

USO DE REDES NEURAIIS RECORRENTES NA DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE ACIDEZ PARA A 7-EPICLUSIANONA EM MISTURAS ETANOL-ÁGUA

Éderson D' Martin Costa e Nelson Henrique Teixeira Lemes*

Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, 37130-000 Alfenas - MG, Brasil

Marcelo Henrique dos Santos

Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, 37130-000 Alfenas - MG, Brasil

João Pedro Braga

Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte - MG, Brasil

Recebido em 14/2/11; aceito em 15/6/11; publicado na web em 5/8/11

USE OF RECURRENT NEURAL NETWORKS FOR DETERMINATION OF 7-EPICLUSIANONE ACIDITY CONSTANTS IN ETHANOL-WATER MIXTURES. This work propose a recursive neural network to solve inverse equilibrium problem. The acidity constants of 7-epiclusianone in ethanol-water binary mixtures were determined from multiwavelength spectrophotometric data. A linear relationship between acidity constants and the %w/v of ethanol in the solvent mixture was observed. The proposed method efficiency is compared with the Simplex method, commonly used in nonlinear optimization techniques. The neural network method is simple, numerically stable and has a broad range of applicability.

Keywords: inverse problem; acidity constants; dynamical optimization.

INTRODUÇÃO

A constante de equilíbrio de um ácido ou base é um parâmetro importante para indicar a extensão de ionização em diferentes condições de pH, com grande importância em muitos processos analíticos, tais como, volumetria de neutralização, cromatografia e extração por solventes.¹ No meio biológico a constante de equilíbrio influencia no efeito tóxico² e na atividade farmacológica³ de sistemas ácido-base. Grande parte da fundamentação teórica da Química Orgânica moderna é baseada nos efeitos da estrutura molecular no equilíbrio ácido-base.⁴

Dados obtidos a partir de espectros de absorção UV-Vis em diferentes valores de pH, em um processo conhecido por titulação espectrofotométrica, são frequentemente usados na determinação das constantes de ionização de ácidos e bases orgânicas.

Ghasemi e colaboradores⁵ apresentaram um algoritmo iterativo eficiente para a determinação das constantes de ácidos polipróticos a partir desses dados. Caminho semelhante foi usado na inversão de constantes de velocidade em modelos cinéticos por Bijlsma e colaboradores.⁶ Este procedimento lida diretamente com todo espectro de absorção e envolve, em uma das etapas, a minimização de uma função resíduo em relação às constantes de equilíbrio. O método mostrou-se superior aos programas SQUAD,^{7,8} SPECFIT 3.2,^{9,10} e DATAN 2.1;¹¹ no entanto, Ghasemi cita a necessidade de novos testes para generalizar a eficiência do método.

Os algoritmos testados por Ghasemi⁵ apresentam modificações em relação ao método de otimização, na definição da função resíduo e na forma que os dados são projetados numa base menor e representativa. Nos programas SQUAD, STAR¹² e SPECFIT 3.2, métodos não lineares como Simplex,¹³ Gauss Newton¹⁴ e o algoritmo de Levenberg-Marquardt^{15,16} foram utilizados para minimizar a função resíduo. Atualmente, esses pacotes têm sido usados na recuperação

de constantes de dissociação de compostos com atividade farmacológica comprovada.¹⁷⁻¹⁹

Em 2007, um algoritmo geral, baseado em modelos de redes neurais recorrentes,²⁰⁻²² com a finalidade de resolver problemas dessa natureza foi apresentado.²³ Nesse trabalho algumas aplicações são discutidas, como a inversão das constantes de velocidade em problemas de cinética química²⁴ e a recuperação das constantes de força a partir de dados de espectroscopia vibracional.²⁵ O algoritmo mostrou-se versátil, robusto e preciso na resolução desses problemas e, em alguns casos, superou os resultados encontrados pelo método Simplex e o algoritmo de Levenberg-Marquardt. Trabalhos recentes mostram a eficiência desse método na resolução de problemas inversos em diferentes áreas.^{26,27}

No presente trabalho, utilizou-se esse modelo generalizado de rede neural recorrente na determinação das constantes de ionização de um composto orgânico natural, a partir de dados de espectros de absorção UV-Vis em diferentes valores de pH. Este método não linear ainda não foi explorado na resolução de problemas inversos em equilíbrio químico.

O composto estudado é a benzofenona natural tetraprenilada, 7-epiclusianona, que pode ser isolada de plantas do gênero *Rheedia*, família *Guttiferae*.²⁸ Esta molécula tem apresentado várias atividades biológicas, como propriedades anti-HIV,²⁹ atividades contra tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi in vitro*,³⁰ efeitos vasodilatadores em anéis aórticos de ratos,³¹ propriedades antianafiláticas,³² leishmanicidas³³ e antimicrobianas.³⁴ A clara compreensão do comportamento biológico e físico-químico passa pela avaliação de sua constante de ionização.³

A molécula apresenta baixa solubilidade em água, impossibilitando a obtenção da constante de acidez wK_a por métodos diretos. Quando uma substância é praticamente insolúvel, sua constante de dissociação em água pura pode ser obtida por extrapolação de determinações efetuadas em misturas binárias com solventes orgânicos.^{35,36} Neste trabalho determinaram-se, pela primeira vez, as constantes para 7-epiclusianona em misturas binárias etanol-água a partir de dados espectrofotométricos.

*e-mail: nelson.lemes@unifal-mg.edu.br

TEORIA

Método iterativo

O método descrito por Ghasemi⁵ é baseado na minimização de uma função custo, definida por

$$R = \frac{1}{2} \sum_{j,l} e_{jl}^2 = \frac{1}{2} \sum_{j,l} (A_{jl}^{cal} - A_{jl})^2, \quad (1)$$

em relação às constantes de equilíbrio termodinâmico, com a restrição $\mathbf{A} = \mathbf{C}\mathbf{P}^T$. Na Equação 1, A_{jl}^{cal} representa a absorvância calculada para o j -ésimo valor de pH e o l -ésimo comprimento de onda. As quantidades A_{jl} são os respectivos valores experimentais.

As constantes de equilíbrio e as concentrações iniciais das espécies envolvidas determinam a direção em que a reação passa a ocorrer e a composição final da mistura no equilíbrio.³⁷ Portanto, com o conhecimento de um valor aproximado das constantes de equilíbrio, a matriz \mathbf{C} é determinada. A matriz \mathbf{C} contém a concentração das M espécies em equilíbrio, em J valores diferentes de pH.

Obtendo-se os espectros UV-Vis da solução, para uma faixa de pH, tem-se a matriz absorvância \mathbf{A} . A matriz \mathbf{A} contém numa coluna a absorvância para L comprimentos de onda e pH fixo. Uma linha de \mathbf{A} apresenta a absorvância para vários valores de pH e comprimento de onda fixo.

Assumindo a lei de Beer-Lambert,¹ $\mathbf{A} = \mathbf{C}\mathbf{P}^T$, a matriz contendo os espectros puros pode ser determinada por

$$\mathbf{P}^T = (\mathbf{C}^T\mathbf{C})^{-1}\mathbf{C}\mathbf{A}, \quad (2)$$

em que $(\mathbf{C}^T\mathbf{C})^{-1}\mathbf{C}^T$ representa a inversa generalizada da matriz \mathbf{C} e \mathbf{P}^T contém os espectros puros das espécies no equilíbrio.³⁸ Neste caso, o espectro de absorvância total é decomposto nos espectros puros das espécies no equilíbrio.

A reconstrução do espectro de absorvância da mistura é obtida por

$$\mathbf{A}^{cal} = \mathbf{C}\mathbf{P}^T \quad (3)$$

Estas etapas são repetidas até se encontrar valores para as constantes de equilíbrio que minimizem a diferença entre o espectro experimental e calculado. Na busca sistemática das constantes ótimas podem ser utilizados diferentes métodos, como redes neurais recorrentes.

Análise da componente principal

A análise da componente principal permite colocar os dados experimentais numa base representativa, reduzindo a dimensão do problema e minimizando os efeitos dos erros experimentais.³⁹

A decomposição em valor singular¹⁴ pode ser usada para encontrar uma base adequada. Transforma-se \mathbf{A} no produto $\mathbf{U}\mathbf{\Sigma}\mathbf{V}^T$, em que \mathbf{U} e \mathbf{V} são matrizes ortonormais e $\mathbf{\Sigma}$ uma matriz diagonal. Os elementos da diagonal da matriz $\mathbf{\Sigma}$ são chamados de valores singulares e as colunas das matrizes \mathbf{U} e \mathbf{V} são chamadas de vetores singulares. Os vetores singulares são representados por \mathbf{u}_i e \mathbf{v}_i , e os valores singulares por σ_i . O conjunto de valores singulares, em ordem decrescente, é chamado de espectro de valores singulares.

O espectro de valores singulares decai a zero. Para um sistema bem determinado e de posto completo existe uma queda acentuada para zero, em $i=k$, valor denominado posto da matriz. Para um sistema mal determinado não existe uma mudança característica no espectro de valores singulares e o posto da matriz corresponde ao número de componentes da base que contribuem significativamente para o valor de \mathbf{A} ,

$$\mathbf{A} = \sum_i^k \mathbf{t}_i \mathbf{v}_i^T + \mathbf{E}' = \mathbf{A}^{(k)} + \mathbf{E}', \quad (4)$$

em que $\mathbf{T} = \mathbf{U}\mathbf{\Sigma}$ e \mathbf{E}' representa o erro cometido ao desprezar os termos $k+1 \leq i \leq L$. As matrizes \mathbf{T} e \mathbf{V}^T não estão diretamente relacionadas com as matrizes \mathbf{C} e \mathbf{P}^T . Introduzindo a matriz \mathbf{Y} , tal que $\mathbf{A} = \mathbf{C}\mathbf{P}^T = \mathbf{C}(\mathbf{Y}\mathbf{Y}^{-1})\mathbf{P}^T = (\mathbf{C}\mathbf{Y})(\mathbf{Y}^{-1}\mathbf{P}^T) = \mathbf{T}\mathbf{V}^T$, tem-se $\mathbf{T} = \mathbf{C}\mathbf{Y}$ e $\mathbf{V}^T = \mathbf{Y}^{-1}\mathbf{P}^T$.

Usando a análise da componente principal o algoritmo iterativo apresentado deve ser modificado. Inicialmente, com o conhecimento de um valor aproximado das constantes de equilíbrio, a matriz \mathbf{C} pode ser calculada. A matriz \mathbf{Y} é definida por $\mathbf{Y} = (\mathbf{C}^T\mathbf{C})^{-1}\mathbf{C}^T\mathbf{T}$. Estas etapas são repetidas até se encontrar valores para as constantes de equilíbrio que minimizem o resíduo R , definido por

$$R = \frac{1}{2} \sum_{j,l} e_{jl}^2 = \frac{1}{2} \sum_{j,l} ((\mathbf{C}\mathbf{Y})_{jl} - T_{jl})^2. \quad (5)$$

Finalmente, os espectros puros são dados por $\mathbf{P}^T = \mathbf{Y}\mathbf{V}^T$.

Este procedimento aumenta a eficiência do algoritmo. A matriz \mathbf{T} contém $k \times L$ elementos, um número menor que a matriz completa \mathbf{A} , de dimensão $J \times L$.

Redes neurais artificiais

Neste trabalho utilizou-se um modelo generalizado de Hopfield,²³ acoplado ao método iterativo⁵ na determinação das constantes de ionização de um ácido orgânico natural.

As redes neurais artificiais são técnicas computacionais inspiradas na estrutura neuronal. Neste trabalho foi implementada uma rede de z neurônios em uma única camada, com uma função de ativação não linear q , em que o estado do neurônio i no tempo τ é representado por uma variável contínua $u_i(\tau)$. No instante inicial, o estado do neurônio é definido por $u_i = q(K_{ai})$ para um valor aproximado da constante K_{ai} . O estado dos neurônios é atualizado ao longo do tempo e a constante determinada pela expressão $K_{ai} = q^{-1}(u_i)$. A dinâmica da rede é descrita pelo sistema de equações diferenciais acopladas

$$\frac{du_i}{d\tau} = -\frac{\partial R}{\partial K_{a_i}} = -\sum_{j,l} e_{jl} \frac{\partial A_{jl}^{cal}}{\partial K_{a_i}}, \quad \text{para } 1 \leq i \leq z. \quad (6)$$

Neste modelo, o estado do neurônio i , no tempo $\tau + d\tau$, depende do estado de todos os neurônios no tempo τ . A Equação 6 pode ser considerada uma generalização do modelo de Hopfield.²⁰⁻²²

A função de ativação q pode ser apropriadamente escolhida para garantir que a rede sempre caminhe para um estado de menor resíduo, $dR/d\tau < 0$. Derivando a função resíduo (Equação 1), em relação ao tempo, tem-se

$$\frac{dR}{d\tau} = \sum_i \sum_{j,l} e_{jl} \frac{\partial A_{jl}^{cal}}{\partial K_{a_i}} \frac{dK_{a_i}}{du_i} \frac{du_i}{d\tau} = -\sum_i \left\{ \frac{dK_{a_i}}{du_i} \left(\frac{du_i}{d\tau} \right)^2 \right\}. \quad (7)$$

Como $(du_i/d\tau)^2 > 0$ e $dR/d\tau < 0$, conclui-se que $dK_{a_i}/du_i > 0$. Neste caso, uma escolha apropriada seria

$$K_{a_i} = q^{-1}(u_i) = \tanh(u_i), \quad (8)$$

para a qual $dK_{a_i}/du_i = \text{sec}^2(u_i) > 0$.

PARTE EXPERIMENTAL

A 7-epiclusianona foi obtida de *Garcinia brasiliensis*, conforme metodologia descrita por Derogis e colaboradores.⁴⁰ A partir do epicarpo dos frutos, previamente secos e pulverizados, procedeu-se à

extração em soxhlet com n-hexano por 24 h. O extrato foi concentrado sob pressão reduzida para se obter o extrato hexânico do epicarpo.^{28,40} O extrato foi cromatografado em coluna de sílica gel (230-400 mesh) utilizando eluentes com misturas de polaridades crescentes de n-hexano/acetato de etila e acetato de etila/etanol. As frações foram agrupadas conforme similitude na cromatografia de camada delgada. A 7-epiclusianona foi identificada pelo uso de padrões e por várias técnicas espectrométricas (IV, UV, EM e RMN).

A partir de soluções estoque de 7-epiclusianona $4,66 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em etanol e NaCl 0,100 mol L⁻¹ em água, preparou-se 50,0 mL das soluções a serem tituladas nas respectivas composições 40,0; 45,0; 50,0; 55,0 e 60,0% etanol (m/v), com concentração final de 7-epiclusianona $4,66 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e NaCl 0,0100 mol L⁻¹.

Utilizou-se um espectrofotômetro duplo feixe UV/Vis, Shimadzu, modelo UV-2550 equipado com controlador de temperatura, Shimadzu, TCC-240A, cubetas de quartzo de caminho óptico 1,0 cm, potenciômetro Metrohm, 827 pH lab, acoplado a um eletrodo de vidro com eletrodo de referência interna Ag/AgCl.

O pHmetro foi calibrado com tampões aquosos, para as leituras efetuadas nas misturas binárias, portanto obtém-se o pH da mistura (s) na escala aquosa (w), representado por s_pH . Consequentemente, os valores de pK_a são obtidos na escala aquosa s_pK_a .⁴¹⁻⁴³

Os espectros de absorção UV-Vis, em misturas binárias etanol-água, foram obtidos para valores de s_pH entre 3 e 12 à 25,0 °C. Para as variações no s_pH utilizaram-se soluções de HCl e NaOH, nas concentrações de 1,0 e 0,1 mol L⁻¹. O s_pH foi reduzido até não haver mudanças significativas no espectro de varredura, em seguida coletaram-se os espectros com o aumento do s_pH , usando o mesmo critério.

A inversão da constante de equilíbrio é feita utilizando o método iterativo, Equações 2 e 3, na minimização por rede, Equação 6, do funcional R , Equação 5. A análise da componente principal, Equação 4, é usada no cálculo de R . Os programas foram desenvolvidos pelos autores utilizando o ambiente de programação vetorial MatLab®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a matriz A para solução de composição 40,0% etanol (m/v); abaixo desse percentual a 7-epiclusianona apresenta baixa solubilidade. Com o aumento do s_pH observa-se o aumento da absorbância em regiões abaixo de 299 nm, devido ao aumento da quantidade da espécie ionizada na mistura. A espécie ionizada apresenta maiores absorvidades molares que a espécie não ionizada nessa região. Em regiões acima de 299 nm observa-se

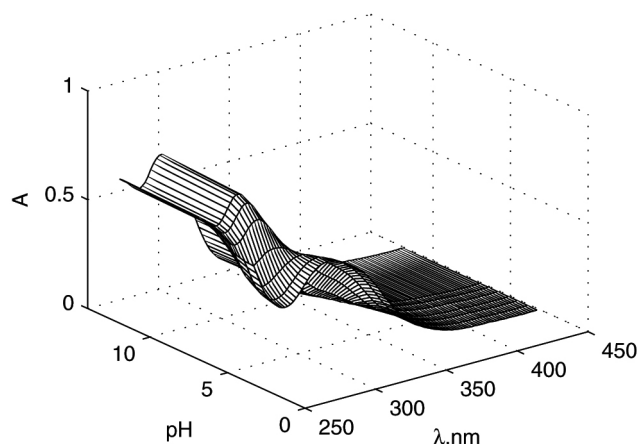


Figura 1. Espectros experimentais, 7-epiclusianona $4,66 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, NaCl 0,01 mol L⁻¹, 25,0 °C, 40,0% EtOH (m/v)

o decréscimo da absorbância com o aumento do s_pH , devido à diferença de absorvidade das duas espécies nesta região. Para todas as composições etanol-água observa-se um ponto isobéstico próximo de 299 nm e aproximadamente os mesmos espectros puros.

O método iterativo utiliza como conhecimento *a priori* o número de hidrogênios ionizáveis, para que se possam determinar as equações que levam à matriz C . No caso da molécula de 7-epiclusianona uma simples inspeção da sua estrutura (Figura 2) é suficiente para inferir a quantidade de hidrogênios ionizáveis, no entanto, para o caso geral pode-se obter esta variável a partir da decomposição em valor singular da matriz A .

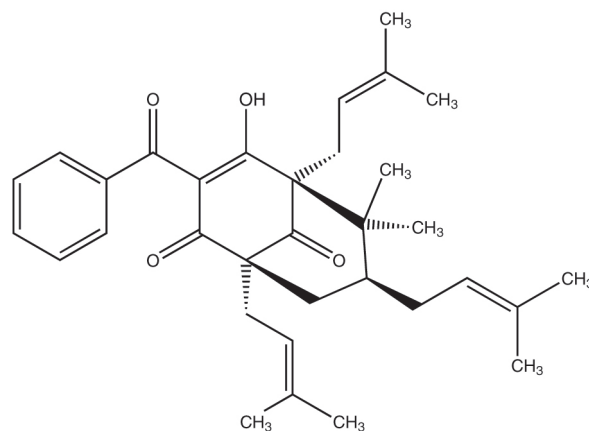


Figura 2. Estrutura química para 7-epiclusianona

Se z é o número de hidrogênios ionizáveis, existem $z + 1$ componentes no equilíbrio. Em situações em que não há desvio da lei de Beer-Lambert, a matriz A pode ser expressa como uma combinação linear dos espectros puros. Da mesma forma, os vetores colunas da matriz C podem representar uma base completa, $\mathbf{a} = p_1\mathbf{c}_1 + p_2\mathbf{c}_2 + p_3\mathbf{c}_3 + \dots$, com apenas M vetores. Logo, o posto da matriz A menos um é igual ao número de constantes que há para determinar.

A primeira etapa do tratamento de dados envolve a escolha de uma base apropriada, usando a decomposição em valor singular da matriz absorbância. O espectro de valores singulares desta matriz é apresentado na Figura 3, para o teor de 40,0% etanol (m/v). O espectro não mostra nenhum salto acentuado para o valor zero, deixando o problema mal determinado, no entanto, com uma queda mais significativa entre o segundo e terceiro valor singular, $\sigma_2/\sigma_3 = 94,65$.

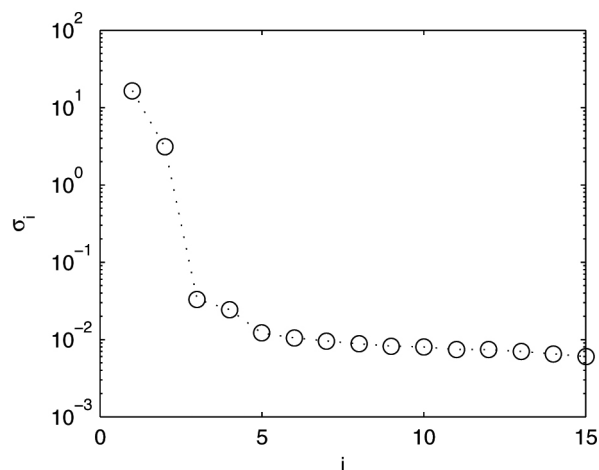


Figura 3. Espectro de valores singulares da matriz A , dimensão 201 x 15

A variância cumulativa para os dois primeiros componentes é de 99,25%. A existência de 2 vetores significantes na base v^J é suportado pelo ponto isobéptico próximo de 299 nm, característico de duas espécies que se interconvertem sem a formação de intermediários.⁴⁴

O método de Runge-Kutta¹⁴ de quarta ordem com passo fixo foi usado na integração das equações acopladas (Equação 6), que descrevem a evolução dos estados dos neurônios na rede. Um valor inicial para o estado $u_i(\tau_0)$ do neurônio i é definido pelo operador $q^{-1}(pK_a(\tau_0))$. O $pK_a(\tau_0)$ representa uma estimativa inicial, neste caso avaliada em 7, com resíduo R igual a 2,9763. Outras estimativas iniciais convergiram para o mesmo resultado com R^* inferior a 10^{-2} . O passo de integração, 10^{-3} , é escolhido para garantir a convergência e rapidez do método. A função de ativação foi definida de forma que a constante assumisse valores no intervalo de 0 a 14, $pK_a(\tau) = 7\{1 + \tanh[u_i(\tau)]\}$. Isto restringe o espaço de solução e aumenta a eficiência do algoritmo.

A derivada do resíduo em relação à constante, $\partial R/\partial pK_a$, foi determinada numericamente via polinômio interpolador de grau 3.¹⁴ A função R foi definida pela Equação 5. Neste caso, a rede foi acoplada ao método de análise da componente principal, através da função resíduo R (Equação 5).

O tempo máximo de integração do sistema de equações diferenciais (Equação 6) foi determinado pelo princípio da discrepância. O método é baseado numa boa estimativa do erro envolvido na determinação experimental das absorvâncias, R^* . Ao longo da evolução dos estados dos neurônios o resíduo sempre decresce, conforme foi demonstrado. A solução ótima é encontrada quando o erro residual das absorvâncias no tempo τ^* é igual a R^* , $pK_a^{otim} = q^{-1}[u_i(\tau^*)]$.

A eficiência da rede, para determinar as constantes de equilíbrio a partir da titulação espectrofotométrica, foi comprovada pela comparação com o método Simplex. Neste caso, esperou-se a rede evoluir até reproduzir os resultados obtidos pelo método Simplex. Os valores de ${}^s pK_a$ recuperados usando a rede como algoritmo de minimização foram iguais aos valores determinados pelo método Simplex até o sexto algarismo significativo. A Tabela 1 apresenta os valores de ${}^s pK_a$ obtidos.

Tabela 1. Constantes de acidez para a 7-epiclusianona em misturas etanol-água, à 25 °C

%EtOH (m/v)	${}^s pK_a$	$R^*/10^{-3}$	$\pm\delta$
40,0	4,770	8,330	0,036
45,0	4,892	9,352	0,035
50,0	4,989	8,728	0,036
55,0	5,124	6,810	0,034
60,0	5,299	6,875	0,035

Utilizando o princípio da discrepância pode-se avaliar os erros, δ_i , nos valores dos ${}^s pK_a$, de modo que qualquer solução x no intervalo ${}^s pK_a \pm \delta_i$ forneça um resíduo $R = \frac{1}{2} \sum_{jl} (A_{jl}^{cal} - A_{jl}^{otim})^2$ menor ou igual R^* . A absorvância total calculada a partir dos valores ótimos encontrados das constantes é definida por A^{otim} e A^{cal} representa o valor calculado a partir de x . O erro experimental na matriz absorvância permite o cálculo dos valores de ${}^s pK_a$ com 4 algarismos significativos, portanto, são significativas as diferenças encontradas em função do teor de etanol (Tabela 1).

Os valores de ${}^s pK_a$ nas misturas binárias mostram uma relação linear com a composição da mistura,

$${}^s pK_a = m \times (\%m/v) + b, \quad (9)$$

em que $b = {}^s pK_a$ indica o pK_a em água pura, $\%m/v$ representa a

fração massa por volume do solvente orgânico e ${}^s pK_a$ o valor de pK_a na composição correspondente. Esta relação linear foi observada em outros sistemas.⁴⁵⁻⁴⁷ Segundo Ghasemi,⁴⁷ a influência da composição da mistura pode ser explicada pela facilidade de solvatação dos íons pelo meio. À medida que se tem mais água, há uma maior capacidade de solvatação estabilizando os íons formados na ionização, situação em que os produtos da ionização são mais favoráveis. Neste caso, ocorre um decréscimo do ${}^s pK_a$. A reta que minimiza o erro quadrático dos dados da Tabela 1 é dada por ${}^s pK_a = 2,6156 \times 10^{-2} \times (\%m/v) + 3,7063$ ($r^2 = 0,98768$). Portanto, no limite de uma solução diluída em etanol, tem-se um ${}^s pK_a = 3,706$.

A determinação da constante de equilíbrio por métodos tradicionais utiliza dados experimentais em um único comprimento de onda. No método de inflexão⁴⁸ é necessário um grande número de dados experimentais em pH próximo do pK_a . No caminho estabelecido pela Equação Henderson-Hasselbalch⁴⁸ é necessário o conhecimento de informações dos espectros puros. Nesses métodos, a proximidade dos valores de pK_a em sistemas complexos diminui a acurácia dos resultados. O caminho proposto neste trabalho utiliza dados experimentais em todo o espectro de absorção, o que reduz consideravelmente o efeito do ruído e leva a resultados finais mais precisos, conforme verificado na Figura 4.

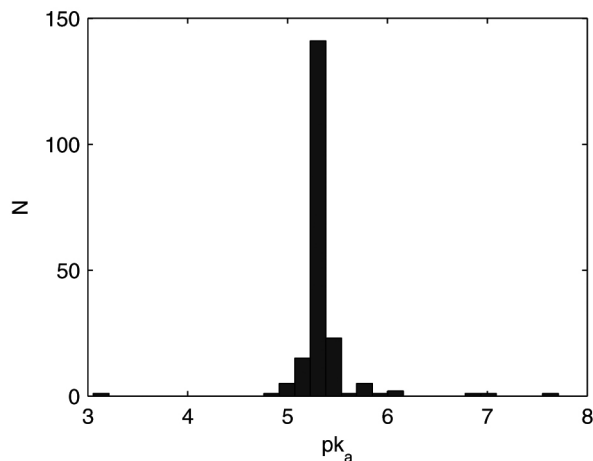


Figura 4. Histograma dos valores de ${}^s pK_a$ obtidos pela inversão, a partir de dados experimentais em um único comprimento de onda. Foram obtidos 201 valores de ${}^s pK_a$ com dados experimentais coletados na região entre 250 e 450 nm

A Figura 4 apresenta o histograma dos valores de ${}^s pK_a$ obtidos pela inversão, a partir de dados experimentais em um único comprimento de onda, usando as Equações 1-3, 6 e condições descritas anteriormente. Foram obtidos 201 valores de ${}^s pK_a$ com dados experimentais coletados na região entre 250 e 450 nm, com uma média de $5,34 \pm 0,32$. Este resultado mostra que a escolha apropriada do comprimento de onda é importante na recuperação da constante. Os critérios desta escolha podem ser apropriadamente definidos pela análise sensitiva da absorvância total em relação à constante de equilíbrio.

Os espectros de absorvâncias molares recuperados são concordantes com os resultados experimentais, uma vez que o produto dos vetores absorvância pela concentração analítica conduz aos espectros experimentais em meio bastante ácido e fortemente básico (Figura 5). Nesta condição tem-se praticamente os espectros puros para HL e L⁻. Ainda na Figura 5, verifica-se um ponto isobéptico na mesma região de comprimento de onda (299 nm) para os dados experimentais e calculados. A composição do solvente tem um efeito pequeno em cada espectro puro, aproximadamente os espectros de

absortividades molares são semelhantes aos recuperados para as demais composições etanol-água.

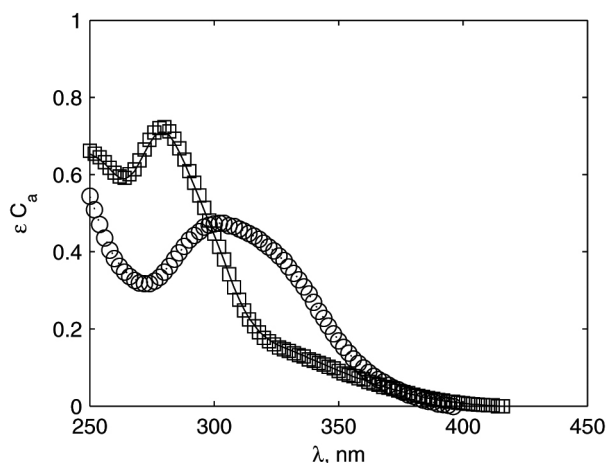


Figura 5. Absortividades molares obtidas: quadrados para espécie HL e círculos para espécie L. As linhas contínua e pontilhada representam os dados experimentais em meio bastante ácido e fortemente básico, em que se têm praticamente os espectros puros para HL e L, respectivamente

Para entender melhor os efeitos dos dados experimentais na inversão da constante de equilíbrio constrói-se a matriz sensibilidade.

A matriz sensibilidade, definida por $S_{ji} = \frac{dA_{ji}}{dK_a}$, é apresentada na

Figura 6 através das linhas de contorno. A matriz sensibilidade foi calculada por diferenças finitas de 10^{-3} no ${}^s\text{p}K_a$. Ela representa o efeito na absorvância total de uma mudança infinitesimal na constante de equilíbrio, em função do ${}^s\text{pH}$ e comprimento de onda.⁴⁹⁻⁵¹ Comparando com os espectros puros da Figura 5 observa-se que a maior sensibilidade ocorre na faixa de comprimentos de onda em que a diferença de absorvância molar das espécies é maior. No comprimento de onda próximo de 299 nm, a absorvância total não muda com o pH (ponto isobéstico), neste caso a sensibilidade é zero. Em relação ao pH, a maior sensibilidade ocorre em valores próximos do ${}^s\text{p}K_a$.

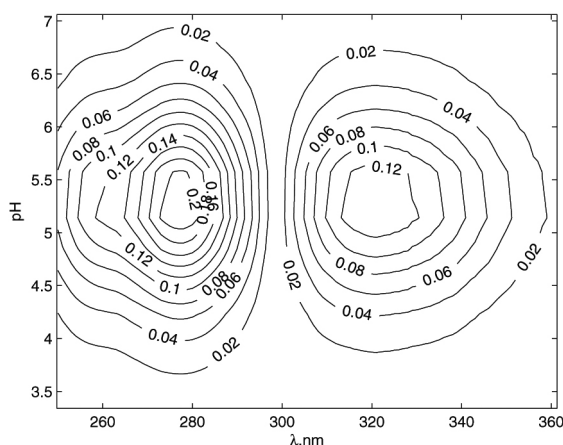


Figura 6. Efeito na absorvância total de uma mudança infinitesimal na constante de equilíbrio, em função do ${}^s\text{pH}$ e comprimento de onda

CONCLUSÕES

Uma rede neural dinâmica foi aplicada na determinação de constantes de equilíbrio a partir de espectros de absorção UV-Vis, em diferentes valores de ${}^s\text{pH}$.

O algoritmo utilizado é estável, rápido e de fácil implementação. Os resultados apresentam concordância com as constantes obtidas a partir de métodos testados na literatura. Os valores de ${}^s\text{p}K_a$ recuperados usando a rede como algoritmo de minimização foram iguais aos determinados pelo método Simplex até o sexto algarismo significativo. O decréscimo do erro ao longo da evolução da rede, conforme demonstrado para a função de ativação $\text{p}K_a(\tau) = 7\{1 + \tanh[u_i(\tau)]\}$, garante a acurácia da solução encontrada.

Este modelo de rede neural não havia sido utilizado acoplado ao método de análise da componente principal. A representação dos dados experimentais numa base menor aumenta a eficiência da rede ao diminuir as dimensões das matrizes envolvidas no cálculo do resíduo. Outro procedimento que aumenta a precisão dos resultados é a pré-seleção dos dados com base na análise sensitiva.

O método apresentado pode ser facilmente aplicado à solução de problemas inversos em cinética química. Nesse problema os espectros são obtidos ao longo do tempo e a matriz C é construída a partir da solução de um conjunto de equações diferenciais acopladas.

Com o algoritmo descrito determinaram-se para a 7-epiclusianona, benzofenona natural com importantes atividades biológicas os espectros de absorvância molar das formas ácida e básica, as constantes de acidez em misturas etanol-água e, através da extrapolação dos valores obtidos, o valor do $\text{p}K_a = 3,706$ para água pura.

AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG e ao CNPq pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8th ed., Saunders College Publishing: Philadelphia, 1988.
- Zhao, Y. H.; Yuan, L. H.; Wang, L. S.; *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1996**, 57, 242.
- Rochester, H.; *Acidity Functions*; Academic Press: New York, 1971.
- Sykes, P.; *A guidebook to mechanism in organic chemistry*; 6th ed., John Wiley & Sons: New York, 1985.
- Ghasemi, J.; Nayebi, Sh.; Kubista, M.; Sjögreen, B.; *Talanta* **2006**, 68, 1201.
- Bijlsma, S.; Boelens, H. F. M.; Hoefsloot, H. C. J.; Smilde, A. K.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, 419, 197.
- Leggett, D. J.; McBryde, W. A. E.; *Anal. Chem.* **1975**, 47, 1065.
- Leggett, D. J.; *Anal. Chem.* **1977**, 49, 276.
- Gammpp, H.; Maeder, M.; Meyer, J. Ch.; Zuberbuhler, A. D.; *Talanta* **1985**, 32, 95.
- Gammpp, H.; Maeder, M.; Meyer, J. Ch.; Zuberbuhler, A. D.; *Talanta* **1985**, 32, 257.
- Kubista, M.; Sjöback, R.; Nygren, J.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, 302, 121.
- Beltran, J. L.; Codony, R.; Prat, M. D.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, 276, 441.
- Lagarias, J. C.; Reeds, J. A.; Wright, M. H.; Wright, P. E.; *SIAM J. Optim.* **1998**, 9, 112.
- Forsythe, G. E.; Malcolm, M. A.; Moler, C. B.; *Computer Methods for Mathematical Computations*, Prentice-Hall: New Jersey, 1977.
- Levenberg, K.; *Q. Appl. Math.* **1944**, 2, 164.
- Marquardt, D.; *SIAM J. Optim.* **1963**, 11, 431.
- Meloun, M.; Derencikova, Z.; Vrana, A.; *J. Chem. Eng. Data* **2010**, 55, 2695.
- Sanli, N.; Sanli, S.; Alsancak, G.; *J. Chem. Eng. Data* **2010**, 55, 2707.
- Sanli, S.; Altun, Y.; Sanli, N.; Alsancak, G.; Beltran, J. L.; *J. Chem. Eng. Data* **2009**, 54, 3021.
- Hopfield, J. J.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1982**, 79, 2554.
- Hopfield, J. J.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1984**, 81, 3088.
- Hopfield, J. J.; Tank, D. W.; *Biol. Cybern.* **1985**, 52, 141.

23. Lemes, N. H. T.; Borges, E.; Braga, J. P.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2007**, *18*, 1342.
24. Lemes, N. H. T.; Borges, E.; Braga, J. P.; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2009**, *96*, 84.
25. Borges, E.; Lemes, N. H. T.; Braga, J. P.; *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *423*, 357.
26. Sebastião, R. C. O.; Braga, J. P.; Virtuoso, L. S.; Borges, E.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 213.
27. Sebastião, R. C. O.; Braga, J. P.; Virtuoso, L. S.; Vello, K. A. S. F.; Pacheco, C. N.; Silva, L. H. M.; *Braz. J. Phys.* **2010**, *40*, 423.
28. Santos, M. H.; Nagem, T. J.; Oliveira, T. T.; Braz-Filho, R.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 654.
29. Piccinelli, A. L.; Cuesta-Rubio, O.; Chica, M. B.; Mahmood, N.; Pagano, B.; Pavone, M.; Barone, V.; Rastrelli, L.; *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8206.
30. Alves, R. O.; Romanha, A. J.; Santos, M. H.; Nagem, T. J.; Zani, C. L.; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 369.
31. Cruz, A. J.; Lemos, V. S.; Santos, M. H.; Nagem, T. J.; Cortes, S. F.; *Phytomedicine* **2006**, *13*, 442.
32. Neves, J. S.; Coelho, L. P.; Cordeiro, R. S. B.; Veloso, M. P.; Silva, P. M. R.; Santos, M. H.; Martins, M. A.; *Planta Med.* **2007**, *73*, 644.
33. Pereira, I. O.; Marques, M. J.; Pavan, A. L. R.; Codonho, B. S.; Barbiéri, C. L.; Beijo, L. A.; Doriguetto, A. C.; D'Martin, E. C.; Santos, M. H.; *Phytomedicine* **2010**, *17*, 339.
34. Naldoni, F. J.; Claudino, A. L. R.; Cruz, J. W.; Chavasco, J. K.; Faria e Silva, P. M.; Veloso, M. P.; Santos, M. H.; *J. Med. Food* **2009**, *12*, 403.
35. Fallavena, P. R. B.; Schapoval, E. E. S.; *Int. J. Pharm.* **1997**, *158*, 109.
36. Kubista, M.; Sjöback, R.; Albinsson, B.; *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 994.
37. Klotz, I. M.; Rosenberg, R. M.; *Chemical Thermodynamics: Basic Concepts and Methods*, John Wiley & Sons: New Jersey, 2008.
38. Golub, G. H.; Vanloan, F.; *Matrix Computations*, John Hopkins University Press: Baitimore, 1983.
39. Maeder, M.; Neuhold, Y.-M. Em *Data Handling in Science and Technology*; Rutan, S.; Walczak, B., eds.; Elsevier: Amsterdam, 2007, vol. 26.
40. Derogis, P. B. M. C.; Martins, F. T.; Souza, T. C.; Moreira, M. E.; Souza Filho, J. D.; Doriguetto, A. C.; Souza, K. R. D.; Veloso, M. P.; Santos, M. H.; *Magn. Reson. Chem.* **2008**, *46*, 278.
41. Espinosa, S.; Bosch, E.; Rosés, M.; *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 3809.
42. Bates, R. G.; Paabo, M.; Robinson, R. A.; *J. Phys. Chem.* **1963**, *67*, 1833.
43. Bates, R. G.; *Determination of pH, Theory and Practice*, 2nd ed., Wiley Interscience: New York, 1972.
44. Elbergali, A.; Nygren, J.; Kubista, M.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *379*, 143.
45. Castro, G. T.; Giordano, O. S.; Blanco, S. E.; *THEOCHEM* **2003**, *626*, 167.
46. Castro, G. T.; Ferretti, F. H.; Blanco, S. E.; *Spectrochim. Acta, Part A* **2005**, *62*, 657.
47. Ghasemi, J.; Lotfi, S.; Safaeian, M.; Niazi, A.; Ardakani, M. M.; Noroozi, M.; *J. Chem. Eng. Data* **2006**, *51*, 1530.
48. Harvey, D.; *Modern Analytical Chemistry*, McGraw-Hill: New York, 2000.
49. Rabitz, H.; *Science* **1989**, *246*, 221.
50. Ho, T.-S.; Rabitz, H.; *J. Chem. Phys.* **1989**, *90*, 1519.
51. Ho, T.-S.; Rabitz, H.; *J. Chem. Phys.* **1989**, *91*, 7590.