



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ESTUDO DAS INTERAÇÕES DOS ÍONS Fe(III) COM ÁCIDO
CAFEICO NA PRESENÇA DE ÁCIDO HÚMICO.**

JULIO BARGEN HINKEL

Florianópolis
DEZEMBRO/2010

JULIO BARGEN HINKEL

**ESTUDO DAS INTERAÇÕES DOS ÍONS Fe(III) COM ÁCIDO
CAFEICO NA PRESENÇA DE ÁCIDO HÚMICO.**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Orientador: Bruno Szpoganicz

Florianópolis
12/2010

Julio Bargen Hinkel

**ESTUDO DAS INTERAÇÕES DOS ÍONS Fe(III) COM ÁCIDO
CAFEICO NA PRESENÇA DE ÁCIDO HÚMICO.**

Profa. Dra. Inês Maria Costa Brighente
Coordenadora de Estágios do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Bruno Szpoganicz
Orientador

Prof. Dra. Maria Marta de Souza Sierra

Dra. Maryene Alves Camargo

Florianópolis
novembro/2010

Agradecimentos:

Ao Prof. Dr. Bruno Szpoganicz pela oportunidade e por acreditar que conseguiria vencer mais esse obstáculo nessa vida, não só pela orientação, mas pelas conversas, brincadeiras, cervejas e muita diversão. A

toda equipe do laboratório de Equilíbrio Químico, Andy, Ana, Bruna, Camila, Suéli, Juliano, Neiva, Fabiana e Mariane, em especial ao Thiago, que me ajudou muito na conclusão desse trabalho.

Ao GEPEEA, especialmente ao Fernando e Otoniel, pelos testes eletroquímicos.

Ao LACFI, ao Bruno e Daniel Walker pelos testes espectrofotométricos.

A minha família, que é tudo na minha vida: Dona Julia e Seu Hinkel, meus irmãos Max e Aline, e ao meu cunhado Niquito, sem esquecer da Daninha da Gui e do Tico.

Aos amigos que fiz ao longo dessa caminhada, galera do Miyoshi, meus amigos do Geração e aqueles que fiz na UFSC: Mansinho, Tiaguinho, Carolzinha, Viéve, Tio Misa, Cesinha, Hugo, Japa, Bode, Fugita, Cardoso, Fran Cesconeto, Franzinha, Gaucho, Karlinha, Danilety, Estela, Joana, Polyana, Latino, Cristian, Panterinha, Tomazi, Juanito, Xitara, Santista, Elaine, Edna, Giuseppe, Dai Gris, Marlon, Mariana Sanches, Renatinha, Andry, Galera do lab do Braga, Rex, Marcel, Rafa Trilha, Taisa, Alessandra, Gabriel, Alemão, Bira e a todos que eu não lembrei.

Ao jornalista Sérgio Lino pela revisão ortográfica.

Meu Brother, Irmão Murcilha, que teve sempre do meu lado.

A todos os funcionários da UFSC e a galera da ONDREPSB.

E por último uma pessoa especial que sempre levarei comigo, por toda a força que me deu, e por nunca deixar que eu desistisse da Química. “Mesmo que as palavras sejam esquecidas, que a presença não seja constante e que os caminhos sejam diferentes: pode ter certeza que me lembrarei de você pra sempre.”

SUMÁRIO

	RESUMO	09
1.	INTRODUÇÃO	10
2.	REVISÃO DA LITERATURA	11
2.1	Súbstância Húmica	11
2.1.2	Interações SH-Metal	13
2.2	Ferro nas Plantas.....	14
2.3	Polifenóis	15
	Ácido Cafeico	15
2.3.1		
3.	OBJETIVOS	18
3.1	Objetivo Geral	18
3.2	Objetivo Específico	18
4.	METODOLOGIA	19
4.1	Materiais	19
4.2	Métodos e Instrumentação	19
4.2.1	<i>Titulações Potenciométricas</i>	19
4.2.2	<i>Espectroscopia de UV-Vis.</i>	20
4.2.3	<i>Estudos Eléctroquímico</i>	21
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
5.1	<i>Espectroscopia de UV-Vis</i>	22
5.2	Estudo de equilíbrio potenciométrico do sistema Ácido Cafeico : Fe(III).....	24
5.3	<i>Estudos Eléctroquímica</i>	29
5.4	Estudo de equilíbrio potenciométrico do sistema Ácido Cafeico : Fe(III) : Ácido Húmico.....	32
6.	<i>Conclusão</i>	34
7.	Referências Bibliográficas.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do Ácido Húmico.....	12
Figura 2. Diferentes formas de ligações Ácido Húmico - Metal.....	13
Figura 3. Estratégia para absorção de Ferro pelas plantas.....	14
Figura 4. Precursores biosintéticos do ácido cafeico.....	16
Figura 5. Sítios de coordenação do ácido cafeico.....	16
Figura 6. Espectros eletrônicos de UV-Vis do ácido cafeico.....	22
Figura 7. Espectros eletrônicos de UV-Vis registrado em 343 nm em função do pH.....	23
Figura 8. Curva de titulação do ácido cafeico em presença e ausência de Fe(III).....	24
Figura 9. Diagrama de distribuição de espécies do ácido cafeico em função do pH.....	25
Figura 10. Equilíbrios envolvendo o ácido cafeico.....	26
Figura 11 Diagrama de distribuição de espécies do sistema $H_3Caf - Fe(III)$ 2:1 em função do pH.....	27
Figura 12. Equilíbrios envolvendo o sistema $H_3Caf :Fe(III)$ 2:1.....	28
Figura 13. Voltamogramas cíclicos de Fe(III) constante, variando a concentração de H_2CAF^-	29
Figura 14. Voltamogramas cíclicos de H_2CAF^- constante, variando a concentração de Fe(III).....	30
Figura 15. Diagrama de distribuição de espécies do sistema Ácido Cafeico - Fe(III) - Ácido Húmico.....	32

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Valores dos pKas do ácido cafeico determinados por UV-Vis.....	23
Tabela 2. Valores dos pKas do ácido cafeico determinados por Titulação Potenciométrica.....	25
Tabela 3. Valores das constantes de formação dos complexos do sistema Caf - Fe(III).....	28
Tabela 4. Parâmetros eletroquímicos avaliados no sistema Ácido Cafeico - Fe(III).....	31
Tabela 5. Valores das constantes das interações e espécies do sistema Ácido Cafeico - Fe(III) - Ácido Húmico.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS

SH – Substância Húmica

AH – Ácido Húmico

AC – Ácido Cafeico

pH – potencial hidrogênionico

Sal – Salicílico

Fta – Ftálico

Cat - Catecol

RESUMO

A biodisponibilidade e o transporte de íons metálicos no solo para as plantas são fortemente influenciados pela presença de ligantes orgânicos no ambiente. O ácido cafeico ocorre na rizosfera de muitas plantas, juntamente com outros compostos polifenólicos. Desta forma, plantas com deficiência de Ferro exsudam ácido cafeico para tornar o Ferro biodisponível, suprimindo a necessidade desse importante íon metálico.

Neste trabalho foram investigadas as interações dos íons Fe(III) com o ácido cafeico para poder avaliar, na presença de ácidos húmicos, onde esse íon está complexado, e se será liberado. As interações foram determinadas pela técnica de titulação potenciométrica, que é muito eficaz na determinação das constantes de equilíbrio. Por isso é a técnica escolhida para caracterizar os equilíbrios ácido-báse e de complexação. Além do estudo potenciométrico, foram realizados espectroscopias UV-Vis para comparar com os resultados potenciométricos e estudos eletroquímicos por voltametria cíclica, envolvendo o ácido cafeico em presença e ausência do íon metálico. Esses estudos são importantes para entender o mecanismo de absorção de cátions metálicos por raízes de plantas dicotiledôneas. Esses estudos mostram que em meio ácido, neutro, e levemente alcalino, o ácido húmico libera íons Fe(III) para o ácido cafeico, facilitando a absorção do íon Fe(III) pelas raízes das plantas.

Palavras-chave: complexos metálicos, Fe(III), Ácido Húmico e Ácido Cafeico.

1. Introdução

A matéria orgânica do solo (MOS) é formada de resíduos de plantas e animais. Ela exerce importante papel como fonte de alimentos para a fauna do solo e atua diretamente sobre a fertilidade do solo, por compor a principal fonte de macro e micro nutrientes essenciais às plantas. O interesse em relação ao meio ambiente tem sido crescente nos últimos anos, tanto para avaliar a biodisponibilidade de micro nutrientes para as plantas, como: B, Cl, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Na, Se, Zn, quanto à possível contaminação do solo em função de metais tóxicos originados das atividades industriais, como: Mn, Al, Cr, As, Se, Sb, Pb, Hg. Devido à sua toxicidade, esses metais são chamados fitos tóxicos.¹

As plantas dicotiledôneas, quando em deficiência de ferro, exsudam ácidos orgânicos (ácido málico, ácido cítrico, aminoácidos) e fenóis (ácido caféico) de baixa massa molecular capazes de formar complexos solúveis chamados quelatos. Por meio da formação de quelatos, os nutrientes minerais são protegidos de novas ligações e, ao mesmo tempo, podem ser absorvidos mais facilmente pelas raízes das plantas.²

2 Revisão da Literatura.

2.1 Substância Húmica.

A matéria orgânica do solo consiste de uma mistura de compostos em vários estágios de decomposição, que resultam da degradação biológica de resíduos de plantas, animais e da atividade sintética de microrganismos.³ A matéria orgânica pode ser agrupada em substâncias húmicas (SH) e não-húmicas. As substâncias não-húmicas são formadas por substâncias com características químicas definidas, tais como polissacarídeos, aminoácidos, açúcares, proteínas e ácidos orgânicos de baixa massa molar.⁴

As substâncias húmicas (SH) são os componentes em maior quantidade na matéria orgânica: cerca de (70%) do carbono orgânico total. Estão presentes em águas, sedimentos e solos. Estes compostos têm uma grande participação em processos químicos, físicos e geoquímicos nestes ambientes.⁵ Eles são fontes de elementos essenciais para a vida, como nitrogênio e fósforo.

A composição das SH, bem como suas propriedades, pode variar de acordo com o grau de decomposição da matéria orgânica e o local da sua formação. O processo de humificação é influenciado por fatores como clima e vegetação, determinando de certa forma as características das SH. Um alto grau de aromaticidade da SH indica alto grau de humificação, devido a atividades microbianas.⁶ A presença de grande quantidade de alifaticidade do húmus marinho, por exemplo, resulta da contribuição de lipídeos de origem microbiana, particularmente algas.⁷

A estrutura das SH vem sendo estudada por diversos pesquisadores. Mas nenhuma delas ainda é bem aceita devido a variações de acordo com o grau e mecanismo de decomposição, não possuindo uma identidade estrutural. Através da análise de diversas técnicas, Schulten e Schnitzer (1994) propuseram uma estrutura para os ácidos húmicos (Figura 1).

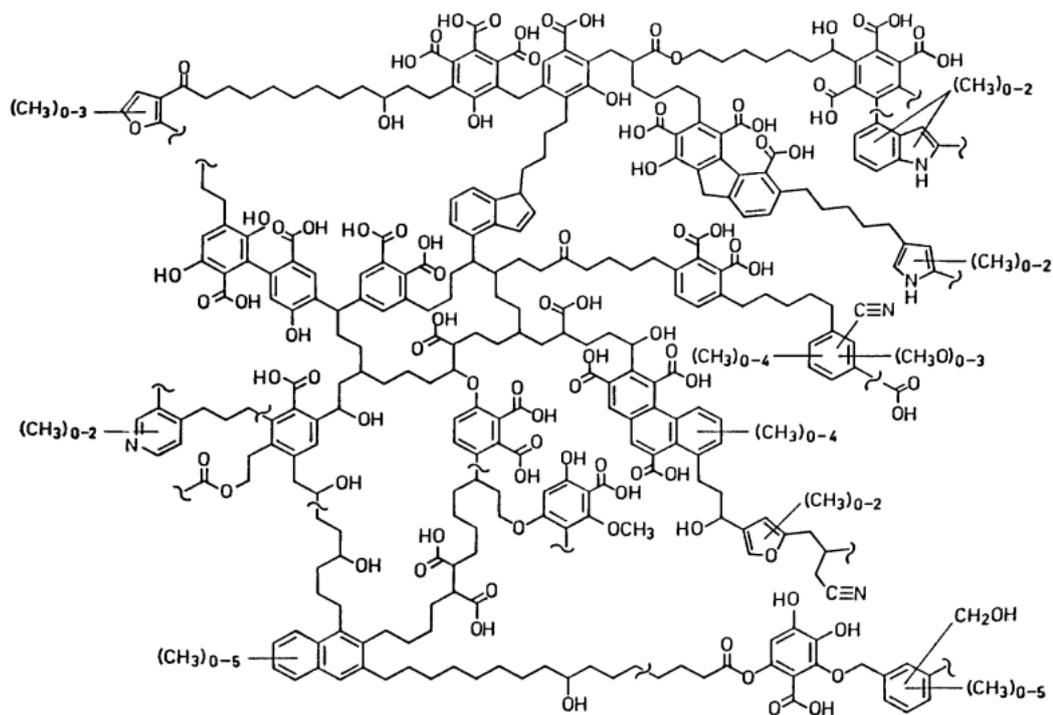


Figura 1: Ácidos húmicos proposto por Schulten e Schinitzer.⁸

Esta estrutura consiste em um agregado de moléculas com átomos de C, O, H e N. O oxigênio está presente na forma de carboxilas, hidroxilas fenólicas e alcoólicas, carbonilas e ésteres. As substâncias húmicas têm sido amplamente estudadas, pois elas possuem aplicações na agricultura, indústria, farmácia e, principalmente, na área ambiental.

As SH são classificadas de acordo com sua solubilidade: o ácido fúlvico (AF) é solúvel em qualquer faixa de pH, o ácido húmico é solúvel em meio básico e insolúvel em meio ácido, e a humina é insolúvel em todas as faixas de pH.³ A diferença entre eles está na composição, onde os AH são mais ricos em carbonos e possuem uma quantidade menor de grupos funcionais que os AF.

O efeito das SH nas plantas está relacionado com o crescimento das plantas pela absorção de nutrientes, aumentando a produção de ATP, fotossíntese, aminoácidos e proteínas.⁹ Esses efeitos vêm sendo amplamente estudados por diversos pesquisadores. Mas devido às dificuldades já mencionadas, relacionadas com a caracterização das SH, resultados contrastantes vêm sendo encontrados.

2.1.2 Interações SH-metal.

As SH, devido suas características estruturais, podem interagir com metais. Mas a principal dificuldade de estudá-las está no fato que elas representam uma variedade de moléculas. Por serem diferentes uma das outras, possuem variados grupos funcionais que podem interagir com os metais. Manahan, em 1981, verificou algumas possibilidades de ligação com o metal: A ligação pode ocorrer como quelante entre: A) grupos carboxila e hidroxilas fenólicas, B) quelação entre dois grupos carboxila ou C) complexação com o grupo carboxila (Figura 2).

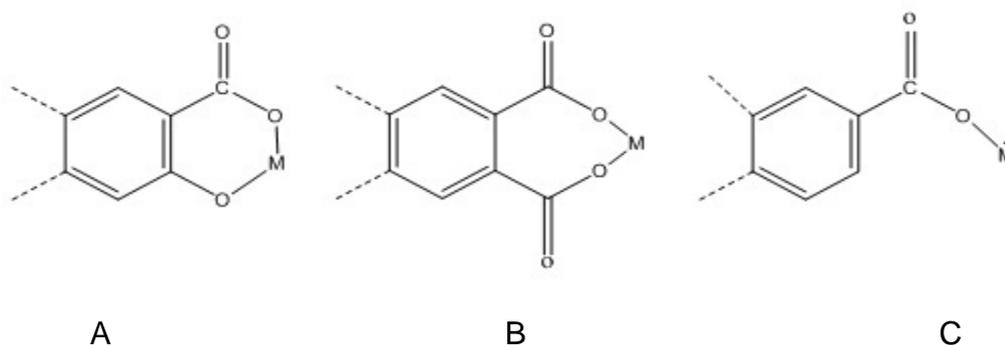


Figura 2: Diferentes formas da ligação SH-metal.¹⁰

As interações entre os íons metálicos e ligantes inorgânicos (ânions) ou orgânicos obedecem ao princípio de ácidos e bases, moles e duros (conceito de “hard” e “soft”) sugerido por Pearson, em 1963.¹¹ Baseado no conceito de ácido e base de Lewis, no qual o primeiro é uma substância receptora de um par de elétrons e a segunda uma substância doadora de um par de elétrons, a classificação de Pearson estabelece que ácidos duros (“hard”) interagem melhor com bases duras (“hard”) como por exemplo o grupo carboxílico, sendo uma base dura interage com os íons Ca(II), Mg(II), Al(III) e Fe(III) que são metais duros. Os ácidos moles (“soft”) como tioésteres e aminos preferem bases moles (“soft”) como Cu(I), Cd(II), Pb(II) e Hg(II). O termo duro (hard) indica alta eletronegatividade, baixa polaridade e raio iônico pequeno. E o termo mole (soft) indica o contrário.

A estabilidade do complexo Metal-húmico não depende somente da natureza das SH, mas também de outros fatores como: a concentração de SH, a concentração de outros ligantes, a presença ou não de outros metais e ainda as condições físico-químicas do meio (pH, força iônica e temperatura). A presença do íon Al(III) pode inibir a absorção de cálcio e magnésio.¹².

2.2 Ferro nas plantas.

O ferro é um nutriente essencial para as plantas. A falta do mesmo faz com que elas sofram de clorose intervenal, sintoma que afeta a redução do cultivo das culturas. Uma vez que é relativamente imóvel no floema, a clorose manifesta-se, inicialmente nas folhas mais jovens. Subsequentemente pode atingir também as nervuras, até a folha ficar amarelada. E o ferro deixa de participar de processos fundamentais para a planta desde a fotossíntese até a respiração, onde participa na transferência de elétrons em reações redox, metabolismo de nitrogênio, síntese de DNA e hormônios.^{13,14} Algumas de suas funções se devem à sua capacidade de atuar em reações redox reversíveis entre os íons ferroso Fe(II) e férrico Fe(III). Abundante na crosta terrestre, o Fe presente no solo está em sua maior parte na forma oxidada Fe(III) que não é prontamente absorvido pelas plantas.¹⁵

Plantas em deficiência de Fe liberam compostos fenólicos redutores, como no caso do ácido caféico, para plantas de tomate^{16,17} e pepino.¹⁸ Formam quelatos onde o íon Fe(III) é reduzido a Fe(II), devido o Fe(III) possuir pouca mobilidade na planta. Para ocorrer uma melhor solubilização do Fe no solo, a rizosfera libera prótons, onde acontece uma redução do pH do meio, já que o Fe em meio alcalino precipita-se na forma de hidróxido, especialmente em pH acima de 5,0. Tanto a liberação quanto a redução são induzidas por enzimas ATPases, que gastam ATP para liberação de H⁺ (Figura 3).^{19,20,21}

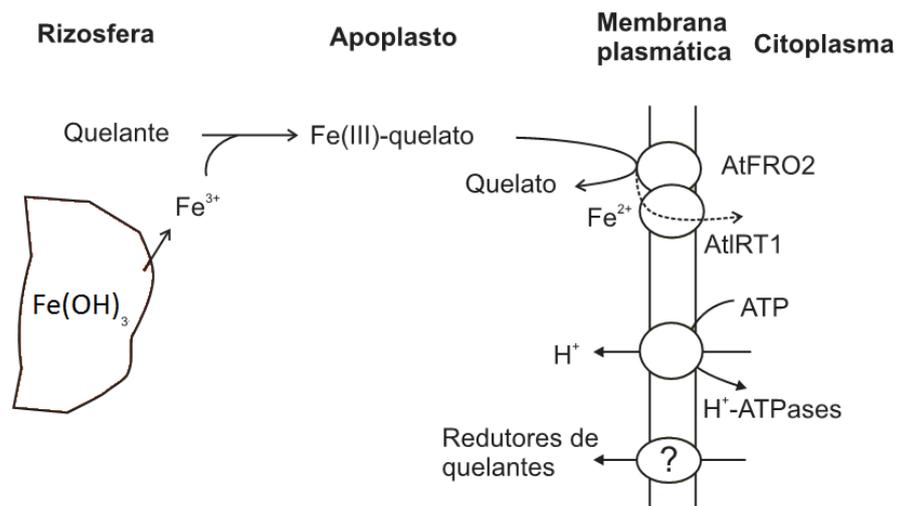


Figura 3: Estratégia para absorção de Ferro pelas plantas.²¹

2.3 Compostos Polifenólicos

Os compostos polifenólicos são descritos na literatura como um grupo de compostos encontrados na natureza, tendo como a principal característica a presença de múltiplos grupos funcionais do tipo fenol. Os compostos fenólicos nas plantas vêm sendo amplamente estudados por desempenharem um importante papel morfológico e fisiológico,²² estando presentes em diversas funções como: inibir a oxidação lipídica e a proliferação de fungos,²³ sendo a mais significativa a formação de espécies reativas de oxigênio.²⁴ Os ácidos fenólicos são divididos em ácidos hidroxibenzoicos e ácidos hidroxicinâmicos. Nas plantas na maioria das vezes ocorrem na forma de ésteres, os quais podem ser ambos solúveis (acumulando-se em vacúolos) ou insolúveis (componentes da parede celular). Sendo um dos mais importantes entre os hidroxicinâmicos, o ácido cafeico e o ácido ferúlico estão presentes no café e em diversas frutas. Dentre os ácidos hidroxibenzoicos os mais importantes são os ácidos elágico e gálico, encontrados nas frutas vermelhas e castanhas.²⁵

2.3.1 AC.

Apesar do nome relacionado ao café, pode ser encontrado em frutas e vegetais como uva, maçã, ameixa e tomates. Sendo possível isolá-lo das folhas de *Alsophila spinulosa*, uma pteridófita originária da China, com propriedades já descritas para o tratamento de hepatite, gota e reumatismo.²⁶ Chiang (1994) relatou os efeitos fisiológicos do AC sobre a sua capacidade de atuar como anti-inflamatório, como ligantes,²⁷ e até mesmo inibir a oxidação de LDL catalisada por íons metálicos.²⁸ O AC é produzido a partir da L-fenilamina ou L-tirosina (figura 4).

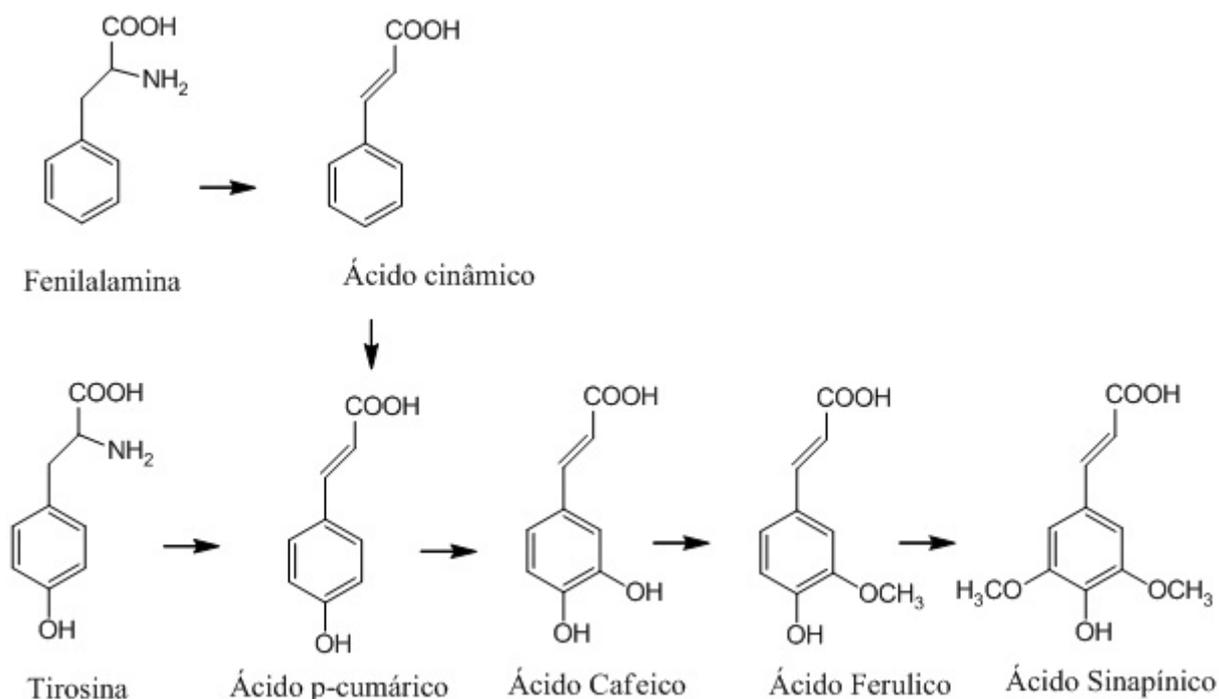


Figura 4: Precursores biosintéticos do ácido cafeico.²⁹

O potencial antioxidante do AC está intrinsecamente ligado à sua estrutura molecular, tanto em função de sua capacidade de estabilizar por ressonância o radical fenoxil gerado pela doação do seu H fenólico, quanto em função de sua capacidade de interagir com metais indutores de dano oxidativo.³⁰

O ácido caféico (Figura 5), é encontrado em diversas plantas em conjunto com outros polifenóis.³¹ Tal molécula possui dois sítios de coordenação, sendo um na porção catecol e o outro na função carboxílico.

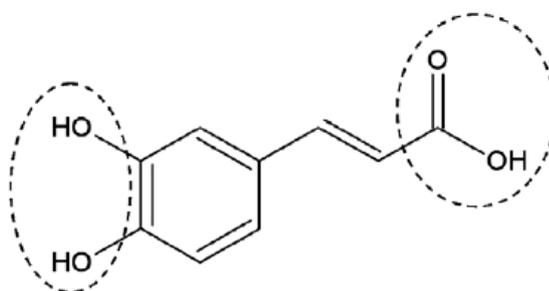


Figura 5: Sítios de coordenação do ácido caféico.³¹

A importância do grupo catecol em relação à estrutura/atividade de ácidos fenólicos indica ser um grupo importante tanto na estabilização dos radicais livres,³² quanto na complexação de metais.³³ O papel dos grupos carboxílico e etilênico

também deve ser avaliados. O grupo carboxílico tem demonstrado sua participação em algumas reações de complexação do AC com metais. Estudos espectroscópicos por UV e IR, realizados por estes autores confirmam a existência de estruturas de complexos metálicos do AC nas proporções 1:1 (no caso do Pb(II)), 1:2 (no caso dos metais Cu(II) e Zn(II)), 2:1 (também para os íons metálicos Pb(II) e Cu(II)) e 1:3 (no caso do Al(III)).³⁴ No entanto, cabe salientar que os diversos estudos da interação do AC com diferentes metais demonstram que extrapolações de um complexo para outro não podem ser utilizadas no que diz respeito ao sítio ligante e aos mecanismos de complexação. Sendo que a natureza do complexo varia com o íon considerado.

Cornard e colaboradores (2006) estudaram as interações entre ácido cafeico e Al(III) através das constantes de estabilidade para predizer em qual pH o metal complexa melhor um determinado sítio. Cornard notou que a preferência pelo grupo catecol está relacionada com o aumento de pH. Enquanto que, em pH mais baixos, há uma competição entre os sítios carboxílico e catecol.³⁵

Deyana, em 1995, comparou o pH com a capacidade do Fe(III) em interagir com ácido cafeico. A concentração de ferro nas formas di e trivalentes está intimamente ligada à capacidade do ácido na reação de redox, para reduzir o Fe(III) a Fe(II). Podendo, em altas concentrações de metal, ocorrer a decomposição gradual de complexos Fe(III)-Ácido caféico.³⁶

3. Objetivos

3.1 Geral

Estudar as afinidades dos íons Fe(III) pelo ácido caféico, e compará-las às interações com as substâncias húmicas, simulando o ambiente biológico onde ocorre o transporte de micronutrientes para as plantas.

3.2. Específicos

- Determinar por titulação potenciométrica os pKa's do ácido cafeico e comparar com os da literatura.
- Realizar titulação espectrofotométrica do ácido cafeico para comparação das constantes encontradas anteriormente.
- Caracterizar os equilíbrios envolvendo o ácido cafeico e Fe(III) por titulação potenciométrica, bem como sua especiação calculando suas constantes de formação e pKa's
- Elucidar qualitativamente a interação entre o ligante estudado e o íon metálico por voltametria cíclica.
- Caracterizar o sistema ternário (ácido cafeico:Fe(III):ácido húmico) para fins de especiação, demonstrando as possíveis interações existentes nesses equilíbrios.

4. Materiais e métodos.

4.1 Materiais.

Os materiais envolvidos nas análises foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem purificação prévia: Ácido Húmico (Aldrich), Ácido Cafeico (aldrich); hidróxido de potássio livre de CO₂ em ampolas de Backer Diluit-it, Argônio (White Martins), EDTA dissódico (Vetec), cloreto de ferro(III) hexahidratado (Vetec)

4.2 Métodos e Instrumentações

4.2.1 Titulação Potenciométrica

A principal vantagem da utilização desta técnica é o fato de que, como se trata de um estudo em solução, a interpretação dos resultados deve ser muito mais aproximada do que ocorre na natureza. A técnica de titulação potenciométrica é muito empregada para estudos de medidas de equilíbrio de complexos metálicos em solução, podendo-se usar eletrodo de vidro, muito preciso nas medidas de concentração de hidrogênio. Neste tipo de titulação adicionam-se incrementos de volume conhecido uma base ou um ácido padronizados, ao sistema contendo um ligante, na ausência ou na presença de íon metálico.

Através dos valores das constantes de estabilidade ou das constantes de equilíbrio de formação de complexos metálicos é possível verificar a tendência de complexação de um determinado ligante por um íon metálico em solução. Para o caso das estruturas complexas como as substâncias húmicas, consideradas ligantes multidentados, geralmente utilizam-se misturas de moléculas-modelo para avaliar o grau de confiabilidade do método utilizado.

Os experimentos foram realizados em sistema aquoso devido à solubilidade dos ligantes na faixa de pH estudada. As soluções experimentais foram tituladas em uma célula termostaticada a $25,00 \pm 0,05$ °C refrigerada mecanicamente por um banho de circulação termostaticado (Microquímica Ind. Com. Ltda). As titulações foram realizadas em um titulador automático (Titrino Plus 350, da Metrohm), equipado com um eletrodo combinado Ag/AgCl. Antes de cada titulação o eletrodo é calibrado com uma solução diluída de HCl (0,01 mol/L, $\mu = 0,100$ mol/L), para que se possa ter a leitura direta do pH ($\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$). Amostras de AC e AH 0,05 mmol e foram diluídas em 50 mL de água (bidestilada na presença de KMnO₄ e fervida). As soluções, com força iônica ajustada para 0,100M de KCl, tituladas com solução

padrão de KOH 0,100M livre de CO₂, através do fluxo de argônio até pH 11. As soluções metálicas foram estudadas potenciométricamente com 0,0250 mmol de Fe(III). A solução metálica de Fe(III) foi preparada a partir do sal metálico comercial e padronizada por titulação com EDTA.³⁷ Para evitar a hidrólise do metal trivalente, adiciona-se ácido clorídrico na solução. A quantidade de ácido adicionado é determinada quantitativamente pelo método de Gran's.³⁸ As titulações foram realizadas em triplicata e os valores apresentados referem-se à média dos experimentos. As constantes foram calculadas com o programa BEST7, que permite determinar as concentrações das espécies presentes e as constantes de protonação dos ácidos, bem como das constantes de estabilidade ou constantes de equilíbrio de formação dos complexos metálicos. A entrada de dados para o programa consiste em: o volume inicial da solução, os valores aproximados dos pKas dos grupos existentes, a concentração da base ou ácido (titulante) e os mmoles aproximados de cada grupo. Nos sistemas com o íon metálico é necessário também conhecer a concentração do íon metálico. O programa utiliza o método dos mínimos quadrados para minimizar as diferenças entre os valores de pH calculados e os experimentais, mantendo fixos os valores das constantes de equilíbrios conhecidas e variando os valores das constantes que se desejam determinar, minimizando o erro. Os milimoles de cada grupo, quando não forem conhecidos, são também determinados pelo ajuste da curva.

Com a ajuda do programa SPECIES foi calculada a distribuição das interações dos íons metálicos com o ácido húmico e ácido cafeico.³⁹

4.2.2 Espectroscopia de UV-Vis

Os espectros de UV/Vis foram obtidos em um espectrofotômetro HP8453 com arranjo de diodo. O equipamento possui lâmpadas de deutério e tungstênio e é utilizado para acompanhar formação de ou desaparecimento de espécies que absorvem radiação eletromagnética na região do ultravioleta até o visível. O equipamento foi acoplado a um banho termostático Microquímica, modelo MQBTC99-20, e a microcomputadores, contendo o sistema de aquisição e tratamento de dados, HP ChemStation versão A.02.05. Para a obtenção dos espectros de UV/Vis, foram utilizadas celas de quartzo com 1,0 cm de caminho ótico e capacidade para 3,0 mL de solução. A titulação espectrofotométrica do ácido caféico foi realizada adicionando-se alíquotas de 10µL de uma solução padrão de

NaOH sobre uma solução aquosa de ácido caféico 5×10^{-5} M (pH 2,00). Para cada adição da solução de NaOH foi medido o pH da solução e o espectro UV-Vis obtido em seguida.

4.2.3 Eletroquímica

Frequentemente, a voltametria cíclica é o primeiro experimento a ser realizado quando se deseja estudar o comportamento eletroquímico de um composto ou a superfície do eletrodo. Em voltametria, um sinal de excitação de potencial é aplicado sobre uma célula eletroquímica contendo um microeletrodo. Este sinal extrai uma resposta característica de corrente no qual se baseia o método. Na voltametria cíclica o sinal de excitação é na forma de onda triangular e o potencial varia continuamente com o tempo.

Nos experimentos de voltametria foi utilizado um potenciostato EG&G da Princeton Applied Research, acoplado ao software M270 para aquisição e análise dos dados. A célula eletroquímica com capacidade para 20 mL de solução foi empregada com um sistema de três eletrodos. Sendo o primeiro o eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho, o eletrodo Ag/AgCl como eletrodo de referencia e um fio de platina como eletrodo auxiliar.

Os testes eletroquímicos foram realizados em meio à solução aquosa de KNO_3 1 mol/L, com diferentes estequiometrias de Ferro(III) e do ácido Cafeico na proporção de 1:2, 1:1, 2:1. A concentração do ácido foi mantida constante, enquanto a concentração de Fe(III) foi variada para atingir as estequiometrias desejadas. No segundo momento a concentração de Fe(III) foi mantida constante até que a variação da concentração de ácido cafeico atingisse as devidas proporções estequiométricas. A partir dos dados obtidos com o efeito estequiométricos foi realizado o estudo cinético para o sistema nas proporções de 1:1 e 2:1 de ácido cafeico e ferro respectivamente, a fim de se avaliar a reversibilidade do sistema.

5. Resultados e discussões:

5.1 Titulação Espectrofotométrica

A espectroscopia UV-Vis foi utilizada na caracterização dos equilíbrios ácido-base do AC. A Figura 6, mostra o espectro de absorvância do AC em solução aquosa em função do pH variando de 2 a 11. Na faixa de pH estudada podemos observar dois pontos isobésticos em 291 e 322 nm, os quais evidenciam a presença de dois equilíbrios ácido-base. Sendo o primeiro equilíbrio relacionado à desprotonação do grupo carboxílico e o segundo equilíbrio relacionado à desprotonação de uma das hidroxilas do grupo catecol. Cornard e colaboradores por análise de (EFA) atribuíram que a forma ácida apresenta um espectro caracterizado por uma dupla banda localizada a 320 e 295 nm e absorção abaixo de 250 nm. A desprotonação do grupo carboxílico provoca um deslocamento hipsocrômico da dupla banda para 309 e 284 nm. Um deslocamento batocdrômico é observado na primeira desprotonação do grupo catecol 341 e 298 nm.³⁵

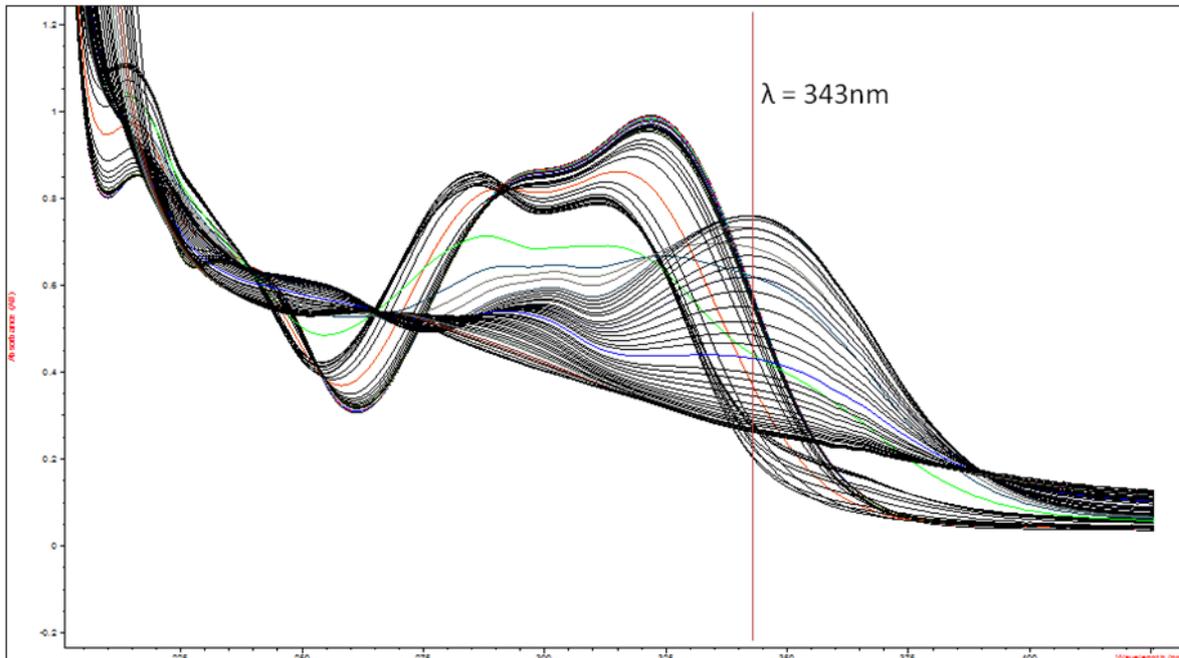


Figura 6: Espectros eletrônicos registrados durante a titulação de uma solução aquosa $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de pH 2 a 11. Temperatura 25°C ; $I = 0.1 \text{ mol L}^{-1}$ (KCl)

Uma análise direta através do método gráfico, plotando-se a absorvância a 343 nm em função do pH na Figura 7, forneceu os valores de pK_a através do cálculo da fração molar das espécies envolvidas no equilíbrio, multiplicado pela suas respectivas absorvância máxima como descrito na equação 1:

$$\text{Abs} = \text{CAH}_3 \cdot \chi_{\text{AH}_3} + \text{CAH}_2^- \cdot \chi_{\text{AH}_2^-} + \text{CAH}^{2-} \cdot \chi_{\text{AH}^{2-}} + \text{CA}^{3-} \cdot \chi_{\text{A}^{3-}} \quad (1)$$

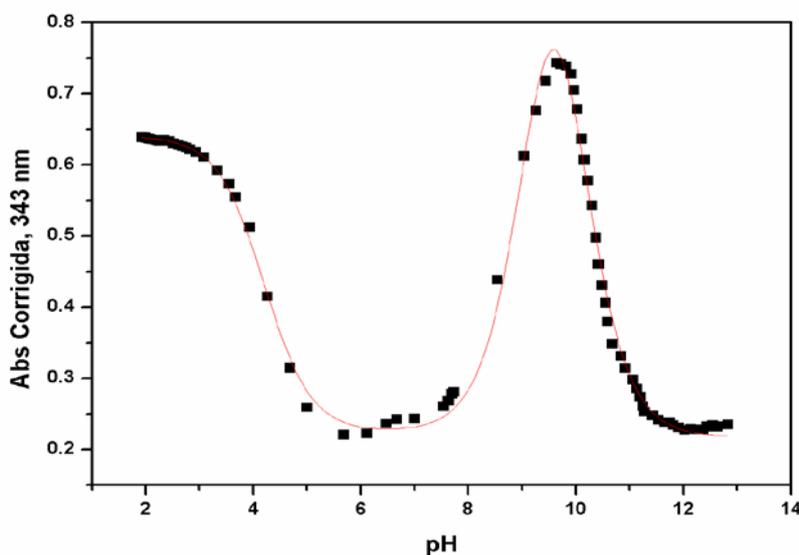
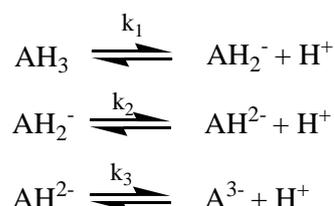


Figura 7: Espectros eletrônicos registrados em 343 nm em função do pH.

Os dados obtidos referentes aos cálculos de pK_a são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de pK_a encontrados para o ácido cafeico por UV-Vis.

Quociente	Log K	Log K*
$[\text{HL}^{2-}]/[\text{H}][\text{L}^{3-}]$	-	12,6
$[\text{H}_2\text{L}^-]/[\text{HL}^{2-}][\text{H}]$	8,78	8,67
$[\text{H}_3\text{L}]/[\text{H}_2\text{L}^-][\text{H}]$	4,22	4,37

*Valores encontrados na literatura.³⁵

5.2 Estudo de equilíbrio potenciométrico

As curvas de titulação potenciométrica em presença e ausência de íons Fe(III) são mostradas na Figura 8.

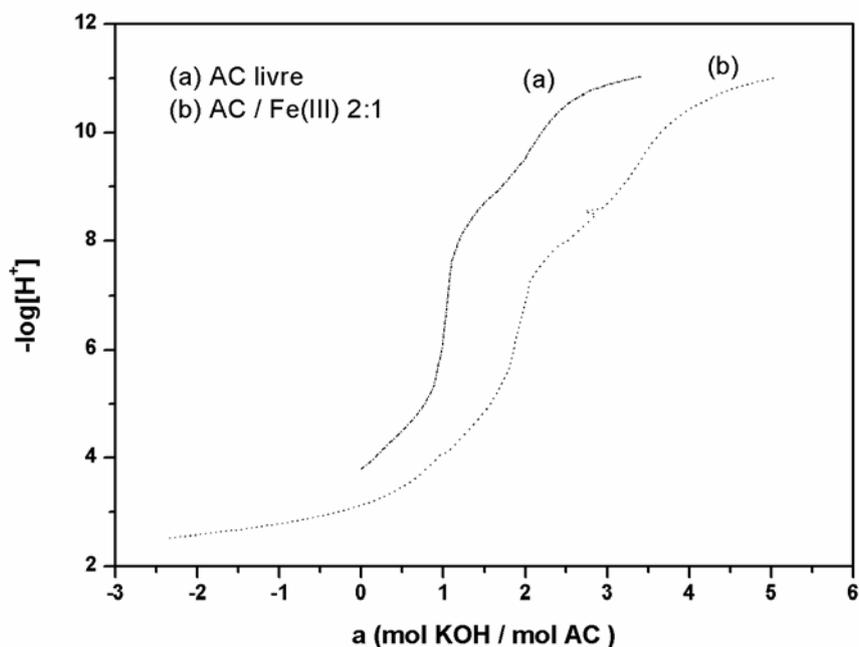


Figura 8: Curva de titulação do ácido cafeico em presença e ausência de Fe(III). T = 25°C, $\mu = 0,1$ KCl, atmosfera de Ar.

O ácido cafeico livre (a) apresenta duas regiões tamponadas distintas, sendo que a primeira região tamponada está em torno de pH 4 que corresponde à desprotonação do grupo carboxílico presente na molécula. A segunda região tamponada representa a desprotonação do primeiro próton do catecol na faixa de pH 9. A terceira região tamponada referente à desprotonação do segundo próton do catecol não foi observada devido a limitação da técnica de titulação potenciométrica se limitar na faixa de trabalho em pH de 2 a 12.³⁵ Cada próton consumiu 0,5 mL de base. O diagrama de espécies envolvendo as protonações/desprotonações do AC em solução é mostrado na figura 9.

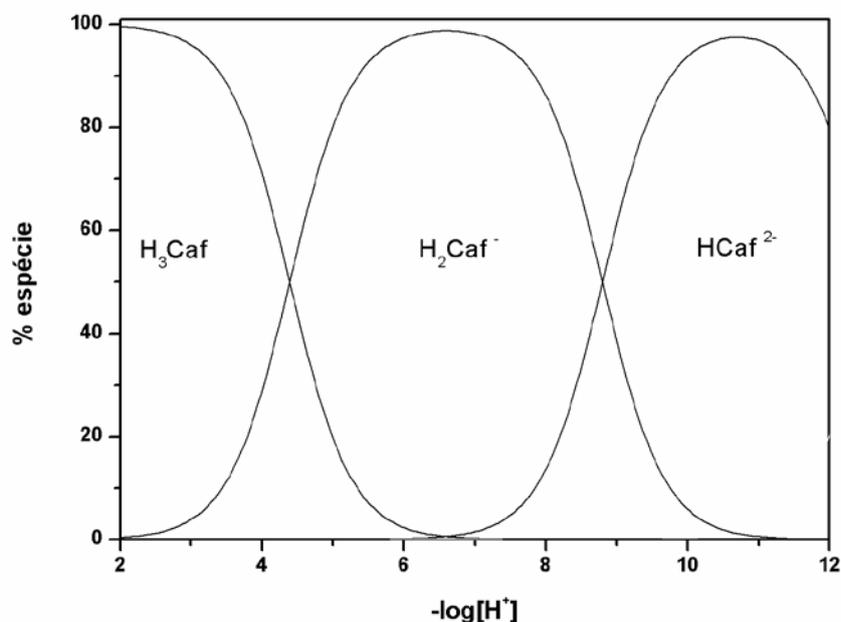


Figura 9: Diagrama de distribuição de espécies do ácido cafeico em função do pH.

Os pKa's encontrados por titulação potenciométrica para o AC estão apresentados na Tabela 2.

Tabela2: Valores de Log K encontrados para o ácido cafeico.

Quociente	Log K	Log K*
$[HL^{2-}]/[H][L^{3-}]$	-	12,6
$[H_2L^-]/[HL^{2-}][H]$	8,80	8,67
$[H_3L]/[H_2L^-][H]$	4,39	4,37

*Valores encontrados na literatura.³⁵

Os valores encontrados estão de acordo com os da literatura para o cálculo dos pKa's do AC. Observa-se também que esses valores estão de acordo com os determinados pela titulação espectrofotométrica anteriormente. Com os valores de pKa estabelecidos para nosso sistema em nossas condições experimentais, nos permitiu, a partir da titulação em presença do íon metálico, calcular as constantes de formação bem como os pKa's envolvidos no sistema AC - Fe(III) 2:1.

Os equilíbrios envolvidos no sistema do ácido cafeico são mostrados na Figura 10, com as estruturas propostas a partir do diagrama de espécies.

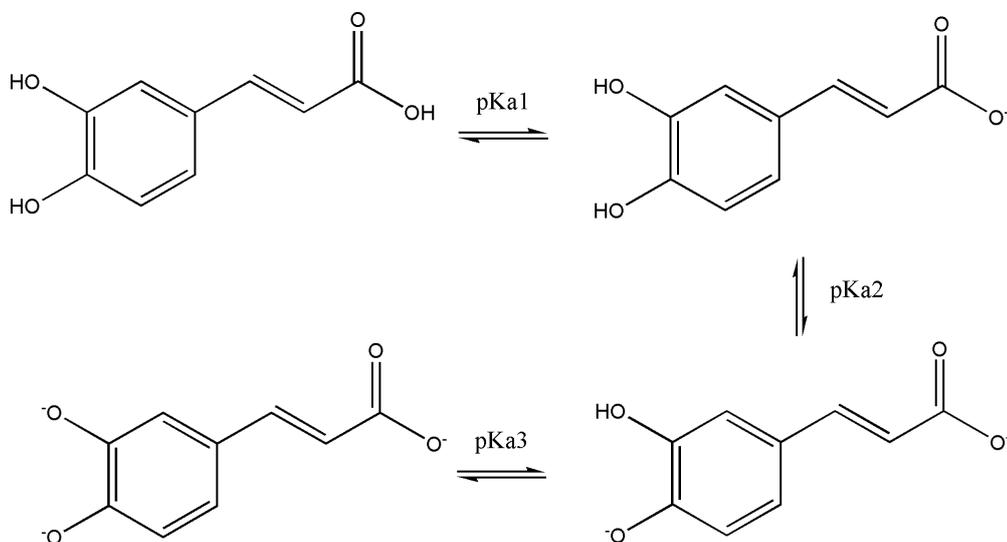


Figura 10: Equilíbrios envolvendo o ácido cafeico.

Na figura 8, a curva de titulação em presença do íon Fe(III) encontra-se deslocada devido à complexação do ácido cafeico ao íon metálico. O excesso de ácido aparece à esquerda em valores negativos. Inicialmente, há um consumo de 2 moles de KOH por mol de ligante até a primeira inflexão. No segundo tampão, próximo de 8, ocorre o consumo de mais 1,5 mol de base, devido à neutralização de 1 mol de prótons do ligante e $\frac{1}{2}$ mol de prótons de uma molécula de água coordenada ao íon metálico no complexo ML_2 . O diagrama de distribuição das espécies detectadas em solução, em função do pH, para o sistema AC-Fe(III), é mostrado na Figura 11.

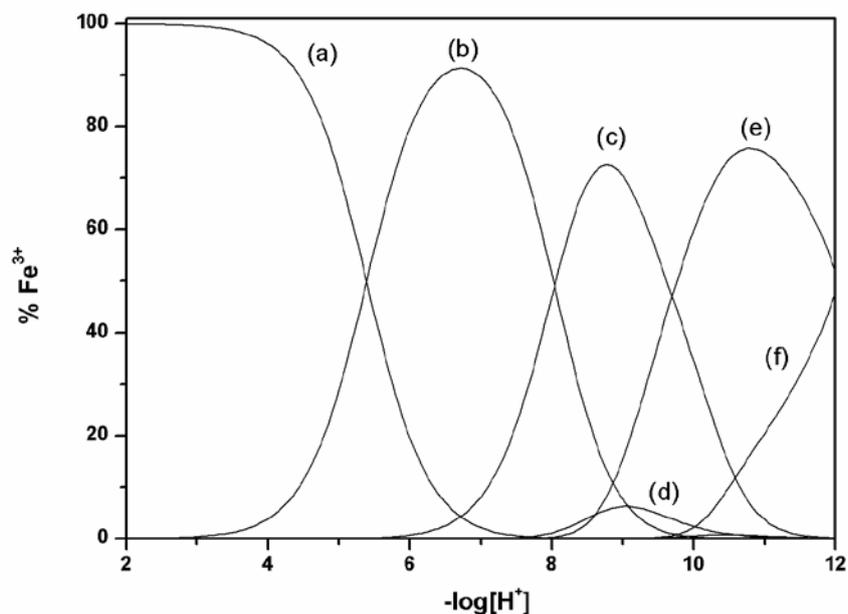


Figura 11: Diagrama de distribuição de espécies do sistema $H_3Caf : Fe(III) / 2:1$ em função do pH. (a) $[Fe(Caf)(H)]^+$, (b) $[Fe(Caf)]$, (c) $[Fe(Caf)(OH)]^-$, (d) $[Fe(Caf)_2]^{3-}$ e (e) $[Fe(Caf)_2OH]^{4-}$.

Em valores de pH bem ácidos aparece a espécie 1:1 Fe:Caf monoprotionada, (a) $[Fe(Caf)(H)]^+$, que tem um máximo de formação em pH 2. Esta espécie diminui com um aumento do pH, dando espaço para a formação da ML, $[Fe(Caf)]$, com um máximo de formação em pH 6,4 (90%). A espécie hidróxida, (c) $[Fe(Caf)(OH)]^-$, tem um máximo de formação em pH 8,1 (70%). Ela decresce em valores de pH mais alcalinos, dando espaços para a formação de uma outra espécie hidróxida, (e) $[Fe(Caf)_2OH]^{4-}$. A espécie (d) $[Fe(Caf)_2]^{3-}$ está somente 7% formada, em pH 9. Um produto de hidrólise do íon Fe(III) aparece em valores de pH maiores do que 10, $[Fe(OH)_4]^-$. Os valores das constantes de formação dessas espécies, bem como os pKa's das moléculas de água coordenada no sistema AC : Fe(III) são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3: Valores das constantes de formação para o sistema AC : Fe(III).

Quociente	Log K
$[\text{Fe}(\text{Caf})]/[\text{Fe}][(\text{Caf})]$	24.97
$[\text{Fe}(\text{H})(\text{Caf})]/[\text{Fe}(\text{Caf})][\text{H}]$	5,39
$[\text{Fe}(\text{OH})(\text{Caf})][\text{H}]/[\text{Fe}(\text{Caf})]$	-8.04
$[\text{Fe}(\text{Caf})_2]/[\text{FeL}][(\text{Caf})]$	8.44
$[\text{Fe}(\text{OH})\text{L}_2][\text{H}]/[\text{Fe}(\text{Caf})_2]$	-8.61

Espécies semelhantes com comportamentos lineares são encontradas envolvendo Fe(III) com outros polifenóis da mesma série. E ainda em outro trabalho de Martin e colaboradores⁴⁰, foram identificadas espécies envolvendo AC e Al(III).

Os equilíbrios envolvidos no sistema metálico são apresentados na Figura 12.

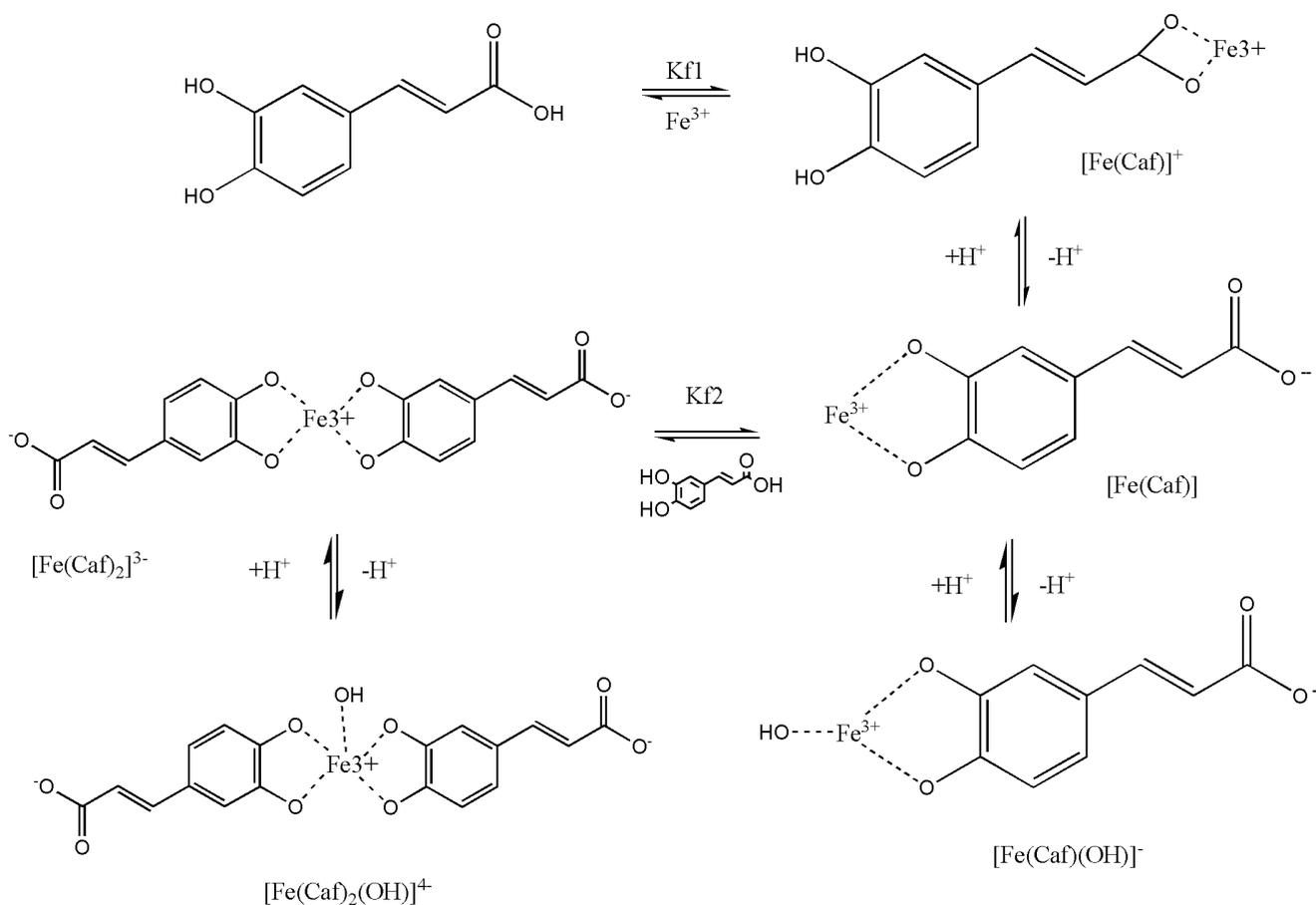


Figura 12: Equilíbrios envolvendo o sistema Caf :Fe(III) / 2:1.

5.3 Estudo Eletroquímico.

O comportamento eletroquímico de íons Fe(III) na presença de H_2CAF^- foi observado através da técnica de voltametria cíclica. Uma variação de potencial partindo de 1000 mV até -200 mV, retornando logo em seguida ao potencial de partida em uma solução de KNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ contendo Fe(III) $68 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 13), apresentou um potencial de pico de redução (E_{pr}) em 381 mV e um potencial de pico de oxidação (E_{po}) em 517 mV (Tabela 4). O voltamograma obtido após adição de $34 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de H_2CAF^- à cela eletroquímica contendo Fe(III), apresentou deslocamento do E_{pr} para 367 mV, e do E_{po} para 430 mV. Além disso, houve também a diminuição na intensidade da corrente de pico catódica (i_{pc}), quando comparada a i_{pc} do voltamograma contendo apenas Fe(III), enquanto a corrente de pico anódica (i_{pa}) manteve praticamente a mesma intensidade. Nos voltamogramas referentes às adições sucessivas de $68 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e $136 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ é possível observar um aumento nas i_{pc} e i_{pa} além do deslocamento dos E_{pr} e E_{po} para valores mais negativos.

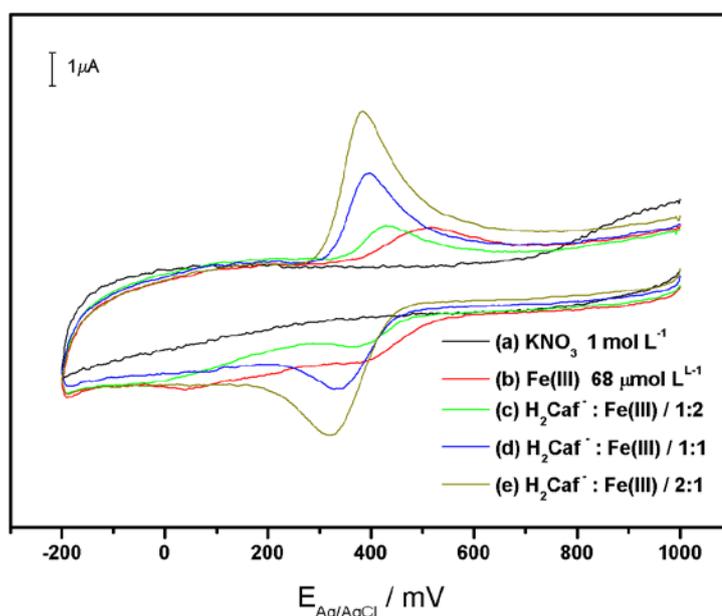


Figura 13: Voltamogramas cíclicos de (a) uma solução de KNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ com (b): (a) + de Fe(III) $68 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (c): (b) + H_2CAF^- $34 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, (d): (b) + H_2CAF^- $68 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e (e): (b) + H_2CAF^- $136 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

A separação dos potenciais de pico de oxidação e redução (ΔE_p) de 136 mV no voltamograma contendo apenas íons Fe(III) caracteriza um processo envolvendo a transferência de 2 mols de elétrons, conforme a equação 2. No voltamograma de $H_2CAF^-:Fe$ (1:2) a ΔE_p assume o valor de 63 mV e se mantém semelhante nos voltamogramas de $H_2CAF^-:Fe$ (1:1) e (2:1) caracterizando um processo que envolve a transferência de apenas 1 mol de elétrons. A diminuição da intensidade da i_{pc} no voltamograma $H_2CAF^-:Fe$ (1:2) está associada a interações entre os íons Fe(III) e o H_2CAF^- .⁴¹

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 0,059 / n \quad (n = \text{número de mols de elétrons}) \quad (2)$$

Comportamento semelhante pode ser observado quando Fe(III) é adicionado ao sistema contendo H_2CAF^- , Figura 14. O voltamograma de H_2CAF^- 68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em uma solução de KNO_3 1,0 mol L^{-1} apresentou um E_{pr} em 293 mV e um E_{po} em 354 mV. A adição de Fe(III) 34 $\mu\text{mol L}^{-1}$ à cela eletroquímica contendo H_2CAF^- promoveu um aumento da i_{pc} além de um deslocamento do E_{pr} para valores mais positivos. Este comportamento também foi observado com os valores de i_{pa} e E_{po} . Os voltamogramas mostrando as adições sucessivas de Fe(III) 68 e 136 $\mu\text{mol L}^{-1}$ também apresentaram comportamento, ou seja, aumento na intensidade de corrente e deslocamento do potencial de pico para valores mais positivos

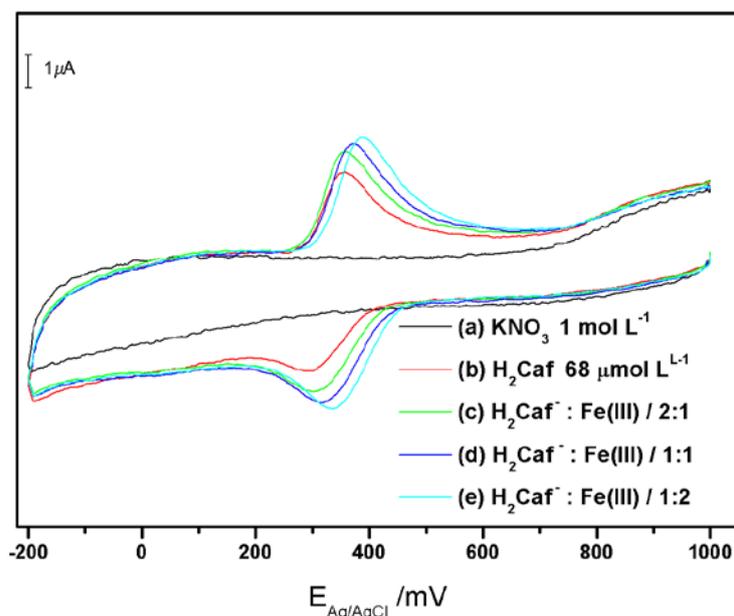


Figura 14: Voltamogramas cíclicos de (a) uma solução de KNO_3 1,0 mol L^{-1} com (b): (a) + H_2CAF^- 68 $\mu\text{mol L}^{-1}$, (c): (b) + Fe(III) 34 $\mu\text{mol L}^{-1}$, (d): (b) + Fe(III) 68 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e (e): (b) + Fe(III) 136 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

ΔE_p , 61 mV, para o voltamograma contendo apenas H_2CAF^- caracteriza um processo envolvendo a transferência de 1 mol de elétrons, o mesmo número de elétrons transferidos nos voltamograma após adições sucessivas de $H_2CAF^-:Fe$ (2:1, 1:1 e 1:2) onde ΔE_p manteve-se em 57 mV. Os resultados encontrados em ambos os voltamogramas demonstram claramente a interferência do ácido cafeico no processo de redução de Fe(III), evidenciado na sutil diminuição da i_{pc} de Fe(III) na presença de H_2CAF^- assim como na mudança de mecanismo de transferência de elétrons modificando de 2 para 1 mol de elétrons na reação eletroquímica, podendo tal comportamento estar associado à ocorrência de alguma reação química entre o Fe(III) e o H_2CAF^- presentes na solução.⁴⁰

Tabela 4: Parâmetros eletroquímicos avaliados no sistema AC/Fe(III).

Espécie	E_{pr}	i_{pc}	E_{po}	i_{pa}	Espécie	E_{pr}	i_{pc}	E_{po}	i_{pa}
	(mV)	(μA)	(mV)	(μA)		(mV)	(μA)	(mV)	(μA)
Fe(III)	381	1,43	517	1,16	H_2Caf^-	293	2,05	354	2,51
$H_2Caf^- : Fé(III) / 1:2$	367	0,87	430	1,08	$H_2Caf^- : Fé(III) / 2:1$	301	2,69	358	3,17
$H_2Caf^- : Fé(III) / 1:1$	335	2,46	398	2,85	$H_2Caf^- : Fé(III) / 1:1$	313	3,04	370	3,43
$H_2Caf^- : Fé(III) / 2:1$	321	4,17	384	4,62	$H_2Caf^- : Fé(III) / 1:2$	331	3,24	387	3,62

5.4 Caracterização do Sistema Ácido Cafeico:Fe(III):Ácido Húmico.

A caracterização do sistema AC:Fe(III):AH foi realizada a fim de poder prever a competição das interações entre essas moléculas e o íon Fe(III), simulando o meio ambiente onde o AC é liberado pela rizosfera da planta, quando a mesma tem deficiência de Fe e consegue capturar o Fe do AH. O diagrama de distribuição das espécies e das interações em função do pH, para o sistema AC:Fe(III):AH, é mostrado na Figura 15. Nela aparecem as possíveis espécies formadas resultantes da interação com o íon metálico na faixa de pH estudado.

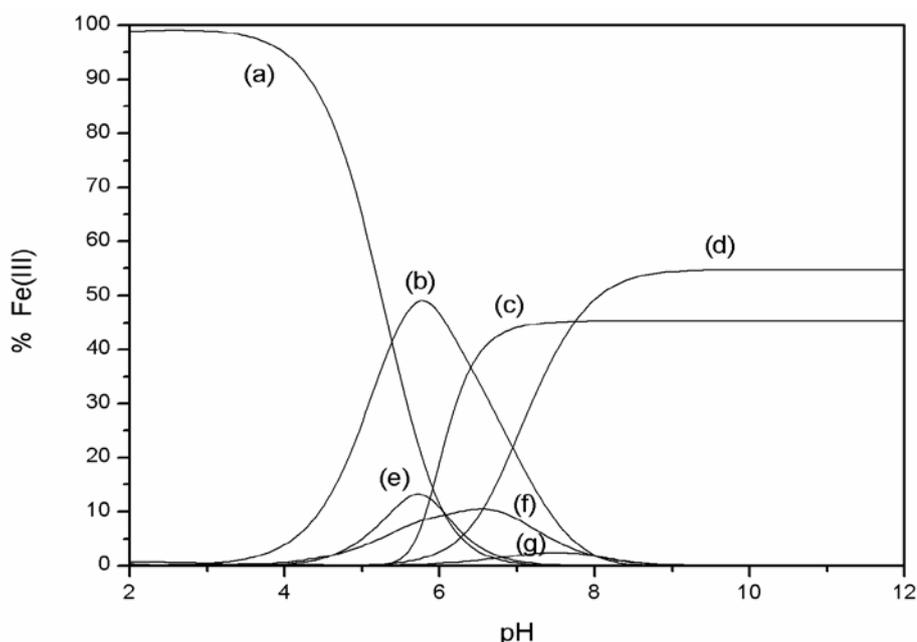


Figura 15. Interações detectadas no sistema ácido AC-Fe(III)-AH, (a) = $[\text{Fe}(\text{H})(\text{Caf})^+]$, (b) = $\text{Fe}(\text{Caf})$, (c) = $[\text{Fe}(\text{OH})_2(\text{Cat})_2]^{3-}$, (d) = $[\text{Fe}(\text{OH})_2(\text{Sal})_2]^{3-}$, (e) = $[\text{Fe}(\text{OH})(\text{Cat})(\text{Fta})]^{2-}$, (f) = $[\text{Fe}(\text{OH})(\text{Sal})_2]^{2-}$, e (g) = $[\text{Fe}(\text{OH})(\text{Caf})]$.

Observa-se na Figura 15 que em pH ácido há uma predominância das espécies envolvendo o AC com o Fe(III) em relação ao AH. A espécie protonada (a) $[\text{Fe}(\text{H})(\text{Caf})^+]$ atinge a formação máxima em pH 2 (100%), decrescendo em valores de pH mais elevados. A espécie (b) $[\text{Fe}(\text{Caf})]$, tem um máximo de formação em pH 5.8 (50%). Em pH mais básico ocorre a preferência do Fe(III) por moléculas do AH. A espécie (c) $[\text{Fe}(\text{OH})_2(\text{Cat})_2]^{3-}$ a partir do pH 6.4 começa a se formar em maior quantidade até o pH 7, mantendo-se constante até o pH 12 (45%). Em pH 7.8 a espécie (d) $[\text{Fe}(\text{OH})_2(\text{Sal})_2]^{3-}$ é majoritária até atingir o máximo em pH 8.7 (55%),

permanecendo constante até o pH 12. Os valores das constantes de formação, bem com os pKa's das espécies detectadas no sistema AC :Fe(III):AH são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Log K para as espécies de Fe(III)-ácido cafeico e para as interações do íon Fe(III) com o ácido húmico (AH). Medidas a 25,00°C e $\mu=0,100$ (KCl).

Razão	Log K
Fe(Caf)/Fe.(Caf)	24.97
Fe(OH)Caf.H/Fe(Caf)	-8.04
Fe(H)(Caf)/Fe(Caf).(H)	5.39
Fé(Caf) ₂ /Fé(Caf).(Caf)	8.44
Fe(OH)(Caf) ₂ .H/Fe(Caf) ₂	-8.61
Fe(OH) ₂ (Cat) ₂ .H ₂ / Fe.(Cat) ₂	26.78
Fe(OH)(Sal) ₂ .H /Fe.(Sal) ₂	27.86
Fe(OH) ₂ (Sal) ₂ .H/Fe(OH)(Sal) ₂	-6.56
Fe(OH)(Cat)(Fta).H/Fe.(Cat).(Fta)	22.64

6. Conclusão:

Os estudos potenciométricos, espectrofotométricos e eletroquímicos nos permitiram calcular as constantes de equilíbrio do Ácido Cafeico e do Ácido Húmico na presença de Fe(III).

O estudo eletroquímico confirma a transferência de elétrons entre Ácido Cafeico e Fe(III).

Pela análise da distribuição de espécies em função do pH pode-se observar que em meio ácido e levemente alcalino o Ácido Cafeico consegue retirar o Fe(III) do Ácido Húmico.

7. Referências Bibliográficas

1. McBRIDE, B. Environmental chemistry of soils. New York, Oxford, 1994. 406 p.
2. LARCHER, W.; *Ecofisiologia Vegetal*, São Carlos, SP, 2000, p. 185-186.
3. STEVENSON, F.J. Humus Chemistry: genesis, composition, reactions. 2nd ed. New York: Wiley, 1994, 426p
4. LARCHER, W.; *Ecofisiologia Vegetal*, São Carlos, SP, 2000, p. 185-186.
5. PICCOLO, A. (Ed). Humic Substances in Terrestrial Ecosystems, Elsevier, Amsterdão, Cap. 14, 1996.
6. PEREIRA, N, J, T. Manual de compostagem: processo de baixo custo Belo Horizonte: UNICEF, 1996
7. KILLOPS, S.D. Organic Geochemistry, John Wiley, NY, 1993, 95-106.
8. SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften*, v. 80, p. 29-30, 1994
9. VAUGHAN, D.; MALCOM, R.E. & ORD, B.G. Influence of humic substances on biochemical processes in plants. In: VAUGHAN, D. & MALCOM, R.E. Soil organic matter and biological activit. Dordrecht, Martinus Nijhoff/Junk W, p.77-108, 1985.
10. MANAHAN, S. E.. In: Environmental Chemistry, Lewis Publishers, Michigan, 5ª ed, 1991, 62-63.
11. PEARSON, R. G. Hard ans soft acids and bases. *J. Amer. Chem. Soc.*, 85:3533-3539, 1963.
12. MARSCHNER, H. Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.134, n.1, p.1-20, July 1991.
13. BORGGAARD, O.K.; RABEN-LANGE, B.; GIMSING, A.L.; STROBEL, B.W. Influence of humic substances on phosphate adsorption by aluminium and iron oxides. *Geoderma*, v.127, p.270–279, 2005.
14. GUERINOT, M.L. and Yi, Y. (1994) Iron: nutritious, noxious, and not readily available. *Plant Physiol.* 104, 815–820.

15. FAGERIA, N, K.; BALIGAR, V.C, WRIGHT, R, J. Iron nutrition of plants: and overview on the chemistry and physiology of its deficiency and toxicity. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 25: 553-57, 1990
16. MARSCHNER, H.; RÖMHELD, V. Strategies of plants for acquisition of iron. *Plant Soil*, v.165, p.261–274, 1994.
17. OLSEN, R. A.; BENNETT, J. H.; BLUME, D. AND BROWN, J. C. Chemical aspects of the Fe stress response mechanism in tomatoes. *Plant Nutr.* 3, p.905-921, 1981
18. SANTI, S., CESCO, S., VARANINI, Z. AND PINTON, R. (2005) Two plasma membrane H⁺-ATPase genes are differentially expressed in iron-deficient cucumber plants. *Plant Physiol. Biochem.* 43,287–292.
19. MARSCHNER, H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, p.681-86, 1995.
20. BRIAT, F,J. FOBIES-LOYSE, I. GRIGNON, N. LOBRÉAUX, T. (1995) Celuklar and molecular aspects of iron metabolism in plants. *Biol Cell.* 84, 69-81.
21. [http://www.inpofos.org/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d20fb44d85259bf7032572530062870e/\\$FILE/Encarte118-Parte3.pdf](http://www.inpofos.org/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d20fb44d85259bf7032572530062870e/$FILE/Encarte118-Parte3.pdf) acessado em 07/07/2010
22. BRAVO L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56 (1998) 317-333.
23. NAGEN, T.J., ALBUQUERQUE, T.T.O., MIRANDA, L.C.G. Ácidos fenólicos em cultivares de soja: ação antioxidante. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, Curitiba, v.35, n.1, p.129-138, 1992.
24. YANG C.S. et al. Inhibition of carcinogenesis by dietary poliphenolic compounds. *Annu Rev Nutr* 21 (2001) 381-406.
25. Maas J, L. et al. Ellagic acid, an anticarcinogen in fruits, especially in strawberries: a review. *Horticult Sci.* 26 pag. 10-13 (1991).
26. CHIANG H, C. et Al Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophila spinulosa* (Hook) Tryon. *Jour Enzym Inhib* vol. 9 pag. 61-71 (1994)
27. NARDINI M. et. al. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by caffeic acid and other hydroxinnamic acid derivaties. *Free Rad Biol Med.* Vol. 19 pag. 541-552 (1995)
28. NAKAYAMA T. Suppresiiion of hydroperoxide-induced citotoxicity by poliphenols. *Cancer.* Vol. 54. pag. 1991-1193 (1994)

29. RICE EVANS C.A, et al. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdan (1991).
30. FIUZA S, M. et. al. Conformational analysis of trihydroxilated derivative of cinnamic acid – a combined Raman Spectroscopy and Ab initio study. Jour of Mol Struc. 693 pag. 1013-118 (2004)
31. R.A. OLSEN, J.C. BROWN, J.H. Bennet, D. Blume, J. Plant. Nutr. 5 (1982) 433
32. MOON J, A. e TERAJ, J. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. Jour Agric Food Chem vol. 46 pag. 5062-5065 (1998)
33. KHOKHAR S. APENTEN R, K, O. Iron binding characteristics of phenolic compounds, some tentative structure-activity relations. Food Chemistry 81 (2003) 133-140.
34. BOILET. et. al. Determination of the chelating site preferentially involved in the complex of Lead (II) with caffeic acid. A spectroscopic and structural study. Jour Phys Chem A 109 (2005) 1952-1960.
35. CORNARD, J. CAURDON, A. MERLIN, J. Polyhedron 25 (2006) 2215–2222.
36. DEIANA S. Phenolic acid redox properties: pH influence on iron (III) reduction by caffeic acid. Soil Sci Soc Am J, 1301-1307. 1995.
37. BAES JR, C. F., MESMER, R. E., The Hydrolysis of Cations, John-Wiley & Sons, Interscience Publishers, New York, 1976.
38. SCHWARZENBACH, G., FLASCHKA, H., Complexometric Titrations, Methuen & Co., London, 1967.
39. MOTEKAITIS, R. J., MARTELL, A. E., BEST – A new program for rigorous calculation of equilibrium parameters of complex multicomponent systems, Canadian journal of chemistry, v. 60, p. 2403-2409, 1982
40. MARTIN L. ADAMS, BRENDON O’SULLIVAN – Stability Constants for Aluminium(III) Complexes with the 1,2-Dihydroxyaryl Ligands Caffeic Acica, Chlorogenic Acod, DHP, and DASA in Aqueous Solution. *J. Chem. Eng. Data* 2002, 47, 289-296.
41. Peter T. Kissinger, Willian R. Heinemam. Cyclic Voltametry. *J. Chem. Educ.*, 60 (6), 1883, 702-706.