu(II) $0,5 \times 10^{-3}$ mol dm^{-3} . A espécie ML é o complexo com um ligante coordenado a um Cu(II), a espécie ML_2 corresponde a dois ligantes para um íon Cu(II) e $MH_{-1}L_2$ e $MH_{-2}L_2$ são as formas hidrolisadas do complexo ML_2 .

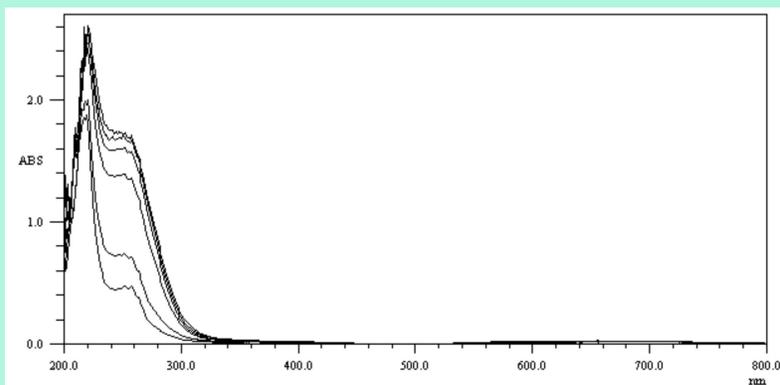


FIGURA 4 - Espectro Uv-Vis de uma solução contendo $2 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ de aspártame e $1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ de Cu(II), o pH da primeira curva de menor absorvância igual a 4,24 e das subseqüentes 4,80; 6,12; 6,67; 7,02 e 7,53.

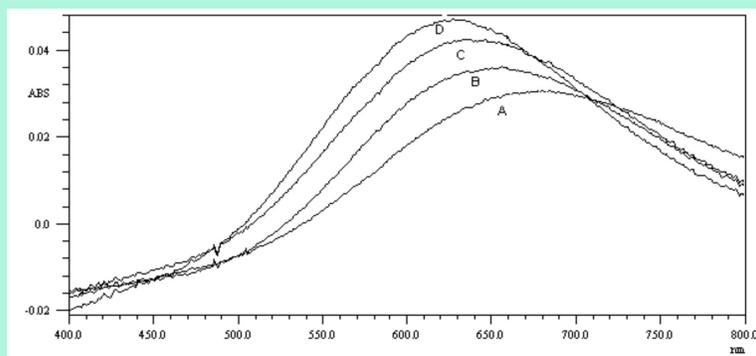


FIGURA 5 - Espectro Uv-Vis de uma solução $2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ de aspártame e $1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ de Cu(II) em solução aquosa e diferentes valores de pH. Curva A pH = 6,25; curva B pH = 7,40; curva C pH = 7,84 e curva D pH = 8,34.

A Figura 6 mostra o espectro de infravermelho de uma amostra de ligante e de uma amostra do complexo. Estes espectros possibilitam analisar alguns aspectos da ligação formada entre o íon Cu(II) e o aspártame. A primeira delas é que a coordenação entre o grupo carboxilato e o íon metálico deve ter ocorrido na forma bidentada, visto que o ν_{as} e o ν_{s} deste grupo migraram para freqüências levemente mais altas no espectro do complexo, com profundas alterações quando

comparadas às suas formas originais. As deformações características deste grupo em 669 cm^{-1} (w_{CO_2}) e 628 cm^{-1} (\tilde{n}_{CO_2}) no ligante livre desapareceram no espectro do complexo, confirmando a coordenação do carboxilato ao metal. Outras alterações foram observadas nas bandas que correspondem às vibrações dos grupos amino e amida do ligante. As vibrações destes grupos correspondem à ligação N-H e, portanto, ocorre em posições espectrais bastante próximas, o que dificulta a atribuição delas. Entretanto a banda presente no espectro do ligante em 3334 cm^{-1} pode ser atribuída especificamente ao $\nu_{\text{N-H}}$ do grupo amida, sendo que esta desapareceu no espectro do complexo. Outra banda específica do grupo amida que sofreu alteração no espectro do complexo foi aquela presente na região levemente abaixo de 1600 cm^{-1} , a qual é acompanhada, em amidas secundárias, por uma banda fraca na região de 1300 cm^{-1} , sendo ambas atribuídas a um modo de deformação da amida II ($\tilde{a}_{\text{N-H}}$), segundo Bellamy (1975). Estas bandas surgem no espectro do aspartame em $1550,7\text{ cm}^{-1}$ e $1261,2\text{ cm}^{-1}$, sendo que a primeira sofre, no espectro do complexo, uma redução drástica em sua intensidade, enquanto que a segunda desaparece do espectro. Essas modificações observadas sugerem uma possível coordenação do nitrogênio amídico ao íon Cu(II) . As vibrações do grupo amino, como mencionado, ocorrem nas mesmas regiões das bandas características das vibrações da amida (II). Como estas bandas sofreram fortes modificações e o complexo foi sintetizado em pH onde o grupo amino está deprotonado, existe a possibilidade de coordenação deste grupo ao íon Cu(II) . É importante ressaltar que, pela conformação espacial da molécula de aspartame, não são possíveis a coordenação simultânea do grupo amida e amino, porém ambos podem ser um segundo sítio de coordenação do íon metálico.

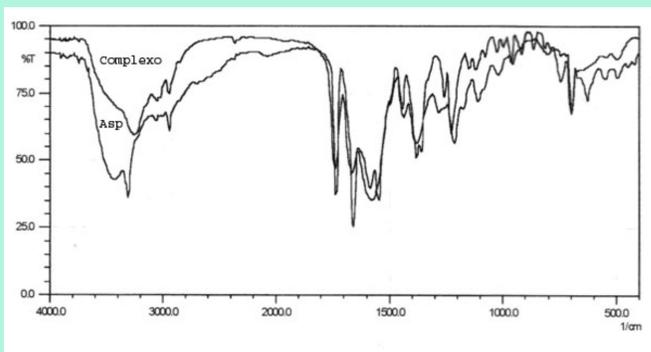


FIGURA 6 - Espectro de infravermelho do aspartame e do complexo ML_2 , com pastilha de KBr a temperatura ambiente.

A análise térmica de uma amostra de aspartame (Figura 7) mostra que o mesmo sofre uma perda de massa em duas reações consecutivas, sendo a primeira da temperatura ambiente até 95°C com perda de 3,2% e a segunda de 96 a 147°C com perda de 2,0%, ambas correspondentes a um mol de água de hidratação. De 148 a 212°C ocorreu uma perda de 11,5% da massa, correspondente a um mol de metanol e com formação do produto 3-carboximetil-6-benzil-2,5-dioxipiperazina. De 213 a 456°C há uma perda grande de 52% da massa e formação de um resíduo carbonizado, e de 457 a 640°C sofre uma nova decomposição (combustão) até formação de 0,02% de cinzas.

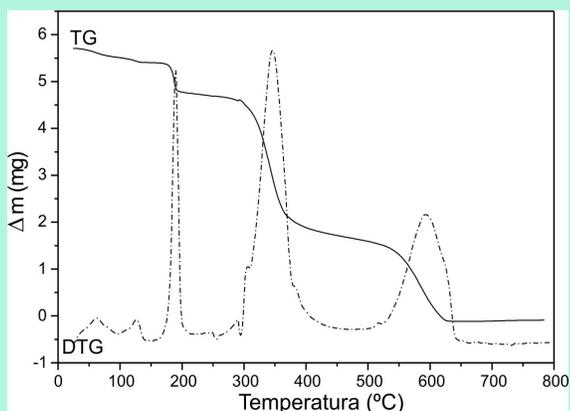
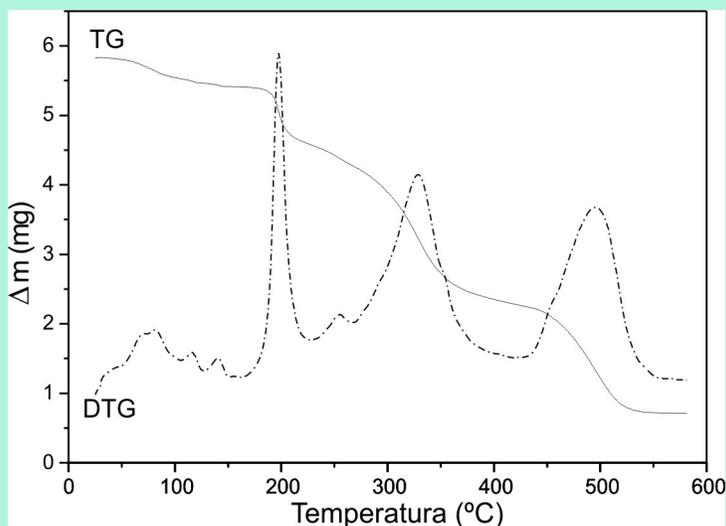


FIGURA 7 - Curvas TG e DTG do aspartame, obtidas simultaneamente em atmosfera dinâmica de ar sintético com vazão de 50 cm³/min; razão de aquecimento de 20°C/min da temperatura ambiente até 800°C; suporte de α -Al₂O₃; massa da amostra = 5,704 mg.

A Figura 8 mostra a curva termogravimétrica, TG, do complexo. Observa-se que a primeira perda de massa ocorre entre 50 e 122°C, na decomposição do complexo, o que corresponde a duas moléculas de água de hidratação. Os passos subsequentes da decomposição térmica do complexo são relativos à perda de massa do ligante. O produto final, um resíduo preto, é óxido de cobre (II). A Tabela 2 mostra as perdas de massa teórica e experimental, massa residual e regiões de temperatura da decomposição térmica do complexo.

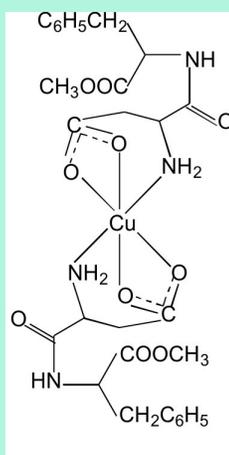
TABELA 2 - Perdas de massa calculadas e experimentais e massa residual obtidas da decomposição térmica do complexo ML_2

Perda de Grupos ou Moléculas	Δm (mg)	% em massa		Região de Temperatura (°C)
		Calculada	Experimental	
Duas H_2O de hidratação	0,357	5,56	6,12	50-122
Dois grupos H_3CO e NH_2	0,889	14,52	15,25	123-227
Dois grupos C_9H_8O	2,240	39,70	38,43	228-403
Dois grupos $C_4H_4NO_2$	1,620	28,26	27,94	404-563
Resíduo final de CuO	0,715	11,96	12,26	564

FIGURA 8 - Curvas TG e DTG da amostra do complexo ML_2 obtidas simultaneamente em atmosfera dinâmica de ar sintético com vazão de $50 \text{ cm}^3/\text{min}$; razão de aquecimento de $20^\circ\text{C}/\text{min}$ da temperatura ambiente até 600°C ; suporte de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$; massa = 5,828 mg.

A partir dos resultados obtidos através dos estudos de equilíbrio, espectroscópicos e térmicos, propõe-se uma possível estrutura para a espécie ML_2 , Estrutura 2. Esta representação mostra como as duas moléculas de aspartame poderiam estar coordenadas ao íon $Cu(II)$,

através dos grupos carboxilato e amino, visto que a síntese do complexo foi realizada em pH 7,7, conforme os dados de equilíbrio. Neste valor, tanto o grupo carboxilato como o grupo amino encontram-se totalmente deprotonados, portanto, livres para coordenar-se ao íon Cu(II). Sugere-se, então, que a coordenação do aspartame com o íon Cu(II) ocorra através do grupo carboxilato e amino. Assim, forma-se um complexo que apresenta anéis estáveis de seis membros. Essa observação encontra-se em concordância com estudos publicados por MARTTELL E HANCOCK, (1996).



ESTRUTURA 2 (ML_2)

4. CONCLUSÃO

A partir dos estudos de equilíbrio, conclui-se que o aspartame encontra-se coordenado em proporções estequiométricas diferentes, dependendo do pH. Espécies com uma molécula de ligante para um íon metálico e duas moléculas de aspartame para um íon metálico foram identificadas, bem como duas espécies hidrolisadas. As análises espectroscópicas obtidas evidenciaram a complexação do aspartame com o íon Cu(II). Considerando-se que a síntese do complexo foi realizada no valor de pH em que o grupo amino encontra-se desprotonado e associada à informação do espectro de infravermelho, pode-se concluir que a coordenação do aspartame ocorreu através dos grupos carboxilato e amino, visto que o complexo resultante forma um anel estável com

seis membros quando esses dois sítios se coordenam ao metal. Os resultados obtidos por análise térmica evidenciam a complexação do aspartame com o íon cobre(II) na proporção de dois mols ligante para um mol de metal, espécie ML_2 , formada em pH 7,7.

5. REFERÊNCIAS

- AIHARA, M. [et al]. *Analytical Sciences*. 1992, vol. 8 p. 755-759.
- BELLAMY, L. J. *The Infra-red spectra of complex molecules*. 3. ed. London: Chapman & Hall, 1975.
- BUTCHKO, H. H. et al. *Aspartame: Review of Safety. Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2002, v. 35, p. S1-S93.
- ÇAKIR, S. [et al]. *Journal of Molecular Structure*. 2002, v. 608, p.101-107.
- DESIDERIO, C.; ATURKI, Z; FANALI, S. *Electrophoresis*, 1994, v. 15, p. 864-869.
- HALGAS, J. *Biocatalysts in organic synthesis*. Amsterdam: Elsevier, 1992.
- KHOLEIF, S.; ANDEREGG, G. *Inorganica Chimica Acta*, 1997, v. 257, p. 225-230.
- MARTELL, A. E.; E HANCOCK, R. D. *Metal complexes in aqueous solutions*. New York Plenum Press, 1996, p. 77-82.
- MARTELL, A. E. and MOTOKAITIS, R. J. *The determination and use of stability constants*. 2. ed. New York: VCH Publishers, 1992.
- MEGURO, T.; KASHIWAGI, T; SATOW, Y., J. *Peptides Res.*, 2000, v. 56, p. 97-104.
- ODACT, D.; TIMUR, S.; TELEFONEU, A. *Food Chemistry*, v. 84, p. 493-496, 2004.
- PEREIRA, A. V.; JUNIOR, L. H. M. e FILHO, O. F. *Quim. Nova*, 2000, v. 23 (2), p. 167-172.
- SCHOR, I.; MAZZEI, E.; SUDERA, O. A. *Atualização clínica [s.l:s.n.]*, 1993.
- SCHWARZENBACH, G.; AND FLASCHKA, H. *Complexometric titration*. London: Methuen & CO, 1969.
- SUZUKI, E. et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 2000, v. 48(5), p. 708-715.
- TOUCHE, M. L. D. and WILLIAMS, D. R. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 1976, v. 1, 2001.

Sistema de Acesso à Biblioteca Eletrônica de Revistas
www.unioeste.br/saber