

Comportamento do ácido fítico na presença de Fe(II) e Fe(III)

Behaviour of phytic acid in the presence of iron(II) and iron(III)

Hanna Raquel QUIRRENBACH¹, Francieli KANUMFRE¹,
Neiva Deliberali ROSSO^{1*}, Marco Aurélio CARVALHO FILHO²

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. 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 aquosa, atmosfera inerte, força iônica 0,100 mol.L⁻¹ de cloreto de potássio e à temperatura de 36 ± 0,1 °C. Estudos espectroscópicos na região do UV-Vis foram realizados para acompanhar a formação dos complexos em solução. Os complexos ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) foram sintetizados e caracterizados por espectroscopia de absorção na região do infravermelho e por estudos termoanalíticos. Os resultados do conjunto de técnicas utilizadas evidenciaram, tanto em solução como no estado sólido, a presença dos íons metálicos coordenados ao ácido fítico.

Palavras-chave: ácido fítico; complexos de Fe(II) e Fe(III); estabilidade.

Abstract

Depending on the pH value, phytic acid presents high chelating potential bonding metallic ions thus inhibiting the production of reactivated oxygen species, which are responsible for the oxidative destruction in biological systems. Such chelating potential has been the basis of several studies on the antioxidant action in food products. 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-physiological conditions and the stability of these complexes. Potentiometric titrations were applied to determine the constants of formation of the complexes phytic acid-Fe(II) and phytic acid-Fe(III) in aqueous solution, inert atmosphere, ionic strength of 0.100 mol.L⁻¹ in potassium chloride, and temperature at 36 ± 0,1 °C. UV-Vis spectroscopic studies in the were conducted to investigate the formation of the complexes in the solution. The complexes phytic acid-Fe(II) and phytic acid-Fe(III) were synthesized and characterized by infrared absorption spectroscopy and by thermoanalytical studies. The results indicate the bonding of the metallic ions and the phytic acid both in solution and in the solid state.

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

1 Introdução

O papel fisiológico do ácido fítico nas plantas consiste na reserva de fósforo e energia. Atua também como um imobilizador de cátions multivalentes, necessários para o controle do processo celular, e como regulador dos níveis de fosfato inorgânico (COSGROVE, 1963). O ácido fítico encontra-se em altas taxas nos cereais, sementes oleaginosas e legumes, sendo que o fósforo-fitato constitui a principal porção, 60-82% de fósforo-total (RAVINDRAN; RAVINDRAN; SILVALOGAN, 1994). Os fosfatos de inositol encontrados em grãos contêm aproximados 90% do inositol na forma hexaafosfórica, correspondendo, os restantes 10%, à somatória dos penta, tetra e trifosfatos (CÚNEO; AMAYA-FARFAN; CARRARO, 2000). 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 e aplicações de fertilizantes. Durante a germinação, o fitato é degradado pela ação da enzima fitase a fosfato inorgânico auxiliando o crescimento dos grãos (DOST; TOKUL, 2006). Nas células animais, a função do ácido fítico está na sinalização da transmembrana e mobilização do cálcio para as reservas intracelulares (XU; LIU; PRESTWICH, 2005).

Vários estudos investigaram o potencial antioxidante do ácido fítico em sistemas alimentares (SOARES, 1998; LEAL, 2000). 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 (LEE; HENDRICKS, 1995) do efeito do ácido fítico na peroxidação lipídica de carne bovina

Recebido para publicação em 30/4/2007

Aceito para publicação em 3/1/2009 (002495)

¹ Laboratório L11 de Pesquisa Química Analítica e Inorgânica, Departamento de Química, Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, Av. Carlos Cavalcanti, 4748, CEP 84030-900, Ponta Grossa - PR, Brasil, E-mail: ndrosso@uepg.br

² Laboratório de Análise Térmica, Departamento Farmácia, Universidade Positivo – UP, Rua Prof. Pedro Viriato Parigot de Souza, 5300, Campo Comprido, CEP 81280-330, Curitiba - PR, Brasil

*A quem a correspondência deve ser enviada

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. Os lipídeos podem ser oxidados na presença de oxigênio, através de reações de radicais livres que geram peróxidos e hidroperóxidos. Os catalisadores da oxidação lipídica em carnes e seus derivados são: mioglobinas, hemoglobinas, citocromos, ferro não hemínico e metais de transição, gerando a rancificação oxidativa (StANGELO, 1996). Um estudo realizado por Ahn et al. (2004) para avaliar a atividade antioxidante e antirradical do ácido fítico, em modelos lipídicos, irradiado a 0, 10 e 20 kGy, foi comparado com antioxidantes comumente utilizados na indústria de alimentos. O ácido fítico apresentou atividade antioxidante superior mesmo quando irradiado a 20 kGy, bem como em ausência de radiação durante o armazenamento. 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. Estudos (MIDORIKAWA et al., 2001; SOMASUNDAR et al., 2005) mostram que o ácido fítico apresenta efeito inibidor contra dano oxidativo causado ao DNA e contra tumores, incluindo os de mama e os de cólon. Pesquisas recentes mostram que o ácido fítico e seus sais apresentam uma ampla gama de aplicações. Pode ser utilizado para inibir a corrosão de metais (YANG et al., 2005), na construção de filmes de nanopartículas em diversas bases condutoras para o desenvolvimento de biossensores (ZHAO; XU; CHEN, 2006) e na fotoprodução de Fe(II) em águas do mar (RIJKENBERG et al., 2006).

A nomenclatura utilizada para este ligante é 1,2,3,4,5,6-hexaquis(dihidrogênio)fosfato *mio*-inositol ou ácido fítico para o ácido na forma livre, fitato para forma de sal livre e fitin para sais com cálcio e magnésio (PLAAMI, 1997). Um estudo de Paton, Noailly e Mossoyan (1999), por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de fósforo 31, RMN ³¹P, e de próton, RMN ¹H, revelou que o ácido fítico pode apresentar conformações diferentes. Quando o pH é superior a 11,3, cinco grupos fosfatos encontram-se estabilizados na forma axial e apenas um na posição equatorial, conforme Figura 1. Já em pH menor que

10,0, um grupo localiza-se na posição axial e cinco 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.

Diversos estudos (GRAF; EATON, 1990; PEARSON et al., 1998; BEBOT-BRIGUD et al., 1999; WINDISCH, 2002) têm mostrado a capacidade deste ligante em formar complexos na presença de íons metálicos no pH do intestino delgado alterando a disponibilidade metabólica desses elementos. O efeito combinado da fitase (EKHOLM et al., 2003) e um agente quelante aumentou significativamente a solubilidade de Ca, Mg, Zn e Mn no farelo de aveia. Dendougui e Schwedt (2004) analisaram in vitro a capacidade de ligação do cálcio com o ácido fítico em diferentes amostras de alimentos. Os resultados mostraram que a capacidade do cálcio em ligar-se ao ácido fítico está relacionada ao pH. Engle-Stone et al. (2005) utilizaram um modelo in vitro de célula de digestão para determinar os níveis de ácido ascórbico e o "fator alimento" necessário para promover a absorção de Fe complexado com ácido fítico e ácido tânico. Os dados mostraram que o pH, a complexação por 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. A formação de complexos entre o ácido fítico e os íons Zn(II) e Mn(II) mostrou que as ligações ocorrem através dos grupos fosfatos. Os resultados de RMN ¹³C evidenciaram uma conformação para o ácido fítico 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). Outro estudo (TORRES et al., 2005), mostrou as interações do ácido fítico com cátions multivalentes na faixa de pH 2,0 a 11,0, força iônica 0,15 mol.L⁻¹ de perclorato de sódio e temperatura 37,0 °C. Segundo os autores, o Fe(III) existe em pH 7,4 como uma mistura das espécies altamente deprotonadas. Uma investigação de Fredlund et al. (2006) realizada em humanos mostrou que a absorção de zinco e a retenção de cálcio diminuíram quando a razão molar de fitato para zinco e fitato para cálcio em alimentos eram de 5,7:1 e 0,08:1, respectivamente.

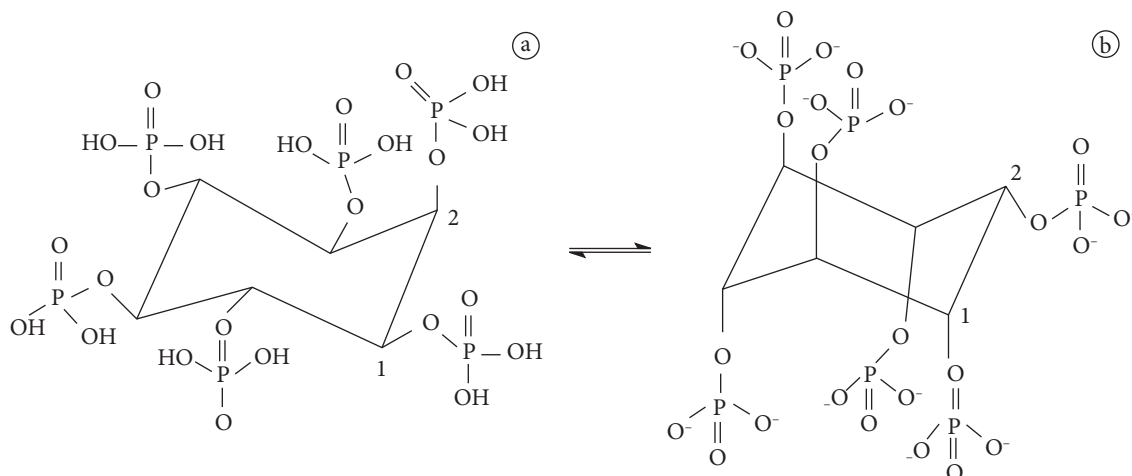


Figura 1. Conformações do ácido fítico: a) uma posição axial e cinco equatoriais (1ax./5eq.); e b) cinco posições axiais e uma equatorial (5ax./1eq.).

De Stefano et al. (2006a; b) investigaram por potenciometria a habilidade sequestrante do ácido fítico em relação aos íons mercúrio Hg(II) e cádmio Cd(II). Os resultados mostraram que os valores para as constantes de formação dos complexos são dependentes da força iônica e da proporção metal:ligante, ainda o ácido fítico mostrou ser um bom agente quelante para o uso nas remediações de lugares poluídos por Hg. Outro estudo (CREA et al., 2006) mostrou a habilidade do ácido fítico para formar complexos com Mg^{2+} e Ca^{2+} em forças iônicas e temperaturas diferentes. Um estudo realizado por Carli et al. (2006) mostrou as propriedades ácido-base do ácido fítico e a formação de complexo com o Ni(II). Os dados de Espectroscopia de Infravermelho, IR, e a análise térmica evidenciaram a formação do complexo ácido fítico-Ni(II). Um estudo por espectroscopia de infravermelho do ácido fítico, $Na_{12}IP_6$ e complexos metálicos deste, mostrou diferenças estruturais entre os compostos sintetizados e a forma livre do ácido. Estas diferenças devem-se à tendência de um maior deslocamento do número de onda dos complexos metálicos do IP_6 comparado com $Na_{12}IP_6$ em decorrência do aumento das interações entre os íons metálicos e a ligação P-O do ácido fítico (HE et al., 2006). Estudos cinéticos e análises por cromatografia em camada delgada (OH et al., 2006) indicam que a fitase β -hélice reconhece o complexo quelato formado entre o Ca^{2+} e dois grupos fosfatos, substrato, atuando de forma bidentada. Os dados sugerem que a fitase β -hélice requer o íon Ca^{2+} como ativador e também como parte de seu substrato.

Pequenas quantidades de ferro são essenciais para a vida, tanto animal como vegetal. O Fe(II) é um dos estados de oxidação mais importantes e forma muitos complexos, e o principal se dá com a hemoglobina. 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, cujo equilíbrio favorece o estado de oxidação do Fe^{2+} . O ferro encontra-se presente numa variedade de alimentos de origem animal e vegetal, particularmente fígado e legumes. Aproximadamente 40% do ferro em carnes, aves e peixes é ferro heme, o restante é ferro não heme (MONTGOMERY; CONWAY; SPECTOR, 1994; PLAAMI, 1997). As duas formas de ferro têm diferentes mecanismos de absorção: o ferro heme é mais bem absorvido, 15-35%, que o Fe não-heme, 2-20%, (MONSEN, 1988). No trato gastrointestinal, o Fe heme associado com compostos como a globina é liberado na forma de molécula de protoporfirina intacta e, em seguida, absorvido. Durante a digestão, o ferro não-heme associado aos diversos alimentos é liberado e forma quelatos. Os complexos de ferro solúveis aproximam-se da mucosa intestinal e liberam o ferro, que é absorvido. 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 Fe(II) requer a presença de um agente redutor que é usualmente feito com a adição de ascorbato na dieta (DEVLIN, 2002). O objetivo deste trabalho foi determinar 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.

2 Material e métodos

2.1 Materiais

O ácido fítico foi obtido da Sigma® sob a forma de sal de dipotássio ($K_2C_6H_{16}P_6O_{24}$). A solução de hidróxido de potássio, KOH, foi preparada a partir de uma ampola DILUT-IT isenta de dióxido de carbono e padronizada. A solução metálica foi preparada mediante a diluição do cloreto de ferro(III) hexahidratado, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (Aldrich) e padronizada segundo o método de titulação complexiométrica (SCHWARZENBACH; FLASCHKA, 1969) com uma solução 0,100 mol.L⁻¹ de ácido etilenodiamino tetra-acético, EDTA (Sigma®). Para os experimentos com o ferro(II), utilizou-se o sulfato de ferro(II) heptahidratado, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (Vetec), na forma sólida. O cloreto de potássio, KCl, p.a (Reagen®), foi utilizado como eletrólito suporte. A água foi destilada com permanganato de potássio para oxidar compostos orgânicos e fervida para eliminar dióxido de carbono.

2.2 Métodos

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, pH próximo de 2,0 para ler diretamente $-\log[H^+]$. As titulações foram realizadas em uma célula de vidro com parede dupla, capacidade de 100 mL, mantida sob agitação suave e constante. A temperatura reacional de $36 \pm 0,1$ °C foi mantida com um banho termostaticado, Microquímica e a força iônica de 0,100 mol.L⁻¹ com KCl, condições estas próximas às fisiológicas. A atmosfera foi mantida inerte com um fluxo contínuo de argônio e a solução titulante, KOH, foi adicionada em alíquotas de 0,05 mL com uma bureta digital Denver modelo 280. Para estudar o sistema metal-ligante, utilizaram-se 0,050 mmol de Fe(II) e 0,100 mmol de ácido fítico, ambos no estado sólido. Inicialmente solubilizaram-se 0,100 mmol de ácido fítico e 0,100 mol.L⁻¹ de KCl em água destilada, sob atmosfera inerte de argônio. Após solubilização completa e estabilização do pH, adicionou-se 0,050 mmol do íon metálico Fe(II) na forma sólida. A titulação foi conduzida de pH 2,3 até 10,4, obtendo-se um total de 98 pontos. Para o sistema contendo ácido fítico em presença de Fe(III), utilizaram-se 0,100 mmol de ácido fítico e 0,100 mmol de uma solução de Fe(III) e obtiveram-se 97 pontos entre a faixa de pH de 2,5 a 10,6. Os dados foram tratados com o programa BEST7 e as curvas de distribuição das espécies desenhadas com o programa SPEPLOT (MARTELL; MOTEKAITIS, 1992).

Estudos espectroscópicos na região do UV-vis

Estudos espectroscópicos na região do UV-Vis foram conduzidos em um espectrofotômetro MultiSpec-1501 da Shimadzu. Essa técnica auxilia na comprovação da formação das espécies no meio reacional. Assim, o objetivo deste experimento foi acompanhar a formação dos complexos entre o ácido fítico e os íons metálicos Fe(II) e Fe(III), em solução

aquosa. Para os sistemas ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III), as reações foram conduzidas na célula termostatazada a $36 \pm 0,1$ °C, força iônica constante $0,100 \text{ mol.L}^{-1}$, KCl. Para a reação ácido fítico-Fe(II), foram utilizados $2,00 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido fítico sob um fluxo contínuo de argônio e, em seguida, adicionou-se $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ de Fe(II). Para o sistema ácido fítico-Fe(III), utilizaram-se $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido fítico e $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ de Fe(III). Ajustou-se o pH com KOH $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, de acordo com a concentração máxima de cada espécie detectada a partir das curvas de distribuição das espécies. Após cada variação de pH, fez-se a leitura da absorbância numa cubeta de quartzo com caminho óptico de um cm.

Síntese dos complexos ácido fítico-Fe (II) e ácido fítico-Fe (III)

As sínteses dos complexos ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) foram realizadas observando-se a estequiometria e o pH mais próximos aos do intestino delgado, dados obtidos a partir das curvas de distribuição das espécies. Para o complexo ácido fítico-Fe(II) dissolveram-se $0,100 \text{ mmol}$ de ácido fítico e $0,100 \text{ mmol}$ de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em 10 mL de água destilada e fervida sob fluxo de argônio; ajustou-se o pH para $7,40$ com uma solução de KOH $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$; manteve-se a solução sob agitação por duas horas e deixou-se a solução em repouso à temperatura ambiente; após 15 dias obteve-se um sólido verde com aspecto vítreo, e foi acondicionado em dessecador. O complexo ácido fítico-Fe(III) foi preparado pela reação de $0,100 \text{ mmol}$ de ácido fítico com $0,100 \text{ mmol}$ de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ambos dissolvidos em cinco mL de água destilada, separadamente. Misturaram-se as duas soluções, ajustou-se o pH para $7,10$ com KOH $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, e a solução resultante foi mantida sob agitação por duas horas e em repouso à temperatura ambiente durante 15 dias. Obteve-se um sólido amarelo, de aspecto vítreo, que foi acondicionado em dessecador.

Estudos espectroscópicos de absorção na região do infravermelho, IR

As análises de IR foram realizadas para caracterizar os complexos de ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III). Utilizou-se o Espectrofotômetro Shimadzu, modelo 8400, operando no modo FTIR. Para registrar a linha de base, utilizaram-se 100 mg de brometo de potássio, KBr, grau espectroscópico, previamente dessecado, pulverizado e prensado. As amostras de um mg dos complexos de ácido fítico com Fe(II) e Fe(III), sintetizadas previamente e dessecadas, foram prensadas com 100 mg de KBr e, em seguida, foram analisadas.

Estudos termoanalíticos

Para avaliar a composição, a estequiometria e a estabilidade dos complexos ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) utilizou-se a análise térmica. Os experimentos de termogravimetria (TG) foram realizados no equipamento TG-50, utilizando uma controladora TC-15 da Mettler Instruments. Para as análises de TG e DTG, submeteram-se $3,3381 \text{ mg}$ do complexo ácido fítico-Fe(II) e $9,9034 \text{ mg}$ ácido fítico-Fe(III) em um cadinho de α -alumina, sob atmosfera de ar sintético com vazão de 100 mL.min^{-1} à razão de aquecimento $20 \text{ }^\circ\text{C.min}^{-1}$ em intervalos de temperaturas de 30 a 900 °C.

3 Resultados e discussão

3.1 Curvas de titulação

Os gráficos das curvas de titulação para os sistemas exibem valores de pH versus a (número de mmols de KOH dividido pelo número de mmols do ligante). A primeira curva da Figura 2 refere-se à titulação do ácido fítico analisada por Carli et al. (2006) em ausência do íon Fe(II). A segunda curva da Figura 2, referente ao sistema ácido fítico na presença de Fe(II), encontra-se coincidente com a curva do ácido fítico isolado até o pH próximo de $6,0$. Acima deste valor, a curva do ácido fítico com o íon Fe(II) encontra-se abaixo da curva do ácido fítico isolado, o que indica, qualitativamente, que o ligante interage com o íon metálico.

A Figura 3 representa a curva de titulação do sistema ácido fítico na ausência e na presença do íon metálico Fe(III).

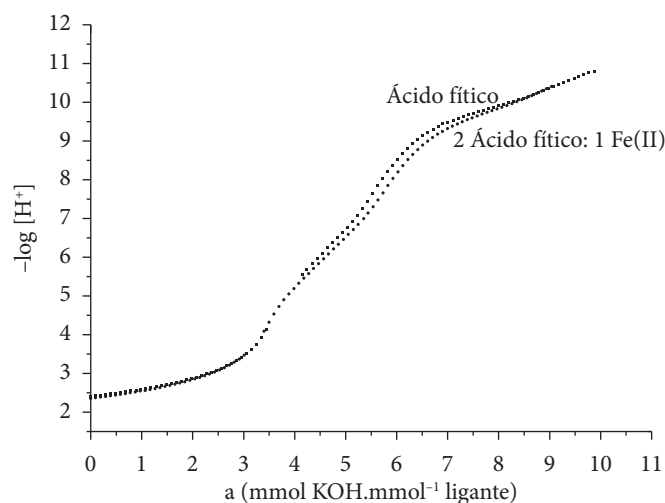


Figura 2. Curvas de titulação do ácido fítico $2,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ na ausência e na presença de Fe(II) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

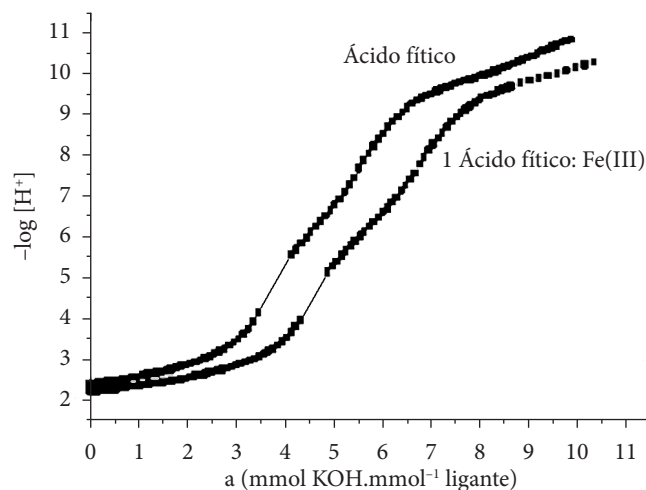


Figura 3. Curvas de titulação do ácido fítico $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ na ausência e na presença de Fe(III) $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

A segunda curva da Figura 3, referente ao sistema ácido fítico-Fe(III), encontra-se coincidente com a curva do ácido fítico isolado em pH 2,0 a 3,5. Acima deste valor, a curva do ácido fítico com o íon Fe(III) encontra-se acentuadamente abaixo da curva do ácido fítico isolado; esse deslocamento revela uma interação entre o ligante e o íon metálico.

Constantes de formação dos complexos

Os dados da Tabela 1 mostram as constantes de formação para os dois sistemas. Observa-se que a primeira constante de formação do complexo ácido fítico-Fe(II) apresenta $\log K = 12,53$ para a espécie $[ML]^{10-}$, indicando uma elevada interação entre o ligante totalmente deprotonado com o metal. Formam-se também as espécies protonadas $[MHL]^{9-}$, $[MH_2L]^{8-}$, $[MH_3L]^{7-}$, $[MH_4L]^{6-}$, $[MH_5L]^{5-}$, $[MH_6L]^{4-}$ e $[MH_7L]^{3-}$, que se referem ao íon metálico complexado ao ligante nas formas mono, di, tri, tetra, penta, hexa e heptaprotionada, respectivamente. Estes dados 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 metal e o ligante também diminui. 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 $[ML]^{9-}$, o que denota uma forte interação entre o ligante e o íon metálico. Formam-se os complexos $[MHL]^{8-}$, $[MH_2L]^{7-}$, $[MH_3L]^{6-}$, $[MH_4L]^{5-}$, $[MH_5L]^{4-}$ e $[MH_6L]^{3-}$, e observa-se também uma diminuição nas constantes de formação das espécies à medida que o ligante torna-se mais protonado.

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 se deve à alta carga do íon Fe(III), átomo central, que produz uma interação mais efetiva com o ácido fítico e, conseqüentemente, mais prótons são substituídos no ligante em valores de pH mais elevados.

3.2 Curvas de distribuição das espécies

As curvas de distribuição das espécies para o sistema ácido fítico-Fe(II), Figura 4, mostram que a espécie $[ML]$ com

Tabela 1. 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.

Quociente de equilíbrio	Log K ácido fítico-Fe(II)	Log K ácido fítico-Fe(III)
$[ML]/[M].[L]$	12,35	18,87
$[MHL]/[ML].[H^+]$	10,45	9,54
$[MH_2L]/[MHL].[H^+]$	9,57	9,33
$[MH_3L]/[MH_2L].[H^+]$	9,32	8,19
$[MH_4L]/[MH_3L].[H^+]$	7,55	6,41
$[MH_5L]/[MH_4L].[H^+]$	6,13	5,55
$[MH_6L]/[MH_5L].[H^+]$	5,34	3,16
$[MH_7L]/[MH_6L].[H^+]$	3,12	-

O desvio padrão para o sistema ácido fítico-Fe(II) é $\delta = 0,009385$ e para ácido fítico-Fe(III) é $\delta = 0,006534$; δ -fit é o desvio padrão computado a partir dos valores de pH calculados, relativos àqueles observados experimentalmente (MARTELL; MOTEKAITIS, 1992).

estequiometria um íon metálico para um ligante, atinge um máximo de formação de 97,2% em pH 12,0. À medida que o pH diminui, a concentração desta espécie decresce e aumenta a concentração da espécie $[MHL]^{9-}$, um íon metálico para um ligante monoprotionado, que atinge sua formação máxima de 55,9% em pH 10,1. A espécie $[MH_2L]^{8-}$ um íon metálico para um ligante diprotionado, atinge o máximo de formação de 39,0% em pH 9,4 e, em pH 8,4, a espécie predominante é a triprotionada, $[MH_3L]^{7-}$, com formação máxima de 78,7%. A formação das espécies $[MH_4L]^{6-}$, $[MH_5L]^{5-}$, $[MH_6L]^{4-}$, $[MH_7L]^{3-}$, tetra, penta, hexa e heptaprotionadas, respectivamente, atingem suas formações máximas entre valores de pH de 6,9 a 2,4.

A Figura 5 representa o diagrama de distribuição das espécies do complexo ácido fítico-Fe(III), no qual a espécie $[ML]^{9-}$, referente ao complexo com estequiometria um íon metálico para

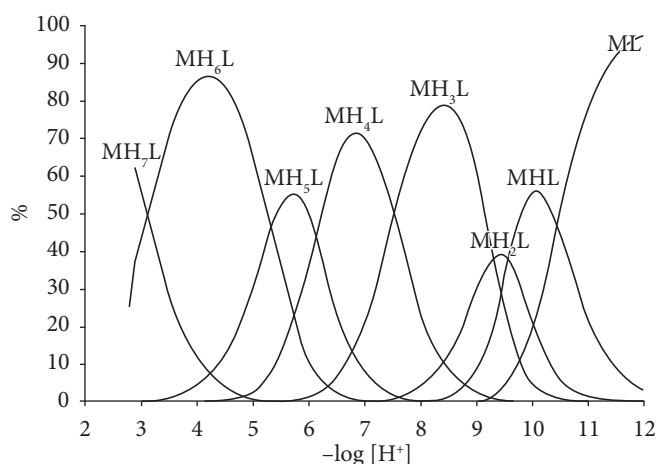


Figura 4. Curvas de distribuição das espécies em função do pH para o sistema contendo 0,1 mmol de ácido fítico e 0,05 mmol de Fe(II), $\mu = 0,100$ mol.L⁻¹ a $36 \pm 0,1$ °C.

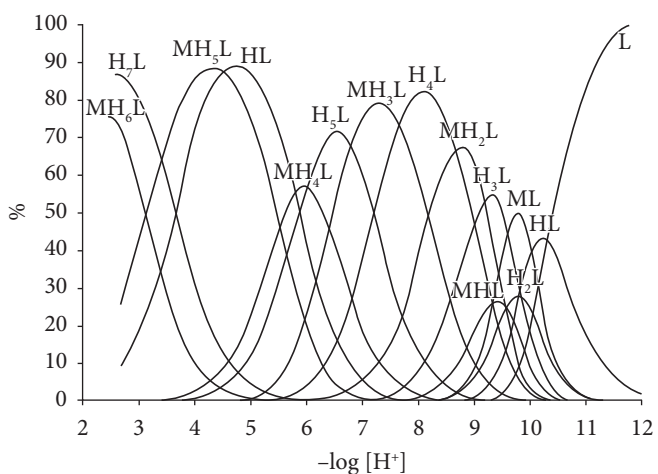


Figura 5. Curvas de distribuição das espécies em função do pH para o sistema contendo 0,1 mmol de ácido fítico e 0,1 mmol de Fe(III), $\mu = 0,100$ mol.L⁻¹ a $36 \pm 0,1$ °C.

um ligante, atinge um máximo de formação de 48% a pH 9,8. À medida que o pH diminui, a concentração da espécie $[ML]^{9-}$ decresce e aumenta a concentração de $[MHL]^{8-}$, um íon metálico para um ligante monoprotonado, que atinge sua formação máxima de 27% a pH 9,5. Quando o pH decresce, surge a espécie $[MH_2L]^{7-}$ com o máximo de formação de 65% em pH 8,9. Em pH 7,3, a espécie predominante é a $[MH_3L]^{6-}$, que atinge a formação máxima de 79%. As espécies $[MH_4L]^{5-}$, $[MH_5L]^{4-}$ e $[MH_6L]^{3-}$, tetra, penta, hexa, respectivamente, atingem suas formações máximas entre valores de pH de 6,0 a 2,0.

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

3.3 Estudos espectroscópicos na região do UV - vis

Os estudos na região do 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. A Figura 6 representa o sistema contendo ácido fítico em ausência e presença do íon metálico Fe(II), estequiometria 2:1, correspondente às espécies $[MH_7L]^{3-}$, $[MH_6L]^{4-}$, $[MH_5L]^{5-}$ e $[MH_4L]^{6-}$, conforme as curvas de distribuição das espécies. Observa-se, na Figura 6, que o ácido fítico, curva *a*, não absorve na região do UV-Vis. A curva *b* refere-se à espécie $[MH_7L]^{3-}$, 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, ocorre a deprotonação do ligante, aumentando os sítios de coordenação livres deste, 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, cuja absorbância aumenta suavemente à medida que o pH 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).

Para o sistema ácido fítico-Fe(III), Figura 7, observa-se a formação de duas bandas de absorção em 218 e 274 nm. À medida que aumenta o pH, 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 $[MH_5L]^{4-}$, $[MH_4L]^{3-}$ e $[MH_3L]^{2-}$, nos

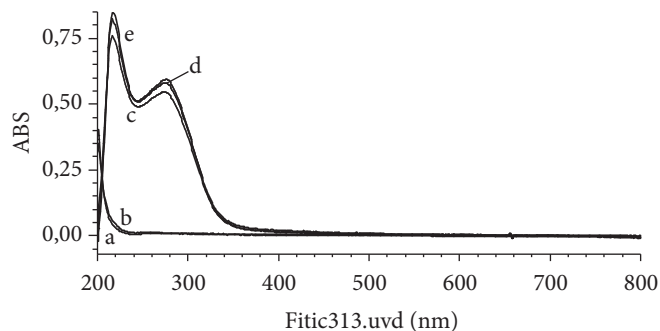


Figura 6. Espectro de UV-Vis do complexo ácido fítico-Fe(II): o espectro *a* refere-se ao ácido fítico livre. Os espectros *b*, *c*, *d*, e *e* referem-se às espécies $[MH_7L]^{3-}$, $[MH_6L]^{4-}$, $[MH_5L]^{5-}$ e $[MH_4L]^{6-}$, respectivamente.

valores de pHs 4,30, 6,10 e 7,03, respectivamente, conforme as curvas de distribuição das espécies.

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 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 elevada.

3.4 Estudos espectroscópicos na região do infravermelho

De acordo com o estudo realizado por Carli et al. (2006), o espectro de absorção na região do infravermelho do ácido fítico mostrou uma absorção em 1647,1 cm^{-1} correspondente ao grupo O = P(OH). O grupamento P = O absorveu em 1222,8 cm^{-1} , e as ligações sigma P-OH mostraram absorção em 1070,4 e 966 cm^{-1} . Na Figura 8, observa-se o espectro de infravermelho do complexo ácido fítico-Fe(II), em que a região de frequência de 1647,1 cm^{-1} do grupamento P = O(OH), relativa ao ligante livre, deslocou-se para 1658,7 cm^{-1} . O grupo P = O apresentou um deslocamento de 1222,8 cm^{-1} para 1122,5 cm^{-1} e as ligações sigmas P-OH foram deslocadas de 1074,3 (estiramento simétrico) e 966 cm^{-1}

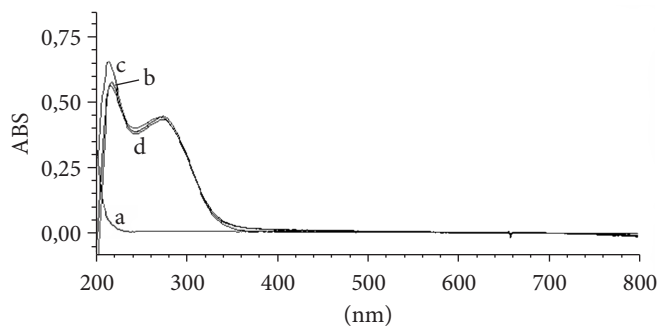


Figura 7. Espectro de UV-Vis do complexo ácido fítico-Fe(III): o espectro *a* refere-se ao ácido fítico na ausência de Fe(III). Os espectros *b*, *c* e *d* referem-se às espécies $[MH_5L]^{4-}$, $[MH_4L]^{3-}$ e $[MH_3L]^{2-}$, respectivamente.

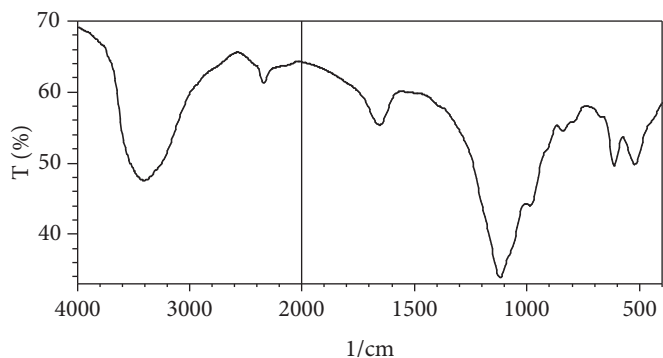


Figura 8. Espectro de infravermelho de uma amostra do complexo ácido fítico-Fe(II).

(estiramento assimétrico) para 987,5 e 840,9 cm^{-1} , respectivamente. O espectro de infravermelho do complexo ácido fítico-Fe(III), Figura 9, mostra semelhanças com o espectro do complexo ácido fítico-Fe(II). A região de frequência de 1647,1 cm^{-1} referente ao grupamento O = P(OH) deslocou-se para 1649,5 cm^{-1} . O grupo P = O mostra um deslocamento de 1222,8 cm^{-1} para 1145,6 cm^{-1} . As regiões de frequência 1070,4 e 966,3 cm^{-1} referentes às ligações P-OH mostram-se deslocadas para 1072,3 e 987,5 cm^{-1} , respectivamente. As diferenças nas posições das bandas do ligante livre em relação ao ácido fítico coordenado aos íons metálicos são decorrentes de um aumento nas interações entre os íons e a ligação P-O do ácido fítico. Isso resulta num maior deslocamento do número de onda nos complexos que no ligante livre.

3.5 Análise térmica - curva TG

Observa-se que o complexo ácido fítico-Fe(II), espécie $\text{K}_6[\text{FeC}_6\text{H}_{10}\text{P}_6\text{O}_{24}]$, Figura 10, decompõe-se em três etapas principais de 30 a 780 °C representadas na Tabela 2. A primeira etapa ocorre na faixa de temperatura de 30 até 185 °C, correspondendo à saída de quatro moléculas de água de hidratação perfazendo uma percentagem de 7,41% de perda de massa. 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 um mol de pirofosfato duplo de potássio e ferro(II), $\text{K}_2\text{FeP}_2\text{O}_7$, e dois mols de metafosfato de potássio, $(\text{KPO}_3)_2$. 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 ($\text{K}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$), liberando duas moléculas de água nesse processo, as quais são decompostas. Em temperaturas acima de 240 °C, em sistema aberto, o pirofosfato de potássio forma metafosfato de potássio (KPO_3), 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 perda de massa, atribuída 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%.

O comportamento térmico do complexo ácido fítico-Fe(III), espécie $\text{K}_6[\text{FeC}_6\text{H}_9\text{P}_6\text{O}_{24}]$, está representado na Figura 11, e as perdas de massa, na Tabela 3. Analisando as curvas TG e DTG

Tabela 2. Sugestões de perda de massa para o complexo ácido fítico-Fe(II).

Ác.fítico-Fe(II) mi = 3,3381 mg	ΔT (°C)	Perda (%)		Proposta de perda
		Experimental	Teórico	
Primeira etapa	30-185	7,41	7,64	Quatro moléculas de H_2O de hidratação
Segunda etapa	186-382	9,45	9,56	Cinco moléculas de H_2O de constituição
Terceira etapa	383-780	7,57	7,65	Seis átomos de carbono

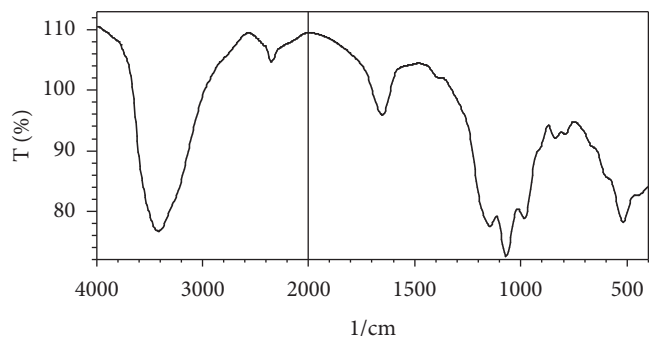


Figura 9. Espectro de infravermelho de uma amostra do complexo ácido fítico-Fe(III).

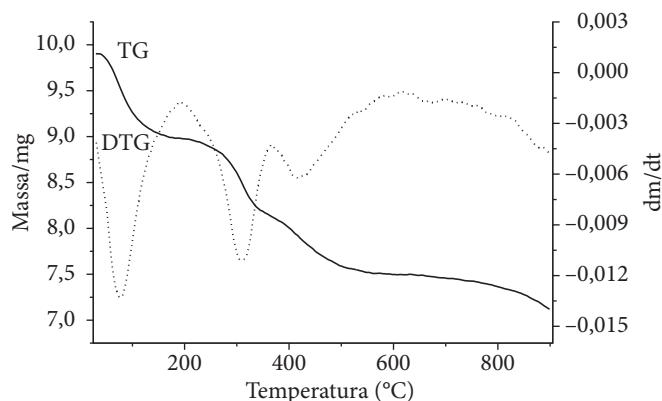


Figura 11. Curvas de TG e DTG do complexo ácido fítico-Fe(III).

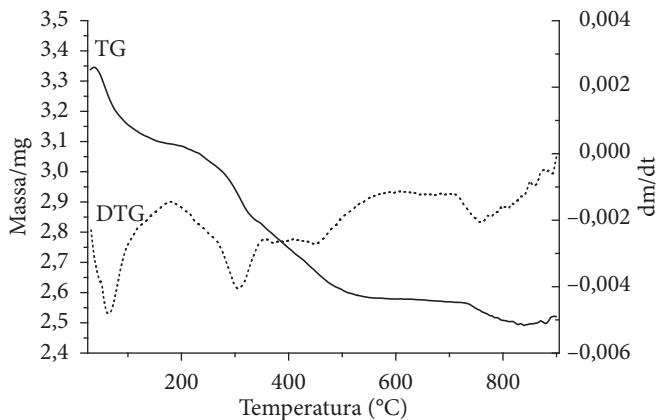


Figura 10. Curvas de TG e DTG do complexo ácido fítico-Fe(II).

Tabela 3. Sugestões de perda de massa para o complexo ácido fítico-Fe(III).

Ác.fítico-Fe(III) mi = 9,9034 mg	ΔT (°C)	Perda (%)		Proposta de perda
		Experimental	Teórico	
Primeira etapa	30-193	9,32	9,57	Cinco moléculas de H_2O de hidratação
Segunda etapa	194-370	8,71	8,61	Quatro moléculas e meia de água de constituição
Terceira etapa	371-800	7,61	7,65	Seis átomos de carbono

desta figura, 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% de perda da massa total, que 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%, referente à liberação de quatro moléculas e meia de água de constituição e consequente formação de pirofosfato duplo de potássio e ferro(III) e metafosfato de potássio. Entre as temperaturas 371 e 800 °C, ocorre uma perda de massa de 7,61%, a qual é atribuída à oxidação de matéria orgânica correspondendo à 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.

4 Conclusões

Através dos dados potenciométricos, conclui-se que o ácido fítico é um bom agente quelante para o Fe(II), visto que este íon manteve-se estável em toda a faixa de pH analisado. Para o complexo ácido fítico Fe(III), a constante de formação do complexo com o ligante totalmente deprotonado, espécie $[ML]^{9-}$, apresentou $\log K = 18,87$, valor elevado que evidencia grande afinidade entre o ligante e o íon metálico. As análises espectroscópicas de UV-Vis e IR para ambos os complexos evidenciaram que o ácido fítico encontra-se coordenado ao íon metálico. A análise térmica também revelou que o ácido fítico encontra-se coordenado ao íon metálico nos complexos estudados. Os complexos ácido fítico-Fe(II) e ácido fítico-Fe(III) apresentaram comportamento térmico semelhante, e a perda de massa total para os complexos foi de 24,87 e 25,89%, respectivamente. 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, foi possível obter informações quantitativas do grau de interação do ácido fítico com estes íons, bem como compreender melhor a função que este ligante desempenha.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES o apoio à pesquisa.

Referências bibliográficas

- AHN, H. J. et al. Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 88, n. 2, p. 173-178, 2004.
- BEBOT-BRIGUD, A. 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, 1999.
- CARLI, L. et al. Estudo da estabilidade do complexo ácido fítico e o íon Ni(II). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 19-26, 2006.
- COSGROVE, D. J. The isolation of myoinositol pentaphosphates from hydrolysates of phytic acid. **Biochemical Journal**, v. 89, n. 1, p. 172-175, 1963.
- CREA, P. et al. Speciation of phytate ion in aqueous solution. Sequestration of magnesium and calcium by phytate at different temperatures and ionic strengths in NaCl. **Biophysical Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 18-26, 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, 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, 2004.
- De STEFANO, C. et al. Speciation of phytate ion in aqueous solution. sequestering ability toward mercury(II) cation in NaCl at different ionic strengths. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 4, p. 1459-1466, 2006a.
- De STEFANO, C. 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, 2006b.
- DEVLIN, T. M. Iron and heme metabolism. In: **Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations**. 5 ed. New York: Wiley-Liss, 2002. p. 1054-1057.
- 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, 2006.
- EKHOLM, P. 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.
- ENGLE-STONE, R. et al. 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. 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.
- HE, Z. Q. et al. Preparation and FT-IR characterization of metal phytate compounds. **Journal of Environmental Quality**, v. 35, n. 4, p. 1319-1328, 2006.
- LEAL, E. S. **Extração, obtenção e caracterização parcial de ácido fítico do germe grosso de milho e aplicação como antioxidante**. Londrina, 2000. 86f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina.
- 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. **Química Inorgânica não tão concisa**. 5 ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda, 1999. p. 236-266.
- MARTELL, A. E.; MOTEKAITIS, R. J. **The determination and use of stability constants**. New York: VCH Publishers, 1992.
- MIDORIKAWA, K. 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.
- 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, 1988.
- MONTGOMERY, R.; CONWAY, T. W.; SPECTOR, A. A. Disponibilidade dos minerais. In: **Bioquímica: Uma abordagem dirigida por casos**. 5 ed. São Paulo: Editora Artes Médicas, 1994. Cap.1, p.13.
- OH, B. C. et al. Ca^{2+} -inositol phosphate chelation mediates the substrate specificity of β -propeller phytase. **Biochemistry**, v. 45, n. 31, p. 9531-9539, 2006.

- PATON, G.; NOILLY, M.; MOSSOYN, J. C. Conformational preferences and intramolecular interactions of myo-inositol hexakisphosphoric acid by ^1H e ^{31}P NMR studies. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 401-407, 1999.
- PEARSON, H. 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. **Lebensmittel-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. 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, 2006.
- RODRIGUES-FILHO, U. 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, 2005.
- SCHWARZENBACH, G.; FLASCHKA, H. Complexometric titration. London: Methuen CO, 1969. p. 245-250.
- SOARES, A. L. **Ação de ácido fítico e vitamina E na oxidação lipídica e aroma de requeijado em filés de peito de frango**. Londrina. 1998. 105f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina.
- SOMASUNDAR, P. et al. Inositol hexaphosphate (IP6): A novel treatment for pancreatic cancer. **Journal of Surgical Research**, v. 126, n. 2, p. 199-203, 2005.
- StANGELO, A. J. Lipid oxidation in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 36, n. 3, p. 175-224, 1996.
- TORRES, J. et al. Solution behaviors 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, 2005.
- XU, Y.; LIU, X.; PRESTWICH, G. D. Synthesis of phosphatase-resistant analogues of phytic acid (InsP_6). **Tetrahedron Letters**, v. 46, n. 48, p. 8311-8314, 2005.
- YANG, H. et al. Formation of inositol hexaphosphate monolayer 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, 2005.
- ZHAO, G.; XU, J. J.; CHEN, H. Y. Fabrication, characterization of Fe_3O_4 multilayer film and its application in promoting direct electron transfer of hemoglobin. **Electrochemistry Communications**, n. 8, p. 148-154, 2006.
- WINDISCH, W. Interaction of chemical species with biological regulation of the metabolism of essential trace elements. **Anal Bioanalytical Chemistry**, v. 372, n. 3, p. 421-425, 2002.