

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA

Pró-Reitoria de Pesquisa e de Pós-Graduação

Programa de Pós-Graduação *Strictu senso*

Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE ESTABILIDADE, SÍNTESE E
CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS DE ÁCIDO FÍTICO COM OS
ÍONS Fe(II) e Fe(III)

PONTA GROSSA

2007

HANNA RAQUEL QUIRRENBACH

DETERMINAÇÃO DAS CONSTANTES DE ESTABILIDADE, SÍNTESE E
CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS DE ÁCIDO FÍTICO COM OS
ÍONS Fe(II) e Fe(III)

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof. Dra. Neiva Deliberali Rosso

Ponta Grossa

2007

Dedicatória

*Aos meus pais Mateus e Sandra, pelo
amor e incentivo*

AGRADECIMENTOS

A Deus por conduzir a minha vida sempre para o melhor caminho, dando forças nos momentos de fraqueza e dificuldade, felicidade e humildade nos momentos de conquista e progresso.

À Professora Neiva pela sua orientação, dedicação, carinho, amizade e paciência, contribuindo de forma valiosa para o meu crescimento pessoal e profissional.

À minha família, pelo apoio, carinho e atenção em todos os momentos.

Ao meu namorado Fabiano pelo amor, incentivo e compreensão.

Às estagiárias Francieli e Sue Ellen, pela amizade e companheirismo.

Ao Professor Egon, pelo apoio, auxílio e amizade durante a realização do trabalho

À Professora Noemi Nagata, pela análise crítica do trabalho e pelas sugestões enriquecedoras.

À Coordenação, ao corpo docente e colegas do Programa de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

À Instituição UNICEMP, pela parceria formada, em especial ao Professor Dr. Marco Aurélio pela ajuda profissional e amiga.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa pela oportunidade e condições oferecidas para a realização deste trabalho.

À Fundação CAPES pela bolsa concedida

Às pessoas que contribuíram direta ou indiretamente, a minha gratidão.

RESUMO

O ácido fítico dependendo do valor de pH apresenta alto potencial quelante, complexando íons metálicos, inibindo assim a produção de espécies reativas de oxigênio, responsáveis pela destruição oxidativa em sistemas biológicos. Esse potencial quelante tem fundamentado diversos estudos aplicados à ação antioxidante em produtos alimentícios, em controles ambientais e como antioxidante no organismo humano. O objetivo deste trabalho foi estudar o grau de interação do ácido fítico com os íons metálicos Fe(II) e Fe(III), de importância biológica, em condições próximas às fisiológicas e a estabilidade destes complexos. Titulações potenciométricas foram conduzidas para determinar as constantes de formação dos complexos ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) em solução, sob condições de atmosfera inerte, força iônica $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ (KCl) a $36 \pm 0,1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Para o sistema ácido fítico-Fe(II), determinaram sete constantes de formação, correspondente a sete espécies formadas na faixa de p[H] de 2,0 a 12,0. A primeira constante de formação do complexo ácido fítico-Fe(II), apresentou $\log K=16,06$ para a espécie $[\text{MHL}]^{9-}$, indicando que existe uma grande afinidade entre o ligante monoprotonado com o metal. Para o sistema ácido fítico-Fe(III) foram determinadas sete constantes de formação, sete espécies foram detectadas na faixa de p[H] de 2,5 a 12,0. A primeira constante de formação do complexo apresentou $\log K=18,87$, valor muito elevado para a espécie $[\text{ML}]^{9-}$, isto denotou uma forte interação entre o ligante totalmente deprotonado e o íon Fe(III). Estudos espectroscópicos na região do UV-Vis foram realizados para acompanhar a formação dos complexos do ligante com os íons metálicos Fe(II) e Fe(III). Nos estudos de UV-Vis do ácido fítico em ausência dos íons metálicos não ocorreu nenhuma absorção na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm. Já para o ligante na presença dos íons metálicos foram detectadas duas bandas de absorção em 216 e 279 nm para o ácido fítico-Fe(II) e 218 e 274 nm para o ácido fítico Fe(III). Essas são bandas de transferência de elétrons do ligante para o íon metálico com formação da ligação coordenativa. Os complexos ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) foram sintetizados a partir dos dados potenciométricos e caracterizados por espectroscopia de absorção na região do infravermelho. Os espectros para o sistema ácido fítico em presença do íon Fe(II), sintetizado em pH=7,4, e Fe(III), pH=7,1, mostraram deslocamentos nas regiões de frequência dos grupamentos $\text{O}=\text{PO}_3\text{H}_2$ do ácido fítico livre. Esses deslocamentos evidenciam que o ligante encontra-se coordenado aos íons metálicos. Através da termogravimetria constatou-se que no intervalo de 30 a $780 \text{ }^{\circ}\text{C}$, a perda de massa total do complexo ácido fítico-Fe(II) foi de 24,43 %. Da temperatura ambiente até $185 \text{ }^{\circ}\text{C}$, ocorreu a liberação de moléculas de água de hidratação. Em temperaturas superiores deste valor as perdas de massa foram relativas à decomposição do complexo, com liberação de água de constituição e decomposição da matéria orgânica, com formação de pirofosfato duplo de potássio e Fe(II) e metafosfato de potássio. Os complexos ácido fítico-Fe(III) apresentaram comportamento térmico semelhante ao complexo ácido fítico-Fe(II), porém, para o complexo ácido fítico-Fe(III) sintetizado em pH 7,1 a perda de massa total do foi de 25,64 % na faixa de 30 a $800 \text{ }^{\circ}\text{C}$, enquanto que o complexo sintetizado em pH 9,9 apresentou uma perda de massa total de 31,98 % no intervalo de temperatura de 30 a $845 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Os dados obtidos, para os três complexos, indicam que o ligante encontra-se coordenado com os íons metálicos tanto em valores de pH baixo como em valores de pH mais elevados.

Palavras-chaves: ácido fítico, Fe(II), Fe(III), complexos e estabilidade.

ABSTRACT

The phytic acid depending on the pH value presents high potential quelante, quelanting metallic ions, inhibiting the production of species reactivates of oxygen, responsible for the destruction oxidative in biological systems. That potential quelante has been basing several applied studies to the antioxidant action in foods products, in environmental controls and as antioxidant in the human organism. The objective of this work was to study the degree of interaction of the phytic acid with the metallic ions Fe(II) and Fe(III), of biological importance, in near conditions of the physiologic and the stability of these complexes. Potentiometric titration were driven to determine the constants of formation of the complexes phytic acid-Fe(II) and phytic acid-Fe(III) in solution, under conditions of inert atmosphere, it ionic strength $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (KCl) at $36 \pm 0,1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. For the system phytic acid-Fe(II), were determined seven constant of formation, corresponding to seven species formed in the range $p[\text{H}]$ from 2,0 to 12,0. The first constant of formation of the complex phytic acid-Fe(II), it presented $\log K = 16,06$ for the specie $[\text{MHL}]^{9-}$, indicating that a great affinity exists among the ligand monoprotonated with the metal. For the system phytic acid-Fe(III) were determined seven constant of formation, seven species were detected in the range $p[\text{H}]$ from 2,5 to 12,0. The first constant of formation of the complex presented $\log K = 18,87$, very high value for the species $[\text{ML}]^{9-}$, this denoted a strong interaction among the ligand deprotonated and the metallic ion. Studies spectroscopy in the region of the UV-Vis, were performed to accompany the formation of the complexes of the phytic acid with the metallic ions Fe(II) and Fe(III). In the studies of UV-Vis of the phytic acid in absence of the metallic ions, not occurred any absorption in the area of wavelength from 200 to 800 nm. Already for the ligand in the presence of the metallic ions two absorption bands were detected in 216 and 279 nm for the phytic acid-Fe(II) and 218 and 274 nm for the phytic acid Fe(III). Those are bands of transfer of electrons of the ligand for the metallic ion with formation of the linking coordinative. The complexes phytic acid-Fe(II) and phytic acid-Fe(III) were synthesized from the data potentiometric and characterized by absorption spectroscopy in the area of the infrared. The spectra for the system phytic acid in presence of the ions Fe(II), synthesized in $p\text{H}=7,4$, and Fe(III), $p\text{H}=7,1$, showed displacements in the areas of frequency of the groups $\text{O}=\text{PO}_3\text{H}_2$ of the phytic acid free. Those displacements, evidence that the ligant is coordinated to the metallic ions. Through the termogravimetry it verified that in the interval from 30 to $780 \text{ }^{\circ}\text{C}$ the loss of total mass of the complex phytic acid-Fe(II) it was of 24,43 %. Of the room temperature up to $185 \text{ }^{\circ}\text{C}$, occurred the liberation of molecules of hydration water. In superior temperatures of this value the mass losses were relative to the decomposition of the compound, with liberation of constitution water and decomposition of the organic matter, with formation of double pyrophosphate of potassium and Fe(II) and potassium metaphosphate. The phytic acid-Fe(III) complexes presented thermal behavior similar to the complex phytic acid-Fe(II), however for the complex phytic acid-Fe(III) synthesized in $p\text{H} 7,1$ the loss of total mass of it was of 25,64 % in the area from 30 to $800 \text{ }^{\circ}\text{C}$, while the compound synthesized in $p\text{H} 9,9$ presented a loss of total mass of 31,98 % in the interval of temperature from 30 to $845 \text{ }^{\circ}\text{C}$. The obtained data, for the three complexes, indicate that the ligand is coordinated with the metallic ions so much in values of low pH as to you value of higher pH.

Keywords: phytic acid, Fe(II), Fe(III), complexes and stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Estrutura do ácido fítico.	19
Figura 02	Conformações do ácido fítico: (a) uma posição axial e cinco equatoriais (1ax./5eq.) e (b) cinco posições axiais e uma equatorial (5ax. / 1eq).	20
Figura 03	Espectroscopia no infravermelho do fitato dodecasódio e complexos de metal-fitato sintetizados.	35
Figura 04	Curvas de titulação potenciométrica do ácido fítico 1×10^{-3} mol.L ⁻¹ em ausência e em presença de Fe(II) $0,5 \times 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ a $36 \pm 0,1$ °C, atmosfera inerte e força iônica 0,100 mol.L ⁻¹ (KCl).	54
Figura 05	Curvas de titulação potenciométrica do ácido fítico 1×10^{-3} mol.L ⁻¹ em ausência e em presença de Fe(III) 1×10^{-3} mol.L ⁻¹ a $36 \pm 0,1$ °C, atmosfera inerte e força iônica 0,100 mol.L ⁻¹ (KCl).	55
Figura 06	Curvas de distribuição das espécies em função do p[H] para o sistema contendo 0,1 mmol de ácido fítico e 0,05 mmol de Fe(II), $\mu = 0,100$ mol.L ⁻¹ a $36 \pm 0,1$ °C.	59
Figura 07	Curvas de distribuição das espécies em função do p[H] para o sistema contendo 0,1 mmol de ácido fítico e 0,05 mmol de Fe(III), $\mu = 0,100$ mol.L ⁻¹ a $36 \pm 0,1$ °C.	60
Figura 08	Espectro de UV-Vis do complexo ácido fítico - Fe(II) a $36 \pm 0,1$ °C, força iônica 0,100 mol.L ⁻¹ de KCl, atmosfera de argônio. O espectro <i>a</i> refere-se ao ácido fítico na ausência de Fe(II). Os espectros <i>b</i> , <i>c</i> , <i>d</i> , e <i>e</i> referem-se às espécies $[\text{MH}_7\text{L}]^{3-}$, $[\text{MH}_6\text{L}]^{4-}$, $[\text{MH}_5\text{L}]^{5-}$ e $[\text{MH}_4\text{L}]^{3-}$, respectivamente.	62

Figura 09	Espectro de UV-Vis do complexo ácido fítico-Fe(III) a $36\pm 0,1$ °C, força iônica $0,100\text{ mol.L}^{-1}$ de KCl, atmosfera de argônio. O espectro <i>a</i> refere-se ao ácido fítico na ausência de Fe(III). Os espectros <i>b</i> , <i>c</i> e <i>d</i> referem-se às espécies $[\text{MH}_5\text{L}]^{4-}$, $[\text{MH}_4\text{L}]^{3-}$ e $[\text{MH}_3\text{L}]^{2-}$, respectivamente.	63
Figura 10	Espectro de infravermelho de uma amostra do ácido fítico à temperatura ambiente.	64
Figura 11	Espectro de infravermelho de uma amostra do complexo ácido fítico-Fe(II) à temperatura ambiente.	65
Figura 12	Espectro de infravermelho de uma amostra do complexo ácido fítico-Fe(III) à temperatura ambiente.	66
Figura 13	Espectro de infravermelho de uma amostra do complexo ácido fítico-Fe(III) sintetizado em p[H] 9,8, à temperatura ambiente.	67
Figura 14	Curvas de TG e DTG do complexo ácido fítico-Fe(II) obtidas em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de 100 mL.min^{-1} à razão de aquecimento 20 °C.min^{-1} em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C.	70
Figura 15	Curvas de TG e DTG do complexo ácido fítico-Fe(III) obtidas em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de 100 mL.min^{-1} à razão de aquecimento 20 °C.min^{-1} em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C.	71
Figura 16	Curvas de TG e DTG do complexo ácido fítico-Fe(III) sintetizado em p[H] 9,9 obtidas em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de 100 mL.min^{-1} à razão de aquecimento 20 °C.min^{-1} em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C.	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Logaritmos das constantes de formação do complexo ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) a $36 \pm 0,1$ °C a $\mu = 0,100$ mol.L ⁻¹ (KCl), atmosfera de argônio.	57
Tabela 02	Frequências do grupamento P-O- obtidas em espectros de infravermelho do ácido fítico dipotássio e dos complexos ácido fítico-Fe(II), espécie [MH ₄ L] e ácido fítico-Fe(III), espécies [MH ₃ L] ⁶⁻ e [ML] ⁹⁻ .	67
Tabela 03	Sugestões de perda de massa para o comportamento térmico do complexo ácido fítico-Fe(II) na curva TG obtida em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de 100 mL.min ⁻¹ à razão de aquecimento 20 °C.min ⁻¹ em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C.	70
Tabela 04	Sugestões de perda de massa para o comportamento térmico do complexo ácido fítico-Fe(III) na curva TG obtida em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de 100 mL.min ⁻¹ à razão de aquecimento 20 °C.min ⁻¹ em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C.	72
Tabela 05	Sugestões de perda de massa para o comportamento térmico do complexo ácido fítico-Fe(III), sintetizado em p[H] 9,9 obtida em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de 100 mL.min ⁻¹ à razão de aquecimento 20 °C.min ⁻¹ em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C.	73

LISTA DE ABREVIATURAS

IP₆ - 1,2,3,4,5,6 – hexakis(dihidrogeno)fosfato mio-inositol

IP₅ - Pentafosfato de inositol

IP₄ - Tetrafosfato de inositol

IP₃ - Trifosfato de inositol

SERS - Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

TLC - Cromatografia em Camada Fina

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

UV-Vis - Ultravioleta-Visível

DSC - Calorimetria Exploratória Diferencial

TG - Termogravimetria

DTG – Termogravimetria Derivada

FT- IR – Espectroscopia no Infravermelho

p[H] - Segundo Martell e Motekaitis (1992), medidas precisas da concentração de íon hidrogênio (ou atividade) obtidas por um sistema de eletrodos de vidro-referência são restritas para a região de pH 2-12. Assim para tornar esta distinção clara, o termo usado pH é substituído por p[H], onde o colchete indica concentração.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1	OCORRÊNCIA DO ÁCIDO FÍTICO	17
3.2	ESTRUTURA E ESTABILIDADE DO ÁCIDO FÍTICO	18
3.3	APLICAÇÕES DO ÁCIDO FÍTICO	23
3.4	FORMAÇÃO DE COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO	28
3.5	ÍONS METÁLICOS	36
3.6	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS COMPLEXOS DE ÁCIDO FÍTICO COM OS ÍONS METÁLICOS	38
3.6.1	Titulação Potenciométrica	38
3.6.2	Espectroscopia do Ultravioleta-Visível	40
3.6.3	Espectroscopia no Infravermelho	40
3.6.4	Análise Térmica	42
3.6.5	Análise Elementar ou análise por combustão	43
4	MATERIAL E DESCRIÇÃO EXPERIMENTAL	44
4.1	MATERIAL	44
4.1.1	Solvente	44
4.1.2	Solução metálica	44

4.1.3	Ligante	44
4.1.4	Eletrólito Suporte	45
4.1.5	Titulante	46
4.2	DESCRIÇÃO EXPERIMENTAL	46
4.2.1	Estudos Potenciométricos	46
4.2.2	Estudos Espectroscópicos de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível	49
4.2.3	Síntese dos Complexos de Ácido Fítico	50
4.2.4	Estudos Espectroscópicos de Absorção na Região do Infravermelho	51
4.2.5	Análise Elementar	51
4.2.6	Estudos Termoanalíticos	52
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1	ESTUDOS POTENCIOMÉTRICOS	53
5.1.1	Curvas de Titulação	53
5.1.2	Constantes de formação dos complexos	55
5.1.3	Curvas de distribuição das espécies	58
5.2	ESTUDOS ESPECTROSCÓPICOS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL	61
5.3	ESTUDOS ESPECTROSCÓPICOS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	64
5.4	ANÁLISE ELEMENTAR	68
5.5	ESTUDOS TERMOANALÍTICOS	69
6	CONCLUSÕES	74
7	REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

O ácido fítico, também conhecido com hexafosfato inositol ou fitato, é um componente das plantas e sementes encontrado em cereais, nozes, leguminosas, sementes oleaginosas, pólen e esporos. Apresenta várias funções fisiológicas, tais como, o armazenamento de fósforo, cátions, proteção contra danos oxidativos durante a dormência ou germinação da planta. É também encontrado em células animais, porém, sua função primária está na sinalização da transmembrana e mobilização do cálcio para a reserva intracelular (XU; LIU; PRESTWICH, 2005).

A estrutura do ácido fítico sugere um elevado potencial quelante, esse composto apresenta doze prótons ionizáveis, dependendo do pH pode interagir com íons metálicos e formar complexos em solução aquosa.

Seu elevado potencial quelante pode apresentar um papel vital na proteção dos grãos contra os efeitos deletérios do oxigênio e do ferro. As reações catalisadas pelo ferro desempenham um papel crucial no dano oxidativo de substâncias biológicas. A maioria das reações envolve ativação do oxigênio e subsequente reação com o ferro, produzindo espécies mais reativas. O ácido fítico age como um antioxidante, inibindo a produção de espécies mais reativas de oxigênio, complexando metais, resultando na quimioprevenção do câncer, na eliminação de metais pesados potencialmente tóxicos para o organismo, na inibição da peroxidação lipídica e da destruição oxidativa dos alimentos, tais como, descoloração, putrefação e sineréses aumentando a qualidade nutricional e prolongando a vida de prateleira dos produtos alimentícios (DOST; TOKUL, 2006; GRAF; EATON, 1990; GRAF; EMPSON, 1987).

Diversos autores relatam a interação entre o ácido fítico e íons metálicos. As espécies químicas Zn, Fe, Cu e Mn interagem com o ácido fítico formando complexos insolúveis no pH do intestino, alterando a disponibilidade metabólica desses elementos (WINDISCH, 2002). Um estudo sobre a formação de complexos metálicos mostrou a complexação de Zn(II) e Mn(II) pelos grupos fosfatos de IP₆. Os resultados obtidos por RMN ¹³C evidenciaram uma conformação por IP₆ consistindo de cinco grupos fosfatos equatoriais e um grupo axial mostrando um ambiente químico para o zinco e dois para o manganês (RODRIGUES-FILHO et al., 2005). De Stefano et al. (2006) investigaram por potenciometria a habilidade seqüestrante do fitato em relação ao íon metálico mercúrio, Hg²⁺, a diferentes forças iônicas de cloreto de sódio na temperatura de 25 °C. Evidenciaram a formação de 11 espécies de fitatoprotonado-mercúrio, sendo oito espécies mononucleares e três dinucleares. Carli et al. (2006) utilizaram a técnica de titulação potenciométrica para verificar as propriedades ácido-base do complexo ácido fítico Ni(II). Determinaram nove constantes de estabilidade para o complexo ácido fítico Ni(II) e que a espécie ML, um ligante para um íon metálico, encontra-se totalmente formada em pH 12.

A importância biológica do ferro consiste na condução de elétrons de plantas e animais, citocromos e ferredoxinas, no transporte de oxigênio no sangue de animais mamíferos, no armazenamento de oxigênio na mioglobina e como componente da nitrogenase (a enzima das bactérias fixadoras de nitrogênio). O ferro encontra-se presente numa variedade de alimentos de origem animal e vegetal. Em carne, aves e peixes, aproximadamente 40 % do ferro é Fe heme, o restante é Fe não heme. O ferro em vegetais, frutas, grãos, ovos e derivados do leite é não heme. No trato intestinal, o Fe heme é melhor absorvido (15-35 %) que o Fe não heme (2-20 %) (MONSEN, 1988). A solubilidade do ferro não heme no intestino é um fator determinante para a sua absorção. O ácido fítico forma complexos insolúveis com o ferro, no pH do intestino, alterando a sua disponibilidade.

A presente pesquisa propôs o estudo para elucidar a interação do ácido fítico com íons metálicos Fe(II) e Fe(III), de importância biológica, em solução aquosa e no estado sólido. Os estudos foram realizados sob condições próximas das fisiológicas para as medidas potenciométricas, a fim de determinar as constantes de estabilidade dos complexos formados. A partir dos estudos potenciométricos, os complexos foram sintetizados no estado sólido e caracterizados através de análises espectroscópicas de UV-Vis e infravermelho para elucidar as interações entre ligantes e os íons metálicos nos complexos. A análise elementar e os estudos termoanalíticos foram realizados para verificar a composição e a estabilidade térmica dos complexos formados.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar as interações e a estabilidade dos complexos do ácido fítico com os íons metálicos Fe(II) e Fe(III), de importância biológica, em condições próximas às fisiológicas, utilizando técnicas de análise instrumental potenciométrica, espectroscópicas, elementar e análise térmica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as constantes de formação dos complexos de ácido fítico com os íons metálicos Fe(II) e Fe(III) através de medidas potenciométricas, sob condições próximas das fisiológicas, como temperatura e força iônica constantes.
- Sintetizar os complexos no estado sólido, a partir dos dados obtidos por estudos potenciométricos, pH mais próximo possível ao do intestino delgado.
- Caracterizar os complexos por estudos espectroscópicos UV-visível e por infravermelho.
- Verificar a composição dos complexos através da análise elementar, CHN.
- Estudar a estabilidade dos complexos formados por análise térmica.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 OCORRÊNCIA DO ÁCIDO FÍTICO

Em cereais, sementes oleaginosas e legumes encontram-se altas taxas de ácido fítico, sendo que o fósforo-fitato constitui a principal porção (60 - 82 %) de fósforo-total. Em raízes e tubérculos, o fósforo-fitato constitui 21-25 % de fósforo-total (RAVINDRAN; RAVINDRAN, SIVALOGAN, 1994). Os fosfatos de inositol encontrados em grãos contêm ao redor de 90 % do inositol na forma hexafosfórica, correspondendo os restantes 10 % à somatória dos penta-, tetra- e trifosfatos (CÚNEO; AMAYA-FARFAN; CARRARO, 2000). Nas diversas espécies de vegetais 90 % do ácido fítico localiza-se na camada aleurônica e somente 10 % no embrião. Vários fatores afetam a disponibilidade dos conteúdos de ácido fítico e fósforo nos grãos, tais como, genética, variações ambientais, local, condições de irrigação, tipos de solo, ano e aplicações de fertilizantes (DOST; TOKUL, 2006).

O papel fisiológico do ácido fítico nas plantas consiste na reserva de fósforo e energia, competidor de ATP (adenosina tri-fosfato) durante sua biossíntese, próximo da maturidade. Atua também como um imobilizador de cátions multivalentes, necessário para o controle do processo celular, os quais são liberados após germinação, age também como regulador dos níveis de fosfato inorgânico (COSGROVE, 1966). Nas células animais sua função está na sinalização da transmembrana e mobilização do cálcio para as reservas intracelulares (XU; LIU; PRESTWICH, 2005).

Um estudo do metabolismo do fósforo na aveia mostrou que durante o período germinativo o conteúdo de fósforo do ácido fítico diminuiu, enquanto o fósforo inorgânico do endosperma aumentou. No oitavo dia, quase todo o fosfato do endosperma apareceu na forma de fósforo inorgânico (HALL; HODGES, 1966). Durante a germinação, o fitato é degradado

pela ação da enzima fitase a fosfato inorgânico auxiliando o crescimento dos grãos (DOST; TOKUL, 2006).

3.2 ESTRUTURA E ESTABILIDADE DO ÁCIDO FÍTICO

A nomenclatura oficial do ácido fítico é 1,2,3,4,5,6-hexaquis(dihidrogênio)fosfato *mio*-inositol, ou $\text{Ins}(1,2,3,4,5,6)\text{P}_6$, também conhecido como InsP_6 ou IP_6 (XU; LIU; PRESTWICH, 2005). Usualmente é denominado de ácido fítico para o ácido na forma livre, fitato para a forma de sal livre e fitin para sais com cálcio e magnésio (PLAAMI, 1997). O ácido fítico (Figura 01) é uma molécula carregada negativamente em ampla faixa de pH e possui doze prótons substituíveis (TSAO; ZHENG; LU, 1997). Diante deste contexto, apresenta um grande potencial para a formação de complexos em presença de íons metálicos. O ácido fítico coordena-se através de grupos doadores, os fosfatos, e a estrutura resultante forma um quelato (MATTSON, 1946). Essa capacidade quelante tem fundamentado diversos estudos aplicados à ação antioxidante em produtos cárneos (BARRETO, 1996; LEAL, 2000; SOARES, 1998) e na proteção contra danos oxidativos de emulsões, aumentando sua vida de prateleira (EMPSON; LABUZA; GRAF, 1991).

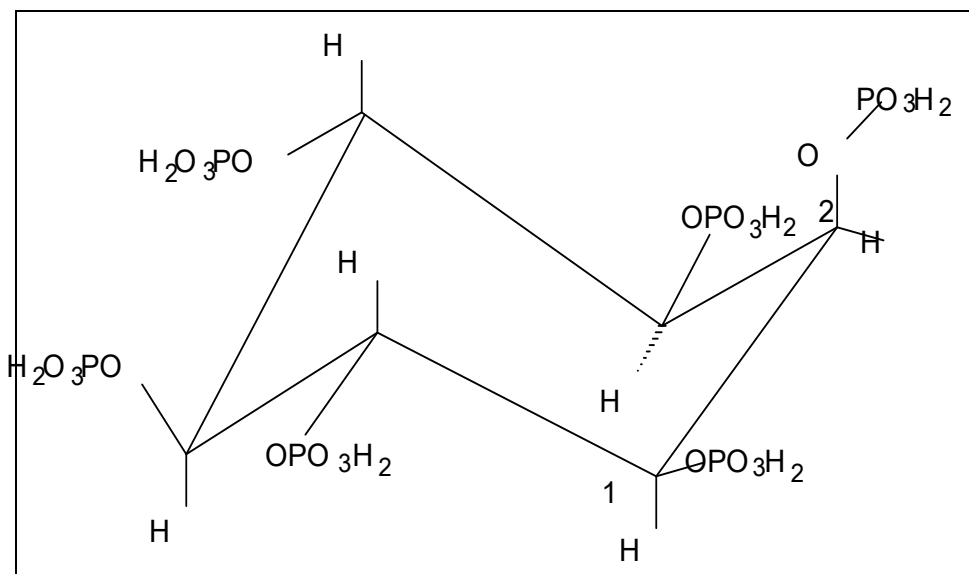


Figura 01. Estrutura do ácido fítico

Uma análise da mudança conformacional do ácido fítico por medidas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de fósforo 31 (RMN ^{31}P) e de próton (RMN ^1H) revelam que em pH maior que 11,3, as espécies mono-, di- tri- e as espécies totalmente deprotonadas estão estabilizadas na forma axial (cinco C-O na posição axial e um C-O na posição equatorial), conforme Figura 02. Em pH menor que 10,0, outras espécies protonadas estão na forma equatorial (um C-O na posição axial e cinco C-O na posição equatorial). A estabilidade das conformações axial e equatorial está relacionada à minimização de repulsões eletrostáticas, à dependência de pH, às ligações de hidrogênio entre $\text{P-O}\dots\text{H-O-P}$, às interações entre $\text{C-H}\dots\text{O-P}$ e ligações hidrogênio dos grupos fosfatos com a água (PATON; NOAILLY; MOSSOYN, 1999).

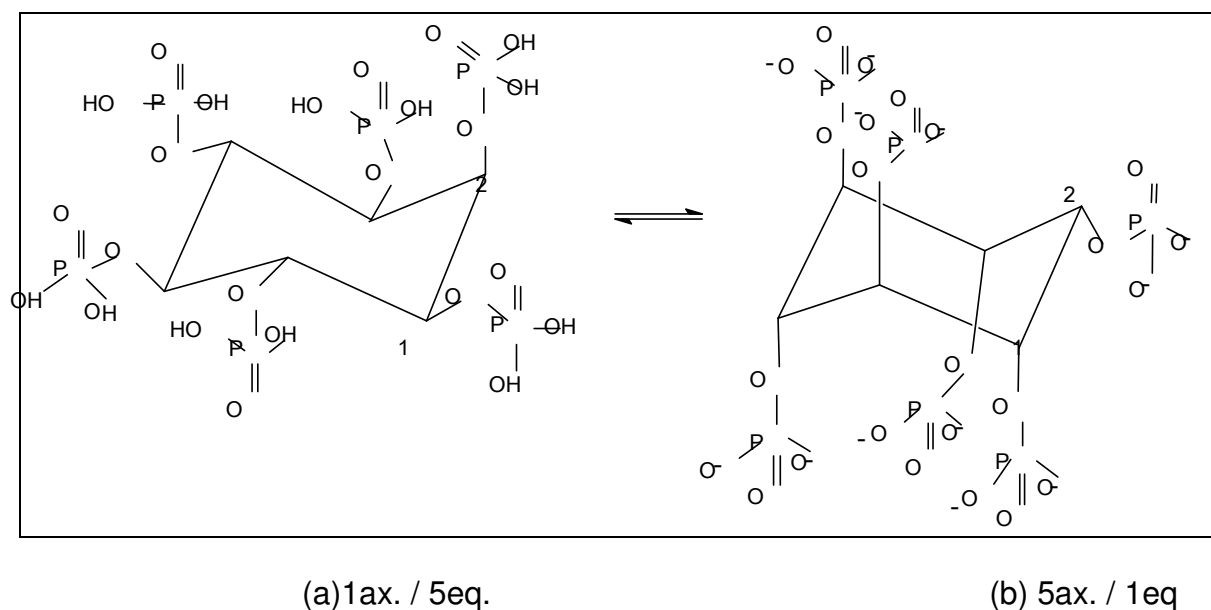


Figura 02. Conformações do ácido fítico: (a) uma posição axial e cinco equatoriais (1ax./5eq.) e (b) cinco posições axiais e uma equatorial (5ax. / 1eq) (fonte: PATON; NOAILLY; MOSSOYN, 1999).

Estudos recentes determinaram as entalpias e entropias de sete constantes de protonação do ácido fítico. Os resultados evidenciaram variações pequenas nos valores de entalpia e entropia para as mesmas constantes de protonação a diferentes forças iônicas. Os pesquisadores concluíram que os valores entrópicos para cada constante de protonação são significativamente mais elevados do que as correspondentes mudanças de entalpia, revelando a natureza entrópica na ligação envolvida na protonação do fitato (DE STEFANO; MILEA; SAMMARTANO, 2004).

Titulações potenciométricas foram realizadas por Carli et al. (2006) sob condições de força iônica constante (KCl) e temperatura de $36 \pm 0,1$ °C. Foram obtidas oito constantes de protonação a partir de uma amostra de ácido fítico na forma de sal de dipotássio. As reações de protonação ocorrem na faixa de pH de 2 a 11. Este trabalho mostra também a estabilidade térmica do ácido fítico, o qual apresentou uma perda de 32,43 % da massa inicial em três etapas principais. A primeira perda ocorreu da temperatura ambiente até 184 °C, que sugeriu a liberação de três mols de água de hidratação. Verificou-se nova perda de massa em 220 a

410 °C que sugeriu a decomposição de seis átomos de carbono e uma molécula de água. Na terceira etapa de 410 até 600 °C ocorreu uma perda de massa menos evidente, 12,63 %, o que sugeriu a decomposição de cinco moléculas de água.

Experimentos mostraram que o ácido fítico submetido à temperatura de 120 °C durante quatro horas, sofreu autohidrólise formando derivados de ésteres de fosfatos de mio-inositol (IP₁, IP₂, IP₃, IP₄ e IP₅). Esses inositóis foram purificados por cromatografia de troca iônica sob condições de eluição ácida e alcalina, sendo a identificação dos produtos confirmados pelas análises de ressonância magnética nuclear unidimensional e bidimensional, 1D e 2D ¹H RMN, (HULL; GRAY; MONTGOMER, 1999).

Outro estudo utilizou a fitase exógena na tentativa de hidrolisar o ácido fítico no farelo de arroz estabilizado. Após vinte e quatro horas de hidrólise, a destruição dos fitatos totais alcançou 37 %, o IP₆ continuou sendo a fração predominante (81 %), enquanto que as frações IP₄ e IP₅ permaneceram em porcentagens insignificantes (0,3 e 0,5 %, respectivamente). A baixa eficiência da fitase exógena observada no farelo estabilizado foi proposta pela ação da enzima ocorrer por desfosforilações sucessivas sobre uma mesma molécula de substrato até atingir sua degradação total (CÚNEO; AMAYA-FARFAN; CARRARO, 2000). Estudos cinéticos e análises de cromatografia em camada fina (TLC) indicam que a fitase β -hélice é uma classe especial de inositol fosfatase que reconhece o complexo quelato formado entre o Ca²⁺ e dois grupos fosfatos adjacentes, onde o fitato (substrato) atua de forma bidentada. A enzima hidrolisa um dos grupos fosfatos do Ca²⁺-IP₆ resultando em trifosfato *mio*-inositol (IP₃) e três grupos fosfatos como produto final. Os experimentos cinéticos sugerem que a fitase β -hélice requer o íon Ca²⁺ como ativador e também como parte de seu substrato (OH et al., 2006).

Hartman (1979) desenvolveu um método para extrair o fitato da proteína de soja. Primeiramente, removeu os componentes solúveis em água dos flocos de soja e em seguida

ajustou o pH do extrato a 11,6 a 28 °C para precipitar o fitato. O fitato foi removido por centrifugação ou filtração a vácuo. A proteína de soja extraída com baixo fitato foi purificada por ultrafiltração. A proteína de soja obtida apresentou conteúdos de fósforo reduzidos de 0,8 para 0,2 % e ácido fítico de 2,6 para 0,1 %. A remoção do fitato resultou em uma proteína com propriedades funcionais melhoradas, visto que o ácido fítico poderia afetar o valor nutricional do produto pela formação de complexos com a proteína, dificultando a digestão enzimática.

O processamento do trigo em farinhas do tipo clara, refinada e semolina reduziu o conteúdo de fósforo-fitato para 5,06, 31,64 e 30,38 %, respectivamente, devido à remoção do farelo, pois o fósforo-fitato está concentrado na camada aleurônica e outras camadas externas do grão, o qual contém muita fibra alimentar. Os conteúdos de fitato, zinco, cálcio e ferro foram elevados para a farinha de trigo integral, seguida da farinha de trigo clara e o mínimo na farinha de trigo refinada e semolina. A razão encontrada para fitato:zinco, fitato:cálcio:zinco, fitato:ferro e ferro:zinco foram elevadas para a semolina, seguida da farinha refinada, clara e integral. As razões elevadas obtidas para os trigos refinados devem-se à maior remoção do zinco, cálcio e ferro que o fitato (GREWALL; HIRA; KAWATRA, 1999).

Habiba (2002) investigou o efeito do cozimento em forno microondas do teor de ácido fítico na ervilha e comparou com outros processos convencionais. A redução dos conteúdos de ácido fítico variou com o método de cozimento e o tempo de exposição. A quantidade de ácido fítico na ervilha crua foi 11,9 mg.g⁻¹, sendo que a maior redução de 47,9 % foi obtida após 40 min de cozimento comum.

Dost e Tokul (2006) aplicaram a técnica de cromatografia líquida de alta resolução acoplada com detector de UV-Vis para determinar o conteúdo de ácido fítico no trigo e produtos de trigo. O estudo baseou-se na reação de substituição do metal pelo ácido fítico no

complexo colorido Fe(III)-tiocianato. A substituição foi acompanhada pela diminuição do pico em 460 nm, característico do complexo Fe(III)-tiocianato. Utilizaram uma curva de calibração das soluções padrões de ácido fítico e Fe(III)-tiocianato para calcular a quantidade de ácido fítico nas amostras. O conteúdo de ácido fítico encontrado foi de 11,9 mg.g⁻¹ na farinha de trigo dura e 4,9 mg.g⁻¹ no pão feito dessa mesma farinha. Para a farinha de centeio a quantidade de ácido fítico foi de 14,0 mg.g⁻¹ e o pão de centeio, 9,9 mg.g⁻¹. O ácido fítico decompõe-se durante o processo de cozimento da massa e o processo de fermentação também influencia no seu conteúdo.

3.3 APLICAÇÕES DO ÁCIDO FÍTICO

Diversos estudos relatam o efeito do ácido fítico em inibir enzimas, segundo Graf e Eaton (1990) este efeito é decorrente da associação do ácido fítico com proteínas. Um estudo de Sharma; Goel e Irshad (1978), 10 mM de IP₆ inibiu a α -amilase de diferentes origens, trigo (84,5 %), milho (91,4 %), amendoim (54,0 %) e *Bacillus subtilis* (93,2 %). A atividade inibitória do ácido fítico diminuiu de 87 % para 18 % com a elevação do pH de 3,5 para 5, seguido de um decréscimo de 18 % para 6 % de pH 5 para 7. A faixa de pH entre 3,5 e 4, mostrou ser ideal para a interação enzima inativa-inibidor ou complexo enzima-inibidor-substrato. Altas concentrações de ácido fítico previnem o escurecimento e putrefação de várias frutas e vegetais pela inibição da polifenol oxidase (tirosinase). Estudo mostra que diferentes concentrações de fitato inibem em 48 % a atividade da tirosinase (GRAF; EMPSON, 1987). Complexos de ácido fítico e cátions com estado de oxidação (II) reagem com a fosfatase alcalina (Apase) em pH 7,2, diminuindo a atividade enzimática. Martin

(1995) propôs que o complexo atua como um inibidor competitivo, formando um complexo ternário intermediário com o sítio ativo da enzima.

Vários estudos investigam o potencial antioxidante do ácido fítico em alimentos, já que a necessidade em aumentar a conservação e a qualidade dos produtos alimentícios têm sido crescente. Em sistemas alimentares, os lipídeos podem ser oxidados na presença de oxigênio, através de reações de radicais livres que geram peróxidos e hidroperóxidos. Os catalizadores da oxidação lipídica em carnes e seus derivados são: mioglobinas, hemoglobinas, citocromos, ferro não hemínico e metais de transição, gerando a rancificação oxidativa (St. ANGELO, 1996; SOARES, 1998). Como o ácido fítico apresenta potencial para quelar ferro, ele suprime a catálise desse íon nas reações oxidativas e gera uma forte função antioxidante na preservação de sementes (GRAF; EATON, 1990).

Uma investigação do efeito do ácido fítico na peroxidação lipídica de carne bovina demonstrou que sua ação antioxidante foi maior em pH neutro ou elevado. O ácido fítico pôde inibir a peroxidação lipídica acelerando a auto-oxidação de íons ferrosos para íons férricos, formando quelatos férricos, inativando-os cataliticamente. Desta forma, o ácido fítico removeu o ferro derivado da mioglobina, do fosfolipídio carregado negativamente e preveniu sua auto-oxidação e a formação do odor rançoso (LEE; HENDRICKS, 1995).

Outro estudo, em filés de peito de frango armazenados por até cinco dias a 6 ± 1 ° C, a adição de 2 mmol.L^{-1} de ácido fítico como antioxidante complementar em filés de peito suplementados com 0,12 g de vitamina E absorvido/ kg de filé, não inibiu a oxidação lipídica, porém, um efeito sinérgico inibiu cerca de 95,30 % do desenvolvimento do aroma de requeijado até o quinto dia de armazenamento. O ácido fítico contribuiu significativamente para a inibição da oxidação lipídica e do desenvolvimento de aroma de requeijado, sendo que a concentração mais efetiva foi de 2,64 g de ácido fítico/ kg de amostra (SOARES, 1998).

Ahn et al. (2004) avaliaram a atividade antioxidante e anti-radical do ácido fítico irradiado a 0, 10 e 20 kGy e compararam com antioxidantes comumente utilizados na indústria de alimentos (tocoferol, ácido ascórbico e BHA, hidroxianisol butilado). A atividade antioxidante do ácido fítico em ausência de radiação, em modelos lipídicos (óleo de soja emulsificado), foi mais elevada que os outros antioxidantes durante o armazenamento. E o ácido fítico irradiado a 20 kGy, também apresentou atividade antioxidante mais elevada quando comparado aos outros antioxidantes. O ácido fítico acrescentado em carnes, frutos do mar enlatados, frutas, legumes, queijo, macarrões, molho de soja, sucos, pão e bebidas alcoólicas evita a descoloração, aumenta a qualidade nutricional e prolonga a vida de prateleira do produto (DOST; TOKUL, 2006).

A propriedade quelante do ácido fítico pode facilitar a eliminação de metais pesados potencialmente tóxicos para o organismo, bem como auxiliar na quimioprevenção do câncer. O estudo de Midorikwa et al. (2001) revelou que o ácido fítico inibiu eficientemente o dano oxidativo causado ao DNA. O IP₆ pôde quelar o Cu(II) e com isso diminuir a formação do 8-oxo-7,8-dihidro-2-deoxiguanosine em culturas de células tratadas num sistema gerador de peróxido de hidrogênio, H₂O₂, utilizando glucose oxidase. Outro estudo de Somasundar et al. (2005), relata o efeito inibidor do ácido fítico contra tumores, incluindo os de mama e os de cólon. Além disso, demonstrou *in vitro*, a ação do ácido fítico em células pancreáticas pela redução significativa na proliferação de células cancerosas e pelo aumento da atividade da apoptose. Os autores sugerem que o ácido fítico tem potencial para tornar-se um eficaz adjunto no tratamento de câncer pancreático.

O ácido fítico, IP₆, e seus sais são reagentes promissores para suavizar a corrosão de metais. Essas substâncias são altamente eficientes e não prejudiciais ao meio ambiente quando comparadas aos inibidores tradicionais tóxicos. Estudos realizados por Yang et al. (2004), para elucidar a estrutura e as características anticorrosivas de duas espécies de IP₆ foram

construídas em monocamadas uniformes na superfície do eletrodo de prata sob condições de pH 1,27 e 13. Medidas eletroquímicas e de Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (SERS), revelaram que a forte interação entre a espécie totalmente deprotonada IP₆, e a superfície do eletrodo de prata, mostrou potencial de corrosão mais elevado. Isso foi observado por uma voltagem mais positiva a partir da presença de monocamadas uniformes de moléculas de IP₆ deprotonadas do que na presença de monocamadas uniformes de moléculas de IP₆ protonadas.

Segundo estudos de Paddon e Marken (2004), a hemoglobina adsorve prontamente em filmes de fitato com dióxido de titânio, TiO₂, em solução tampão 0,1 mol.L⁻¹ de fosfato a pH 5,5. Neste trabalho, o filme foi preparado por processo de deposição de camada por camada a partir de nanopartículas de TiO₂ (com diâmetro de 6-10 nm) e ácido fítico sobre um eletrodo de óxido de índio dopado com estanho (ITO). Os resultados mostraram que o tamanho das partículas e a porosidade nos filmes de fitato e TiO₂ têm considerável efeito na adsorção e no transporte de proteínas. Segundo os dados de voltametria, a imobilização da hemoglobina ocorre somente na superfície do eletrodo. Contudo, parâmetros como força iônica, pH e temperatura, podem afetar o processo de imobilização. Segundo estudo de Yang et al (2005), moléculas de ácido fítico foram adsorvidas quimicamente sobre a superfície de cobre, formando monocamadas ordenadas através de dois fosfatos co-planares. A superfície de cobre sobre a monocamada de ácido fítico demonstrou capacidade de inibir a corrosão, porém, a eficiência de inibição foi de 41,2 %, devido à co-adsorção da água.

Zhao; Xu e Chen (2006) construíram filmes de multicamadas magnéticas de Fe₃O₄ em várias bases condutoras (eletrodo de vidro e carbono (GCE), ITO e folha de alumínio, Al) por eletrodeposição de nanopartículas de filme delgado de quitosana/Fe₃O₄ e, em seguida, camada por camada, usando ácido fítico e Fe₃O₄/quitosana. Observaram que a força de condução entre Fe₃O₄/quitosana e ácido fítico não se deve somente às interações eletrostáticas

como nos sistemas comuns, mas também, às interações entre o fosfato e a superfície do óxido de ferro, que assume a função de fortalecer e estabilizar o sistema. O filme de multicamada mostrou biocompatibilidade à hemoglobina adsorvida, houve transferência direta de elétron com a base de eletrodo de vidro e carbono e conservou alta atividade catalítica. Este sistema forneceu um simples caminho para a construção de filmes de nanopartículas em diversas bases condutoras para o desenvolvimento de biosensores.

Uma aplicação recente do ácido fítico está na fotoprodução de Fe(II) em água do mar. O ferro é essencial em sistemas bioquímicos, incluindo fotossíntese e fixação de nitrogênio. Hidróxidos de ferro (III) amorfos são a maior fonte de fotoprodução de Fe(II) em água do mar. Em um estudo, a adição entre 65 e 105 nM de ácido fítico aumentou a concentração da fotoprodução de Fe(II) com 0,16 nM de Fe(II) por nM de ácido fítico. Presumiu-se que a agregação de Fe(III) com o ácido fítico conduziu a um aumento da superfícies coloidal para um aumento da fração de Fe(II) foto-reduzido (RIJKENBERG et al., 2006).

3.4 FORMAÇÃO DE COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO

O ácido fítico forma ligações eletrostáticas fortes com resíduos amino acil básico a pH baixos e assim precipita muitas proteínas a pH inferiores a 5,0. Em pH neutro e alcalino, o fitato e as proteínas têm uma carga líquida negativa o que leva a dissociação destes. Entretanto, os cátions polivalentes formam uma ponte de metal entre o ácido fítico e as proteínas permitindo sua associação em pH neutro (GRAF; EATON, 1990).

A estrutura do ácido fítico sugere um elevado potencial quelante. As espécies químicas Zn, Fe, Cu e Mn interagem com o ácido fítico formando complexos insolúveis, no pH do intestino, alterando a disponibilidade metabólica desses elementos (WINDISCH, 2002).

Alimentos processados contêm misturas de diferentes inositol fosfatos. O IP₆ e seus derivados IP₅, IP₄, IP₃ ligam-se a íons metálicos Cu²⁺, Zn²⁺ e Cd²⁺, *in vitro*, a valores de pH próximos do duodeno. Titulações potenciométricas foram conduzidas em pH 3-7, sendo que as frações de fosfatos de inositol tiveram uma capacidade de ligação pronunciada a pH 5 e 7. As formações dos complexos metálicos ocorreram na ordem do cobre, zinco e cádmio para todos inositol fosfatos, indicando a mesma ordem da força das ligações. Para IP₆, a diferença foi pequena entre Cu e Zn (PERSSON et al., 1998).

Titulações por ressonância magnética de fósforo 31(RMN ³¹P) do sistema ácido fítico-Zn²⁺ sugerem que o íon metálico está ligado ao grupo fosfato da posição dois ou da posição cinco formando várias espécies monocoordenadas em baixos valores de pH. Em pH próximo de 9, espécies bicoordenadas ocorrem, provavelmente, envolvendo os grupos fosfatos quelantes das posições um, dois e três. Espectros eletrônicos do complexo ácido

fítico- Co^{2+} mostram uma provável geometria octaédrica para espécies monocoordenadas entre pH 2-7 e complexos tetraédricos acima de pH 9 (BEBOUT-BRIGAUD et al., 1999).

Siner; Heynck e Hesse (2001) relataram que a capacidade de ligação do cálcio em farelos ricos em fitatos é dependente do pH. Em pH gástrico, a razão de cálcio ligado nos farelos estudados foi baixa, de 0,022 para 0,040 mmol de cálcio/g de farelo. O farelo de soja apresentou altos valores de ligação em pH 4,0 e baixos valores entre o pH 5,0 e 8,0. A ordem quantitativa das ligações aumentou com o aumento de pH para os farelos de arroz> trigo> centeio> aveia. Segundo os autores, essa dependência de pH é devido aos grupos ácidos do éster de fosfato do ácido fítico não estarem dissociados em pH baixos, tendo poucos sítios de ligações livres para o cálcio.

O ácido fítico é considerado um componente importante na fibra alimentar o qual diminui a disponibilidade de minerais em cereais. Ekholm et al. (2003) estudaram o efeito do ácido fítico na solubilidade de minerais no farelo de aveia pela digestibilidade do ácido fítico com a enzima fitase e por combinação do tratamento da fitase com adição de agentes quelante comuns em alimentos (ácido cítrico, ácido málico e glicose). Os resultados mostraram que a solubilidade de Ca, Mg e K aumentaram quando os fitatos foram hidrolisados. O efeito combinado da fitase e um agente quelante aumentou significativamente a solubilidade de Ca, Mg, Zn e Mn no farelo de aveia.

Estudos têm demonstrado que o ácido fítico possui a habilidade em ligar-se a minerais, proteínas, amido. Dendougui e Schwedt (2004) analisaram, *in vitro*, a capacidade de ligação do cálcio com o ácido fítico em diferentes amostras de alimentos. Os resultados obtidos mostraram que a capacidade do cálcio em ligar-se ao ácido fítico está relacionada ao pH. A razão molar ou capacidade de ligação de cálcio para ácido fítico extraídos dos alimentos *in vitro* varia de 3 mol de cálcio por mol de ácido fítico para soja, grão-de-bico e

aveia, 2 mol de cálcio por mol de ácido fítico para o arroz, 1 mol de cálcio por mol de ácido fítico em milho semolina.

Engle-Stone et al. (2005) utilizaram um modelo *in vitro* de célula de digestão para determinar os níveis de ácido ascórbico (AA) e o "fator alimento" necessário para promover a absorção de Fe complexado com ácido fítico e ácido tânico (TA). O ácido ascórbico reverteu a inibição de absorção do Fe pelo ácido fítico com a razão molar de 1:20:1 (Fe:IP₆:AA), porém, não apresentou efeito na absorção do Fe complexado com o ácido tânico. Para o "fator alimento", o pescado cancelou a inibição do Fe pelo IP₆, mas não pelo TA. Os autores relatam que, além do pH e complexação por compostos como ácidos orgânicos, polifenóis e proteínas, a concentração dos complexos de Fe, a força de ligação e a interação dos complexos com outros ingredientes alimentares são fatores significantes que afetam a biodisponibilidade do ferro.

O estudo *in vitro* de Kies et al. (2006) mostrou a interação entre a proteína e o fitato a diferentes pHs. A proteína utilizada foi extraída de cinco alimentos e da caseína. A adição de fitato diminui a solubilidade das proteínas sob condições ácidas, principalmente a pH 2. A adição da fitase hidrolisou o fitato, prevenindo a formação do complexo insolúvel proteína-fitato. A adição da fitase solubilizou a proteína e não a degradou e assim, concluíram que a fitase previne a formação de complexos proteína-fitato e auxilia na sua dissolução, podendo ter um efeito positivo na digestibilidade da proteína em animais.

Os principais componentes de alimentos infantis são cereais, vegetais e legumes. Considerados boas fontes de proteínas, minerais e vitaminas, esses componentes podem conter ácido fítico como um fator antinutricional. Durante a fase do pré-desmame, a dieta dos bebês é baseada em farinhas de cereais e substitutos do leite materno. A característica negativa do ácido fítico na disponibilidade de minerais pode afetar a saúde do bebê durante esta primeira fase. Os métodos de espectrofotometria (AOAC e reagente de Wade) e

cromatografia (GC-FID e HPLC) foram comparados na determinação dos níveis de ácido fítico em alimentos infantis comercialmente disponíveis. O método espectrofotométrico de AOAC mostrou elevados níveis de ácido fítico quando comparados aos métodos cromatográficos. Para os alimentos na forma de farinha contendo trigo, arroz ou soja, os níveis de ácido fítico encontrados foram de 241-487 mg.100g⁻¹, enquanto que na forma de pasta, com frutas e vegetais apresentaram 11-92 mg em base úmida. Convertidos em base seca, os níveis de ácido fítico nos alimentos tipo pasta foram tão altos quanto do tipo farinha (PARK et al., 2006).

Uma investigação de Fredlund et al.(2006) realizada em humanos mostrou que a absorção de zinco e retenção de cálcio diminuiu quando a razão molar de fitato para zinco e fitato para cálcio em alimentos eram de 5,7:1 e 0,08:1, respectivamente. Segundo os autores, em um mol de fitato pode-se ligar quatro cátions divalentes, correspondendo à razão molar de fitato:metal 0,25:1. Diversas condições como sinergismo ou competição de cátions e ligantes, presença de cálcio e zinco endógenos no suco digestivo e pH tem um efeito na formação de complexos, os quais influenciam na razão molar fitato:mineral para predizer a dificuldade de absorção de zinco e cálcio.

Um estudo sobre a formação de complexos metálicos mostrou a complexação de Zn(II) e Mn(II) pelos grupos fosfatos de IP₆. Os resultados obtidos por RMN ¹³C evidenciaram uma conformação por IP₆, consistindo de cinco grupos fosfatos equatoriais e um grupo axial mostrando um ambiente químico para o zinco e dois para o manganês. Segundo os autores, estes resultados suportam, pela primeira vez, uma provável estrutura supramacromolecular para complexos de fitato e metais de transição (RODRIGUES-FILHO et al., 2005).

Torres et al. (2005) estudaram as interações do ácido fítico com cátions multivalentes por titulações potenciométricas de pH 2 a 11, força iônica 0,15 mol.L⁻¹ de perclorato de sódio

(NaClO₄) e temperatura 37.0 °C. Segundo os autores, o Fe(III) existe a pH 7,4 como uma mistura das espécies altamente deprotonadas. Em comparação com cátions divalentes, a alta carga do átomo central produz uma interação forte com o ácido fítico e, conseqüentemente, mais prótons são substituídos no ligante. Segundo os pesquisadores, o potencial redox do Fe^{III}/Fe^{II} em solução aquosa pode mudar na presença de ligantes capazes de complexar o metal em um ou em ambos os estados de oxidação. Medidas de voltametria realizadas para estudar a ação do ácido fítico na troca redox Fe^{III}/Fe^{II}, utilizando os eletrodos de carbono vítreo e ouro policristalino, revelou que na ausência de fitato, os valores de potencial do picos anódico (Epa) e catódico (Epc) em pH 3 foram 0,81 V e 0,23 V, respectivamente. Na presença do ácido fítico, o Epa tornou-se menos positivo e a tendência aumentou com a elevação de pH. Em pH 3, o Epa obtido foi 0,46 V e em pH 7 ou 9 foi de 0,23 V. Então, na condição de pH elevado em presença de ácido fítico, o ferro oxida-se facilmente. Esta capacidade do ligante em estabilizar o ferro no estado de oxidação +3 é fundamental para a sua propriedade antioxidante.

De Stefano et al. (2006) investigaram por potenciometria a habilidade seqüestrante do fitato em relação ao íon metálico mercúrio, Hg²⁺, a diferentes forças iônicas de cloreto de sódio na temperatura de 25 °C. Evidenciaram a formação de 11 espécies de fitatoprotonado-mercúrio, sendo oito espécies mononucleares e três dinucleares. Os resultados obtidos mostraram que os valores para as constantes de formação dos complexos são dependentes da força iônica. O fitato mostrou ser um bom agente quelante para o uso nas remediações de lugares poluídos por mercúrio.

Um outro estudo realizado por De Stefano et al. (2006) utilizando a titulação potenciométrica, determinou a interação entre o ácido fítico e cádmio (II) à temperatura de 25 °C, em diferentes proporções de metal:ligante e em diferentes forças iônicas (NaCl). Obteve-se a formação de quatro espécies mononucleares de fitatoprotonado-cádmio, quatro

espécies dinucleares e uma espécie trinucleares. Em condições experimentais de força iônica $0,15 \text{ mol.L}^{-1}$, as espécies detectadas foram $\text{CdH}_2\text{Phy}^{8-}$ e $\text{CdH}_3\text{Phy}^{7-}$ sendo este último, com percentagem de formação acima de 50 % do ácido fítico total, a espécie $\text{Cd}_3\text{H}_2\text{Phy}^{4-}$ representou 68,9 % do fitato total à pH 8,5. As constantes de formação mostraram-se dependentes da força iônica e da proporção metal:ligante.

Crea et al. (2006) estudaram por potenciometria, a formação dos complexos fitato de Mg^{2+} e de Ca^{2+} em diferentes forças iônicas (NaCl) nas temperaturas de 10°C e 25°C . Detectaram seis espécies para o sistema fitato- Mg^{2+} na faixa de pH entre 3 a 7, sendo que em pH 5,1, a espécie predominante foi a $\text{MgH}_5\text{L}^{5-}$ com 45 % de formação, nas condições de força iônica $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (NaCl) e proporção de metal/ligante 3:1 a 25°C . Para o sistema Ca^{2+} -fitato determinaram sete espécies, no mesmo intervalo de pH. As três espécies mais representativas foram as $\text{CaH}_5\text{L}^{5-}$, $\text{Ca}_2\text{H}_4\text{L}^{4-}$ e $\text{Ca}_3\text{H}_3\text{L}^{3-}$ e em pH 5,2, a espécie predominante foi $\text{CaH}_5\text{L}^{5-}$ com formação máxima de 20 %.

Carli et al. (2006) utilizaram a técnica de titulação potenciométrica para verificar as propriedades ácido-base do ácido fítico e do complexo ácido fítico e Ni(II) em solução aquosa, em temperatura de $36 \pm 0,1^\circ\text{C}$ e força iônica constante. Para avaliar o comportamento térmico do ácido fítico com o íon Ni(II) realizaram análises de Termogravimetria (TG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), e para verificar a complexação realizaram os estudos de Espectrofotometria de Infravermelho. Neste estudo, obteve-se sete constantes de estabilidade do ácido fítico com o íon Ni(II) . Os dados obtidos mostraram que o ácido fítico encontra-se totalmente deprotonado em pH 12, onde a espécie ML (um íon metálico para um ligante) encontra-se totalmente formada no mesmo valor de pH. Os resultados obtidos por TG e DSC revelaram tanto para o ácido fítico como para o complexo, estabilidade até a temperatura próxima de 200°C . Por TG, DTG e DSC concluíram também que a

estequiometria do complexo estudado foi de um mol de ligante para um mol de íon metálico. A espectroscopia de infravermelho comprovou a interação entre o ácido fítico e o íon Ni(II).

As características estruturais dos complexos metálicos de ácido fítico isolado são essenciais para avaliar o comportamento químico do ácido fítico no ecossistema solo-planta-água. O estudo de He et al. (2006) por espectroscopia de infravermelho (FT-IR) do ácido fítico, $\text{Na}_{12}\text{IP}_6$, revelou uma banda larga a 1106 cm^{-1} , banda triplete a 972 , 937 e 913 cm^{-1} e outra banda triplete a 830 , 776 e 746 cm^{-1} . Para os compostos IP_6 -metal os sinais característicos foram de 1200 para 700 cm^{-1} (Figura 03). A banda aguda de 972 cm^{-1} do ácido fítico deslocou para 996 cm^{-1} com Ca-IP_6 e 1010 cm^{-1} para Mg-IP_6 . Ambos os compostos apresentaram a banda larga próximo de 1135 cm^{-1} com um ombro característico menor. No espectro de Cu(II) e Mn(II) a banda larga dividiu-se em duas bandas sobrepostas, porém, distinguíveis em 1086 e 1133 cm^{-1} e outra banda aguda a 997 cm^{-1} . Para os complexos de metais trivalentes (Fe e Al) observou-se uma banda fraca (ombro) a 1007 cm^{-1} com uma forte banda a 1092 ou 1166 cm^{-1} . As diferenças estruturais entre os compostos sintetizados e a tendência de um maior deslocamento do número de onda dos complexos metálicos do IP_6 comparado com $\text{Na}_{12}\text{IP}_6$ livre deve-se ao aumento das interações entre os íons metálicos e a ligação P-O do ácido fítico (HE et al., 2006).

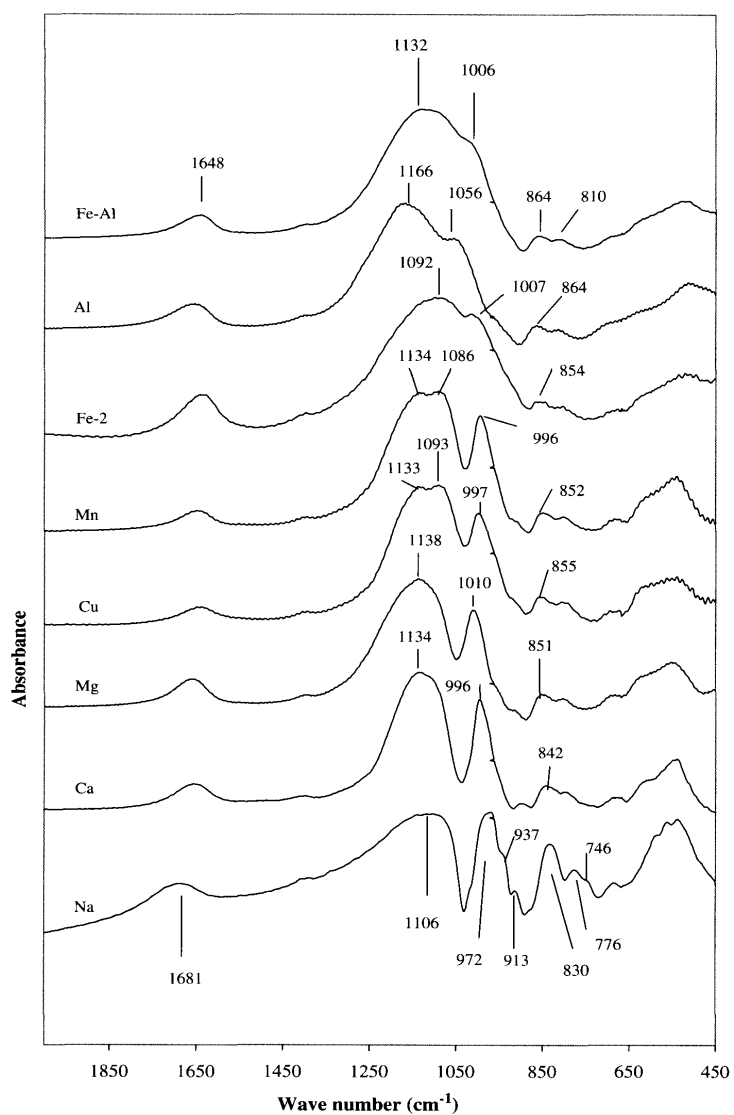


Figura 03. Espectroscopia no infravermelho do fitato dodecasódio e complexos de metal-fitato sintetizados (Fonte: He et al., 2006).

3.5 ÍONS METÁLICOS

Pequenas quantidades de ferro são essenciais para a vida, tanto animal como vegetal, contudo, é tóxico em quantidades elevadas. Do ponto de vista biológico, o ferro é o mais importante dos metais de transição e está envolvido em diversos processos:

- Como agente transportador de oxigênio no sangue de mamíferos, aves e peixes (hemoglobina).
- No armazenamento de O_2 no tecido muscular (mioglobina).
- Como agente de transporte de elétrons em plantas, animais, bactérias (citocromos) e como agente de transferência de elétrons em plantas e bactérias (ferredoxinas).
- Para o armazenamento e remoção de ferro em animais (ferritina e transferrina).
- Na nitrogenase (a enzima das bactérias que fixam o N_2).
- Em diversas outras enzimas: aldeídos-oxidase (oxidação de aldeídos), catalase e peroxidase (decomposição de H_2O_2), e dehidrogenase succínica (oxidação aeróbica de carboidratos).

O Fe(II) é um dos estados de oxidação mais importantes e os sais correspondentes são chamados de sais ferrosos. Os íons ferrosos formam muitos complexos, sendo o mais importante com a hemoglobina. Os complexos são, em sua maioria, octaédricos, embora se formem alguns haletos complexos tetraédricos $[FeX_4]^{2-}$. O Fe^{2+} apresenta configuração eletrônica d^6 e complexos octaédricos com ligantes de campo fraco têm configuração de spin alto com quatro elétrons desemparelhados. Ligantes de campo forte, como CN^- , provocam o emparelhamento dos elétrons. Os complexos correspondentes são mais estáveis, porque têm uma maior energia de estabilização de campo cristalino. O emparelhamento dos elétrons também torna os complexos diamagnéticos. O Fe^{3+} forma, de preferência, complexos com ligantes que se coordenam através de grupos doadores com átomos de O, e não de N. O Fe^{+3}

possui uma configuração eletrônica d^5 . Assim, complexos com ligantes de campo fraco, terão uma configuração de spin-alto, com cinco elétrons desemparelhados. Ligantes de campo forte, como CN^- , SCN^- e oxalato, formam com o Fe^{+3} complexos em que os elétrons se encontram emparelhados (LEE, 1996; SHRIVER; ATKINS, 2003).

Em regiões de pH neutro e alcalino, o potencial de redução do ferro em solução aquosa favorece o estado de oxidação de Fe^{3+} e em valores de pH ácidos, o equilíbrio favorece o estado de oxidação do Fe^{2+} (DEVLIN, 2002). O ferro encontra-se presente numa variedade de alimentos de origem animal e vegetal, particularmente fígado e legumes. O leite é uma fonte pobre de ferro. Aproximadamente 40 % do ferro em carnes, aves e peixes é ferro heme, o restante é ferro não heme. O ferro em produtos derivados do leite, ovos e vegetais é ferro não heme (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994; PLAAMI, 1997). O ferro heme é melhor absorvido (15-35 %) que o Fe não-heme (2-20 %) (MONSEN, 1988). As duas formas de ferro dos alimentos têm diferentes mecanismos de absorção. No trato gastrointestinal, o Fe heme associado com compostos como a globina é liberada na forma de molécula de protoporfirina intacta e em seguida absorvida. Durante a digestão, o ferro não-heme associado com diversos alimentos é liberado e forma quelatos. Os complexos de ferro solúveis aproximam-se da mucosa intestinal e liberam o ferro, o qual é absorvido. Porém, quando o ferro está fortemente quelado, formam-se complexos insolúveis os quais são excretados (MONSEN, 1988). A disponibilidade para absorção do ferro não-heme depende de outros componentes alimentares, como o ácido ascórbico, que aumenta a absorção e o fosfato, que a diminui (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994).

O cozimento de alimentos facilita a separação de ligantes fixados ao ferro, aumentando a sua disponibilidade no intestino. O baixo pH do estômago permite a redução de Fe^{3+} para Fe^{2+} , facilitando a dissociação dos ligantes. O último, requer a presença de um agente redutor que é usualmente feito com a adição de ascorbato na dieta (DEVLIN, 2002).

3.6 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS COMPLEXOS DE ÁCIDO FÍTICO COM OS ÍONS METÁLICOS

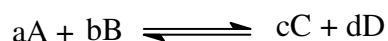
3.6.1 Titulação Potenciométrica

A potenciometria é uma técnica baseada em medidas elétricas, mais precisamente, na diferença de potencial elétrico (E) de uma reação em eletrodo, a qual é gerada em solução aquosa contendo um ligante ou um sistema ligante-íon metálico. O potencial (E) pode ser medido pela combinação de dois eletrodos (um de referência e outro de medida). Sabendo o potencial do eletrodo de referência (E_r), pode-se deduzir o valor do potencial (E). O eletrodo de medida de vidro é formado por um bulbo do mesmo material, contendo solução de HCl com concentração conhecida e um fio de prata coberto com cloreto de prata, completando o circuito elétrico. É sensível aos íons H^+ em solução e a atividade do íon H^+ pode ser calculada através da equação de Nernst. Em soluções diluídas, a atividade iônica medida é equivalente à concentração iônica.

Como o potencial de eletrodo H^+ na célula $H_2/H, Cl/AgCl/Ag$ está diretamente proporcional ao coeficiente de atividade do contra íon cloreto e à atividade do íon H^+ , se a força iônica for mantida constante no sistema, o coeficiente de atividade será constante e o potencial de eletrodo H^+ vai variar linearmente com a concentração dos íons, bem como com a sua atividade (MARTELL; MOTEKAITIS, 1992)

A titulação potenciométrica de ligantes determina as constantes de protonação através de cálculos com um sistema computacional BEST7 (MARTELL; MOTEKAITIS, 1992), e para o sistema ligante-íon metálico, determina as constantes de equilíbrio. Estes dados servem para avaliar cada espécie formada à medida que o ligante vai deprotonando na reação com adição de base e a tendência de complexação do ligante por um íon metálico em solução, respectivamente. A entrada de dados para o programa BEST7 consiste no

fornecimento de mmols de cada componente, molaridade da base, o volume total da solução, o perfil de pH obtido da titulação potenciométrica e as possíveis espécies formadas em solução. O programa utiliza equações de balanço de massa para determinar as constantes de protonação e estabilidade, as quais podem ser definidas como o quociente envolvendo as concentrações das espécies de produtos pelas concentrações das espécies reagentes no equilíbrio, conforme mostra a Equação 01. Os dados são ajustados em um ou vários parâmetros, com um algoritmo programado para minimizar o desvio padrão e com isso coincidir ao máximo os valores de pH calculados com os valores de pH observados, aumentando assim a sensibilidade dos cálculos computacionais.



$$K = \frac{[C]^c \cdot [D]^d}{[A]^a \cdot [B]^b}$$

[] concentração molar

As constantes de protonação e de formação dos complexos definem as curvas de distribuição das espécies através do programa SPEPLOT (MARTELL; MOTEKAITIS, 1992), onde os percentuais máximos de cada espécie presente em solução são desenhados em relação à variação do pH, possibilitando avaliar o percentual de cada espécie presente em solução.

3.6.2 Espectroscopia do Ultravioleta-Visível

A estrutura eletrônica da molécula determina a absorção molecular na região do ultravioleta visível do espectro. Essa absorção de energia é quantizada e conduz à passagem dos elétrons de orbitais do estado fundamental para orbitais de maior energia em um estado excitado. O espectro do UV-Vis obtido é um gráfico de comprimento de onda versus a intensidade da absorção (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1994).

Os metais da primeira e segunda série de transição são caracterizados por terem três orbitais d parcialmente ocupados. Complexos metálicos com ligantes orgânicos absorvem na parte visível do espectro e as cores são provocadas por transições d-d no íon metálico e causam absorções pouco intensas. As absorções que ocorrem na região do UV são referentes às transições de transferências de carga do ligante para o metal ou vice-versa e provocam bandas de absorção mais intensas.

3.6.3 Espectroscopia no Infravermelho

A radiação infravermelha, IR, corresponde à parte do espectro situada entre as regiões do visível e das microondas. Essa região pode ser dividida em região do infravermelho próximo (região dos harmônicos) de 12500 a 4000 cm^{-1} , infravermelho médio (região de vibração-rotação) de 4000 a 200 cm^{-1} e infravermelho remoto (região de rotação) de 200 a 10 cm^{-1} . A região de interesse principal para fins analíticos é a que vai de 4000 a 400 cm^{-1} . Os espectros de infravermelho são formados pelos diferentes modos de vibração e rotação de uma molécula. Acima de 400 cm^{-1} , a radiação tem energia suficiente para provocar

modificação dos níveis de energia vibracional da molécula e estas modificações são acompanhadas por alterações nos níveis de energia rotacional. O espectro vibracional costuma aparecer como uma série de bandas ao invés de linhas, porque a cada mudança de nível de energia vibracional corresponde a uma série de mudanças de níveis de energia rotacional. As linhas se sobrepõem dando lugar às bandas observadas. A frequência ou comprimento de uma absorção depende das massas relativas dos átomos, das constantes de força das ligações e da geometria dos átomos. As intensidades das bandas são expressas como transmitância (T) ou absorbância (A) (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1994, BELLAMY, 1975).

Existem dois tipos de vibrações moleculares: as deformações axiais e as deformações angulares. Uma vibração de deformação axial é um movimento rítmico ao longo do eixo da ligação. As vibrações de deformação angular correspondem a variações de ângulos de ligação. Somente as vibrações que resultam em uma alteração rítmica do momento dipolar da molécula são observadas no infravermelho convencional. O campo elétrico alternado, produzido pela mudança de distribuição de carga que acompanha a vibração acopla a vibração molecular com o campo magnético oscilante da radiação eletromagnética, o que resulta em absorção de energia radiante (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1994, BELLAMY, 1975).

Os espectros de absorção na região de infravermelho podem ser utilizados para a identificação de compostos puros ou para a detecção e identificação de impurezas em amostras em análise.

3.6.4 Análise Térmica

A análise térmica compreende um conjunto de técnicas que possuem um princípio comum: quando uma substância é aquecida (ou resfriada) de acordo com uma programação de temperatura, alguma propriedade química ou física pode ser observada e medida (IONASHIRO; GIOLITO, 1980).

A termogravimetria (TG) é a técnica através da qual são determinadas as perdas ou ganhos de massa de uma substância, quando esta é submetida a uma programação controlada de temperatura. O registro é a curva TG; o equipamento utilizado para esta técnica é a termobalança. As curvas TG permitem obter conclusões quanto à estequiometria, estabilidade térmica da amostra, composição e estabilidade dos compostos intermediários, bem como composição do produto final (KEATTCH; DOLLIMORE, 1975).

A termogravimetria derivada (DTG) é um recurso matemático, que fornece a derivada primeira da curva TG em função do tempo ou da temperatura. O registro é a curva termogravimétrica derivada ou curva DTG (IONASHIRO; GIOLITO, 1980).

3.6.5 Análise Elementar ou Análise por Combustão

Em termos quantitativos, a fórmula representa uma molécula ou uma fórmula unitária de uma substância e esta indica o número de cada tipo de átomo em uma molécula ou fórmula unitária. A análise elementar ou por combustão, refere-se à determinação da composição de uma amostra pela medida das massas dos produtos da combustão. A técnica consiste na queima de uma amostra em um tubo por onde passa um fluxo abundante de oxigênio. Todo o hidrogênio do composto converte-se em água e todo o carbono converte-se em dióxido de carbono. Na versão moderna da técnica, os gases produzidos são separados cromatograficamente e suas quantidades relativas são determinadas pela medida da condutividade térmica (a capacidade de conduzir calor) dos gases que saem do aparelho (ATKINS; JONES, 2006).

4 MATERIAL E DESCRIÇÃO EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAL

4.1.1 Solvente

Utilizou-se como solvente a água, destilada com permanganato de potássio, KMnO_4 , para eliminar substâncias orgânicas voláteis e fervida para remover dióxido de carbono dissolvido.

4.1.2 Solução Metálica

A solução metálica foi preparada mediante a diluição de seu sal de cloreto de ferro(III) hexahidratado, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich). A padronização foi realizada por titulação complexométrica descrito por Schwarzenbach (1969). Para os experimentos com o ferro(II) utilizou-se sulfato de ferro(II) heptahidratado, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Vetec), na forma sólida.

4.1.3 Ligante

O ácido fítico (Sigma®) na forma de sal de dipotássio, $\text{K}_2\text{C}_{60}\text{H}_{16}\text{P}_6\text{O}_{24}$, com grau de pureza maior que 97 %, foi utilizado em todas as análises realizadas no trabalho.

4.1.4 Eletrólito Suporte

Utilizou-se cloreto de potássio, KCl (Merck) como eletrólito suporte para manter a força iônica constante a $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ nos sistemas reacionais.

4.1.5 Titulante

A solução de hidróxido de potássio, KOH, foi preparada a partir da diluição de uma ampola Dilut-it (Merck) com água destilada e padronizada por titulação com biftalato ácido de potássio (Reagen), padrão primário, e como indicador a fenolftaleína.

4.2. DESCRIÇÃO EXPERIMENTAL

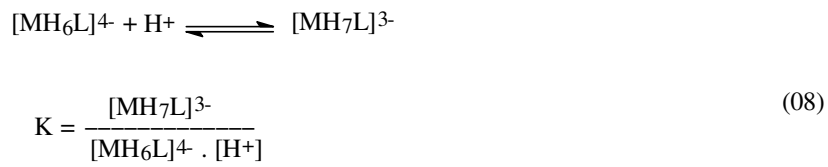
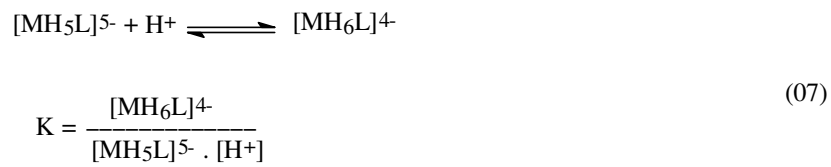
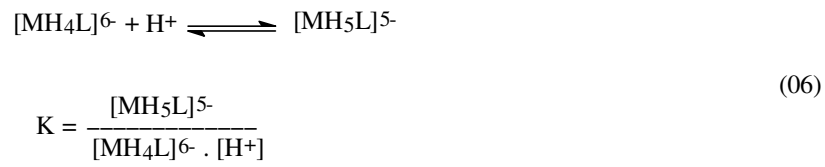
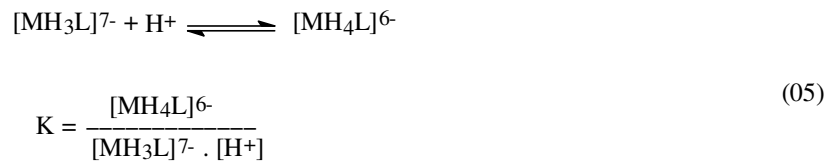
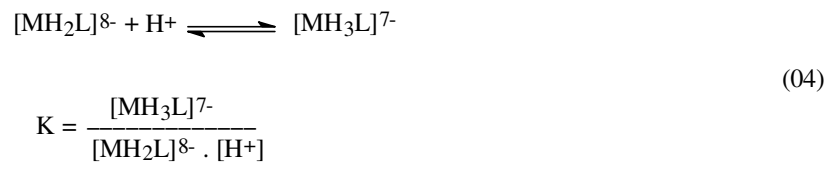
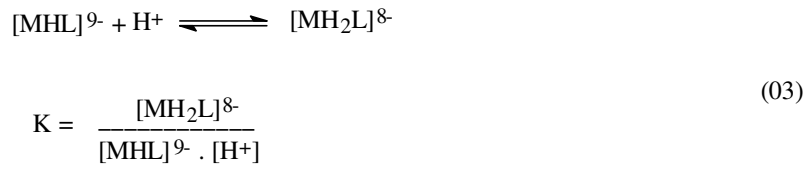
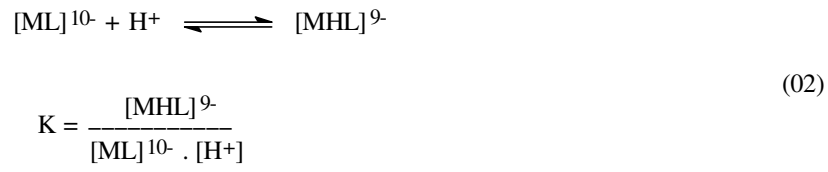
4.2.1 Estudos Potenciométricos

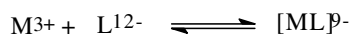
As titulações potenciométricas foram conduzidas num pHmetro de pesquisa, Micronal, modelo B-474, equipado com um eletrodo de vidro e outro de referência do tipo Ag/AgCl, previamente calibrados com soluções tampão pH 7,0 e 4,0 e com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl), pH próximo de 2, para ler diretamente $-\log[H^+]$. As titulações foram realizadas numa cela de vidro termostatzada a $36 \pm 0,1$ °C, força iônica constante de $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ de KCl e a atmosfera inerte sob fluxo contínuo de argônio purificado (KOH). A solução titulante KOH, isenta de CO_2 , foi adicionada em alíquotas de 0,05 mL com o auxílio da bureta digital Denver, modelo 280.

Para estudar o sistema metal-ligante, utilizou-se 0,050 mmol de Fe(II) e 0,100 mmol de ácido fítico, ambos no estado sólido. Inicialmente se solubilizou $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido fítico e $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ de KCl em água destilada, sob atmosfera inerte de argônio. Após solubilização completa e estabilização do pH, adicionou-se o íon metálico Fe(II) na forma sólida. As titulações foram conduzida na região de pH de 2,3 a 10,4, obtendo-se 91 pontos. Para o sistema contendo ácido fítico em presença de Fe(III), utilizou-se 0,100 mmol de uma solução de Fe(III) e 0,100 mmol de ácido fítico nas condições acima citadas. Neste sistema, obteve-se 97 pontos de titulações entre a faixa de pH de 2,5 a 10,6.

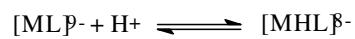
Os gráficos das curvas de titulação para os sistemas exibem valores de **pH versus a** (número de mmols da base dividido pelo número de mmols do ligante).

As constantes de estabilidade dos sistemas contendo ácido fítico em presença dos íons metálicos Fe(II) e Fe(III) foram definidas pelas equações 02 a 08 e 09 a 15, respectivamente. As curvas de distribuição das espécies foram obtidas pelo programa SPEPLOT.

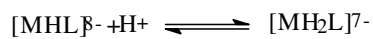




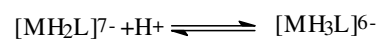
$$K = \frac{[ML]^{9-}}{[M^{3+}] \cdot [L^{12-}]} \quad (09)$$



$$K = \frac{[MHL]^{8-}}{[ML]^{9-} \cdot [H^+]} \quad (10)$$



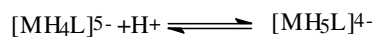
$$K = \frac{[MH_2L]^{7-}}{[MHL]^{8-} \cdot [H^+]} \quad (11)$$



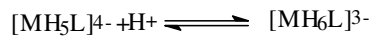
$$K = \frac{[MH_3L]^{6-}}{[MH_2L]^{7-} \cdot [H^+]} \quad (12)$$



$$K = \frac{[MH_4L]^{5-}}{[MH_3L]^{6-} \cdot [H^+]} \quad (13)$$



$$K = \frac{[MH_5L]^{4-}}{[MH_4L]^{5-} \cdot [H^+]} \quad (14)$$



$$K = \frac{[MH_6L]^{3-}}{[MH_5L]^{4-} \cdot [H^+]} \quad (15)$$

[] = Concentração molar

4.2.2 Estudos Espectroscópicos de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível

Estudos espectroscópicos de absorção no UV-Vis foram conduzidos para acompanhar a formação dos complexos entre o ácido fítico e os íons metálicos Fe(II) e Fe(III), em solução aquosa. Para o sistema ácido fítico-Fe(II), preparou-se a solução na cela termostaticada a $36 \pm 0,1$ °C, força iônica constante $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ (KCl), solubilizou-se $2 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido fítico em 60 mL de água destilada, sob um fluxo contínuo de argônio e em seguida misturou-se $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ de Fe(II). Ajustou-se o pH do sistema metal-ligante com KOH $1,000 \text{ mol.L}^{-1}$, de acordo com a concentração máxima de cada espécie detectada a partir dos dados obtidos por potenciometria. Após cada variação de pH, colocou-se uma alíquota da solução numa cubeta de quartzo com caminho ótico de 1 cm e leu-se a absorbância com o aparelho espectrofotômetro MultiSpec-1501 da Shimadzu.

Para a reação do ácido fítico com Fe(III), misturou-se uma amostra de $2 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido fítico e $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ de Fe(III) e completou-se para um volume de 60 mL, sob as mesmas condições experimentais descritas acima. Para cada alteração de pH, com adição de KOH $1,000 \text{ mol.L}^{-1}$, efetuou-se uma nova medida de absorção na região do UV-Vis..

4.2.3 Síntese dos Complexos de Ácido Fítico

A síntese dos complexos ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) foram realizadas a partir dos dados obtidos nas titulações potenciométricas, observando-se a estequiometria e as espécies formadas na região de pH próxima ao intestino delgado, 7,1 e 7,5 e também em pH 9,9.

O complexo ácido fítico-Fe(II) foi preparado pela reação do sulfato de ferro(II) heptahidratado, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e o ácido fítico. Dissolveram-se 0,1000 mmol de ácido fítico e 0,1032 mmol de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em 10 mL de água destilada e fervida. Ajustou-se o pH para 7,40, conforme os dados obtidos no estudo potenciométrico, com uma solução de hidróxido de potássio $1,000 \text{ mol.L}^{-1}$. Manteve-se a solução sob agitação por duas horas e deixou-se a solução restante em repouso à temperatura ambiente. Após 15 dias, obteve-se um sólido com aspecto vítreo, verde acinzentado que foi acondicionado em dessecador.

O complexo ácido fítico-Fe(III) foi preparado pela reação do cloreto férrico hexahidratado, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e o ácido fítico. Utilizou-se 0,1005 mmol de ácido fítico dissolvidos em 5,0 mL de água destilada e 0,1028 mmol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dissolvidos em 5 mL de água destilada. Misturaram-se as soluções, ajustou-se o pH para 7,10 com uma solução de hidróxido de potássio $1,000 \text{ mol.L}^{-1}$. Manteve-se a solução sob agitação por duas horas e deixou-se em repouso à temperatura ambiente durante 15 dias. Obteve-se um sólido amarelado de aspecto vítreo que foi acondicionado em dessecador.

O complexo ácido fítico-Fe(III) também foi sintetizado em pH 9,9, utilizando-se o procedimento descrito anteriormente.

4.2.4 Estudos Espectroscópicos de Absorção na Região do Infravermelho

Os estudos espectroscópicos de absorção no infravermelho foram realizados com a finalidade de caracterizar os complexos de ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III), obtidos no estado sólido. Utilizou-se o equipamento Espectrofotômetro Shimadzu, modelo 8400, operando no modo FT-IR. Para a calibração do equipamento, utilizou-se 100 mg de brometo de potássio (KBr), grau espectroscópico, previamente dessecado, pulverizado e prensado. As amostras de 1 mg dos complexos de ácido fítico com Fe(II) e Fe(III), sintetizadas a partir dos dados potenciométricos, previamente dessecadas, foram prensadas com 100 mg de KBr e em seguida foram feitas as análises.

4.2.5 Análise Elementar

A análise elementar dos complexos sintetizados foi realizada na Central de Análises da Universidade Federal de Santa Catarina. As percentagens de carbono e hidrogênio, CH, das amostras de ácido fítico-Fe(II) (1,908 mg) e ácido fítico-Fe(III) (2,256 mg) foram determinadas com o auxílio do Analisador Elementar CHN-S CE INSTRUMENTS EA 1110.

4.2.6 Estudos Termoanalíticos

A análise térmica foi utilizada com a finalidade de estudar a estabilidade dos complexos ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) frente à variação continuada de temperatura.

Os experimentos de termogravimetria (TG) foram realizados na Universidade Estadual Paulista, Araraquara, os quais foram conduzidos no equipamento TG-50, utilizando uma controladora TC-15 da Mettler Instruments. Para as análises de TG e DTG submeteu-se 3,3381 mg do complexo ácido fítico-Fe(II), 9,9034 mg ácido fítico-Fe(III) e 6,1436 mg de uma amostra de ácido fítico-Fe(III) sintetizado em p[H] 9,9 em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de 100 mL.min⁻¹ à razão de aquecimento 20 °C.min⁻¹ em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTUDOS POTENCIOMÉTRICOS

5.1.1 Curvas de Titulação

Os dados obtidos nas titulações potenciométricas dos sistemas ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III), à temperatura e força iônica constantes estão representados nas curvas das Figuras 04 e 05, respectivamente.

A Figura 04 representa as curvas de titulação do ácido fítico na ausência e presença do íon Fe(II), respectivamente. A primeira curva refere-se à titulação potenciométrica do ácido fítico, a qual revela três regiões tamponadas, evidenciando a presença de hidrogênios ionizáveis. As protonações ocorrem na região de pH 2 a 4 e pH 6 a 11. Na região de pH 2 a 4, quatro mmol de KOH foram consumidos por mmol de ácido fítico, indicando a neutralização de quatro prótons. Na região de pH 4 até próximo de 6, observa-se uma inflexão, indicando que não ocorre protonação nessa faixa de pH. Na faixa de pH de 6 a 9, foram gastos dois mmol de KOH por mmol de ligante, o que denota a presença de dois hidrogênios ionizáveis. A partir de pH 9 a 11, foram consumidos quatro mmol de KOH por mmol de ligante evidenciando a presença de mais quatro hidrogênios ionizáveis, totalizando dez hidrogênios ionizáveis do composto em estudo $[K_2(OH)_{10}H_6C_6P_6O_{14}]$. A segunda curva da Figura 04, refere-se ao sistema ácido fítico na presença do Fe(II). Observa-se que a mesma encontra-se coincidente com a curva do ácido fítico isolado até o pH próximo de 6. Acima deste valor, a curva do ácido fítico com o íon Fe(II) encontra-se abaixo da curva do ácido fítico isolado, isto indica, qualitativamente, que o ligante interage com o íon metálico.

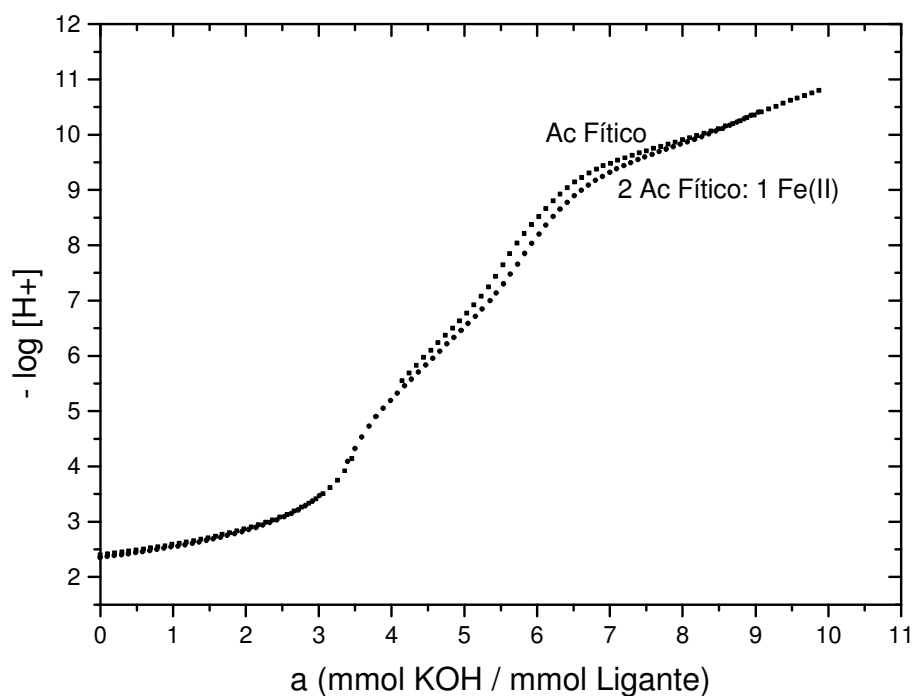


Figura 04. Curvas de titulação potenciométrica do ácido fólico $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em ausência e em presença de Fe(II) $0,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ a $36 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$, atmosfera inerte e força iônica $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ (KCl).

A Figura 05 representa a curva de titulação do sistema ácido fólico na ausência e na presença do íon metálico Fe(III) . A segunda curva da Figura 05, refere-se ao sistema ácido fólico- Fe(III) onde se observa que a mesma encontra-se coincidente com a curva do ácido fólico isolado em pH 2 a 3,5. Acima deste valor, a curva do ácido fólico com o íon Fe(III) encontra-se abaixo da curva do ácido fólico isolado e esse deslocamento revela uma possível interação entre o ligante e o íon metálico.

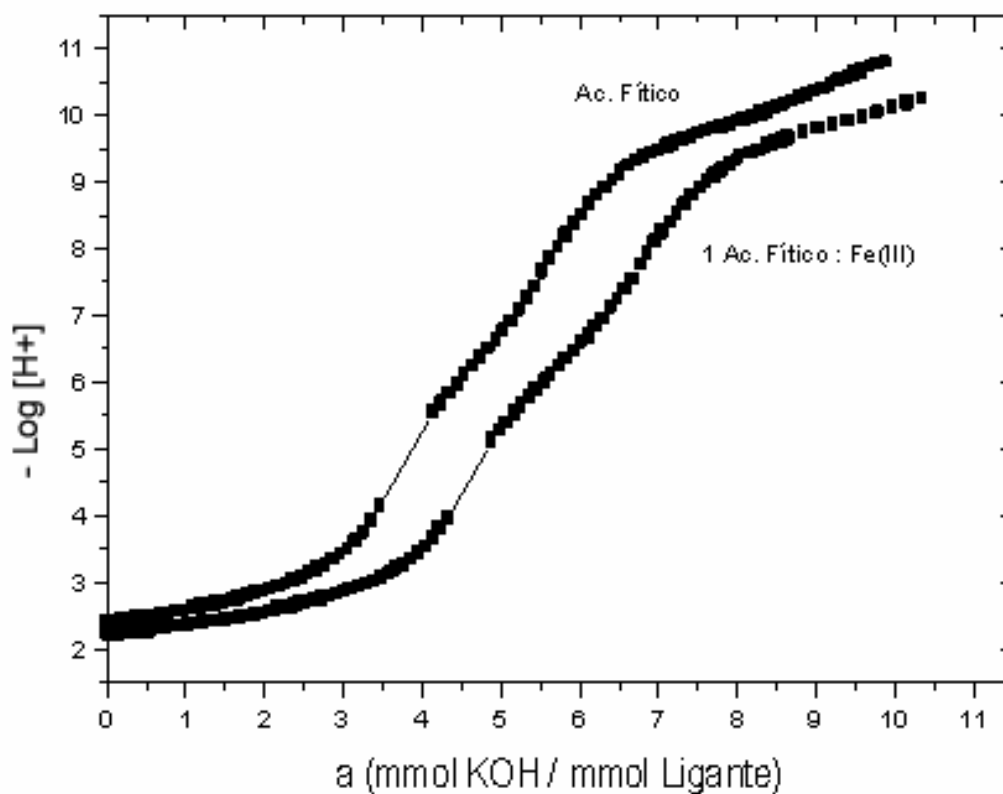


Figura 05. Curvas de titulação potenciométrica do ácido fólico $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em ausência e em presença de $\text{Fe(III)} \ 1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ a $36 \pm 0,1 \text{ }^{\circ}\text{C}$, atmosfera inerte e força iônica $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ (KCl).

5.1.2 Constantes de Formação dos Complexos

Os dados obtidos a partir das titulações potenciométricas foram tratados com o programa computacional BEST7 e as constantes de estabilidade dos sistemas contendo ligante em presença dos íons metálicos Fe(II) e Fe(III) foram definidas pelas equações 02 a 08 (p. 47) e 09 a 15 (p.48), respectivamente, e estão representadas na Tabela 01. Observa-se que a

primeira constante de formação do complexo ácido fítico-Fe(II) apresenta $\log K=16,06$ para a espécie $[\text{MHL}]^{9-}$, indicando uma elevada interação entre o ligante monoprotonado com o metal. Formam-se as espécies $[\text{MH}_2\text{L}]^{8-}$, $[\text{MH}_3\text{L}]^{7-}$, $[\text{MH}_4\text{L}]^{6-}$, $[\text{MH}_5\text{L}]^{5-}$, $[\text{MH}_6\text{L}]^{4-}$, $[\text{MH}_7\text{L}]^{3-}$ e essas se referem ao íon metálico complexado ao ligante nas formas di, tri, tetra, penta, hexa e heptaprotonada, respectivamente. Os dados obtidos, contidos na Tabela 1, mostram que à medida que o ácido fítico torna-se mais protonado, as constantes de estabilidade decrescem. Tal fato sugere que a força de interação entre o íon metálico e o ligante também diminui.

Torres et al. (2005) realizaram um estudo em solução com o ácido fítico em presença de cátions multivalentes. As constantes de estabilidades obtidas para o complexo 1:1 $\text{IP}_6\text{:Fe(II)}$ (um metal:um ligante) para as espécies $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{L})]^{8-}$ $[\text{Fe}(\text{H}_3\text{L})]^{7-}$ foram de 11,44 e 10,52, respectivamente. Esses valores estão próximos aos valores para as espécies $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{L})]^{8-}$, $[\text{Fe}(\text{H}_3\text{L})]^{7-}$ obtidos em nosso trabalho, que foram de 10,01 e 9,52, respectivamente. Deve-se considerar que as condições utilizadas pelos pesquisadores foram temperatura de 30 °C e força iônica $0,15 \text{ mol.L}^{-1}$ de perclorato de sódio, NaClO_4 .

Para o sistema ácido fítico-Fe(III), a primeira constante de formação do complexo apresenta $\log K=18,87$, valor muito elevado para a espécie $[\text{ML}]^{9-}$. Isto denota uma forte interação entre ligante e o íon metálico. Formam-se os complexos $[\text{MHL}]^{8-}$, $[\text{MH}_2\text{L}]^{7-}$, $[\text{MH}_3\text{L}]^{6-}$, $[\text{MH}_4\text{L}]^{5-}$, $[\text{MH}_5\text{L}]^{4-}$, $[\text{MH}_6\text{L}]^{3-}$. Observa-se também uma diminuição nas constantes de formação destas espécies, à medida que o ligante torna-se mais protonado.

Tabela 01. Logaritmos das constantes de formação do complexo ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) a $36 \pm 0,1$ °C a $\mu = 0,100$ mol.L⁻¹ (KCl), atmosfera de argônio.

Quociente de Equilíbrio	Log K ácido fítico-Fe(II)	Log K ácido fítico-Fe(III)
$[ML]/[M].[L]$		18,87
$[MHL]/[ML].[H^+]$	16,06	9,54
$[MH_2L]/[MHL].[H^+]$	10,01	9,33
$[MH_3L]/[MH_2L].[H^+]$	9,52	8,19
$[MH_4L]/[MH_3L].[H^+]$	8,73	6,41
$[MH_5L]/[MH_4L].[H^+]$	6,74	5,55
$[MH_6L]/[MH_5L].[H^+]$	5,64	3,16
$[MH_7L]/[MH_6L].[H^+]$	4,94	

O desvio padrão para o sistema ácido fítico-Fe(II) é $\delta = 0,008653$ e para ácido fítico-Fe(III) é $\delta = 0,006534$; δ -fit é o desvio padrão computado a partir dos valores de p[H] calculados, relativos àqueles observados experimentalmente.

Correlacionando os valores das constantes de formação obtidas para os dois complexos, observa-se que as espécies protonadas do complexo ácido fítico-Fe(II) apresentam um log K mais elevado que as espécies protonadas do complexo ácido fítico-Fe(III). Com isso, pode-se inferir que o íon Fe(II) interage melhor com o ácido fítico em valores de pH baixo. Já para o complexo ácido fítico-Fe(III), a constante de formação mais elevada foi para o ligante totalmente deprotonado, espécie $[ML]^{9-}$, isso sugere uma interação mais efetiva do ligante com o íon Fe(III) em valores de pH mais elevado. Comparando-se esses dois íons metálicos a alta carga do átomo central Fe(III) produz uma interação forte com o ácido fítico e consequentemente mais prótons são substituídos no ligante.

5.1.3 Curvas de Distribuição das Espécies

As curvas de distribuição das espécies para o sistema ácido fítico em presença de Fe(II) e em presença de Fe(III) foram desenhadas pelo programa computacional SPEPLOT e estão representadas nas Figuras 06 e 07, respectivamente.

As curvas de distribuição das espécies para o sistema ácido fítico-Fe(II), Figura 06, mostram que a espécie $[\text{MHL}]^{9-}$, de estequiometria um íon metálico para um ligante monoprotonado, atinge um máximo de formação de 98,7 % a p[H] 11,9. À medida que o p[H] diminui, a concentração desta espécie decresce e aumenta a concentração da espécie $[\text{MH}_2\text{L}]^{8-}$, um íon metálico para um ligante diprotonado, que atinge sua formação máxima de 45,7 % a pH 9,8. A espécie $[\text{MH}_3\text{L}]^{7-}$, um íon metálico para um ligante triprotonado, atinge o máximo de formação de 49 % a p[H] 9,1. Em p[H] 7,5 a espécie predominante é a tetraprotonada, $[\text{MH}_4\text{L}]^{6-}$, com formação máxima de 84 %. A formação das espécies $[\text{MH}_5\text{L}]^{5-}$, $[\text{MH}_6\text{L}]^{4-}$, $[\text{MH}_7\text{L}]^{3-}$, penta, hexa e heptaprotonadas, respectivamente, atingem suas formações máximas entre valores de p[H] 6,4 a 2,0.

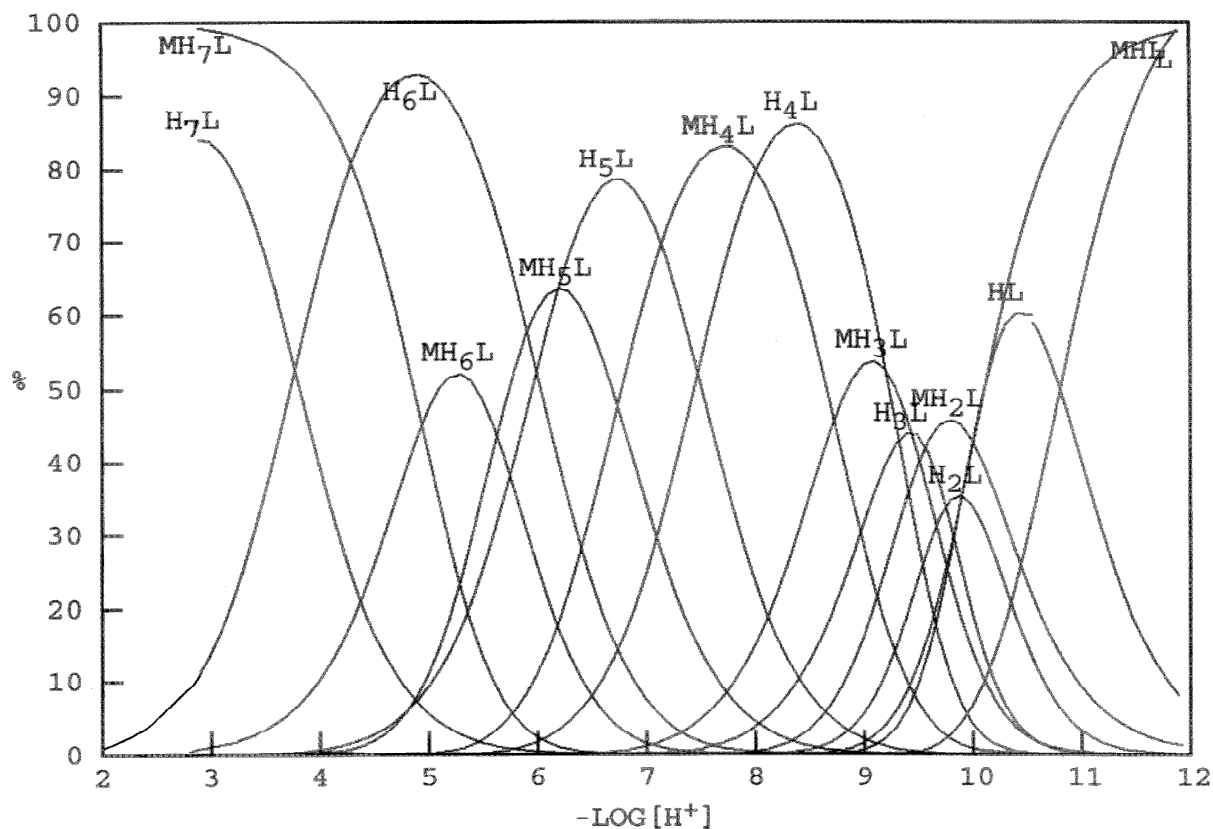


Figura 06. Curvas de distribuição das espécies em função do p[H] para o sistema contendo 0,1 mmol de ácido fítico e 0,05 mmol de Fe(II), $\mu = 0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ a $36 \pm 0,1 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

A Figura 07 representa o diagrama de distribuição das espécies do complexo ácido fítico Fe(III), onde a espécie $[\text{ML}]^{9-}$ refere-se ao complexo com estequiometria um íon metálico para um ligante e atinge um máximo de formação de 48 % a p[H] 9,8. À medida que o p[H] diminui, a concentração da espécie $[\text{ML}]^{9-}$ decresce e aumenta a concentração de $[\text{MHL}]^{8-}$, um íon metálico para um ligante monoprotonado, que atinge sua formação máxima de 27 % a pH 9,5. À proporção que o p[H] decresce, surge a espécie $[\text{MH}_2\text{L}]^{7-}$, com o máximo de formação de 65 % a p[H] 8,9. Em p[H] 7,3, a espécie predominante é a $[\text{MH}_3\text{L}]^{6-}$, que atinge a formação máxima de 79 %. As espécies $[\text{MH}_4\text{L}]^{5-}$, $[\text{MH}_5\text{L}]^{4-}$ e $[\text{MH}_6\text{L}]^{3-}$, tetra, penta, hexaprotonada, respectivamente, atingem suas formações máximas entre valores de p[H] 6,0 a 2,0.

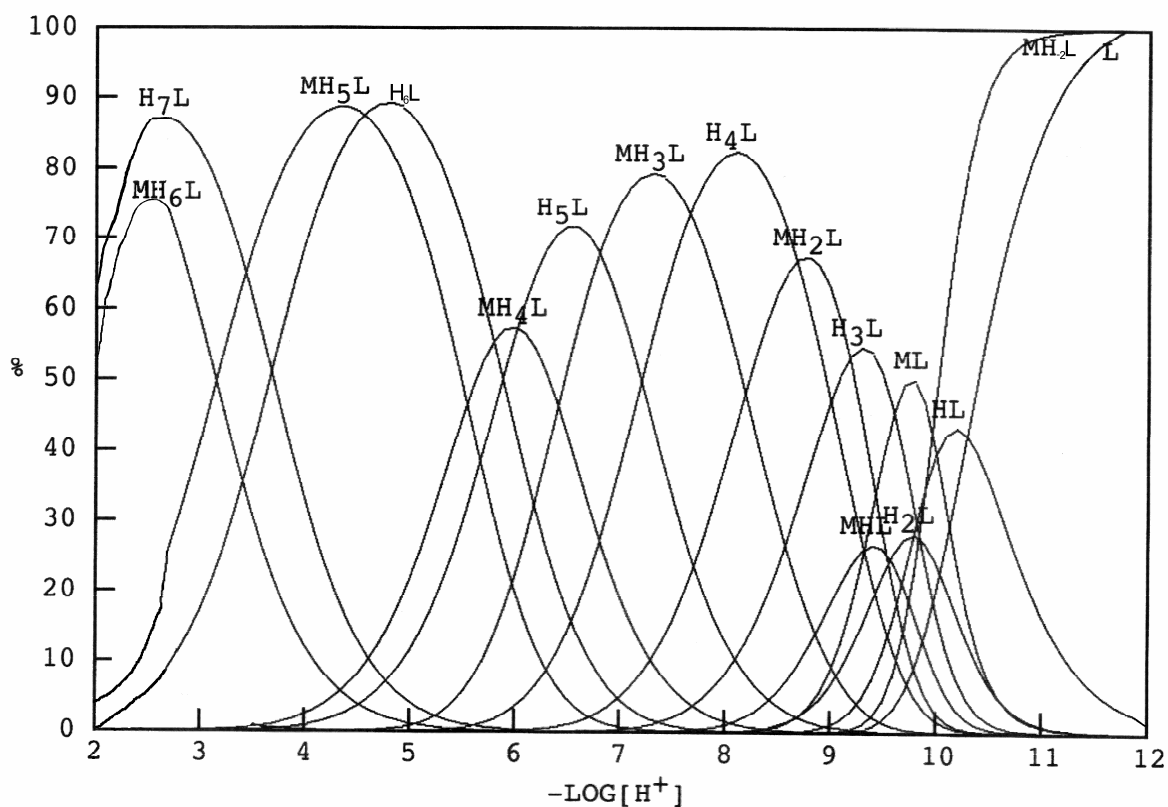


Figura 07. Curvas de distribuição das espécies em função do $p[H]$ para o sistema contendo 0,1 mmol de ácido fólico e 0,05 mmol de $Fe(III)$, $\mu = 0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ a $36 \pm 0,1^\circ \text{C}$.

A partir das curvas de distribuição das espécies para os dois complexos, obteve-se informações em relação à faixa de pH e estequiometria em que os íons $Fe(II)$ e $Fe(III)$ encontram-se coordenados ao ácido fólico. Assim, sintetizaram-se os complexos em proporções estequiométricas e no valor de pH que correspondesse o mais próximo possível ao pH do intestino delgado.

5.2 ESTUDOS ESPECTROSCÓPICOS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL

Os estudos espectroscópicos de absorção no UV-Vis foram conduzidos para acompanhar a formação dos complexos entre o ácido fítico e os íons metálicos Fe(II) e Fe(III) em solução aquosa. Os espectros UV-Vis estão representados nas Figuras 08 e 09.

A Figura 08 representa o sistema contendo ácido fítico em ausência e presença do íon metálico Fe(II), estequiometria 2:1, correspondente às espécies $[\text{MH}_7\text{L}]^{3-}$, $[\text{MH}_6\text{L}]^{4-}$, $[\text{MH}_5\text{L}]^{5-}$ e $[\text{MH}_4\text{L}]^{6-}$, conforme os dados obtidos por potenciometria. Observa-se na Figura 08 que o ácido fítico, curva *a*, não absorve na região do UV-Vis. A curva *b*, refere-se à espécie $[\text{MH}_7\text{L}]^{3-}$, formada em pH 3,13, a qual também não apresenta absorção na região do UV-Vis. Para as curvas *c*, *d* e *e*, à medida que se eleva o pH, o ligante torna-se mais deprotonado, aumentando os sítios de coordenação livres do ligante, favorecendo a complexação com o íon metálico. Observa-se assim, a formação de duas bandas de absorção nas regiões de comprimento de onda de 216 e 279 nm, a absorbância destas bandas aumentam suavemente à medida que o p[H] aumenta. Essas bandas de absorção, na região do ultravioleta, referem-se à transferência de elétrons do ligante para o metal e revelam a interação do ácido fítico com o íon metálico Fe(II).

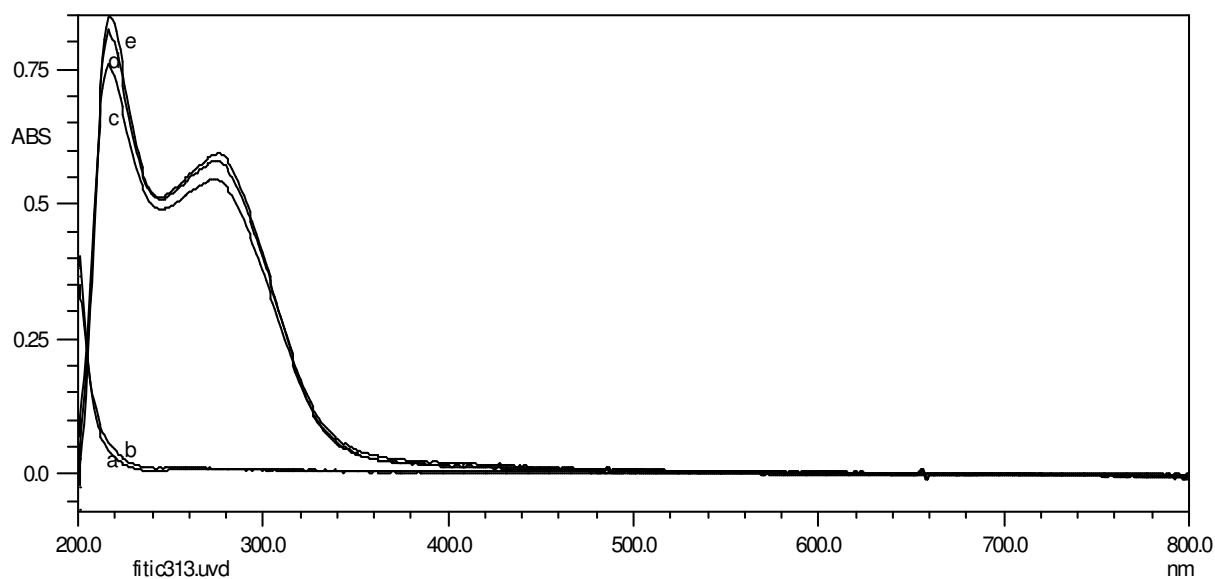


Figura 08. Espectro de UV-Vis do complexo ácido fólico-Fe(II) a $36 \pm 0,1$ °C, força iônica $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$ de KCl, atmosfera de argônio. O espectro *a* refere-se ao ácido fólico na ausência de Fe(II). Os espectros *b*, *c*, *d*, e *e* referem-se às espécies $[\text{MH}_7\text{L}]^{3-}$, $[\text{MH}_6\text{L}]^{4-}$, $[\text{MH}_5\text{L}]^{5-}$ e $[\text{MH}_4\text{L}]^{3-}$, respectivamente.

Para o sistema ácido fólico-Fe(III), Figura 09, observa-se a formação de duas bandas de absorção em 218 e 274 nm. À medida que aumenta o p[H], ocorre um deslocamento da absorbância nas regiões de comprimento de onda de 218 e 274 nm, referente à transferência de elétrons do ligante para o metal, evidenciando a formação das espécies $[\text{MH}_5\text{L}]^{4-}$, $[\text{MH}_4\text{L}]^{3-}$ e $[\text{MH}_3\text{L}]^{2-}$, nos valores de p[H]s 4,30, 6,10 e 7,03 respectivamente, conforme os dados obtidos por potenciometria.

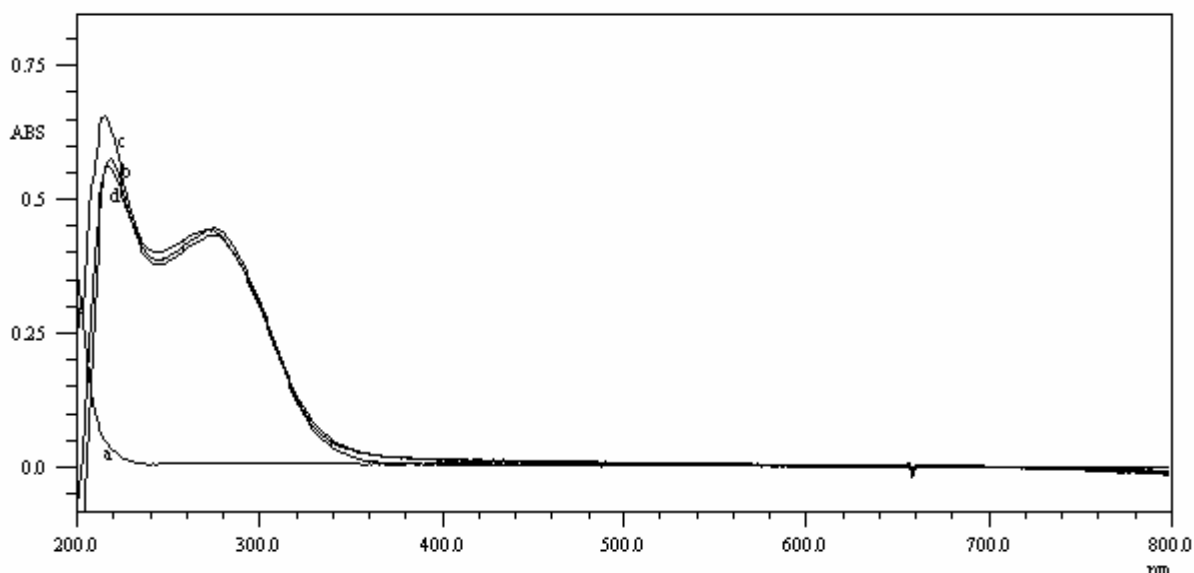


Figura 09. Espectro de UV-Vis do complexo ácido fítico-Fe(III) a $36\pm0,1$ °C, força iônica $0,100\text{ mol.L}^{-1}$ de KCl, atmosfera de argônio. O espectro *a* refere-se ao ácido fítico na ausência de Fe(III). Os espectros *b*, *c* e *d* referem-se às espécies $[\text{MH}_5\text{L}]^{4-}$, $[\text{MH}_4\text{L}]^{3-}$ e $[\text{MH}_3\text{L}]^{2-}$, respectivamente.

As bandas largas em 279 nm para o complexo ácido fítico-Fe(II) e 274 nm para o complexo ácido fítico-Fe(III) correspondem às frequências de 35.842 cm^{-1} e 36.496 cm^{-1} , respectivamente. Essas frequências equivalem à energia de 428 KJ.mol^{-1} para o complexo com Fe(II) e 436 KJ.mol^{-1} para o complexo com Fe(III). Observa-se por esses elevados valores de energia que a interação entre o ligante e os íons metálicos é forte, o que equivale a uma ligação coordenativa. Também, pode-se inferir que a afinidade entre o ácido fítico e o íon Fe(III) é maior, visto que apresenta um valor de energia de interação mais elevado.

5.3 ESTUDOS ESPECTROSCÓPICOS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Os complexos de ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) obtidos no estado sólido foram caracterizados por infravermelho e os espectros estão representados nas Figuras 10 a 13.

Na Figura 10, observa-se o espectro de absorção no infravermelho do grupamento $\text{O}=\text{PO}_3\text{H}_2$ do ácido fítico na ausência de íons metálicos, o qual mostrou absorção em $1647,1\text{ cm}^{-1}$ correspondente ao grupo $\text{O}=\text{P}(\text{OH})$. O grupamento $\text{P}=\text{O}$ absorveu em $1222,8\text{ cm}^{-1}$ e as ligações sigma $\text{P}-\text{OH}$ mostraram absorção em $1070,4$ (estiramento simétrico) e 966 cm^{-1} (estiramento assimétrico).

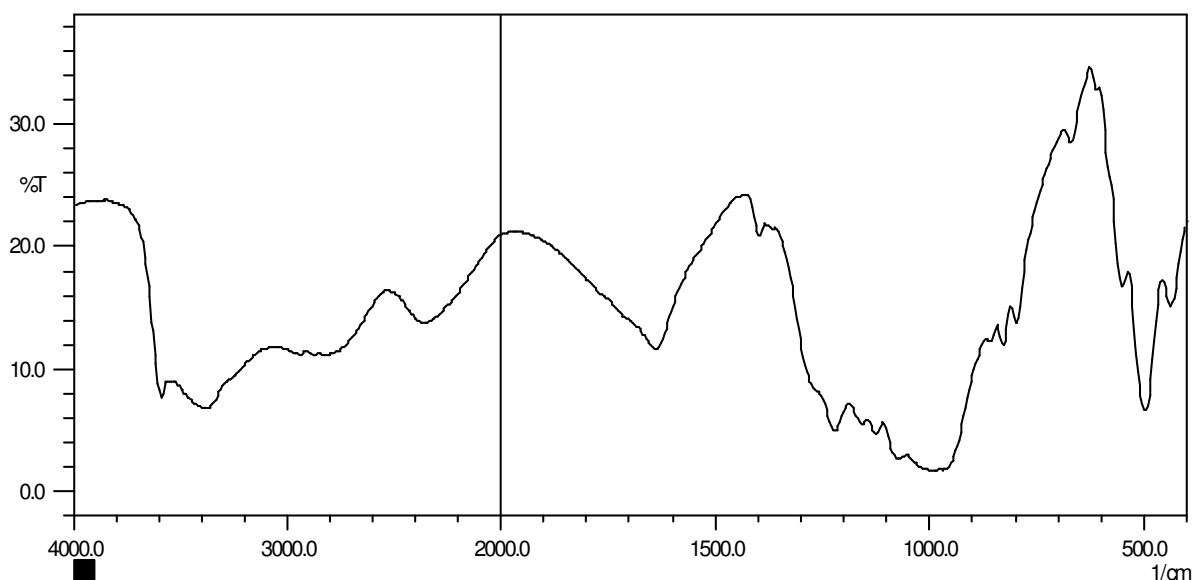


Figura 10. Espectro de infravermelho de uma amostra do ácido fítico à temperatura ambiente

Na Figura 11, observa-se o espectro de infravermelho do complexo ácido fítico-Fe(II). A região de frequência de $1647,1\text{ cm}^{-1}$ do grupamento $\text{P}=\text{O}(\text{OH})$ deslocou-se levemente para $1658,7\text{ cm}^{-1}$. O grupo $\text{P}=\text{O}$ mostra um deslocamento de $1222,8\text{ cm}^{-1}$ para $1122,5\text{ cm}^{-1}$ e as ligações sigmas $\text{P}-\text{OH}$ foram deslocadas de $1070,4$ e 966 cm^{-1} para $987,5$ e $840,9\text{ cm}^{-1}$.

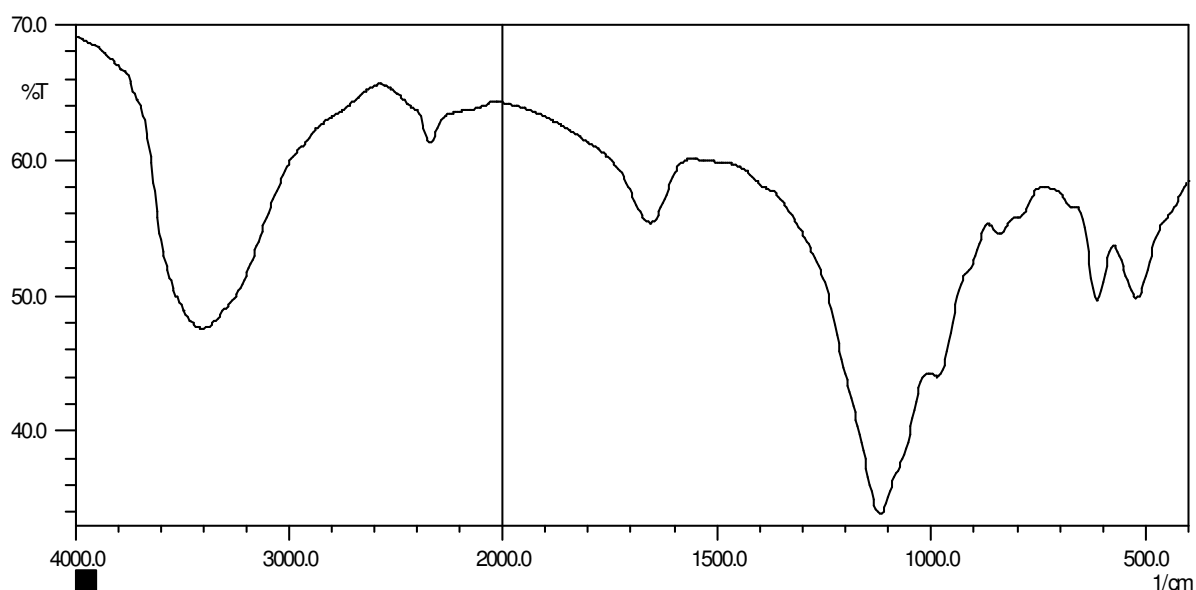


Figura 11. Espectro de infravermelho de uma amostra do complexo ácido fítico-Fe(II) à temperatura ambiente

O espectro de infravermelho do complexo ácido fítico-Fe(III), Figura 12, mostra semelhanças com o espectro do complexo ácido fítico-Fe(II). A região de frequência de $1647,1\text{ cm}^{-1}$ referente ao grupamento $\text{O}=\text{P}(\text{OH})$ deslocou-se para $1649,5\text{ cm}^{-1}$. O grupo $\text{P}=\text{O}$ mostra um deslocamento de $1222,8\text{ cm}^{-1}$ para $1145,6\text{ cm}^{-1}$. As regiões de frequência $1070,4$ e $966,3\text{ cm}^{-1}$, referentes às ligações $\text{P}-\text{OH}$, mostram-se deslocadas para $1072,3$ e $987,5\text{ cm}^{-1}$.

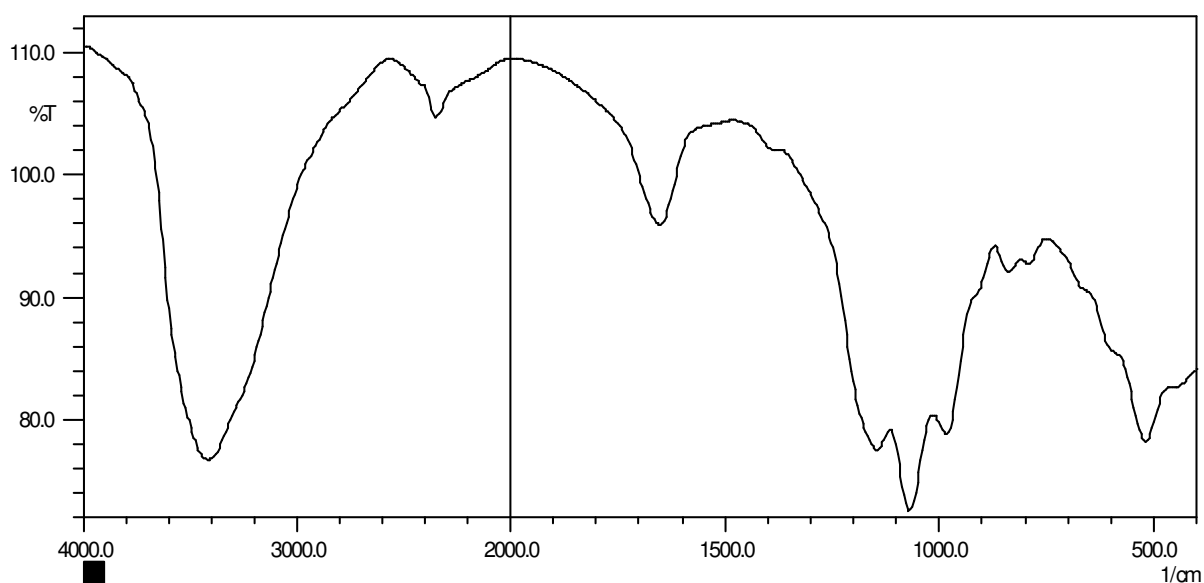


Figura 12. Espectro de infravermelho de uma amostra do complexo ácido fólico-Fe(III) à temperatura ambiente

Na Figura 13, observa-se que o espectro de infravermelho do complexo ácido fólico-Fe(III) sintetizado em p[H] 9,9, mostrou-se mais deslocado que o complexo ácido fólico-Fe(III) sintetizado em p[H] 7,1. A região de frequência de $1647,1\text{ cm}^{-1}$ referente ao grupamento $\text{O}=\text{P}(\text{OH})$ deslocou-se para $1658,7\text{ cm}^{-1}$. O grupo $\text{P}=\text{O}$ mostra um deslocamento de $1222,8\text{ cm}^{-1}$ para $1130,2\text{ cm}^{-1}$. As regiões de frequência $1070,4$ e $966,3\text{ cm}^{-1}$, referentes às ligações $\text{P}-\text{OH}$, mostram-se deslocadas para $975,9$ e $840,9\text{ cm}^{-1}$.

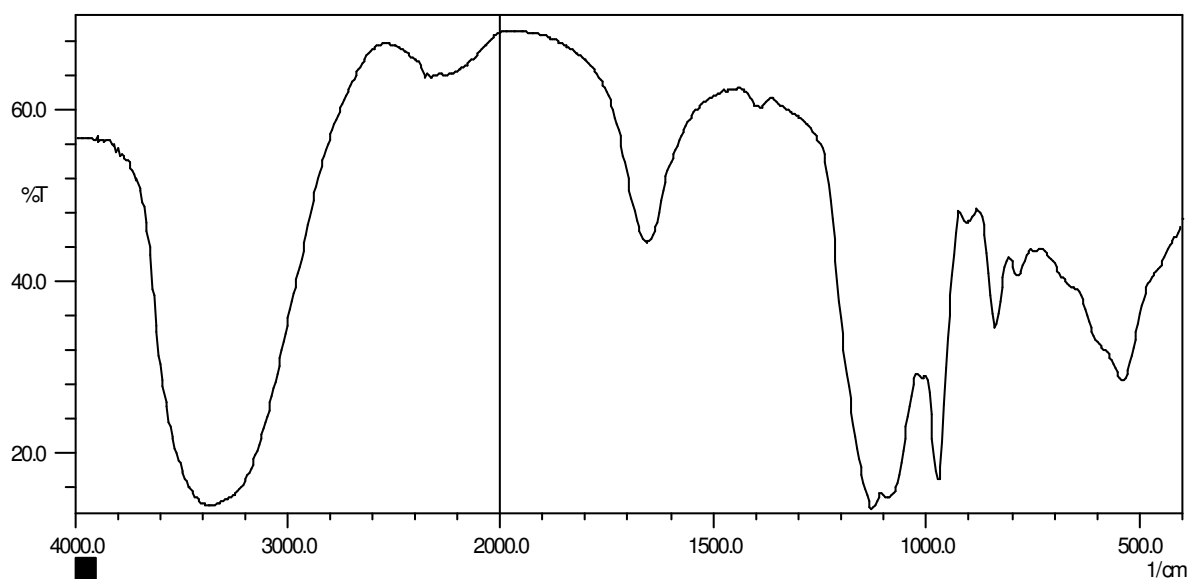


Figura 13. Espectro de infravermelho de uma amostra do complexo ácido fólico-Fe(III) em pH 9,8 à temperatura ambiente

Tabela 02. Frequências do grupamento P-O- obtidas em espectros de infravermelho do ácido fólico dipotássico e dos complexos ácido fólico-Fe(II), espécie $[MH_4L]$ e ácido fólico-Fe(III), espécies $[MH_3L]^{6-}$ e $[ML]^{9-}$.

Amostras	Estiramento simétrico	Estiramento assimétrico
	(cm^{-1})	(cm^{-1})
Ácido fólico dipotássico	1070,4	966,3
Ácido fólico - Fe(II), $[MH_4L]$	987,5	840,9
Ácido fólico - Fe(III), $[MH_3L]^{6-}$	1072,3	987,5
Ácido fólico - Fe(III), $[ML]^{9-}$	975,9	840,9

Os dois complexos ácido fólico-Fe(III) sintetizados em pH 7,1 e pH 9,9, mostraram deslocamentos levemente diferentes, isto deve-se ao fato que a espécie formada em p[H] 7,1 é a $[MH_3L]^{6-}$ e em p[H] 9,9 é a espécie $[ML]^{9-}$. Conforme os dados observados por potenciometria, a espécie que contém o ligante totalmente deprotonado apresentou uma constante de formação mais elevada que a espécie triprotonada. Esta observação está em concordância com os dados de infravermelho, onde a espécie $[ML]^{9-}$, apresentou um

deslocamento das bandas mais acentuado quando comparado com o ligante triprotonado e o íon Fe(III). Ambas as informações mostram uma interação mais efetiva entre o ligante totalmente deprotonado e o íon Fe(III).

5.4 ANÁLISE ELEMENTAR

A análise elementar de carbono e hidrogênio, CH, de uma amostra do complexo ácido fítico-Fe(II) apresentou um teor de 2,29 % de hidrogênio e 5,33 % de carbono. Para a amostra do complexo ácido fítico-Fe(III), o teor de hidrogênio obtido foi de 2,27 % e de carbono 4,93 %. A partir desta análise, constatou-se a presença do ácido fítico nos complexos. Os teores obtidos, tanto para hidrogênio quanto para carbono, foram relativamente baixos, porém, se considerarmos as espécies sintetizadas, $K_6[FeC_6H_{10}P_6O_{24}]$ e $K_6[FeC_6H_9P_6O_{24}]$, as percentagens de fósforo, oxigênio, íons Fe(II), Fe(III) e o contra-íon potássio, K^+ são mais elevadas que as percentagens de carbono e hidrogênio presentes nas amostras.

5.5 ESTUDOS TERMOANALÍTICOS

As técnicas de termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTG) foram utilizadas para avaliar o comportamento térmico dos complexos ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III), obtidos no estado sólido a diferentes valores de pH. As curvas TG/DTG estão representadas nas Figuras 14 a 16.

A Figura 14 representa as curvas de TG e DTG do complexo ácido fítico-Fe(II). As perdas de massa ocorrem em três etapas e estão representadas na Tabela 03. A primeira etapa, ocorre na faixa de temperatura de 30 até 185 °C, correspondente à saída de quatro moléculas de água de hidratação, perfazendo uma percentagem de 7,41 %. Na faixa de 186 °C até 382 °C, observa-se a perda de 9,45 % de massa, sugerindo a saída de cinco moléculas de água de constituição, com formação de pirofosfato duplo de potássio e ferro(II), $K_2FeP_2O_7$, e metafosfato de potássio, $(KPO_3)_2$.

Segundo Lee (1999), os grupamentos di-hidrogeno orto fosfatos de potássio, quando submetidos à temperatura superior a 160 °C, tendem a formar pirofosfato de potássio ($K_2H_2P_2O_7$), liberando mais duas moléculas de água nesse processo, sendo estas, decompostas. Em temperaturas acima de 240 °C, em sistema aberto, o pirofosfato de potássio forma metafosfato de potássio $(KPO_3)_2$, liberando mais duas moléculas de água, com conseqüente decomposição.

A terceira etapa ocorre na faixa de 383 a 780 °C, equivalente a 7,57 % de massa, atribuído à liberação de seis átomos de carbono, decorrente da oxidação da matéria orgânica. No intervalo de 30 a 780 °C, a perda de massa total foi de 24,43 %.

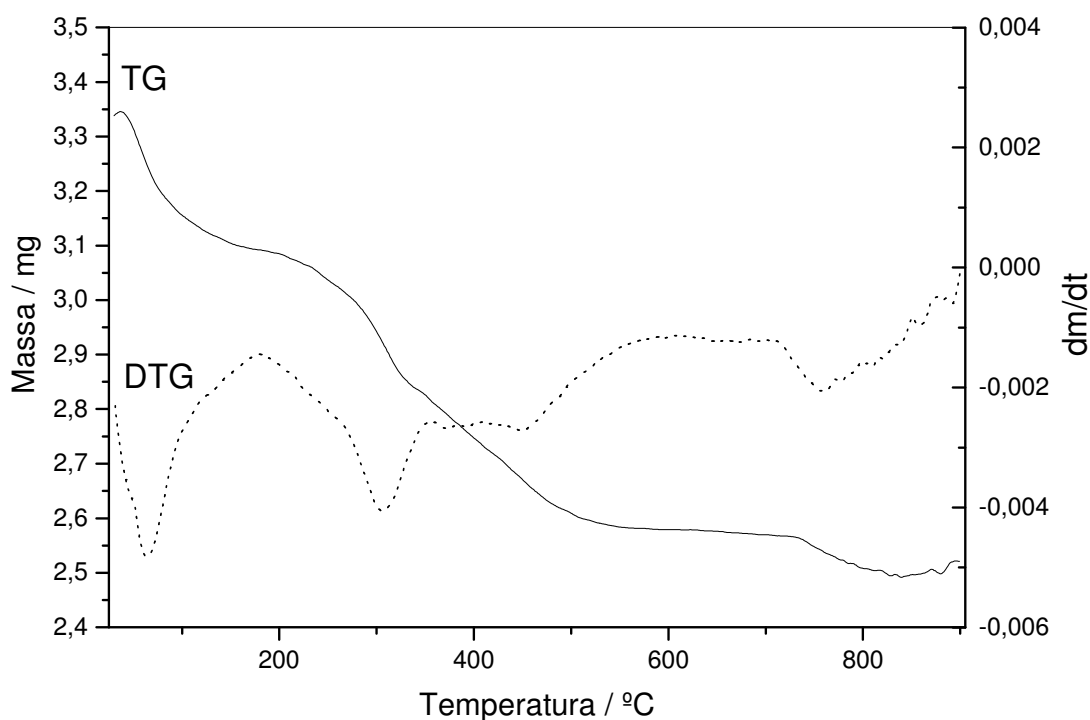


Figura 14. Curvas de TG e DTG do complexo ácido fítico-Fe(II) obtidas em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ à razão de aquecimento $20 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ em intervalos de temperaturas de 30 a $900 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tabela 03. Sugestões de perda de massa para o comportamento térmico do complexo ácido fítico-Fe(II) na curva TG em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ à razão de aquecimento $20 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ em intervalos de temperaturas de 30 a $900 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Ác.fítico-Fe(II) $m_i=3,3381 \text{ mg}$	$\Delta T \text{ (}^{\circ}\text{C)}$	$\Delta m \text{ (mg)}$	% de perda		Proposta de perda
			Experim.	Teórico	
Primeira etapa	30 - 185	0,2475	7,41	7,64	Quatro moléculas de água de hidratação
Segunda etapa	186 - 382	0,3153	9,45	9,56	Cinco moléculas de água de constituição
Terceira etapa	383 - 780	0,2527	7,57	7,65	Seis átomos de carbono

O comportamento térmico do complexo ácido fítico-Fe(III) está representado na Figura 15 e as perdas de massa na Tabela 04. Analisando as curvas TG e DTG da Figura 15, observa-se que as perdas de massa ocorrem em três etapas entre 30 a 800 °C. A primeira etapa inicia-se na faixa de temperatura de 30 até 193 °C, correspondendo a 9,32 % da massa total, a qual se refere à liberação de cinco moléculas de água de hidratação. Na faixa de 194 a 370 °C, ocorre uma segunda perda significativa de massa de 8,71 %, a qual se sugere à liberação de quatro moléculas e meia de água de constituição e conseqüente formação de pirofosfato duplo de potássio e ferro(III) e metafosfato de potássio. Entre as temperaturas de 371 e 800 °C, ocorre uma perda de massa de 7,61 %, a qual é atribuída à oxidação de matéria orgânica, correspondendo a liberação de seis átomos de carbono. A perda de massa total foi de 25,64 % para a faixa de temperatura de 30 a 800 °C.

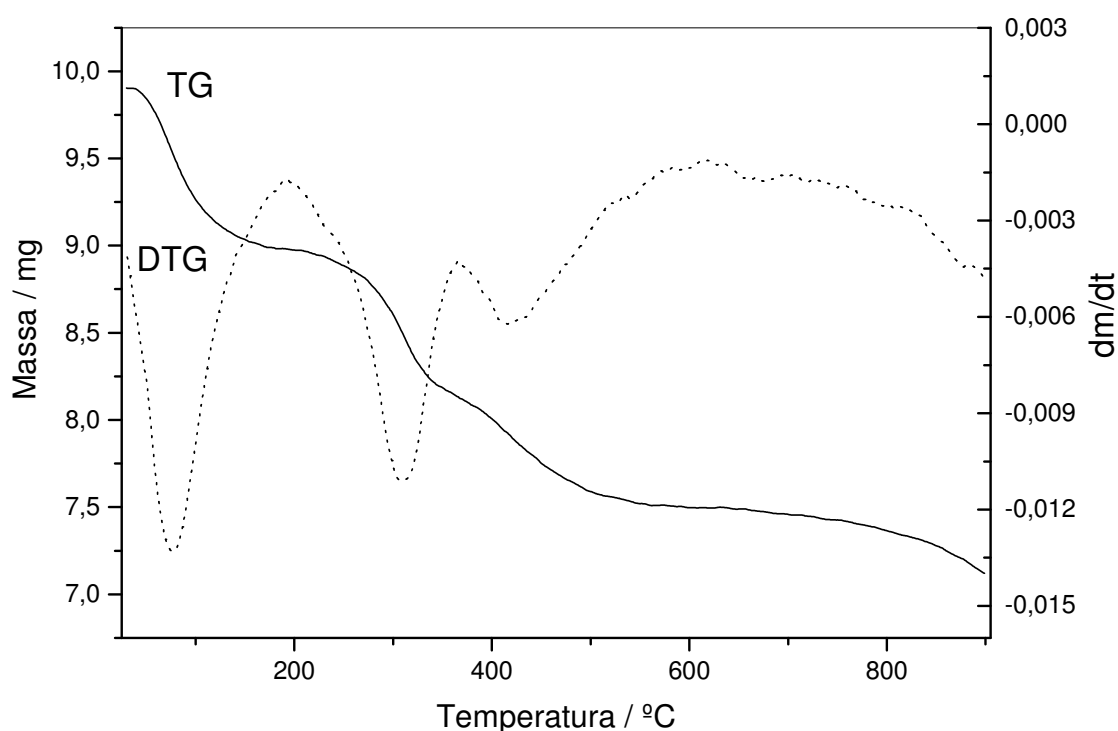


Figura 15. Curvas de TG e DTG do complexo ácido fítico-Fe(III) obtidas em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ à razão de aquecimento $20 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C.

Tabela 04. Sugestões de perda de massa para o comportamento térmico do complexo ácido fítico-Fe(III) na curva TG obtida em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de 100 mL.min⁻¹ à razão de aquecimento 20 °C.min⁻¹ em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C..

Ác.fítico-Fe(III) mi=9,9034 mg	ΔT (°C)	Δm (mg)	% de perda		Proposta de perda
			Experimental	Teórico	
Primeira etapa	30 - 193	0,9230	9,32	9,57	Cinco moléculas de água de hidratação
Segunda etapa	194- 370	0,8622	8,71	8,62	Quatro moléculas e meia de água de constituição
Terceira etapa	371 - 800	0,7540	7,61	7,65	Seis átomos de carbono

As curvas TG e DTG do complexo ácido fítico-Fe(III) sintetizado em pH 9,9 estão representados na Figura 16. As perdas de massa ocorreram em três etapas entre as temperaturas de 30 a 845 °C e estão representadas na Tabela 05. Da temperatura de 30 a 193 °C, verificou-se a primeira perda de massa de 20,41 %, que corresponde à eliminação de doze moléculas de água de hidratação. De 194 a 366 °C, ocorreu uma perda de 7,35 % de massa, o que sugere a liberação de três moléculas de água de constituição e formação de pirofosfato duplo de potássio e ferro(III) e metafosfato de potássio. Ocorre também, a eliminação de dois átomos de carbono, o que sugere o início da degradação da matéria orgânica. Na faixa de 367 a 845 °C, observou-se outra perda de 4,22 %, sugerindo a eliminação de mais quatro átomos de carbono restantes. O intervalo de temperatura de 30 a 845 °C correspondeu a uma perda de massa total de 31,98 %.

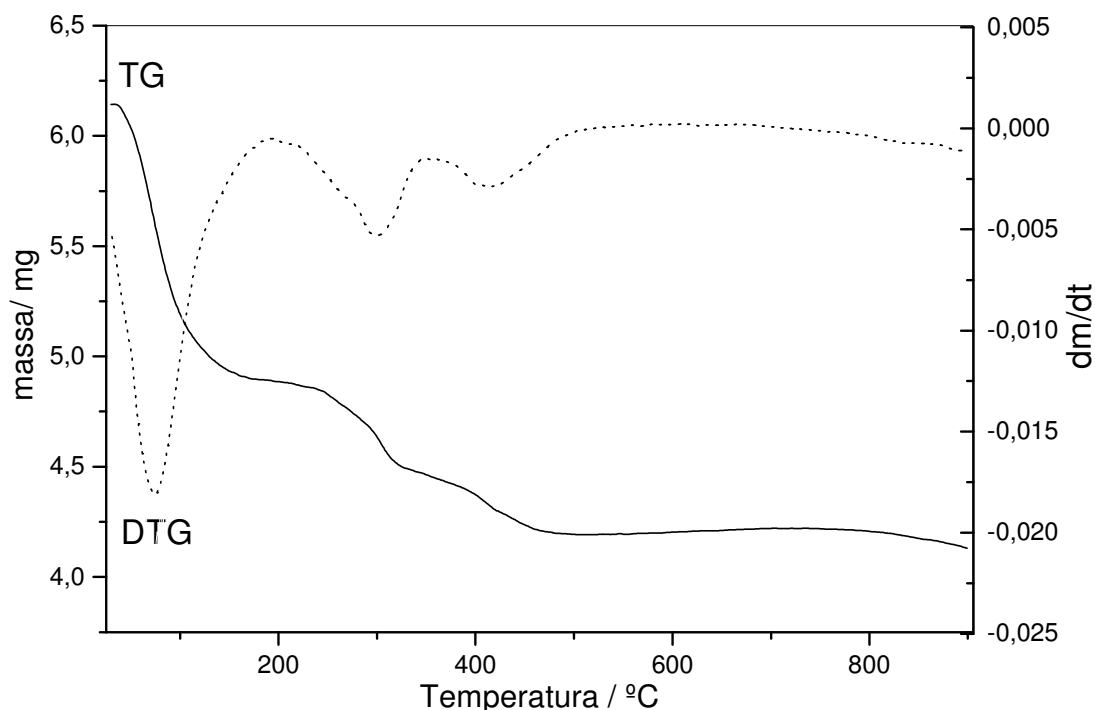


Figura 16. Curvas de TG e DTG do complexo ácido fólico-Fe(III) sintetizado em p[H] 9,9 obtidas em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ à razão de aquecimento $20 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ em intervalos de temperaturas de 30 a $900 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabela 05. Sugestões de perda de massa para o comportamento térmico do complexo ácido fólico-Fe(III), sintetizado em p[H] 9,9, na curva TG obtida em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ à razão de aquecimento $20 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ em intervalos de temperaturas de 30 a $900 \text{ }^\circ\text{C}$.

Ác.fólico-Fe(III) mi= 6,1436 mg	$\Delta T \text{ (}^\circ\text{C)}$	$\Delta m \text{ (mg)}$	% de perda		Proposta de perda
			Experimental	Teórico	
Primeira etapa	30 - 193	1,2538	20,41	20,48	Doze moléculas de água de hidratação
Segunda etapa	194 - 366	0,4514	7,35	7,40	Três moléculas de água de constituição e dois átomos de carbono
Terceira etapa	367 - 845	0,2593	4,22	4,55	Quatro átomos de carbono

Os três complexos apresentaram estabilidade térmica muito semelhante, com uma percentagem de perda de massa total próxima de um complexo para outro.

6 CONCLUSÕES

Através da titulação potenciométrica obtiveram-se sete constantes de formação do complexo ácido fítico-Fe(II), correspondente à formação de sete espécies diferentes na região de pH 2,0 a 12,0. A primeira constante de formação do complexo ácido fítico-Fe(II), apresentou log K igual a 16,06 para a espécie um metal para um ligante monoprotonado, $[MHL]^{9-}$, em p[H] 11,9 e em p[H] 7,5 a espécie predominante foi a tetraprotorada, $[MH_4L]^{6-}$, com log K igual a 8,73. Através destes dados, conclui-se que o ácido fítico interage fortemente com o íon Fe(II), o qual se manteve estável em toda faixa de pH, isto foi comprovado qualitativamente pela coloração da solução. Conclui-se também que o ácido fítico é um bom agente quelante para o Fe(II), visto que este íon em soluções levemente básicas, oxida-se facilmente para Fe(III), passando de incolor para amarelo, o que não foi observado neste trabalho. Porém em condições aeróbicas, de pH elevado e em presença de ácido fítico o Fe(II) oxida-se facilmente, esta capacidade do ligante em manter o ferro no estado de oxidação +3 é fundamental para a sua propriedade antioxidante.

Os dados obtidos por potenciometria para o sistema ácido fítico em presença de Fe(III), revelaram a formação de sete espécies na região de p[H] de 2,5 a 12,0. A primeira constante de formação do complexo ácido fítico-Fe(III) apresentou log K = 18,87, valor muito elevado para a espécie $[ML]^{9-}$, denotando que existe grande afinidade entre o ligante e o íon metálico. Neste caso, tem-se um ácido duro, Fe(III), interagindo com uma base dura, os grupos fosfatos do ácido fítico altamente deprotonado.

Para os estudos de UV-Vis do ácido fítico em ausência dos íons metálicos não ocorreu nenhuma absorção na faixa de comprimento de onda de 200 a 800nm. Os espectros do sistema ácido fítico em presença dos íons metálicos Fe(II) e Fe(III) mostraram bandas com

máximo de absorção em 279 e 274 nm, respectivamente. Essas são bandas de transferência de carga do ligante para o íon metálico.

Os espectros de absorção na região do infravermelho para o sistema ácido fítico em presença dos íons Fe(II), sintetizado em pH=7,4, e Fe(III), pH=7,1, mostraram-se deslocados nas regiões de frequência dos grupamentos $\text{O}=\text{PO}_3\text{H}_2$ do ácido fítico livre. Observou-se no espectro do ácido fítico-Fe(II) que a região de frequência de $1647,1\text{ cm}^{-1}$ do grupamento $\text{P}=\text{O}(\text{OH})$ deslocou-se para $1658,7\text{ cm}^{-1}$, enquanto que para o complexo ácido fítico-Fe(III) o deslocamento foi para $1649,5\text{ cm}^{-1}$. Já no espectro de infravermelho do complexo ácido fítico-Fe(III), sintetizado em p[H] 9,9, o deslocamento foi para $1658,7\text{ cm}^{-1}$. Os dois complexos ácido fítico-Fe(III) sintetizados em pH 7,1 e pH 9,9, mostraram deslocamentos levemente diferentes, isto deve-se ao fato que a espécie formada em p[H] 7,1 é a $[\text{MH}_3\text{L}]^{6-}$ e em p[H] 9,9 é a espécie $[\text{ML}]^{9-}$. Assim, estes dados e os deslocamentos na região de frequência de $1647,1\text{ cm}^{-1}$ referente ao grupamento $\text{O}=\text{P}(\text{OH})$ do ácido fítico na ausência dos íons metálicos evidenciam que o ligante encontra-se coordenado aos íons metálicos.

Através da termogravimetria, constatou-se que no intervalo de 30 a 780 °C, a perda de massa total do complexo ácido fítico-Fe(II) foi de 24,43 %. Da temperatura ambiente até 185 °C, ocorreu à liberação de moléculas de água de hidratação. E em temperaturas superiores a este valor, as perdas de massa foram relativas à decomposição do complexo com a formação de pirofosfato duplo de potássio e ferro(II) e metafosfato de potássio. Os complexos ácido fítico-Fe(III) sintetizados em pH 7,1 e 9,9, apresentaram comportamento térmico semelhante ao complexo ácido fítico-Fe(II), porém, para o complexo ácido fítico-Fe(III) sintetizado em pH 7,1, a perda de massa total do foi de 25,64 % na faixa de 30 a 800 °C, enquanto que o complexo sintetizado em pH 9,9 apresentou uma perda de massa total de 31,98 % no intervalo de temperatura de 30 a 845 °C.

No presente trabalho, constatou-se que o ácido fítico tanto em solução quanto no estado sólido interage fortemente com os íons metálicos Fe(II) e Fe(III). Como estes íons são de importância biológica, têm-se assim informações quantitativas do grau de interação do ácido fítico com estes íons, e assim, compreender a função que este ligante desempenha. Em uma alimentação que contenha ácido fítico em proporções adequadas, estar-se-á prevenindo processos oxidativos, visto que este ligante atua como um antioxidante natural. Quando adicionado nas formulações de alimentos em geral, pelas indústrias poder-se-á aumentar o tempo de prateleira e a qualidade desses produtos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, H.J.; KIM, J.H.; JO, C. et al. Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.88, n.2, p.173-178, nov. 2004.

ATKINS, P.; JONES, L. Fundamentos. In:_____. **Princípios de Química**. 3ª Ed. Porto Alegre: Bookman, 2006, p.108-109.

BARRETO, A.C. da S. **Efeito da adição de antioxidantes naturais na oxidação lipídica e cor de carne de frango e derivado**. 1996. 74f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Brasil.

BEBOT-BRIGUD, A.; DANGE, C.; FAUCONNIER, N. et al. ^{31}P NMR, potentiometric and spectrophotometric studies of phytic acid ionization and complexation properties toward Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} e Cd^{2+} . **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.75, n.1, p.71-78, may. 1999.

BELLAMY, L.J. Organo-Phosphorus Compounds. In:_____. **The Infra-red Spectra of Complex Molecules**. 3ª Ed. London: Chapman and Hall, 1975, p.347-373.

CARLI, L de.; ROSSO, N.D.; SCHNITZLER, E. et al. Estudo da Estabilidade do Complexo Ácido Fítico e o Íon Ni(II). **Ciência Tecnologia Alimentos**, v.26, n.1, p.19-26, jan./mar. 2006.

COSCROVE, D.J. The chemistry and biochemistry of inositol polyphosphates. **Pure and Applied Chemistry**, v.16, p.209-224, 1966.

CREA, P.; DE ROBERTIS, A.; DE STEFANO, C. et al. Speciation of phytate ion in aqueous solution. Sequestration of magnesium and calcium by phytate at different temperatures and ionic strengths in NaCl_{aq} . **Biophysical Chemistry**, v.124, n.1, p.18-16, oct. 2006.

CÚNEO, F.; AMAYA-FARFAN, J.; CARRARO, F. Distribuição dos fitatos em farelo de arroz estabilizado e tratado com fitase exógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.1, p.94-98, jan./abr. 2000.

DENDOUGUI, F.; SCHWEDT, G. In vitro analysis of binding capacities of calcium to phytic acid in different food samples. **European Food Resources Technological**, v.219, n.4, p.409-415, sept. 2004.

DE STEFANO, C.; DEMETRIO, M.; SAMMARTANO, S. Speciation of phytate ion in aqueous solution. Thermodynamic parameters for protonation in NaCl. **Thermochimica Acta**, v.423, n.1/2, p.63-69, dec. 2004.

DE STEFANO, C.; DEMETRIO, M.; PORCINO, N. et al. Speciation of Phytate Ion in Aqueous Solution. Sequestering Ability toward Mercury(II) Cation in NaCl_{aq} at Different Ionic Strengths. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.4, p.1459-1466, feb. 2006.

DE STEFANO, C.; DEMETRIO, M.; PORCINO, N. et al. Speciation of phytate ion in aqueous solution. Cadmium(II) interactions in aqueous NaCl at different ionic strengths. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v.386, n.2, p.346-356, sep. 2006.

DEVLIN, T. M. **Iron and heme metabolism**. In_ Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, 5^a Ed. New York: Wiley-Liss, p.1054-1057, cap.24, 2002.

DOST, K.; TOKUL, O. Determination of phytic acid in wheat and wheat products by reverse phase high performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 558, n.1/2, p.22-27, feb. 2006.

EKHOLM, P.; VIRKKI, L.; YLINEN, M. et al. The effect of phytic acid and some natural chelating agents on the solubility of mineral elements in oat bran. **Food Chemistry**, v.80, n.2, p.165-170, 2003.

EMPSON, K.L.; LABUZA, T.P.; GRAF, E. Phytic acid as a food antioxidant. **Journal of Food Science**, v.56, n.2, p.560-563, 1991.

ENGLE-STONE, R.; YEUNG, R.; GLAHN, R. Meat and Ascorbic Acid Can Promote Fe Availability from Fe-Phytate but Not from Fe-Tannic Acid Complexes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.26, p. 10276-10284, 2005.

FREDLUND, K.; ISAKSSON, M.; ROSSANDER-HULTHÉN, L. et al. Absorption of zinc and retention of calcium: Dose-dependent inhibition by phytate. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.20, n.1, p.49-57, 2006.

GRAF, E.; EATON, J.W. Antioxidant Functions of Phytic Acid. **Free Radical Biology & Medicine**, v.8, n.1, p. 61-69, 1990.

GRAF, E.; EMPSON, K.L. Phytic acid: A Natural Antioxidant. **The Journal of Biological Chemistry**, v.262, n.24, p.11647-11650, aug. 1987.

GREWAL, H.K.; HIRA, C.K.; KAWATRA, B.L. Zinc, Calcium and Iron Availability Using Molar Ratios in Processed and Cooked Wheat Products. **Journal of Food Science Technology**, v.36, n.5, p.453-456, sept./oct. 1999.

HABIBA, R.A. Changes in anti-nutrients, protein solubility, digestibility, and HCl-extractability of ash and phosphorus in vegetable peas as effected by cooking methods. **Food Chemistry**, v.77, n.2, p.187-192, may. 2002.

HALL, J.R.; HODGES, T.K. Phosphorus Metabolism of Germinating Oat Seeds. **Plant Physiology**, v.41, p.1459-1464, 1966.

HARTMAN, G. R. JR. Removal of Phytate from Soy Protein. **Journal of the American oil Chemists' Society**, v.56, p.731-735, aug. 1979.

HE, Z.; HONEYCUTT, W.; ZHANG, T.; BERSTSCH, P.M. Preparation and FT-IR Characterization of Metal Phytate Compounds. **Journal of Environmental Quality**, v.35, n.4, jul./aug. 2006.

HULL, S.R.; GRAY, J.S.S.; MONTGOMER, R. Autohydrolysis of phytic acid. **Analytical Biochemistry**, v.273, n.2, p.252-260, sept. 1999.

IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. Nomenclatura, Padrões e Apresentação dos Resultados em Análise Térmica. **Cerâmica**, v.26, n.121, p.17-24, 1980.

KEATTCH, C.J.; DOLLIMORE, D. **An Introduction to thermogravimetry**. New York: Editora Heyden, 1975, 164p.

KIES, A.K.; DE JONGE, L.H.; KEMME, P.A. et al. Interaction between Protein, Phytate, and Microbial Phytase. In Vitro Studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, n.5, p.1753-1758, mar. 2006.

LEAL, E.S. **Extração, obtenção e caracterização parcial de ácido fítico do germe grosso de milho e aplicação como antioxidante**. 2000. 86f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Brasil.

LEE, J.B.; HENDRICKS, D.G. Phytic Acid Protective Effect Against Beef Round Muscle Lipid Peroxidation. **Journal of Food Science**, v.60, n.2, p.241-244, 1995.

LEE, J.D. 1996. **Grupo do ferro**. In__Química Inorgânica não tão concisa, 4^a Ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, p.218- 339.

MARTELL, A.E.; MOTEKAITIS, R.J. **The Dermination and Use of Stability Constants**. New York: VCH, 1992, 229p.

MARTIN, C. J. Reaction of the Coordinate Complexes of Inositol Hexaphosphate with First Row Transition Series Cations and Cd(II) with Calf Intestinal Alkaline Phosphatase. **Journal of inorganic biochemistry**, v.58, n.2, p.89-107, 1995.

MATTSON, S. The cookability of yellow peas. A colloid-chemical and biochemical study. **Acta Agric. Suec**, v.2, p.185, 1946.

MIDORIKAWA, K.; MURATA, M.; OIKAWA, S. et al. Protective Effect of Phytic Acid on Oxidative DNA Damage with Reference to Cancer Chemoprevention. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.288, n.3, p.552-557, 2001.

MILSOM, E.V.; PERROTT, H.R.; PETER, L.M. et al. Redox Process in Mesoporous Oxide Membranes: Layered TiO₂ Flavine Adenine Dinucleotide Films. **Langmuir**, v.21, n.21, p.9482-9487, oct. 2005.

MONSEN, E.R. Iron nutrition and absorption: Dietary factors which impact iron bioavailability. **Journal of American Dietetic Association**, v.88, n.7, p. 786-790, jul. 1988.

MONTGOMERY, CONWAY, SPECTOR. **Disponibilidade dos minerais**. In_ Bioquímica. Uma abordagem dirigida por casos, 5^a Ed. Editora Artes Médicas, cap.1, p.13, 1994.

OH, B.C.; KIM, M.H.; YUN, B.S. et al. Ca²⁺ -Inositol Phosphate Chelation Mediates the Substrate Specificity of β -Propeller Phytase. **Biochemistry**, v.45, n.31, p.9531-9539, aug. 2006.

PADDON, C.A.; MARKEN, F. Hemoglobin adsorption into TiO₂ phytate multi-layer films: particle size and conductivity effects. **Eletrochemistry Communications**, v.6, n.12, p.1249-1253, dec. 2004.

PARK, H.R.; AHN, H.J.; KIM, S.H. et al. Determination of the phytic acid levels in infant foods using different analytical methods. **Food Control**, v.17, n.9, p.727-72, sep. 2006.

PATON, G.; NOILLY, M.; MOSSOYN, J.C. Conformational preferences and intramolecular interactions of myo-inositol hexakisphosphoric acid by ¹H e ³¹P NMR studies. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v.12, n.5, p.401-407, may. 1999.

PEARSON, H.; TURK, M.; NYMN, M. et al. Binding of Cu^{2+} , Zn^{2+} , and Cd^{2+} to Inositol Tri-, Tetra-, Penta-, and Hexaphosphates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, n.8, p.3194-3200, 1998.

PLAAMI, S. Myoinositol Phosphates: Analysis, Content in Foods and Effects in Nutrition. **Libensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.30, n.7, p.63-647, 1997.

RAVINDRAN, V.; RAVINDRAN, G.; SILVALOGAN, S. Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. **Food Chemistry**, v.50, n.2, p.133-136, 1994.

RIJKENBERG, M.J.A.; GERRINGA, L.J.A.; CAROLUS, V.E. et al. Enhancement and inhibition of iron photoreduction by individual ligands in open ocean seawater. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.70, n.11, p. 2790-2805, jun. 2006.

RODRIGUES-FILHO, U.P.; VAZ Jr,S.; FELICISSIMO, M.P. et al. Heterometallic manganese/zinc-phytate complex as a model compound for metal storage in wheat grains. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.99, n.10, p.1973-1982, oct. 2005.

SCHWARZENBACH, G.; FLASCHKA, H. **Complexometric Titration**. London: Methuen CO., 1969, p.245-250.

SHARMA, C.B.; GOEL, M.; IRSHAD, M. Myoinositol Hexaphosphate as a Potential Inhibitor of α -Amilases. **Phytochemistry**, v.17, n.2, p.201-204, 1978.

SHRIVER, D.F.; ATKINS, P.W. 2003. **Os metais do bloco d**. In__Química Inorgânica, 3ª Ed. Porto Alegre: Bookman, p.321- 340.

SIENER, R.; HEYNCK, H.; HESSE, A. Calcium-Binding Capacities of Different Brans under Simulated Gastrointestinal pH Conditions. In Vitro Study with ^{45}Ca . **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.9, p.4397-4401, 2001.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRIL, T.C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Ganabaro Koogan, 1994, 397p.

SOARES, A.L.. **Ação de ácido fítico e vitamina E na oxidação lipídica e aroma requeijado em filés de peito de frango**. 1998. 105f Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Brasil.

SOMASUNDAR, P.; RIGGS, D.R.; JACKSON, B.J. et al. Inositol Hexaphosphate (IP6): A Novel Treatment for Pancreatic Cancer. **Journal of Surgical Research**, v.126, n.2, p.199-203, jun. 2005.

St. ANGELO, A.J. Lipidic oxidation in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.36, n.3, p.175-224, 1996.

TSAO, G.T.; ZHENG, Y.; LU, J. et al. Adsorption of heavy metal ions by immobilized phytic acid. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. , n. , p.63-65, 1997.

TORRES, J.; DOMÍNGUEZ, S.; CERDÁ, M.F. et al. Solution behaviour of *myo*-inositol hexakisphosphate in the presence of multivalent cations. Prediction of a neutral pentamagnesium species under cytosolic/nuclear conditions. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.99, n.3, p.828-840, mar. 2005.

WENDLANT, W. **Thermal analysis**. 3^a Ed., EUA: Wiley Interscience, 1986, 815p.

WINDISCH, W. Interaction of chemical species with biological regulation of the metabolism of essential trace elements. **Anal Bioanalytical Chemistry**, v.372, p.421-425, 2002.

XU, Y.; LIU, X; PRESTWICH, G.D. Synthesis of phosphatase-resistant analogues of phytic acid (InsP₆). **Tetrahedron Letters**, v.46, p.8311-8314, 2005.

YANG, H.; FENG, J.; LIU, Y. et al. Electrochemical and Surface Enhanced Raman Scattering Spectroelectrochemical Study of Phytic Acid on the Silver Electrode. **Journal Physical Chemistry**, v.108, n.45, p.17412-17417, 2004.

YANG, H.; YANG, Y.; YANG, Y. et al. Formation of inositol hexaphosphate monolayers at the copper surface from a Na-salt of phytic acid solution studied by in situ surface enhanced Raman scattering spectroscopy, Raman mapping and polarization measurement. **Analytica Chimica Acta**, v.458, n.1/2, p.159-165, aug. 2005.

ZHAO, G.; XU, J.; CHEN, H. Fabrication, characterization of Fe₃O₄ multilayer film and its application in promoting direct electron transfer of hemoglobin. **Electrochemistry communications**, v.8, n.1, p.148-154, 2006.