

ROBERTA DALA PAULA ANDRADE

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMPLEXANTE E DESCOMPLEXANTE DE
COMPOSTOS DO EXTRATO DA SOJA E DA PRÓPOLIS EM RELAÇÃO AOS
CÁTIONS Cu(II), Ca(II), Zn(II), Mg(II) E Fe(II) POR VOLTAMETRIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

A553a
2017

Andrade, Roberta Dala Paula, 1991-
Avaliação do efeito complexante e descomplexante de
compostos do extrato da soja e da própolis em relação aos
cátions Cu(II), Ca(II), Zn(II), Mg(II) e Fe(II) por voltametria /
Roberta Dala Paula Andrade. – Viçosa, MG, 2017.
xx, 118f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Leonardo Luiz Okumura.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.114-118.

1. Análise eletroquímica. 2. Voltametria. 3. Soja. 4. Abelhas
- Produtos. 5. Eletrodo. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Química. Programa de Pós-graduação em
Agroquímica. II. Título.

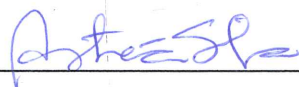
CDD 22 ed. 630.2

ROBERTA DALA PAULA ANDRADE

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMPLEXANTE E DESCOMPLEXANTE DE
COMPOSTOS DO EXTRATO DA SOJA E DA PRÓPOLIS EM RELAÇÃO AOS
CÁTIONS Cu(II), Ca(II), Zn(II), Mg(II) E Fe(II) POR VOLTAMETRIA**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agroquímica, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

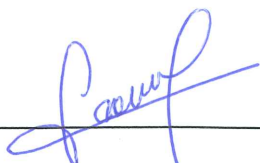
APROVADA: 26 de abril de 2017.



Astréa Filomena de Souza Silva



Edimar Aparecida Filomeno Fontes



Leonardo Luiz Okumura
(Orientador)

“As coisas mais maravilhosas que podemos experimentar são as misteriosas. Elas são a origem de toda verdadeira arte e ciência. Aquele para quem essa sensação é um estranho, aquele que não mais consegue parar para admirar e extasiar-se em veneração, é como se estivesse morto: seus olhos estão fechados”. (Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, que iluminou o meu caminho durante esta caminhada, pela minha saúde, força e perseverança.

À minha família, principalmente meus pais Roberto e Guilhermina e meu irmão Henrique, por todo o amor, pelo apoio incondicional e por sempre acreditarem em mim. A presença de vocês me traz segurança e certeza de que não estou sozinha.

Ao Matheus, pelo carinho, paciência, companheirismo, e por não medir esforços para me ajudar, sempre me incentivando e não me deixando desanimar nos momentos de dificuldades. Obrigada por sua capacidade de me trazer paz na correria de cada dia.

Ao meu orientador, Leonardo Luiz Okumura, pela confiança, compreensão, pelos seus ensinamentos e por todas as contribuições à minha formação profissional e também pessoal.

Aos companheiros do grupo de Eletroanalítica Aplicada (GEAP), pela amizade, pelo ótimo convívio e pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

À todos os amigos, que estiveram ao meu lado me ajudando e motivando, pelas alegrias e tristezas compartilhadas.

Às professoras Astréa Filomena de Souza Silva e Edimar Aparecida Filomeno Fontes por gentilmente se disponibilizarem a participar da banca examinadora.

À Universidade Federal de Viçosa, particularmente ao programa de Pós-Graduação em Agroquímica pela oportunidade oferecida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, pela bolsa de estudos cedida.

Por fim, à todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, e contribuíram para realização deste trabalho.

Muito obrigada!!!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Soja em grão	3
Figura 2. Fórmula química estrutural do ácido fítico	7
Figura 3. Estrutura do fitato formando complexos com nutrientes da dieta (Fonte: DARI & SHIROMA)	7
Figura 4. Própolis a) bruta e b) extrato em pó	9
Figura 5. Célula eletroquímica de três eletrodos utilizada para a realização de uma análise voltamétrica. ET = Eletrodo de Trabalho; ER= Eletrodo de Referência; EA = Eletrodo Auxiliar. (Fonte: SILVA, 2012).....	12
Figura 6. Sinais de excitação de tensão versus tempos empregados na voltametria. (Fonte: SKOOG, et al., 2006).....	14
Figura 7. Estrutura do carbono vítreo (Fonte: FERRARI & RESENDE, 1998)	17
Figura 8. Instrumentação utilizada: potenciostato/galvanostato PGSTAT 128N conectado à célula eletroquímica com arranjo de três eletrodos.....	21
Figura 9. Eletrodo de referência, eletrodo auxiliar ou contra eletrodo e eletrodo de trabalho respectivamente.	21
Figura 10. Diagrama das etapas dos tratamentos de aquecimento, aquecimento até ebulição, ultrassom e aquecimento em micro-ondas.	26
Figura 11. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (a) Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; (b) Ca^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; (c) Zn^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; (d) Mg^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e (e) Fe^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; em solução de KCl 0,05 mol L^{-1} na (—) presença e (---) ausência de analito. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.	36
Figura 12. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (a) Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; (b) Ca^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; (c) Zn^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; (d) Mg^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e (e) Fe^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; em solução de KCl 0,05 mol L^{-1} na (—) presença, (---) ausência e (—) adição de analito. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.	38
Figura 13. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (a) Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; (b) Ca^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; (c) Zn^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; (d) Mg^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e (e) Fe^{2+} 0,50 mmol L^{-1} ; em solução de KCl 0,05 mol L^{-1} na (—) ausência e (---) presença de soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.	41
Figura 14. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de KCl 0,05 mol L^{-1} na (—) ausência e (---) presença de soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.	47
Figura 15. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de Fe^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} na (—) ausência e (---) presença de soja, e de KCl 0,05 mol L^{-1} na (- -) presença de soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.	48
Figura 16. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} na (—) ausência de soja e em (---) 15 minutos; (---) 30 minutos; (---)	

45 minutos e (---) 60 minutos de contato com a soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....50

Figura 17. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de contato com a soja para a complexação do Cu^{2+} . Condições: solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ para o pico com E_p em torno de $-0,890 \text{ V}$52

Figura 18. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na (—) ausência e (---) presença de soja em temperatura ambiente, e na presença de soja com (---) 10 minutos e (---) 30 minutos de aquecimento à 80°C . Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....53

Figura 19. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de aquecimento em ebulição. (b) (---) presença de soja sem aquecimento, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de aquecimento em ebulição. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....55

Figura 20. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de aquecimento em ebulição da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ que esteve em contato por uma hora com a soja em grão.56

Figura 21. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de aquecimento em ebulição. (b) (---) presença de soja sem aquecimento, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de aquecimento em ebulição. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....57

Figura 22. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de aquecimento em ebulição da solução de Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ que esteve em contato por uma hora com a soja em grão.58

Figura 23. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....59

Figura 24. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....60

Figura 25. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na

presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (- -) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....60

Figura 26. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (- -) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....61

Figura 27. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Fe²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (- -) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....61

Figura 28. Variação das intensidades de corrente de pico com o tempo de exposição ao ultrassom da solução de (a) Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (b) Ca²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (c) Zn²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (d) Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ para o pico 1 da Figura 25; (e) Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ para o pico 2 da Figura 25 e (f) Fe²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; em solução de KCl 0,05 mol L⁻¹, que estiveram em contato por uma hora com a soja em grão.....63

Figura 29. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.65

Figura 30. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Ca²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.65

Figura 31. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Zn²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.66

Figura 32. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Mg^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.66

Figura 33. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Fe^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.67

Figura 34. Variação das intensidades de corrente de pico com o tempo de aquecimento no micro-ondas da solução de (a) Cu^{2+} 0,50 mmol L⁻¹; (b) Ca^{2+} 0,50 mmol L⁻¹; (c) Zn^{2+} 0,50 mmol L⁻¹; (d) Mg^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ para o pico 1 da Figura 31; (e) Mg^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ para o pico 2 da Figura 31 e (f) Fe^{2+} 0,50 mmol L⁻¹; em solução de KCl 0,05 mol L⁻¹, que estiveram em contato por uma hora com a soja em grão.69

Figura 35. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência com pH 1,84 e (---) presença de soja com pH 3,77, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 0,76; (---) 1,77; (---) 2,77 e (---) 6,08. (b) (—) ausência de soja com pH 1,84, e na ausência de soja com pH ajustado para (---) 0,76; (---) 1,76; (---) 2,77; (---) 3,76 e (---) 6,07. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....71

Figura 36. Variação da intensidade de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Cu^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na presença e (b) na ausência de soja.....72

Figura 37. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Ca^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência com pH 2,10 e (---) presença de soja com pH 4,44, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 1,44; (---) 2,43; (---) 3,43 e (---) 5,99. (b) (—) ausência de soja com pH 2,10, e na ausência de soja com pH ajustado para (---) 1,45; (---) 2,44; (---) 3,45; (---) 4,43 e (---) 5,98. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....73

Figura 38. Variação da intensidade de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Ca^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na presença e (b) na ausência de soja.....74

Figura 39. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Zn^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência com pH 1,86 e (---) presença de soja com pH 3,97, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 0,96; (---) 1,98; (---) 2,96 e (---) 6,05. (b) (—) ausência de soja com pH 1,86, e na ausência de soja com pH ajustado para (---) 0,97; (---) 1,97; (---) 2,99; (---) 3,98 e (---) 6,07. Condições: velocidade de

varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....75

Figura 40. Variação da intensidade de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Zn²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na presença e (b) na ausência de soja.....76

Figura 41. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência com pH 2,31 e (---) presença de soja com pH 4,83, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 0,83; (---) 1,81; (---) 2,83; (---) 3,82 e (---) 6,02. (b) (—) ausência de soja com pH 2,31, e na ausência de soja com pH ajustado para (—) 0,86; (—) 1,85; (—) 2,85; (—) 3,83; (—) 4,80 e (—) 5,98. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....77

Figura 42. Variação das intensidades de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ na presença de soja (a) pico 1 e (b) pico 2 indicados na Figura 41 (a) e na ausência de soja (c) pico 1 e (d) pico 2 indicados na Figura 41 (b).....78

Figura 43. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Fe²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência com pH 1,94 e (---) presença de soja com pH 4,09, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 1,11; (---) 2,11; (---) 3,11 e (---) 6,05. (b) (—) ausência de soja com pH 1,94, e na ausência de soja com pH ajustado para (—) 1,12; (—) 2,11; (—) 3,10; (—) 4,09 e (—) 6,07. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....79

Figura 44. Variação das intensidades de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Fe²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ na presença de soja (a) pico 1 e (b) pico 2 indicados na Figura 43 (a) e na ausência de soja (c) pico 1 e (d) pico 2 indicados na Figura 43 (b).....80

Figura 45. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore) (a) na (—) ausência com pH 7,96 e (---) presença de soja com pH 6,53, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 1,55; (---) 2,53; (---) 3,55; (---) 4,55 e (---) 5,54. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.81

Figura 46. Variação da intensidade de corrente de pico com a mudança do pH da solução de água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore) na presença de soja.83

Figura 47. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de HNO₃ nas concentrações (---) 0,001 molL⁻¹ (pH = 2,92) e (---) 0,01 molL⁻¹ (pH = 1,90) e das soluções de (a) Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (b) Ca²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (c) Zn²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (d) Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e (e) Fe²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; em solução de KCl 0,05 mol L⁻¹ (—) na ausência de soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....85

Figura 48. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (—) HNO₃ na concentração 0,01 molL⁻¹ e pH 1,90; (—) H₃PO₄ na concentração 0,02 molL⁻¹ e pH 1,89; (—) H₂SO₄ na concentração 0,01 molL⁻¹ e pH 1,80; (—) CH₃COOH na concentração 3,00 molL⁻¹ e pH 1,88 e (—) HCl na concentração 0,012 molL⁻¹ e pH

1,83. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.87

Figura 49. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (a) Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (b) Ca²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (c) Zn²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (d) Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e (e) Fe²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; em solução de KCl 0,05 mol L⁻¹ na (—) ausência e (—) presença do sal. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.89

Figura 50. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (---) KCl 0,05 mol L⁻¹; (—) KCl 0,05 mol L⁻¹ com 250 µL de extrato de própolis e (—) KCl 0,05 mol L⁻¹ com 500 µL de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.91

Figura 51. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (---) KCl 0,05 mol L⁻¹ com 250 µL de extrato de própolis; (---) KCl 0,05 mol L⁻¹ com 500 µL de extrato de própolis e (—) (a) Zn²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ e (b) Fe²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....92

Figura 52. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) (—) na ausência de extrato de própolis e (---) imediatamente; (---) 30 minutos e (---) uma hora após adicionar 250 µL de extrato de própolis e (b) (—) na ausência de extrato de própolis e (---) imediatamente; (---) 30 minutos e (---) uma hora após adicionar 500 µL de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....93

Figura 53. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (—) na ausência e na presença de (---) 250 µL; (---) 500 µL; (---) 750 µL e (---) 1.000 µL de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....95

Figura 54. Variação da intensidade de corrente de pico com a quantidade de extrato de própolis adicionada na solução de Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹.....96

Figura 55. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (—) na ausência e (---) na presença de 1.000 µL de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....97

Figura 56. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de (a) Ca²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (b) Zn²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; (c) Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e (d) Fe²⁺ 0,50 mmol L⁻¹; em solução de KCl 0,05 mol L⁻¹ (—) na ausência e (---) na presença de 1.000 µL de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.....99

Figura 57. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de (a) Ca²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹; (b) Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ preparadas e lidas dia (—) 05/10/2016 (—), 11/10/2016 e (—) 19/10/2016. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE..... 100

Figura 58. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ na (—) ausência e (---) presença de 1.000 µL de extrato de própolis

sem ultrassom, e na presença de 1.000 µL de extrato de própolis com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE. 107

Figura 59. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de exposição em banho ultrassônico da solução de Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ com 1.000 µL de extrato de própolis. 108

Figura 60. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ na (—) ausência e (---) presença de 1.000 µL de extrato de própolis sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de 1.000 µL de extrato de própolis com (---) 20 segundos; (---) 40 segundos e (---) 60 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE. 109

Figura 61. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de aquecimento em 110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de pK_a para os cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+}	3
Tabela 2. Teor de ácido fítico em alguns cereais e leguminosas (g/100 g), (5-5 amostras de dois anos de colheita)	6
Tabela 3. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Cu^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.	43
Tabela 4. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} antes e após o contato com a soja.	43
Tabela 5. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Ca^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.	43
Tabela 6. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Ca^{2+} antes e após o contato com a soja.	44
Tabela 7. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Zn^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.	44
Tabela 8. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Zn^{2+} antes e após o contato com a soja.	44
Tabela 9. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Mg^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.	45
Tabela 10. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Mg^{2+} antes e após o contato com a soja.	46
Tabela 11. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Fe^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.	47
Tabela 12. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Fe^{2+} antes e após o contato com a soja.	47
Tabela 13. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) para a solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte nas concentrações 0,50 mmol L^{-1} e 0,05 mol L^{-1} respectivamente utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após cada instante de tempo do contato com a soja.	51
Tabela 14. Valores de pH das soluções do cátion Cu^{2+} na concentração 0,50 mmol L^{-1} com eletrólito de suporte na concentração 0,05 mol L^{-1} na ausência e presença de diferentes quantidades de extrato de própolis.	96
Tabela 15. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Cu^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 μL de extrato de própolis.	98
Tabela 16. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} na ausência e presença de 1.000 μL de extrato de própolis.	98

Tabela 17. Valores de pH das soluções dos cátions na concentração 0,50 mmol L ⁻¹ com eletrólito de suporte na concentração 0,05 mol L ⁻¹ na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis.	101
Tabela 18. Valores de potencial de pico (E _p) e intensidade de corrente de pico (I _p) obtidos para a solução do cátion Ca ²⁺ utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis.	102
Tabela 19. Variação de E _p e I _p do pico catódico do cátion Ca ²⁺ na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis.	103
Tabela 20. Valores de potencial de pico (E _p) e intensidade de corrente de pico (I _p) obtidos para a solução do cátion Zn ²⁺ utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis.	103
Tabela 21. Variação de E _p e I _p do pico catódico do cátion Zn ²⁺ na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis.	103
Tabela 22. Valores de potencial de pico (E _p) e intensidade de corrente de pico (I _p) obtidos para a solução do cátion Mg ²⁺ utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis.	104
Tabela 23. Variação de E _p e I _p do pico catódico do cátion Mg ²⁺ na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis.	104
Tabela 24. Valores de potencial de pico (E _p) e intensidade de corrente de pico (I _p) obtidos para a solução do cátion Fe ²⁺ utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis.	105
Tabela 25. Variação de E _p e I _p do pico catódico do cátion Fe ²⁺ na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis.	105
Tabela 26. Valores de pH das soluções do cátion Cu ²⁺ na concentração 0,50 mmol L ⁻¹ com eletrólito de suporte na concentração 0,05 mol L ⁻¹ na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis e na presença de extrato após o tratamento por ultrassom.	108
Tabela 27. Valores de pH das soluções do cátion Cu ²⁺ na concentração 0,50 mmol L ⁻¹ com eletrólito de suporte na concentração 0,05 mol L ⁻¹ na ausência e presença de 1.000 µL de extrato de própolis e na presença de extrato após o tratamento por aquecimento em micro-ondas.	111

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS – Absorção atômica do inglês
a.C. – Antes de Cristo
DPV – Voltametria de pulso diferencial do inglês
EA – Eletrodo auxiliar
ER – Eletrodo de referência
ET – Eletrodo de trabalho
EGM – Eletrodo gotejante de mercúrio
EQMs – Eletrodos quimicamente modificados
 E_p – Potencial de pico
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EUA – Estados Unidos da América
GC – Carbono vítreo do inglês
GCE – Eletrodo de carbono vítreo do inglês
GEAP – Grupo de Eletroanalítica Aplicada
GPES – General Purpose Electrochemical System
 I_p – Intensidade de corrente de pico
IP6 – Hexafosfato de mio-inosital
IP5 – Pentafosfato de inosital
IP4 – Tetrafosfato de inosital
IP3 – Trifosfato de inositol
IP2 – Difosfato de inositol
IP1 – Monofosfato de inosital
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MG – Minas Gerais
P.A. – Para análise
PTFE – Politetrafluoretileno
PVC – Policloreto de polivinila
UFV – Universidade Federal de Viçosa
UMEs – Ultramicroeletrodos
 ΔI – Diferença de correntes

RESUMO

ANDRADE, Roberta Dala Paula, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2017. **Avaliação do efeito complexante e descomplexante de compostos do extrato da soja e da própolis em relação aos cátions Cu(II), Ca(II), Zn(II), Mg(II) e Fe(II) por voltametria.** Orientador: Leonardo Luiz Okumura.

Os cátions metálicos são indispensáveis para muitas das funções vitais do organismo humano e a maioria das doenças estão relacionadas à deficiência de minerais. A alimentação do homem moderno é um fator de perda dos elementos essenciais, pois esses devem ser introduzidos de alguma forma para manter suas quantidades ideais no organismo, já que o corpo humano não pode fabricá-los. Contudo, muitos alimentos de origem vegetal possuem fatores antinutricionais que complexam com nutrientes da dieta humana e interferem na digestão, absorção ou utilização desses e, se ingeridos em altas concentrações, podem diminuir consideravelmente a disponibilidade dos cátions metálicos. Desse modo, o objetivo deste trabalho é avaliar a complexação que ocorre entre os cátions metálicos Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} e compostos presentes na soja (fitatos) e na própolis (compostos fenólicos) utilizando a técnica voltametria. Posteriormente, avaliou-se métodos para descomplexá-los, deixando-os, assim, livres em solução. Em todos os procedimentos experimentais empregou-se a técnica voltametria de pulso diferencial (DPV) e utilizou-se o eletrodo de carbono vítreo (GCE) como eletrodo de trabalho. As variações de intensidade de corrente de pico (I_p) foram analisadas durante os estudos realizados das soluções dos cátions com eletrólito de suporte (KCl) na ausência e presença da soja e da própolis. Para a matriz soja, verificou-se na complexação dos cátions metálicos, uma competição na contribuição da intensidade de corrente desses cátions e do ácido nítrico. Essa competição inviabilizou o desenvolvimento da metodologia. Já a complexação dos cátions com extrato de própolis ocorreu com todos os cátions analisados. O pH das soluções na ausência e presença de extrato sofreu pequenas alterações, portanto não prejudicou as análises. Verificou-se que o efeito complexante aconteceu em proporções diferentes e as porcentagens de variação das I_p das soluções contendo esses cátions na ausência e presença de extrato foram de 42,22% para o cátion Cu^{2+} , 99,95% para o Ca^{2+} , 77,57% para o Zn^{2+} , 97,11% para o Mg^{2+} e 85,22% para o Fe^{2+} . A utilização do ultrassom e micro-ondas foram avaliados como efeitos descomplexantes. Embora

o resultado obtido no tratamento por ultrassom seja melhor, os dois métodos descomplexaram cátions dos compostos do extrato de própolis, e se mostraram eficientes. Nesses estudos de descomplexação com a própolis apenas o cátion Cu^{2+} foi analisado, no entanto, é possível aplicar as metodologias para os outros cátions. O método eletroquímico ofereceu as vantagens de ser bastante sensível e rápido, além da simplicidade dos reagentes e equipamentos utilizados, se comparado com os outros métodos instrumentais.

ABSTRACT

ANDRADE, Roberta Dala Paula, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2017. **Evaluation of the complexing and decomplexing effect of soybean and propolis extract compounds on Cu(II), Ca(II), Zn(II), Mg(II) and Fe(II) cations by voltammetry.** Advisor: Leonardo Luiz Okumura

Metallic cations are indispensable for many of the vital functions of the human organism and most diseases are related to mineral deficiency. The feeding of modern man is a factor of loss of the essential elements, since these must be introduced somehow to maintain their ideal quantities in the organism, once the human body can not manufacture them. However, many foods of plant origin have antinutritional factors, which that complex with nutrients in the human diet and interfere with their digestion, absorption or use and, if ingested at high concentrations, can substantially reduce the availability of metal cations. Thus, the objective of this work is to evaluate the complexation formed between the metallic cations Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} and Fe^{2+} and compounds present in soybean (phytates) and propolis (phenolic compounds) using the voltammetry technique. Subsequently, it was evaluated methods to decomplex them, thus leaving them free in solution. In all the experimental procedures, the differential pulse voltammetry (DPV) technique was used and the glassy carbon electrode (GCE) was used as working electrode. The variations of peak current (I_p) were analyzed during the studies of cation solutions with support electrolyte (KCl) in the absence and presence of soybeans and propolis. For the soy matrix, it was verified in the complexation of the metallic cations, a competition in the contribution of the current intensity of these cations and of the nitric acid. This competition impaired the development of the methodology. However, the cation complexation in propolis extract occurred with all cations analyzed. The pH of the solutions in the absence and presence of the extract underwent minor alterations, therefore did not affect the analyzes. It was verified that the complexing effect occurred in different proportions and the percentages of variation of the I_p of solutions containing these cations in the absence and presence of the extract were 42.22% for Cu^{2+} cation, 99.95% for Ca^{2+} , 77.57% for Zn^{2+} , 97.11% for Mg^{2+} and 85,22% for Fe^{2+} . Ultrasonic bath and microwave were evaluated as decomplexing effects. Although the result obtained in the ultrasonic treatment is better, the two methods decomplexed cations of the compounds from the propolis extract, and proved to be efficient. In these studies of decomplexing with

propolis only the Cu^{2+} cation was analyzed, however, it is possible to apply the methodologies to the other cations. The electrochemical method offered the advantages of being very sensitive and fast, besides the simplicity of the reagents and equipment used, when compared with the other instrumental methods.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Cátions metálicos e a saúde humana	1
1.2	Soja: Aspectos gerais.....	3
1.2.1	Fitatos.....	6
1.3	Própolis: aspectos gerais	8
1.4	Metodologias eletroanalíticas.....	10
1.4.1	Voltametria.....	11
1.5	Sensores e eletrodos de trabalho usuais em eletroanalítica	14
1.5.1	Eletrodo de carbono vítreo.....	16
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	Objetivo geral	18
2.2	Objetivos específicos	18
3	MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1	Reagentes e soluções.....	19
3.1.1	Eletrólito de suporte.....	19
3.2	Amostras	20
3.3	Instrumentação.....	20
3.3.1	Equipamentos auxiliares.....	22
3.4	Metodologia.....	22
3.4.1	Preparo das soluções dos cátions metálicos e do branco	22
3.4.2	Estudo dos potenciais de pico de redução dos cátions metálicos	23
3.4.3	Confirmação do potencial de pico catódico dos cátions a partir da adição de padrão.....	23
3.4.4	Estudo das soluções dos cátions metálicos com a soja	24
3.4.4.1	Estudo do tempo de complexação dos cátions metálicos com os compostos presentes na soja	25
3.4.5	Estudo da descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja	26
3.4.5.1	Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por aquecimento	27
3.4.5.2	Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por ultrassom	27
3.4.5.3	Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por aquecimento em micro-ondas.....	28

3.4.5.4	Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por variação do pH.....	28
3.4.6	Efeito de ácidos	29
3.4.7	Efeito de adição de sais correspondentes dos cátions no potencial de pico catódico.....	30
3.4.8	Estudo das soluções dos cátions metálicos com o extrato de própolis .	30
3.4.8.1	Estudo da solução do cátion Cu^{2+} com o extrato de própolis	31
3.4.8.2	Otimização do volume de extrato de própolis adicionado à solução do cátion Cu^{2+}	32
3.4.8.3	Estudo das soluções dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} com o extrato de própolis	32
3.4.9	Estudo da descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis	33
3.4.9.1	Descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis por ultrassom	33
3.4.9.2	Descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis por aquecimento em micro-ondas	34
3.4.10	Correção da linha de base.....	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	35
4.1	Estudo dos potenciais de pico de redução dos cátions metálicos.....	35
4.2	Confirmação do potencial de pico catódico dos cátions a partir da adição de padrão.....	37
4.3	Estudo das soluções dos cátions metálicos com a soja	39
4.3.1	Estudo do tempo de complexação dos cátions metálicos com os compostos presentes na soja	49
4.4	Estudo da descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja	52
4.4.1	Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por aquecimento.....	53
4.4.2	Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por ultrassom.....	58
4.4.3	Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por aquecimento em micro-ondas	63
4.4.4	Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por variação do pH.....	69
4.5	Efeito de ácidos.....	83
4.6	Efeito de adição de sais correspondentes dos cátions no potencial de pico catódico.....	87
4.7	Estudo das soluções dos cátions metálicos com o extrato de própolis	90

4.7.1	Estudo da solução do cátion Cu^{2+} com o extrato de própolis	92
4.7.2	Otimização do volume de extrato de própolis adicionado à solução do cátion Cu^{2+}	94
4.7.3	Estudo das soluções dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} com o extrato de própolis	98
4.8	Estudo da descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis	105
4.8.1	Descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis por ultrassom	106
4.8.2	Descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis por aquecimento em micro-ondas.....	109
5	CONCLUSÕES.....	112
6	REFERÊNCIAS	114

1 INTRODUÇÃO

1.1 Cátions metálicos e a saúde humana

Os cátions metálicos são indispensáveis para muitas das funções vitais do organismo humano. A maioria das doenças estão relacionadas à deficiência de minerais, tais como: anemia, por deficiência de ferro; retardamento do crescimento de crianças, por falta de zinco; e má formação óssea em crianças, por falta de cálcio. (MASSABNI, 2006; PUPPIN, 2006).

Outrossim, para a manutenção da saúde humana os cátions metálicos possuem suas funções no organismo, como o cátion cálcio presente nas estruturas ósseas e no esmalte dos dentes, e o cátion ferro presente na estrutura da hemoglobina, responsável pela absorção e transporte de oxigênio no sangue. O cátion zinco é indispensável nas sínteses de proteína e ácido nucleico, metabolismo de carboidratos, para uma gravidez bem-sucedida, e para o desenvolvimento normal. O cátion magnésio, assim como o cátion zinco, é necessário para produção de proteínas, além de ser importante na contração e relaxamento muscular e funcionamento de certas enzimas do organismo. Também é importante destacar o cátion cobre que está envolvido em processos metabólicos que regulam a produção de energia e o bom funcionamento do corpo humano (MASSABNI, 2006).

Os cátions metálicos devem ser introduzidos no organismo humano de alguma forma para manter suas quantidades ideais, já que o corpo humano não pode fabricá-los. Contudo, a alimentação do homem moderno é um fator de perda desses elementos essenciais, pois muitos alimentos consumidos pelo homem de origem vegetal possuem o fator antinutricional, que reduzem o valor nutritivo desses alimentos (PUPPIN, 2006; BENEVIDES, *et al.*, 2011).

São vários os compostos ou classes de compostos que são ditos fatores antinutricionais, como por exemplo a tripsina, os fitatos, os nitratos e os compostos fenólicos. Esses compostos complexam com nutrientes da dieta humana e interferem na digestão, absorção ou utilização desses e, se ingeridos em altas concentrações, podem diminuir consideravelmente a disponibilidade dos cátions metálicos (BENEVIDES, *et al.*, 2011).

Atualmente a preocupação com a saúde e a busca constante por uma alimentação saudável despertou a necessidade de estudos relacionados à biodisponibilidade dos cátions metálicos e aos fatores antinutricionais.

Muitos foram os trabalhos desenvolvidos para a análise dos teores dos minerais e dos fatores antinutricionais em alimentos consumidos em várias regiões do mundo como Etiópia, Bolívia, Indonésia e Coreia afim de avaliar a biodisponibilidade dos cátions metálicos (LAZARTE, *et al.*, 2015; CHAN, *et al.*, 2007; JOUNG, *et al.*, 2004; ABEBE, *et al.*, 2007 e UMETA, *et al.*, 2005).

Com o intuito de melhorar a biodisponibilidade dos cátions metálicos numerosos trabalhos analisam a influência de processamentos em variadas matrizes. Em HEFNAWY (2011) estudou-se o efeito de métodos de processamento como ebulição, autoclavagem e cozimento em micro-ondas sobre a composição nutricional e fatores antinutricionais de lentilhas. Já em RATHOD & ANNAPURE (2016) verificou-se o efeito do processo de extrusão sobre os fatores antinutricionais da lentilha. Em ADEYEMO & ONILUDE (2013) os autores avaliaram a redução enzimática de fatores antinutricionais na fermentação da soja. Em NIDHINA & MUTHUKUMAR (2015) analisou-se como os fatores antinutricionais de guar industrial (uma goma obtida das sementes das *Cyamopsis*, nativas da Índia, utilizada na indústria de alimentos como espessante, estabilizante, emulsificante e agente de corpo) são afetados pelo tratamento térmico. O efeito da irradiação sobre antinutrientes, tais como fenólicos totais, taninos e fitatos presentes em feijões brasileiros foi investigado por VILLAVICENCIO, *et al.* (2000). DENG *et al.* (2015) averiguaram-se as influências da alta pressão hidrostática, aquecimento de micro-ondas e fervura em composições químicas e fatores antinutricionais do trigo.

Diversos alimentos (cereais e leguminosas) e substâncias consumidas pelo homem possuem em sua composição algum elemento que complexa com os cátions dos metais essenciais à saúde humana, causando perda da biodisponibilidade desses. Na literatura especializada encontram-se duas matrizes interessantes para serem estudadas, as quais são a soja (SILVA & SILVA, 1999) um alimento que gera grande interesse tanto no Brasil quanto no mundo, e a própolis (MOREIRA, *et al.*, 2009) que é uma matriz pouco estudada nesse contexto.

Desse modo, esse trabalho se propõe avaliar os complexos formados entre alguns cátions metálicos e compostos presentes na soja e no extrato da própolis utilizando uma técnica eletroanalítica: a voltametria, a qual é mais rápida e possui um

custo inferior se comparado a espectrofotometria que é a técnica convencional utilizada na maioria dos trabalhos sobre o assunto. E posteriormente, encontrar um método para descomplexar os complexos formados, deixando assim os cátions metálicos livres novamente.

Os cátions metálicos escolhidos para serem analisados nesse trabalho foram os cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} , os quais são cátions importantes para a saúde humana. A Tabela 1 apresenta os valores de pK_a (constante de equilíbrio ácido base em água) dos cátions metálicos estudados.

Tabela 1. Valores de pK_a para os cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+}

	Cu^{2+}	Ca^{2+}	Zn^{2+}	Mg^{2+}	Fe^{2+}
pK_{a1}	7	12,67	7,97	11,4	6,7
pK_{a2}	7,32	14	8,92	16,9	9,5
pK_{a3}	17,68	---	11,42	---	11,07
pK_{a4}	19,82	---	12,57	---	15,09

(Fonte: BAES & MESMER, 1976)

1.2 Soja: Aspectos gerais

A soja (Figura 1) é um produto agrícola que atrai grande interesse mundialmente devido a versatilidade de aplicação de seus produtos na alimentação humana e animal e ao seu valor econômico nos mercados nacional e internacional (SILVA, *et al.*, 2006).



Figura 1. Soja em grão

Segundo a EMBRAPA (2017) a produção mundial de soja na safra 2015/2016 foi de 312,362 milhões de toneladas, com uma área plantada de 119,732 milhões de hectares. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, atrás apenas dos EUA. Nos dados da EMBRAPA verifica-se que na safra 2015/2016, a cultura ocupou no Brasil uma área de 33,17 milhões de hectares, o que totalizou uma produção de 95,63 milhões de toneladas. E que a produtividade média da soja brasileira foi de 2,882 kg por hectare.

No Brasil na década de 60, dois fatores internos tornaram a soja um produto comercial atraente, fato que mais tarde influenciaria no cenário mundial de produção do grão. Na época, a soja surgia como uma opção de verão, em sucessão ao trigo que era a principal cultura do Sul do Brasil. Também se iniciava no Brasil um esforço para produção de suínos e aves, gerando demanda por farelo de soja. Em 1966, a produção comercial de soja já era uma necessidade estratégica, sendo produzidas cerca de 500 mil toneladas no País (BRASIL, 2017 a).

Nas últimas décadas, a cultura da soja (*Glycine max*) no Brasil e no resto mundo, apresentou um crescimento de mais de 100% de área cultivada quando comparado à década de 70. No Brasil, o cultivo da soja iniciou apenas na Região Sul, e depois expandiu-se para o Cerrado e posteriormente para a Região Norte e Nordeste do País. (SILVA, 2012).

De acordo com o MAPA (2017) a soja é a cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas três décadas e corresponde a 49% da área plantada em grãos do país. O aumento da produtividade está associado aos avanços tecnológicos, ao manejo e eficiência dos produtores.

As condições climáticas, o tipo de solo, localização geográfica, variedades e práticas agrônômicas, entre outros fatores, podem variar a composição química da soja. Aproximadamente 60% do total da massa seca da semente são frações de proteína e óleo. Os grãos maduros contêm em média 40% de proteínas, 20% de lipídios (óleo), 5% de minerais e 34% de carboidratos (açúcares como glicose, frutose e sacarose, fibras e os oligossacarídeos como rafinose e estaquiose) (BRASIL, 2017 b).

Conforme a Aprosoja Brasil (2017) na alimentação humana além do grão como alimento funcional, a soja é utilizada na produção de produtos como chocolates, temperos prontos, massas, derivados de carne, papinhas para bebês, entre outros. Do óleo extraído do grão são produzidos óleo de cozinha, tempero de saladas,

margarinas, gordura vegetal e maionese. E outro segmento de produtos alimentícios que aproveita a soja é o de bebidas prontas (leite e sucos de frutas à base de soja). Ademais o farelo de soja, junto com o milho compõem a ração fabricada para a alimentação animal.

As características nutricionais da soja, tais como o elevado teor de proteína de qualidade nutricional adequada, o conteúdo significativo de minerais e fibras, ou ainda, a quantidade reduzida de gordura saturada e a ausência de colesterol, despertaram interesse e acarretaram ao intenso estudo sobre a relação entre seu consumo e a saúde humana. Alguns estudos investigam a soja como fonte de substâncias denominadas fitoquímicos, entre os quais os flavonoides se destacam. Nessas pesquisas, observou-se uma relação entre o consumo de soja e a redução dos riscos de doenças crônicas não-infecciosas como as doenças cardiovasculares, alguns tipos de cânceres e osteoporose (SILVA, *et al.*, 2006).

Contudo, mesmo com todas essas características nutricionais e funcionais, e com sua alta produtividade, a soja ainda é pouco consumida, na forma de grão, pelo brasileiro. Esse baixo consumo é atribuído ao seu sabor e odor desagradável por causa da presença de diversos compostos orgânicos nas sementes, à indução de flatulência gerada por oligossacarídeos do tipo estaquiase, rafinose e verbascose, e aos seus componentes antinutricionais, como os fitatos. Todos esses fatores contribuem para que grande parte da soja seja apenas utilizada na extração de óleos e seus resíduos sejam destinados, principalmente, à alimentação animal (SILVA, *et al.*, 2006).

Conforme pode-se verificar na Tabela 2, a soja possui um alto teor de fitatos se comparado a alguns cereais e leguminosas, que também apresentam fitatos em suas composições.

Tabela 2. Teor de ácido fítico em alguns cereais e leguminosas (g/100 g), (5-5 amostras de dois anos de colheita)

Produto	Teor de Ácido Fítico *		
	Média	Mínimo	Máximo
Trigo (MV-4)	0,85	0,67	0,98
Trigo (Besostaya-19)	0,93	0,75	1,05
Trigo (Durum, GK Basa)	0,72	0,52	0,78
Milho (Dente amarelo)	1,02	0,80	1,17
Milho (Duro)	0,90	0,78	1,02
Milho (Doce)	0,85	0,62	1,06
Cevada	0,97	0,85	1,18
Aveia	1,01	0,90	1,42
Soja	1,43	1,20	1,75
Feijão-Caupi	0,42	0,29	0,86
Feijão comum	0,55	0,90	1,69
Tremoço	1,38	0,76	1,63
Ervilhas	1,02	0,72	1,23

* Teor de ácido fítico assumindo 28,20% de fósforo na molécula (Fonte: HÍDVÉGI & LÁSZTITY, 2002)

A soja foi escolhida para ser estudada nesse trabalho devido ao alto teor de fitatos presente na sua composição e também por ser uma cultura agrícola de grande relevância no Brasil e no mundo.

1.2.1 Fitatos

Os fitatos são derivados do ácido fítico que também é normalmente denominado ácido hexafosfórico mio-inositol, eles são os sais de ácido fítico resultantes da reação entre o ácido fítico com cátions metálicos e representam uma classe complexa de compostos que se formam naturalmente durante o processo de maturação de sementes e grãos de cereais. A fórmula estrutural do ácido fítico está representada na Figura 2. Sua molécula possui seis prótons fortemente dissociáveis com pK's menores do que 3,5 e seis prótons fracamente dissociáveis com pK's entre 4,6 e 10, sendo assim, uma estrutura com forte potencial complexante (BENEVIDES, *et al.*, 2011; SILVA & SILVA, 1999). E por esse motivo, são ditos fatores

antinutricionais, os quais reduzem a biodisponibilidade de nutrientes essenciais ou energia na dieta (MADSEN & PEDERSEN, 2016).

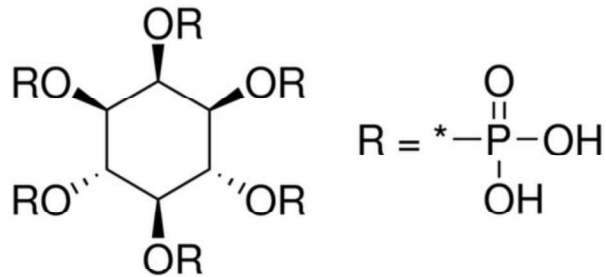


Figura 2. Fórmula química estrutural do ácido fítico

O fitato é amplamente distribuído nos alimentos comumente consumidos. É encontrado em altas concentrações nas sementes de cereais, leguminosas e oleaginosas. Em relação aos cereais, cerca de 1% a 2% da massa da semente é o fitato, e pode chegar até a 6% (NADEEM, *et al.*, 2010).

Em pH fisiológico (7,35 a 7,45), o fitato possui uma conformação com um fosfato na posição axial e os outros cinco fosfatos na posição equatorial. Nos alimentos, sob condições naturais, o ácido fítico encontra-se carregado negativamente, assim o hexafosfato de mio-inosital (IP6) interage, formando complexos, com uma variedade de cátions devido aos grupos fosfato com carga negativa, como demonstra na Figura 3 (MADSEN e PEDERSEN, 2016; BENEVIDES, *et al.*, 2011; SILVA & SILVA, 1999).

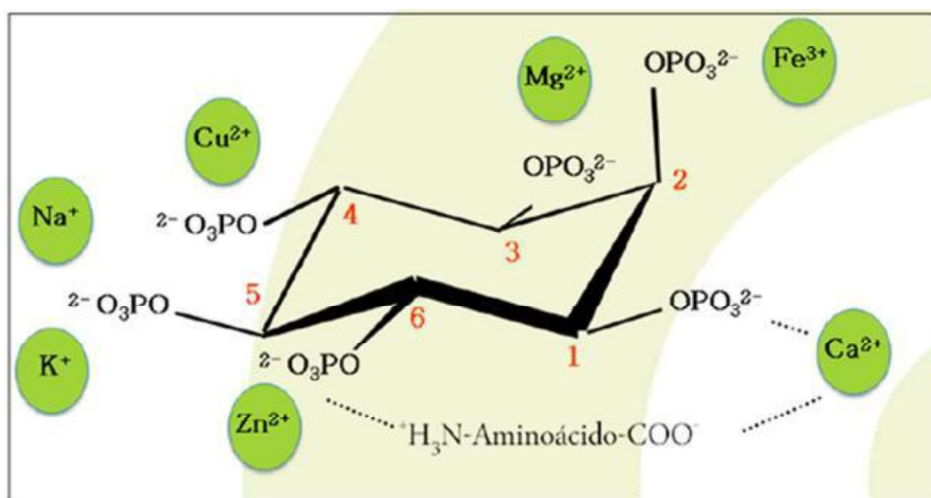


Figura 3. Estrutura do fitato formando complexos com nutrientes da dieta (Fonte: DARI & SHIROMA)

Os complexos formados são resistentes ao trato intestinal (pH alcalino), diminuindo assim a disponibilidade dos minerais cujo os cátions formaram os complexos com os fitatos. A força das interações depende da carga dos cátions ($\text{Me}^{3+} > \text{Me}^{2+} > \text{Me}^{+}$) e, em menor grau de outras propriedades como o raio iônico. Muitos desses complexos são insolúveis e biologicamente indisponíveis para seres humanos. Em pH 7,4 o fitato forma complexos com metais preferencialmente na seguinte ordem decrescente: $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Ca}^{2+}$. Em meio ácido, os cátions metálicos competem com H^{+} e interações com a maioria dos cátions metálicos são insignificantes abaixo de pH 5 (MADSEN & PEDERSEN, 2016; BENEVIDES, *et al.*, 2011; SILVA & SILVA, 1999).

Como o pH, outros fatores também influenciam na ligação de minerais ao fitato, tais como concentração, a razão molar mineral:fitato e presença de outros minerais (SILVA & SILVA, 1999).

Os grãos de cereais e leguminosas também contêm a fitase endógena, uma enzima capaz de neutralizar os efeitos antinutricionais do ácido fítico. Vários métodos de processamento de alimentos podem favorecer a atividade da fitase endógena, melhorando assim a biodisponibilidade de minerais (HUMER & SCHEDLE, 2016).

Como por exemplo durante a estocagem, fermentação, germinação, processamento e digestão dos grãos e sementes o fitato pode ser parcialmente desfosforilado para produzir compostos penta-fosfato (IP5), tetra-fosfato (IP4), tri-fosfato (IP3) e possivelmente inositol difosfato (IP2) e mono-fosfato (IP1), por ação de fitases endógenas. Somente IP5 e IP6 têm efeito negativo na biodisponibilidade de minerais, os demais compostos formados têm baixa capacidade de ligar-se a minerais ou os complexos formados são mais solúveis (SILVA & SILVA, 1999).

1.3 Própolis: aspectos gerais

O termo “própolis” deriva da Grécia antiga *pro* (para, em defesa) e *polis* (cidade), ou seja uma substância que é para ou em defesa da cidade ou colmeia. (BANKOVA, *et al.*, 2000).

A própolis tem sido utilizada pelo homem desde 300 a.C. em rituais de mumificação, atualmente é utilizada na indústria de alimentos e bebidas, cosméticos, anti-sépticos bucais e cremes dentais, o que fez seu valor econômico aumentar (FREIRES, *et al.*, 2016). As suas atividades antimicrobiana, anti-inflamatória,

cicatrizante, anestésica, antioxidante e estimuladora do sistema imunológico vêm proporcionando sua aplicabilidade pela indústria farmacêutica (ALVES & KUBOTA, 2013). Além dessas propriedades farmacológicas de interesse clínico a própolis, em geral, também é considerada um alimento funcional, pois os compostos biologicamente ativos no seu extrato fornecem benefícios para a saúde, e com isso ela é amplamente utilizada na medicina popular (FREIRES, *et al.*, 2016).

A própolis constitui-se de uma mistura complexa (Figura 4) formada por um material resinoso e balsâmico coletada pelas abelhas *Apis mellífera* de ramos, flores, pólen, brotos, botões florais e exsudados de plantas, à qual as abelhas adicionam secreções salivares, cera e pólen, para a obtenção do produto final. Portanto, a composição química da própolis varia de acordo com sua origem vegetal e também com as características geográficas e climáticas do local de proveniência (ALVES & KUBOTA, 2013; OLIVEIRA, *et al.*, 2012; COELHO, 2013).



Figura 4. Própolis a) bruta e b) extrato em pó

Geralmente sua composição é de 50% de resina e bálsamo, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de várias outras substâncias. Já foram identificados mais de 200 constituintes químicos na sua composição, dentre os quais: ácidos graxos e fenólicos, ésteres, ésteres fenólicos, flavonoides (flavonas, flavononas, flavonóis, di-hidroflavonóis, etc.), terpenos, esteroides, aldeídos e ácidos aromáticos, sesquiterpenos e naftaleno. Além de algumas vitaminas (B1, B2, B6, C, E) e minerais como manganês, ferro, cálcio e alumínio (OLIVEIRA, *et al.*, 2012). Os compostos fenólicos presentes na própolis são os responsáveis pela complexação com os cátions metálicos, podendo assim, diminuir a biodisponibilidade desses no organismo humano (MOREIRA, *et al.*, 2009).

Com o crescimento na procura de alimentos funcionais de fácil acesso e barato, aumentou o interesse da população na medicina holística e conseqüentemente aumentou o uso da própolis (FREIRES, *et al.*, 2016). Por causa desse crescente e

diversificado uso ela foi escolhida para ser analisada nesse trabalho, além disso, também foi escolhida por se tratar de uma matriz pouco estudada no que se refere à complexação dos seus compostos com os cátions metálicos.

1.4 Metodologias eletroanalíticas

Os métodos eletroanalíticos relacionam efeitos elétricos e químicos. Na maioria das vezes estudam as alterações químicas provocadas pela passagem de uma corrente elétrica e a produção de energia elétrica por meio de reações químicas (BARD & FAULKNER 2001).

Esses métodos possuem numerosas aplicações, tais como estudos de processos de oxidação e redução em vários meios, de adsorção em superfícies e de mecanismo de transferência de elétrons, inclusive com a utilização de eletrodos modificados (SOUZA, *et al.*, 2003).

Uma de suas mais importantes características relaciona-se com o fato de possibilitarem relações diretas entre a concentração do analito e alguma propriedade elétrica mensurável como corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga. Sendo assim, adequados para a quantificação de espécies de interesse nas diferentes áreas de estudo (SOUZA, *et al.*, 2003). Tal uso de medições elétricas para fins de análise encontrou uma vasta gama de aplicações, principalmente nas áreas de monitoramento ambiental, controle de qualidade industrial e análise biomédica (WANG, 2000).

O tipo de sinal elétrico usado para a quantificação distingue os vários métodos eletroanalíticos. São dois os principais tipos de medições eletroanalíticas: potenciométrica e potenciostática. Ambos precisam de pelo menos dois eletrodos (condutores) e uma amostra de solução de contato (eletrólito), que constituem a célula eletroquímica. A superfície do eletrodo é, portanto, uma junção entre um condutor iônico e um condutor eletrônico (WANG, 2000).

Técnicas de potencial controlado (potenciostáticas) estudam os processos de transferência de carga que ocorrem na interface eletrodo|solução, e são baseadas em situações dinâmicas, ou seja, há presença de corrente. O potencial do eletrodo é utilizado para obter uma reação de transferência de elétrons e a corrente resultante é

medida. Tal parâmetro controlável obriga as espécies químicas a ganhar ou perder um elétron (redução ou oxidação, respectivamente) (WANG, 2000).

Assim, a corrente resultante reflete a taxa à qual os elétrons se movem através da interface eletrodo|solução. Desse modo, qualquer espécie química eletroativa, ou seja, que sofre o processo de oxirredução, pode ser medida pelas técnicas potenciostáticas (WANG, 2000).

Os métodos eletroanalíticos oferecem diversas vantagens, a principal delas é a possibilidade, na maioria das vezes, de análise direta da amostra, sem a necessidade de etapa de separação ou pré-tratamento, além de tornar possível a análise de materiais coloridos ou amostras contendo partículas sólidas dispersas (SOUZA, *et al.*, 2003). Outras vantagens incluem seletividade e especificidade das determinações que são resultantes da oxirredução das espécies analíticas de interesse em um potencial aplicado específico, seletividade decorrente dos processos de oxirredução do analito em eletrodo de trabalho feito com material específico, e grande sensibilidade e baixos limites de detecção, conseqüente tanto das técnicas de pré-concentração quanto de modos de aquisição de sinal que proporcionam baixo sinal de fundo (PACHECO, *et al.*, 2013).

Estas vantagens associadas ao curto tempo de análise e o baixo custo da instrumentação, se comparados às técnicas cromatográficas e espectroscópicas, fizeram com que os métodos eletroanalíticos sejam cada vez mais utilizados (SOUZA, *et al.*, 2003).

1.4.1 Voltametria

Dos diversos métodos eletroanalíticos disponíveis, a voltametria se destaca pela sua versatilidade e eficácia, sobretudo para o estudo de sistemas redox, além da grande utilidade em eletroanálise (QUINTINO, 2003).

A voltametria é um método eletroanalítico que depende da medida de corrente, em função de um potencial controlado. Se baseia nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície. E é classificada como dinâmica, pois a célula eletroquímica é operada na presença de corrente elétrica. (SKOOG, *et al.*, 2006; PACHECO, *et al.*, 2013).

A base da voltametria foi a polarografia, um tipo de voltametria que foi descoberto pelo químico checoslovaco Jaroslav Heyrovsky em 1922. Na polarografia, que ainda é um ramo importante da voltametria, um eletrodo gotejante de mercúrio (EGM) é empregado como eletrodo de trabalho, o que difere essa das outras técnicas voltamétricas (PACHECO, *et al.*, 2013).

A célula eletroquímica convencionalmente utilizada é composta por três eletrodos imersos em uma solução contendo o analito e também um excesso (geralmente 50 a 100 acima das concentrações esperadas do analito) de um eletrólito não reativo chamado eletrólito de suporte (Figura 5). O eletrólito de suporte é empregado visando assegurar adequada condutividade elétrica ao sistema, garantir força iônica adequada e constante, e controlar o pH do meio (SKOOG, *et al.*, 2006; PACHECO, *et al.*, 2013).

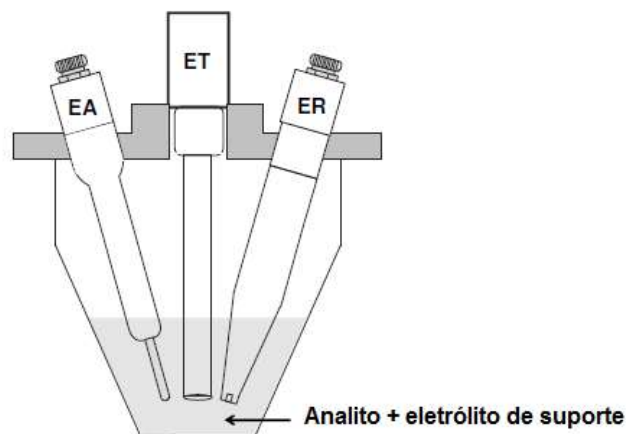


Figura 5. Célula eletroquímica de três eletrodos utilizada para a realização de uma análise voltamétrica. ET = Eletrodo de Trabalho; ER= Eletrodo de Referência; EA = Eletrodo Auxiliar. (Fonte: SILVA, 2012)

Um dos três eletrodos presente na célula eletroquímica é o eletrodo de trabalho, onde o analito é oxidado ou reduzido, e cujo potencial varia linearmente com o tempo em relação ao eletrodo de referência. O eletrodo de trabalho é um eletrodo polarizável que geralmente é um metal como mercúrio, platina ou ouro, mas também pode ser de compostos de carbono como o de carbono vítreo (Glass Carbon - GC). O eletrodo de referência tem um potencial que permanece constante durante o experimento, ele é necessário para que o potencial aplicado no eletrodo de trabalho seja conhecido. O terceiro eletrodo é um eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo, o qual foi introduzido para assegurar uma situação potenciostática. Os eletrodos são conectados ao

potenciostato que é um amplificador operacional, que atuará quando for aplicada uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, fazendo com que a resistência do eletrodo de referência aumente e a do contra-eletrodo, diminua. Assim, a corrente passará entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo, evitando que ocorram distúrbios no eletrodo de referência (BARD e FAULKNER, 2001; SKOOG, *et al.*, 2006; SILVA, 2012; PACHECO, *et al.*, 2013).

O registro da corrente em função do potencial é denominado voltamograma e a intensidade da corrente obtida pela transferência de elétrons durante o processo de oxirredução pode ser relacionada com a quantidade de analito presente na interface eletrodo|solução e conseqüentemente, na célula eletroquímica (PACHECO, *et al.*, 2013).

Para se fazer a determinação por voltametria o analito precisa oxidar ou reduzir na faixa de potencial aplicada.

Existem várias técnicas voltamétricas que diferem no modo da aplicação do potencial e de aquisição do sinal. A escolha da melhor técnica a ser utilizada deve considerar o tipo e a qualidade de informação, quantitativa ou qualitativa, que se deseja obter sobre o analito ou o processo que envolve a interação entre o analito e o eletrodo de trabalho (PACHECO, *et al.*, 2013).

Os tipos de sinais de excitação utilizados nas análises voltamétricas estão demonstrados na Figura 6. A voltametria que será utilizada neste trabalho é a voltametria de pulso diferencial.

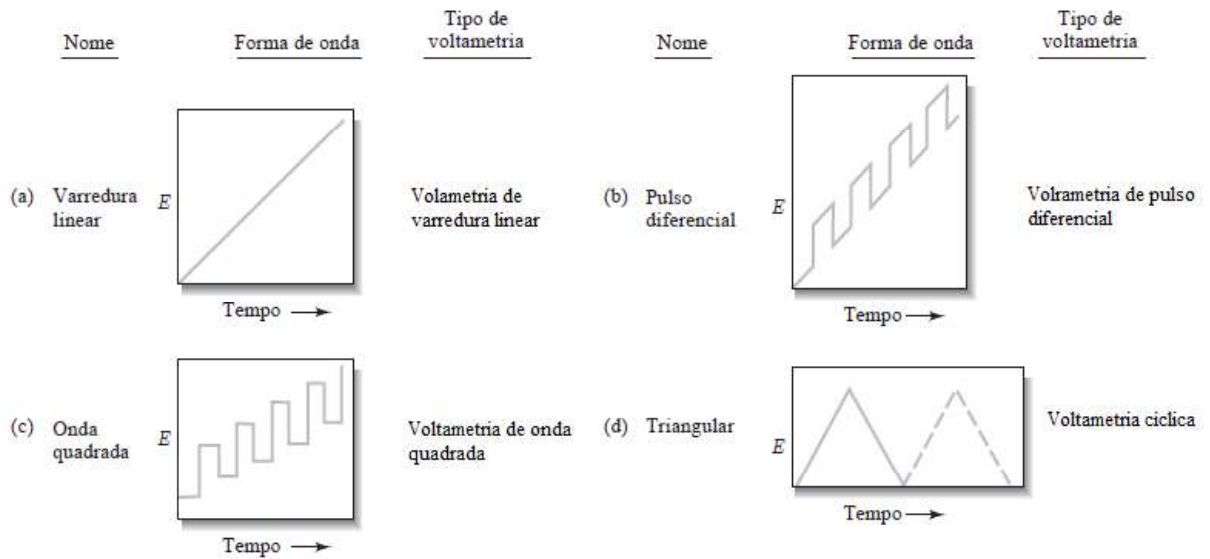


Figura 6. Sinais de excitação de tensão versus tempos empregados na voltametria. (Fonte: SKOOG, et al., 2006)

1.5 Sensores e eletrodos de trabalho usuais em eletroanalítica

As informações obtidas com o uso das técnicas voltamétricas são dependentes da superfície eletródica, que deve apresentar elevada razão sinal-ruído e boa repetibilidade. A seleção do eletrodo de trabalho a ser utilizado depende de dois fatores: do comportamento redox do analito e das correntes residuais obtidas no intervalo de potencial avaliado. Também deve considerar a janela de potencial de trabalho, condutividade elétrica, reprodutibilidade da superfície, as propriedades mecânicas, o custo de fabricação, a disponibilidade e toxicidade (WANG, 2000).

Inicialmente representados pelo mercúrio na polarografia, os eletrodos de trabalho, evoluíram, passando por eletrodos metálicos puros e ligas, materiais compósitos e pastas (PACHECO, *et al.*, 2013).

A utilização do eletrodo de mercúrio apresenta restrições devido à sua alta toxicidade, representando riscos ambientais, além de ser limitado para o intervalo de potenciais positivos, excluindo assim, sua utilização no monitoramento de compostos oxidáveis. Desse modo, eletrodos sólidos com janelas de potenciais anódicos prolongadas têm atraído interesse analítico considerável. Diversos são os materiais sólidos que podem ser utilizados como eletrodos de trabalho, dentre eles, os mais utilizados são platina, ouro, prata, carbono, níquel e cobre (WANG, 2000).

Os eletrodos metálicos apresentam como desvantagem, a formação de óxidos na sua superfície, além da dificuldade de reprodutibilidade de área superficial entre polimentos sucessivos e alto custo de preparação quando se utilizam metais nobres. Desta forma, os eletrodos à base de carbono são uma opção interessante, com baixo custo e possibilidade de preparação usando as diversas formas em que este material se apresenta (CALIXTO *et al.*, 2008).

No entanto nos últimos anos tem se destacado o desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados. Nos quais, as modificações químicas podem ser transitórias ou permanentes por eletrodeposição, adsorção por interações iônicas, e/ou covalentes, entre outros (PACHECO, *et al.*, 2013). Os principais objetivos dessas modificações superficiais de eletrodos visam pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo|solução, alterando a reatividade e seletividade dos sensores base. Assim, os eletrodos quimicamente modificados (EQMs) são uma poderosa ferramenta para o desenvolvimento de sensores para aplicação em diversas áreas (PEREIRA, *et al.*, 2002).

Atualmente diferentes materiais nanoestruturados são empregados nas modificações. Com a modificação superficial pode-se obter efeitos eletrocatalíticos, prevenção de envenenamento e a pré-concentração do analito, conseguindo-se, assim, sensibilidade, seletividade, estabilidade e reprodutibilidade superiores àquelas de um eletrodo base sem prévia modificação (PEREIRA, *et al.*, 2002; PACHECO, *et al.*, 2013).

O desenvolvimento da parte eletrônica da instrumentação utilizada em eletroanalítica possibilitou a utilização de ultramicroeletrodos (UMEs). Ao reduzirem o tamanho dos eletrodos, criou-se um dispositivo adequado para medidas na escala micro, alcançando algumas vantagens como facilidade em alcançar o estado estacionário, medidas em solventes de alta resistência ôhmica, medidas em fase gasosa, medidas sem a necessidade de eletrólito de suporte, voltametria ultra-rápida, miniaturização, queda ôhmica pequena, redução da corrente capacitiva e medidas *in vivo* (PEREIRA, *et al.*, 2002).

Neste trabalho o eletrodo de trabalho utilizado para realizar as medidas voltamétricas foi o eletrodo de carbono vítreo, o qual será abordado posteriormente.

1.5.1 Eletrodo de carbono vítreo

Eletrodos sólidos baseados em carbono são muito utilizados atualmente em eletroanálises, principalmente por causa de sua ampla janela de potencial, baixa corrente de fundo, química de superfície rica, de baixo custo, inércia química e adequação para várias aplicações de detecção. Vários tipos de eletrodos à base de carbono são relatados na literatura, dentre os quais podem ser citados o eletrodo de carbono vítreo, o eletrodo de grafite pirolítico, o eletrodo de fibra de carbono, além do eletrodo de pasta de carbono, no qual, a pasta é preparada pela mistura de pó de grafite com algum tipo de aglutinante (WANG, 2000; CALIXTO *et al.*, 2008).

Esses eletrodos possuem uma desvantagem se comparados com os eletrodos metálicos, suas taxas de eletrotransferência são, na maioria das vezes, mais lentas. Com isso, diversos pré-tratamentos podem ser realizados nos eletrodos para aumentar as taxas de eletrotransferência. O tipo de carbono, bem como o método de pré-tratamento, tem, portanto, um profundo efeito sobre o desempenho analítico (WANG, 2000).

Dentre os mais comuns eletrodos de compostos de carbono destaca-se o de carbono vítreo, devido às suas excelentes propriedades elétricas e mecânicas, ampla faixa de potencial, inércia química, sendo altamente resistente a solventes e pelo relativo desempenho reprodutível. Os materiais de carbono vítreo podem ser, em geral, formados a partir de um material de resina polimérico (fenol-formaldeído) por meio de um programa de aquecimento controlado (acima de 1200 °C) em uma atmosfera inerte. O processo de carbonização é efetuado muito lentamente para assegurar a eliminação de oxigênio, azoto e hidrogênio (WANG, 2000). Desta forma, para obter o carbono vítreo as matérias-primas devem fornecer um teor residual de carbono acima de 50 % em massa em relação ao precursor inicial (FERRARI & RESENDE, 1998).

O carbono vítreo possui uma estrutura que se assemelha a fitas entrelaçadas, como representado na Figura 7.

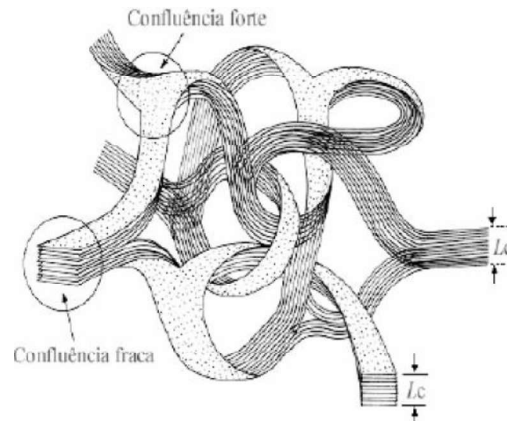


Figura 7. Estrutura do carbono vítreo (Fonte: FERRARI & RESENDE, 1998)

Devido à sua alta densidade e tamanho de poro pequeno, nenhum processo de impregnação é necessário. No entanto, a aplicabilidade do carbono vítreo em eletrodos requer um pré-tratamento para melhorar seu desempenho analítico, obtendo assim, resultados reprodutíveis. Tal pré-tratamento é geralmente um polimento com partículas de alumina sobre um pano de polimento, o qual é realizado para limpar a superfície do eletrodo. O eletrodo deve então ser enxaguado com água deionizada antes da sua utilização. Passos de ativação adicionais, tais como eletroquímica, química, térmica, ultrassom, ou tratamento a laser, também têm sido utilizados para melhorar o desempenho (WANG, 2000; DEKANSK *et al.*, 2001).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar o efeito complexante e descomplexante de compostos presentes na soja e na própolis em relação a cátions de metais essenciais à saúde humana por método eletroanalítico.

2.2 Objetivos específicos

- Estudar os potenciais de pico de redução dos cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} em eletrodo de carbono vítreo;
- Avaliar o efeito complexante dos compostos presentes na soja em relação aos cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} por método eletroanalítico;
- Otimizar o tempo de complexação entre compostos presentes na soja e os cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} ;
- Avaliar as metodologias empregadas para promover a descomplexação dos complexos cátion metálico-fitato, usando temperatura, ultrassom, micro-ondas e pH;
- Estudar as soluções dos cátions metálicos Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} com o extrato de própolis por método eletroanalítico;
- Otimizar o volume de extrato de própolis adicionado às soluções dos cátions metálicos;
- Avaliar as metodologias empregadas para promover a descomplexação dos complexos formados entre os cátions metálicos e os compostos presentes no extrato de própolis, usando ultrassom e micro-ondas;
- Examinar as intensidades de corrente de pico obtidas em todas as leituras voltamétricas, verificando se em algum momento houve a complexação ou a descomplexação dos cátions metálicos com os compostos presentes na soja em grão e no extrato de própolis;
- Proposição de método eletroanalítico.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e soluções

Os padrões dos cátions metálicos Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} são padrões AAS adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA) com concentração 1.000 ppm, preparados em meio ácido com ácido nítrico (HNO_3) 2% (v/v), ou seja, com concentração de 0,028 mol L^{-1} . Esses padrões foram acondicionados no refrigerador.

Os reagentes cloreto férrico hexahidratado P.A. ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), cloreto de cobre II dihidratado P.A. ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), cloreto de cálcio dihidratado P.A. ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), ácido nítrico (HNO_3 – 68%), ácido clorídrico (HCl – 36,5 - 38,0%), ácido sulfúrico (H_2SO_4 – 95 - 99%), ácido acético glacial (CH_3COOH – 99%) e ácido fosfórico (H_3PO_4 – mínimo 85%) foram obtidos da Vetec Química Fina Ltda. (Rio de Janeiro, Brasil). Já o cloreto de magnésio hexahidratado P.A. ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e o sulfato de zinco heptahidratado P.A. ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) foram adquiridos da Synth (São Paulo, Brasil). E o hidróxido de potássio (KOH) foi obtido da Sigma-Aldrich (EUA).

Além disso, utilizou-se água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore) para o preparo das soluções e diluições necessárias.

3.1.1 Eletrólito de suporte

Visando garantir adequada condutividade e força iônica constante ao sistema durante a análise, é necessária a adição de um eletrólito de suporte, que constitui de soluções inertes com concentrações relativamente elevadas, geralmente 100 vezes maior que a concentração do analito de interesse (PACHECO, *et al.*, 2013).

Dessa forma, a escolha do eletrólito de suporte é importante, visto que a sua presença pode modificar o processo eletroquímico. Baseando-se nas características do sistema eletroquímico dos compostos analisados, considerando o potencial de redução de cada um dos cátions metálicos, e em estudos realizados anteriormente pelo grupo de pesquisa GEAP (Grupo de Eletroanalítica Aplicada) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), o eletrólito de suporte utilizado foi o cloreto de potássio (KCl) adquirido da Sigma-Aldrich (EUA), na concentração de 0,05 mol L^{-1} .

3.2 Amostras

Utilizou-se a amostra comercial de soja em grão da marca Pereira, comprada na cidade de Viçosa/MG, com as seguintes especificações: Grupo I – soja destinada ao consumo humano “*In Natura*”, Classe Amarela, Tipo 1.

Utilizou-se também o Extrato de Própolis Fontoura, o qual seu centro de apuração é na rua Antônio Brant Ribeiro, 06 – Pacheco – Ponte Nova/MG. Esse extrato é produzido na proporção de 300 gramas de própolis puro para um litro de álcool de cereais. A própolis pura é coletada pelas abelhas na flor de alecrim.

3.3 Instrumentação

A caracterização voltamétrica das soluções foi realizada utilizando o potenciostato/galvanostato modular modelo PGSTAT 128N (Metrohm Pensalab), interfaceado a um microcomputador, com gerenciamento de dados feito pelo software *General Purpose Electrochemical System* (GPES), versão 4.9. A célula eletroquímica utilizada foi uma célula convencional de vidro borossilicato de compartimento único, com capacidade de 50 mL. Essa célula é equipada com uma tampa de politetrafluoretileno (PTFE) contendo um orifício para encaixe do capilar para promover a desoxigenação da solução com nitrogênio gasoso (White Martins), e outro orifício para facilitar a saída dos gases, além de três orifícios para encaixe dos eletrodos (eletrodo auxiliar ou contra eletrodo, eletrodo de trabalho e eletrodo de referência), conforme apresentado na Figura 8.

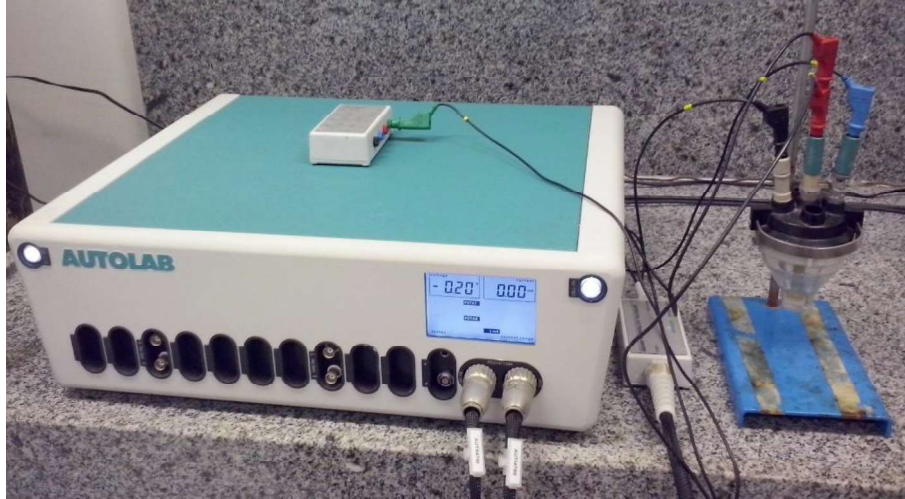


Figura 8. Instrumentação utilizada: potenciostato/galvanostato PGSTAT 128N conectado à célula eletroquímica com arranjo de três eletrodos.

O eletrodo de referência utilizado foi o eletrodo Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0 \text{ M}}$), o contra eletrodo fio de platina, e como eletrodo de trabalho um eletrodo de carbono vítreo (GCE) com $0,127 \text{ cm}^2$ de área geométrica, ambos fabricados pela Metrohm® (Figura 9). O eletrodo de trabalho era polido antes de cada medida em um feltro contendo uma suspensão de alumina nas granulometrias $0,30 \mu\text{m}$ e $0,05 \mu\text{m}$ e lavado com água deionizada tipo I (utilizando sistema Milli-Q da Millipore).

A aplicação destes eletrodos visou estabelecer os parâmetros de sensibilidade, seletividade, reprodutibilidade e repetibilidade, fundamentais para o desenvolvimento de uma metodologia analítica e sua proposição como método oficial de análise.



Figura 9. Eletrodo de referência, eletrodo auxiliar ou contra eletrodo e eletrodo de trabalho respectivamente.

3.3.1 Equipamentos auxiliares

Todas as pesagens foram realizadas em uma balança de precisão analítica de quatro casas decimais modelo AX200 da Shimadzu. Para aquecer as soluções utilizou-se um micro-ondas da Electrolux modelo MEF 41 e uma placa aquecida e agitação magnética PC-420D Corning. As medidas de pH das soluções foram realizadas empregando-se um pHmetro acoplado a um eletrodo de vidro, ambos da Metrohm. Utilizou-se também um banho ultrassônico modelo USC-1400 da Unique.

Para preparar as soluções foram utilizadas micropipetas volumétricas da Thermo Scientific de volumes variáveis de capacidade máxima de 200 μL e 1000 μL , sendo que todas continham ponteiros descartáveis de polietileno, além de vidrarias como béqueres e balões volumétricos com volumes variados.

3.4 Metodologia

Em todas as análises realizadas durante os procedimentos experimentais empregou-se a técnica voltametria de pulso diferencial (Differential pulse voltammetry - DPV), as leituras foram feitas no mínimo em triplicata e examinadas contra o branco, sendo que anteriormente ao início da varredura de potencial, o gás nitrogênio foi borbulhado na solução presente na célula eletroquímica para remover o oxigênio dissolvido que pudesse interferir nas respostas voltamétricas.

A escolha da técnica DPV para realizar as análises voltamétricas foi proveniente a partir de estudos anteriores, assim como as condições experimentais utilizadas, as quais foram: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms.

3.4.1 Preparo das soluções dos cátions metálicos e do branco

Os cátions metálicos estudados foram Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} . As suas soluções com o eletrólito de suporte foram preparadas de modo que as concentrações finais dos cátions fossem de 0,50 mmol L^{-1} e a concentração do eletrólito de suporte KCl fosse de 0,05 mol L^{-1} .

Para tal, de acordo com o volume final de solução desejado, adicionou-se em um balão volumétrico um volume da solução padrão (Sigma-Aldrich) do cátion metálico, volume este que variou para cada cátion metálico devido à diferença entre suas massas molares. Adicionou-se também uma quantidade do sal KCl, e o volume foi completado com água deionizada tipo I (utilizando sistema Milli-Q da Millipore).

As soluções dos cátions metálicos com eletrólito de suporte foram preparadas e utilizadas no mesmo dia, para cada análise preparou-se uma solução nova.

A solução do branco é a solução que contém apenas o eletrólito de suporte KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, preparada adicionando em um balão volumétrico a quantidade necessária do sal KCl para obter a concentração final, e o volume completado com água deionizada tipo I (utilizando sistema Milli-Q da Millipore).

3.4.2 Estudo dos potenciais de pico de redução dos cátions metálicos

Realizaram-se análises voltamétricas pela técnica DPV das soluções de cada cátion (Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+}) com o eletrólito de suporte (KCl) separadamente para obter informações sobre o comportamento eletroquímico desses compostos na superfície do eletrodo de trabalho, verificando a presença de processos de redução dos compostos na superfície do GCE. Tais análises foram realizadas na faixa de potencial de varredura variando de 0,4 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{M}}$), onde encontrou-se um pico catódico para cada cátion metálico. Todas as análises foram realizadas em triplicata, e, após cada medida o eletrodo de trabalho foi devidamente polido.

3.4.3 Confirmação do potencial de pico catódico dos cátions a partir da adição de padrão

Executou-se igualmente para todos os cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} a confirmação do potencial de pico catódico. Primeiramente, foi realizada a análise voltamétrica da solução preparada do cátion metálico com o eletrólito de suporte KCl nas concentrações $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$; respectivamente. Após a análise a solução permaneceu na célula eletroquímica e adicionou-se com o auxílio de uma micropipeta um volume da solução padrão (Sigma-Aldrich) do cátion. Com injeção do

gás nitrogênio houve uma mistura e desoxigenação da solução, e em seguida fez-se novamente a leitura voltamétrica.

O volume adicionado não foi medido, sendo diferente para cada cátion, uma vez que esse estudo serviu apenas para identificar se a intensidade de corrente de pico do cátion metálico aumentava com a adição da solução padrão, confirmando assim o seu potencial de pico catódico.

Comparou-se os voltamogramas obtidos com soluções dos cátions 0,50 mmol L⁻¹ com o eletrólito de suporte (KCl) 0,05 mol L⁻¹ com aqueles obtidos após a adição de padrão e com o voltamograma do branco (KCl).

3.4.4 Estudo das soluções dos cátions metálicos com a soja

Os estudos das soluções dos cátions metálicos Cu²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Mg²⁺ e Fe²⁺ com a soja foram realizados separadamente para cada cátion.

Para este fim, primeiramente preparou-se uma solução de 10,00 mL do cátion metálico na concentração 0,50 mmol L⁻¹ e do eletrólito de suporte na concentração 0,05 mol L⁻¹. A partir dessa solução realizou-se a leitura voltamétrica pela técnica DPV em uma janela de potencial que variou de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl (KCl_{3,0 M}).

Para que ocorresse a complexação dos cátions metálicos com os compostos presentes na soja (fitatos) adicionou-se nessa solução 5,00 g de soja em grão, deixando-se em repouso em um béquer por uma hora. Após esse período, a solução contendo o cátion metálico que era inicialmente incolor ficou com tonalidade amarela clara, e aspecto límpido. A solução amarelada foi retirada e, então, transferida para a célula eletroquímica onde foi realizada a análise voltamétrica na faixa de potencial de varredura variando de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl (KCl_{3,0 M}).

Ambas leituras voltamétricas realizadas foram sobrepostas e comparadas através dos voltamogramas.

Realizou-se também um experimento para analisar a reação que ocorre entre uma solução contendo apenas o eletrólito de suporte KCl na concentração 0,05 mol L⁻¹ e a soja em grão da mesma maneira que o estudo das soluções dos cátions metálicos com a soja.

Dessa forma, preparou-se uma solução do eletrólito de suporte, da qual fez-se a leitura voltamétrica variando a janela de potencial de varredura de 0,0 a -2,0 V vs.

Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{ M}}$) e então colocou-se em repouso com a soja por uma hora. Após esse tempo realizou-se novamente a leitura voltamétrica da solução.

3.4.4.1 Estudo do tempo de complexação dos cátions metálicos com os compostos presentes na soja

Para avaliar a possibilidade de diminuir o tempo em que a solução do cátion metálico fica em contato com a soja, tornando assim o procedimento mais rápido, realizou-se um estudo variando o tempo de complexação em intervalos fixos de 15 minutos até o limite de 60 minutos e fazendo a leitura voltamétrica da solução após cada instante de tempo.

Para esse estudo utilizou-se apenas a solução do cátion metálico Cu^{2+} com o eletrólito de suporte, devido à maior estabilidade desse cátion em relação ao potencial de pico catódico e à intensidade de corrente.

Preparou-se 50,00 mL da solução do cátion metálico Cu^{2+} com o eletrólito de suporte KCl, nas concentrações $0,50\text{ mmol L}^{-1}$ e $0,05\text{ mol L}^{-1}$ respectivamente, realizando a análise voltamétrica dessa solução variando a janela de potencial de varredura de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{ M}}$).

Após a análise voltamétrica a solução foi disposta em um béquer juntamente com uma quantidade de aproximadamente 25,00 g da soja em grão. De 15 em 15 minutos, até completar uma hora, retiraram-se alíquotas de 10,00 mL com uma pipeta volumétrica da solução do cátion metálico que estava em contato com a soja. As alíquotas foram transferidas para a célula eletroquímica onde foram realizadas as leituras voltamétricas na faixa de potencial de varredura variando de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{ M}}$).

Em forma de voltamograma, todas as leituras foram comparadas com a finalidade de examinar o menor tempo para a complexação dos cátions metálicos com os fitatos presentes na soja.

3.4.5 Estudo da descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja

Diversos tratamentos como aquecimento, ultrassom, micro-ondas e mudança do pH foram empregados a fim de descomplexar os complexos formados entre os compostos presentes na soja (fitatos) e os cátions metálicos.

Em todos os casos realizaram-se análises voltamétricas das soluções dos cátions com o eletrólito de suporte KCl nas concentrações $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente antes e depois do contato com a soja em grão durante o período de uma hora, e após a aplicação do tratamento. Fez-se uma comparação entre as intensidades de corrente do pico catódico de cada cátion em cada análise, para assim comprovar ou não a descomplexação.

A Figura 10 apresenta um diagrama das etapas dos tratamentos de aquecimento, aquecimento até ebulição, ultrassom e aquecimento em micro-ondas aplicados na solução do cátion com eletrólito de suporte que esteve em contato com a soja em grão por uma hora. Esses tratamentos são explicados posteriormente.

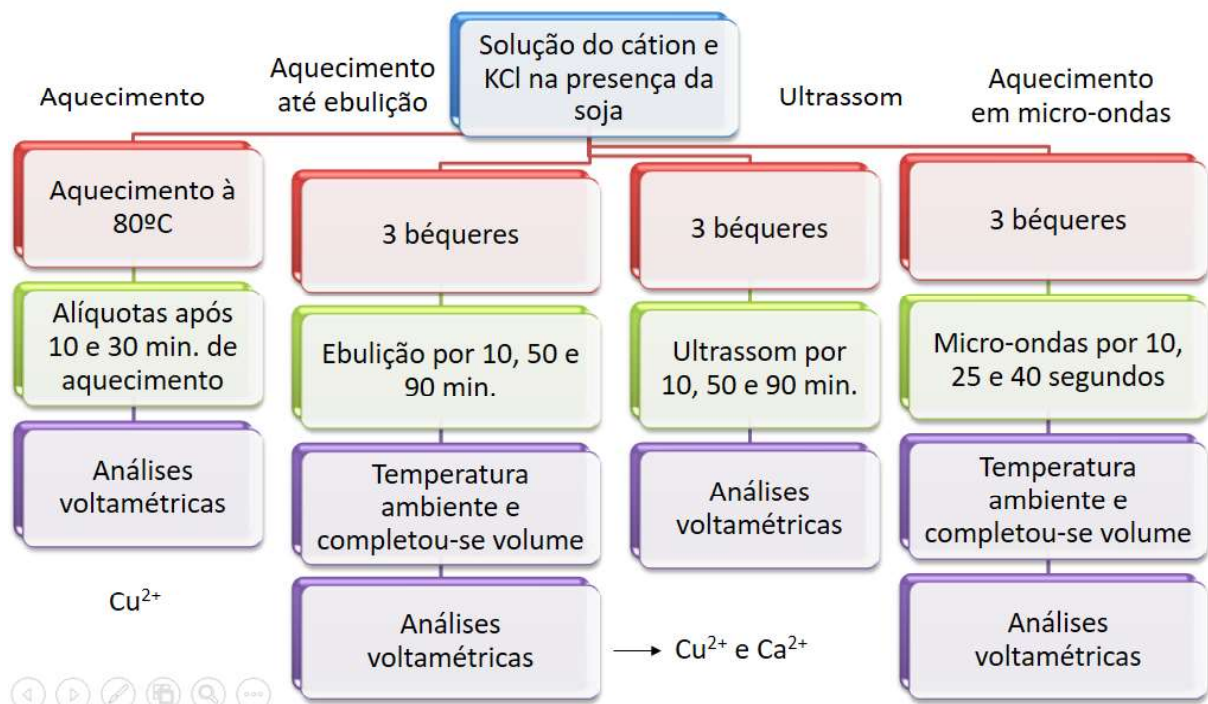


Figura 10. Diagrama das etapas dos tratamentos de aquecimento, aquecimento até ebulição, ultrassom e aquecimento em micro-ondas.

3.4.5.1 Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por aquecimento

Inicialmente, executou-se o experimento colocando uma solução do cátion metálico e eletrólito de suporte com volume de 40,00 mL, que esteve por uma hora em contato com 20,00 g de soja em grão, aquecer em uma chapa e manteve-se a temperatura em 80° C, sendo controlada com o auxílio de um termômetro. Alíquotas foram retiradas dessa solução após 10 e 30 minutos de aquecimento, transferidas para a célula eletroquímica e suas leituras voltamétricas foram realizadas variando a janela de potencial de varredura de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl (KCl_{3,0 M}). Durante o experimento, ao se retirar as alíquotas havia um decréscimo acentuado da temperatura, dificultando que essa se mantivesse constante em 80° C, fato que culminou pelo não emprego da metodologia para as soluções de todos os cátions metálicos, apenas para a solução do cátion Cu²⁺.

Com intenção de manter a temperatura constante modificou-se a metodologia. A solução do cátion com o eletrólito de suporte com volume total de 150,00 mL que esteve em contato com a soja por uma hora foi dividida em três béqueres (50,00 mL da solução em cada béquer), que foram tampados com filme de PVC contendo um pequeno orifício para evitar o acúmulo de vapores. Em seguida colocou-se os béqueres na chapa aquecedora, até a solução atingir a ebulição, permanecendo nessa condição por tempos diferentes (10, 50 e 90 minutos). Após retirados da chapa deixou-se as soluções atingirem a temperatura ambiente e seus volumes foram aferidos com água deionizada em balões volumétricos de 50,00 mL. Posteriormente realizaram-se as análises voltamétricas.

3.4.5.2 Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por ultrassom

A solução do cátion metálico (0,50 mmol L⁻¹) e eletrólito de suporte KCl (0,05 mol L⁻¹) com volume de 50,00 mL ficou em contato com a soja em grão (25,00 g) por uma hora. Então, retirou-se a solução do contato com a soja e a dividiu em três béqueres, os quais foram levados para o banho ultrassônico. Cada béquer permaneceu durante um intervalo de tempo diferente no ultrassom (10, 50 e 90 minutos). Após serem retirados do banho ultrassônico as soluções contidas nos

béqueres foram transferidas para a célula eletroquímica, e realizaram-se as análises voltamétricas na faixa de potencial de varredura variando de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{ M}}$).

Aplicou-se igualmente esse procedimento para as soluções dos cátions metálicos Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} .

3.4.5.3 Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por aquecimento em micro-ondas

Colocou-se uma solução do cátion metálico na concentração $0,50\text{ mmol L}^{-1}$ e eletrólito de suporte na concentração $0,05\text{ mol L}^{-1}$ com volume total de 100,00 mL em contato com 50,00 g de soja em grão por uma hora. Em seguida a solução foi retirada do contato com a soja com o auxílio de uma pipeta volumétrica e foi dividida em três béqueres de 300 mL de volume, em cada béquer colocou-se 25,00 mL de solução. Posteriormente os béqueres foram levados ao micro-ondas separadamente, cada um permaneceu no micro-ondas, o qual estava na potência máxima, durante um intervalo de tempo diferente (10, 25 e 40 segundos). Para minimizar a evaporação da solução tampou-se os béqueres com um vidro de relógio. Depois de retirados do micro-ondas deixou-se suas soluções atingirem a temperatura ambiente e seus volumes foram aferidos com água deionizada em balões volumétricos de 25,00 mL. As soluções foram transferidas para a célula eletroquímica e realizou-se as análises voltamétricas variando a janela de potencial de varredura de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{ M}}$).

Aplicou-se da mesma maneira esse procedimento para as soluções de todos os cátions metálicos (Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+}).

3.4.5.4 Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por variação do pH

Aplicou-se igualmente o procedimento de descomplexação por variação do pH para as soluções dos cátions metálicos Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} . A princípio preparou-se uma solução com volume de 100,00 mL do cátion metálico e o eletrólito de suporte KCl nas concentrações $0,50\text{ mmol L}^{-1}$ e $0,05\text{ mol L}^{-1}$ respectivamente, fez-se a leitura do seu pH e a análise voltamétrica. Dessa solução colocou-se 50,00 mL

em contato com a soja em grão (25,00 g) por uma hora. Após esse tempo a solução foi retirada do contato com a soja, realizou-se a leitura do seu pH, a análise voltamétrica e depois foi dividida em alíquotas de 10,00 mL, as quais foram colocadas em béqueres. Em seguida modificou-se o pH de cada solução contidas nos béqueres para valores diferentes adicionando pequenas quantidades de soluções de ácido nítrico (HNO_3) e/ou hidróxido de potássio (KOH) em várias concentrações de acordo com a necessidade. Após obter o pH desejado realizou-se a leitura voltamétrica na faixa de potencial de varredura variando de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{ M}}$).

Dividiu-se também o restante da solução preparada (50,00 mL) que não teve contato com a soja em alíquotas de 10,00 mL que foram colocadas em béqueres. O pH de cada solução contida nos béqueres foi modificado para valores semelhantes aos obtidos anteriormente. Por fim, as análises voltamétricas foram realizadas.

Analogamente, empregou-se a metodologia para uma solução com volume de 10,00 mL que continha apenas água deionizada tipo I (utilizando sistema Milli-Q da Millipore) e que ficou em contato com 5,00 g de soja em grão por uma hora.

3.4.6 Efeito de ácidos

As soluções padrões dos cátions metálicos são soluções ácidas preparadas com o ácido nítrico (HNO_3). Em virtude disso realizaram-se análises voltamétricas em uma janela de potencial que variou no intervalo de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{ M}}$) de soluções do ácido nítrico nas concentrações 0,001 e 0,01 mol L⁻¹. Nessas concentrações os pH's destas soluções ficaram próximos aos pH's das soluções preparadas dos cátions metálicos na concentração 0,50 mmol L⁻¹ com o eletrólito de suporte KCl na concentração 0,05 mol L⁻¹ na presença e ausência de soja respectivamente. A partir dessas análises foi possível verificar se o ácido nítrico apresentava um potencial de pico catódico próximo aos potenciais de pico catódicos dos cátions, interferindo assim nas análises voltamétricas desses.

Realizou-se também análises voltamétricas na faixa de potencial de varredura variando de 0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{ M}}$) de soluções de ácido clorídrico (HCl), ácido sulfúrico (H_2SO_4), ácido acético (CH_3COOH) e ácido fosfórico (H_3PO_4) em concentrações que o pH ficasse próximos aos pH's das soluções preparadas dos cátions metálicos na concentração 0,50 mmol L⁻¹ com o eletrólito de suporte na concentração 0,05 mol L⁻¹. Essas análises foram realizadas para verificar se algum

desses ácidos poderiam ser utilizados para modificar o pH das soluções dos cátions com o eletrólito de suporte sem que prejudicasse a análise voltamétrica dos cátions.

3.4.7 Efeito de adição de sais correspondentes dos cátions no potencial de pico catódico

Com a finalidade de certificar os valores dos potenciais de pico catódico dos cátions metálicos Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} realizou-se a confirmação do potencial de pico desses pela adição dos sais correspondentes de cada cátion.

Efetua-se o procedimento experimental com todas as soluções dos cátions separadamente. A princípio preparou-se a solução do cátion metálico na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e fez-se a análise voltamétrica na janela de potencial de varredura variando de $0,0$ a $-2,0 \text{ V vs. Ag|AgCl (KCl}_{3,0 \text{ M})}$. Em seguida adicionou-se uma massa do sal do cátion correspondente e realizou-se a análise voltamétrica novamente. A massa do sal não foi pesada sendo diferente em cada caso, uma vez que a adição do sal tinha o objetivo de auxiliar na visualização, através dos voltamogramas, do aumento da intensidade de corrente dos cátions metálicos, confirmando assim seus potenciais de pico catódico.

Os sais utilizados nesse experimento foram cloreto de cobre II dihidratado P.A. ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), cloreto de cálcio dihidratado P.A. ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), cloreto de magnésio hexahidratado P.A. ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), cloreto férrico hexahidratado P.A. ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e sulfato de zinco heptahidratado P.A. ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

3.4.8 Estudo das soluções dos cátions metálicos com o extrato de própolis

Inicialmente, realizaram-se análises voltamétricas variando a faixa de potencial no intervalo de $0,0$ a $-2,0 \text{ V vs. Ag|AgCl (KCl}_{3,0 \text{ M})}$ de duas soluções preparadas em balões volumétricos de $10,00 \text{ mL}$, nas quais foram adicionados apenas o eletrólito de suporte KCl, o extrato de própolis, e o volume foi completado com água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore). Em ambas soluções o eletrólito de suporte estava na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, já do extrato de própolis foram adicionados volumes

diferentes, em uma solução colocou-se 250 μL de extrato de própolis e na outra 500 μL .

Fez-se também a leitura voltamétrica de maneira semelhante da solução do branco, que continha somente o eletrólito de suporte KCl na concentração 0,05 mol L⁻¹.

Averiguou-se o comportamento eletródico na janela de potencial de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl (KCl_{3,0 M}) dos compostos presentes no extrato de própolis pelos voltamogramas obtidos.

3.4.8.1 Estudo da solução do cátion Cu²⁺ com o extrato de própolis

Com o intuito de verificar se ocorria complexação entre algum composto do extrato de própolis com os cátions metálicos primeiramente testou-se a solução do cátion Cu²⁺ com o eletrólito de suporte KCl e o extrato de própolis.

De início foi preparada uma solução de 10,00 mL do cátion Cu²⁺ na concentração 0,50 mmol L⁻¹ com o eletrólito de suporte KCl na concentração 0,05 mol L⁻¹, e realizou-se a leitura voltamétrica na faixa de potencial de varredura variando de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl (KCl_{3,0 M}). Após adquirir o voltamograma adicionou-se à solução 250 μL de extrato de própolis, borbulhou-se o gás nitrogênio por três minutos e imediatamente fez-se a leitura voltamétrica na mesma faixa de potencial citada anteriormente. Depois que o gás nitrogênio foi borbulhado a solução se tornou mais clara e límpida. Similarmente, realizaram-se análises voltamétricas após 30 minutos e uma hora que o extrato de própolis foi adicionado à solução do cátion com o eletrólito de suporte.

Em seguida, adicionou-se mais 250 μL de extrato de própolis à solução (totalizando 500 μL de extrato de própolis adicionado). Além disso foram feitas as análises voltamétricas variando a janela de potencial de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl (KCl_{3,0 M}) da solução logo após adicionar o extrato de própolis (desoxigenando-se a solução com gás nitrogênio por três minutos antes), e também 30 minutos e uma hora após a adição do extrato de própolis.

Ademais, o pH da solução foi monitorado, ou seja, realizaram-se leituras antes e depois de adicionar o extrato de própolis.

3.4.8.2 Otimização do volume de extrato de própolis adicionado à solução do cátion Cu^{2+}

A otimização do volume do extrato de própolis foi realizada visando uma maior complexação entre os cátions metálicos e os compostos presentes no extrato (polifenóis). Para isso, fez-se análises de soluções do cátion Cu^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com o eletrólito de suporte KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e volumes diferentes do extrato de própolis, os quais foram $250 \mu\text{L}$, $500 \mu\text{L}$, $750 \mu\text{L}$ e $1.000 \mu\text{L}$. Escolheu-se o cátion Cu^{2+} para essa análise por apresentar melhor estabilidade em relação ao seu potencial de pico catódico e às intensidades de correntes obtidas nas leituras voltamétricas.

Para prosseguir com a análise preparou-se cada solução em um balão volumétrico de $10,00 \text{ mL}$, transferindo para a célula eletroquímica e borbulhando o gás nitrogênio na solução, manteve-se então a solução em repouso por 30 minutos para garantir a reação entre o cátion metálico e compostos presentes no extrato de própolis (polifenóis) e por fim realizou-se a análise voltamétrica na janela de potencial de varredura variando de $0,0$ a $-2,0 \text{ V vs. Ag|AgCl (KCl}_{3,0 \text{ M}})$.

Além disso, realizou-se também o controle negativo, ou seja, a análise voltamétrica de uma solução preparada apenas com o cátion Cu^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e com o eletrólito de suporte KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Com o propósito de verificar se o pH influenciava nas análises, fez-se as medidas do pH das soluções contendo diferentes volumes de extrato de própolis e da solução sem o extrato.

3.4.8.3 Estudo das soluções dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} com o extrato de própolis

A fim de comprovar a existência de complexação entre os cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} com compostos presentes no extrato de própolis (polifenóis) realizou-se o estudo das soluções dos cátions na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com o eletrólito de suporte KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e o extrato de própolis.

Esse estudo foi feito separadamente para cada cátion, porém de modo semelhante para todos. Primeiramente preparou-se a solução do cátion com o eletrólito de suporte e realizou-se a leitura voltamétrica na faixa de potencial de

varredura que variou de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{M}}$). Depois a solução do cátion com o eletrólito de suporte e 1.000 μL de extrato da própolis foi preparada em um balão volumétrico de 10,00 mL. O gás nitrogênio foi borbulhado na solução e conforme o estudo da solução do cátion Cu^{2+} com o extrato de própolis esperou-se 30 minutos para garantir que não ocorresse variações nas medidas e em seguida fez-se a leitura voltamétrica na mesma faixa de potencial de varredura citada acima.

Realizaram-se também as medidas do pH das soluções sem e com o extrato de própolis para averiguar se o pH modificou com a presença do extrato de própolis.

3.4.9 Estudo da descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis

Aplicação de ultrassom e aquecimento no micro-ondas foram os tratamentos utilizados com a finalidade de descomplexar os cátions metálicos dos compostos presentes no extrato de própolis.

Para os dois tratamentos o cátion Cu^{2+} foi novamente escolhido pela facilidade nas análises voltamétricas. Prepararam-se soluções contendo somente o cátion com o eletrólito de suporte KCl nas concentrações 0,50 mmol L^{-1} e 0,05 mol L^{-1} respectivamente, bem como soluções do cátion e o eletrólito de suporte nessas mesmas concentrações com o extrato de própolis. As análises voltamétricas foram efetuadas na janela de potencial de varredura variando de de 0,0 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{M}}$) em todas as soluções e também após aplicação do ultrassom e aquecimento no micro-ondas. Assim, fez-se uma comparação entre as intensidades de corrente do pico catódico obtidas em cada análise voltamétrica, para comprovar ou não a descomplexação.

O pH foi medido nas soluções preparadas e após empregar os tratamentos.

3.4.9.1 Descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis por ultrassom

Inicialmente transferiu-se a solução preparada de Cu^{2+} (0,50 mmol L^{-1}) com eletrólito de suporte (0,05 mol L^{-1}) e 2.500 μL de extrato de própolis em um balão volumétrico de 25,00 mL para a célula eletroquímica, borbulhou-se o gás nitrogênio na solução, aguardou-se 30 minutos e fez-se a leitura voltamétrica. Após a leitura a

solução foi dividida em três béqueres (em cada béquer colocou-se 8,00 mL de solução), os béqueres foram levados ao banho ultrassônico por tempos diferentes, os quais foram 10, 50 e 90 minutos. Após serem retirados do banho ultrassônico as soluções contidas nos béqueres foram transferidas para a célula eletroquímica, e realizaram-se as suas análises voltamétricas.

3.4.9.2 Descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis por aquecimento em micro-ondas

Preparou-se uma solução do cátion Cu^{2+} ($0,50 \text{ mmol L}^{-1}$), com eletrólito de suporte ($\text{KCl } 0,05 \text{ mol L}^{-1}$) e $5.000 \mu\text{L}$ de extrato de própolis com volume total de $50,00 \text{ mL}$, sendo transferida para a célula eletroquímica, onde borbulhou-se o gás nitrogênio e após 30 minutos realizou-se a análise voltamétrica. Em seguida retirou-se alíquotas de $10,00 \text{ mL}$ da solução colocadas em três béqueres de 50 mL . Os béqueres foram levados ao micro-ondas separadamente, cada um permaneceu no micro-ondas, que estava na sua potência máxima, por um intervalo de tempo diferente, os quais foram 20, 40 e 60 segundos. Para minimizar a evaporação da solução os béqueres foram tampados com filme de PVC, contendo pequenos orifícios para evitar acúmulo de vapores. Após a retirada do micro-ondas as soluções foram resfriadas em temperatura ambiente e seus volumes foram aferidos em balões volumétricos de $10,00 \text{ mL}$. As soluções foram transferidas para a célula eletroquímica e realizaram-se as análises voltamétricas.

3.4.10 Correção da linha de base

Os voltamogramas obtidos da análise pela técnica DPV apresentaram uma característica comum, um deslocamento da linha de base desses voltamogramas em relação ao “zero” de corrente. Todos os voltamogramas foram submetidos à correção da linha de base utilizando a ferramenta “*baseline correction*” no modo “*moving average*”, existente no software GPES 4.9, sendo que essa correção não causou nenhum prejuízo aos dados eletroquímicos registrados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Estudo dos potenciais de pico de redução dos cátions metálicos

O primeiro estudo realizado foi a avaliação do comportamento eletroquímico dos cátions metálicos Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} por leituras voltamétricas pela técnica DPV. Tais leituras foram realizadas na faixa de potencial de varredura variando de 0,4 a -2,0 V vs. Ag|AgCl ($\text{KCl}_{3,0\text{ M}}$). Utilizou-se esse intervalo de potencial amplo com o objetivo de encontrar os picos catódicos, ou seja, o pico de redução de todos os cátions citados acima.

A Figura 11 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial, que são os registros da corrente em função do potencial aplicado, das leituras voltamétricas das soluções dos cátions metálicos na concentração $0,50\text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte KCl na concentração $0,05\text{ mol L}^{-1}$ utilizando o eletrodo de carbono vítreo (GCE), e também o voltamograma de pulso diferencial tracejado que é o voltamograma da leitura da solução que contém apenas o eletrólito de suporte na concentração $0,05\text{ mol L}^{-1}$ em eletrodo de carbono vítreo.

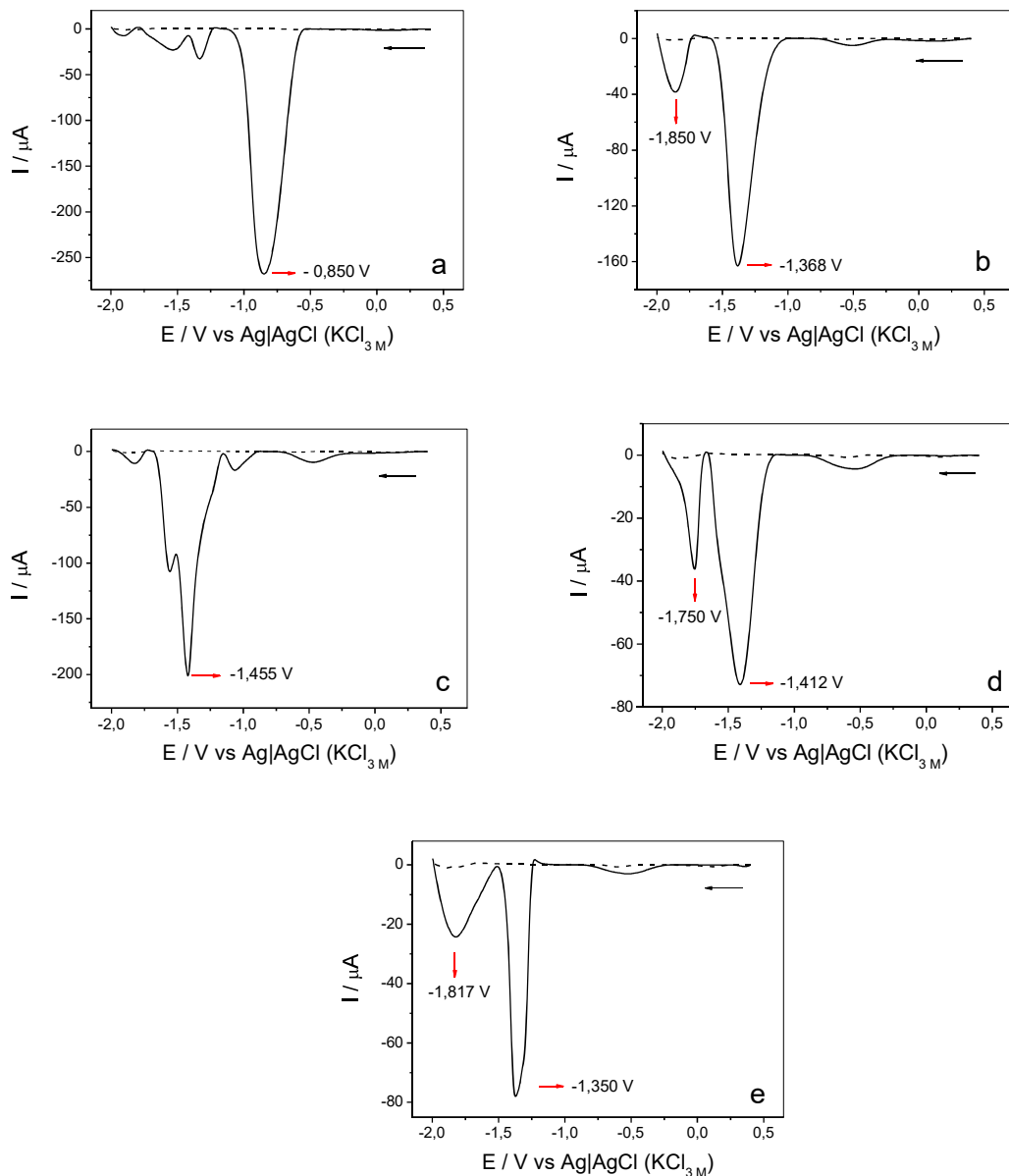


Figura 11. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (a) Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (b) Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (c) Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (d) Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e (e) Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; em solução de KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na (—) presença e (---) ausência de analito. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Verifica-se nos voltamogramas da Figura 11 que para o cátion Cu^{2+} encontrou-se um pico catódico com intensidade de corrente de pico (I_p) satisfatória no potencial $-0,850 \text{ V}$. Para o cátion Ca^{2+} obteve-se um pico com boa resolução e com grande I_p no potencial $-1,368 \text{ V}$ e outro com menor I_p no potencial $-1,850 \text{ V}$. Já para o cátion Zn^{2+} identificou-se um pico catódico no potencial $-1,455 \text{ V}$. Para o cátion Mg^{2+} detectou-se dois picos, um com maior I_p no potencial $-1,412 \text{ V}$ e outro com menor I_p no potencial $-1,750 \text{ V}$. E por fim, para o cátion Fe^{2+} encontrou-se um pico catódico

mais definido e com maior I_p no potencial $-1,350$ V e outro pico no potencial $-1,817$ V. O voltamograma tracejado da solução do eletrólito de suporte não apresentou pico, ausência do analito.

De acordo com os resultados adquiridos constatou-se que todos os cátions metálicos podem ser analisados na faixa de potencial de varredura proposta, porém percebe-se que o pico obtido para o cátion Zn^{2+} , e os picos de maiores intensidades de corrente dos cátions Ca^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} possuem valores de potenciais de pico (E_p) bem próximos, e por esse motivo, as análises voltamétricas precisam ser realizadas de forma monoelementar, isto é, separadamente para cada cátion.

Ademais, observou-se que na faixa de potencial de varredura de $0,0$ a $+0,4$ V nenhum pico foi encontrado, e por isso, essa faixa não é relevante para as análises desse trabalho. Dessa forma padronizou-se a variação da janela de potencial de varredura de $0,0$ a $-2,0$ V vs. $Ag|AgCl$ ($KCl_{3,0M}$) para os próximos estudos.

4.2 Confirmação do potencial de pico catódico dos cátions a partir da adição de padrão

Nas análises voltamétricas do estudo dos potenciais de pico de redução dos cátions metálicos obteve-se dois picos para os cátions Ca^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} , um pico mais intenso (com maior I_p) e outro menos intenso, mas com intensidade de corrente relevante. Para os cátions Cu^{2+} e Zn^{2+} detectou-se também outros picos além do pico de maior I_p , porém, esses possuem baixas intensidades de corrente.

Portanto, com o intuito de certificar os valores dos potenciais de pico catódicos dos cátions e averiguar se ocorreu algum tipo de contaminação ao se preparar as soluções ou até mesmo um erro nas leituras voltamétricas, realizou-se a confirmação do potencial de pico catódico dos cátions adicionando mais solução padrão da Sigma-Aldrich em suas soluções que foram preparadas com eletrólito de suporte. Os voltamogramas adquiridos nas leituras voltamétricas de cada cátion estão representados na Figura 12.

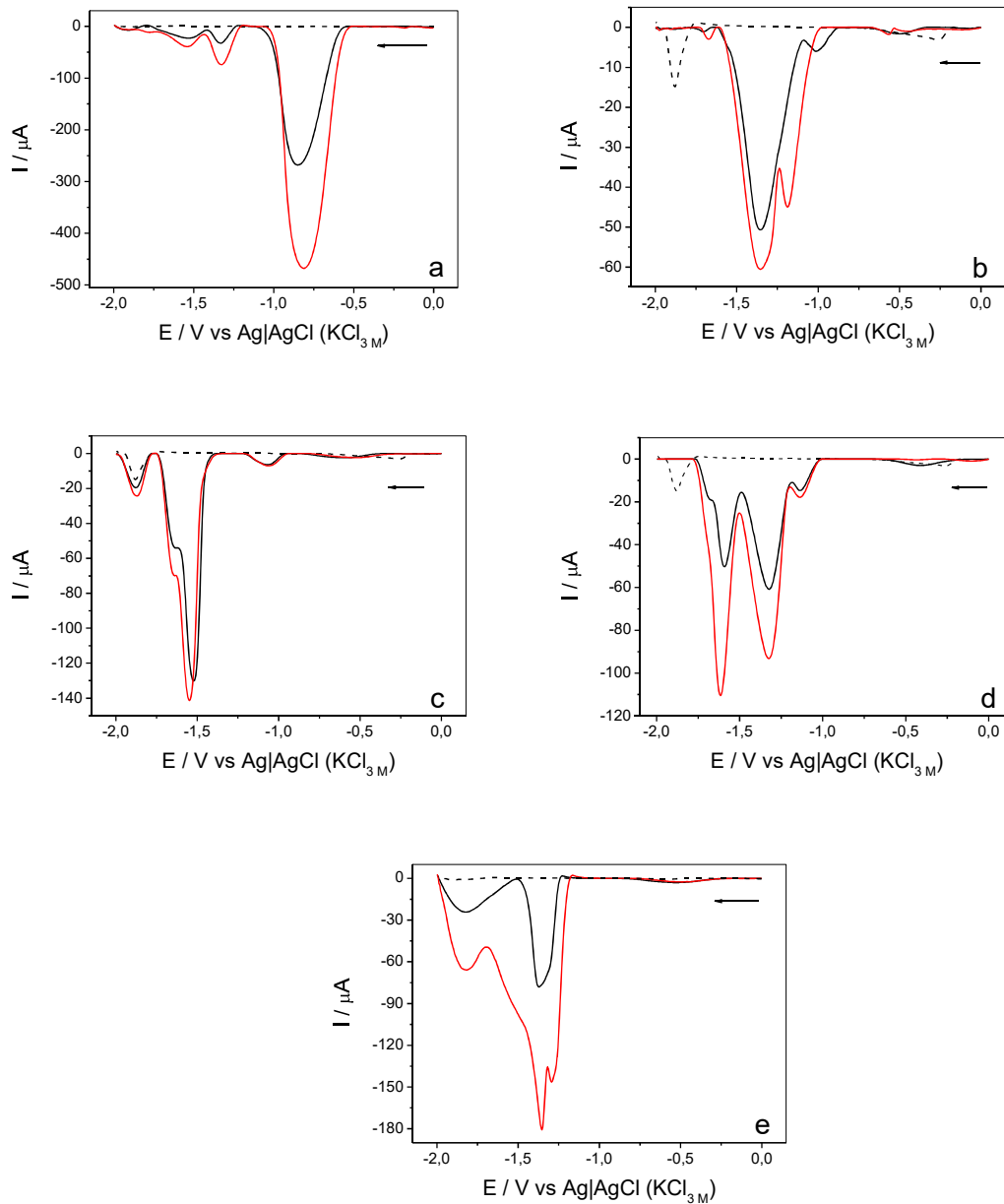


Figura 12. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (a) Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (b) Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (c) Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (d) Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e (e) Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; em solução de KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na (—) presença, (---) ausência e (—) adição de analito. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Observou-se que com adição de uma quantidade diferente de solução padrão de cada cátion a intensidade de corrente de pico aumentou em proporções distintas em cada caso.

É possível observar na Figura 12 (a, c, e) que as intensidades de corrente dos picos presentes nos voltamogramas dos cátions Cu^{2+} , Zn^{2+} e Fe^{2+} respectivamente, aumentaram, indicando que todos esses picos são provenientes das soluções

padrões dos cátions, e alguns deles, os que possuem I_p muito pequena, podem ser de impurezas.

Outrossim, na Figura 12 (d) as intensidades de corrente dos dois picos encontrados para a solução do cátion Mg^{2+} também aumentaram. Contudo, inesperadamente a I_p do pico menos intenso que possui o E_p próximo a $-1,750$ V aumentou mais que a I_p do outro pico, e ele se tornou o pico de maior intensidade de corrente. Esse efeito sugere que o pico catódico do cátion Mg^{2+} seja o que possui potencial de pico (E_p) próximo a $-1,750$ V, e o outro pico possivelmente é de alguma substância que está interferindo nas leituras voltamétricas. Nos próximos estudos essa hipótese será analisada.

Para o cátion Ca^{2+} na Figura 12 (b) o voltamograma obtido da sua solução preparada com o eletrólito de suporte foi diferente do obtido no estudo anterior (estudo dos potenciais de pico de redução dos cátions metálicos). O pico com maior intensidade de corrente foi detectado normalmente, com potencial de pico próximo ao encontrado anteriormente, porém o pico com E_p $-1,850$ V não foi detectado nesse estudo, e outro pico com E_p $-1,020$ V apareceu. Esse resultado talvez ocorreu por variações na análise voltamétrica, pois a voltametria depende da medida de corrente, em função de um potencial controlado (PACHECO, *et al.*, 2013), o que também a torna dependente da rede elétrica do local onde as soluções foram analisadas. Essa rede elétrica pode ser inconstante, variando de um dia para o outro. Dessa forma, pode ser baixa a repetibilidade de leituras feitas com soluções diferentes e em dias diferentes nessa técnica.

4.3 Estudo das soluções dos cátions metálicos com a soja

Realizou-se o estudo das soluções dos cátions metálicos com a soja para avaliar o efeito complexante dos fitatos presentes na soja em grão em relação aos cátions metálicos Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} . Nesse estudo acompanhou-se a mudança (diminuição ou aumento) da intensidade de corrente de pico dos analitos de interesse, para isso utilizou-se a técnica DPV, e as leituras voltamétricas foram realizadas em triplicata, no intervalo de potencial de varredura variando de $0,0$ a $-2,0$ V vs. $Ag|AgCl$ ($KCl_{3,0M}$), onde encontrou-se os picos catódicos dos cátions metálicos descritos.

A Figura 13 apresenta os voltamogramas adquiridos das medidas cujos valores são os mais próximos das médias de potencial de pico e intensidade de corrente de pico de cada cátion, os voltamogramas que possuem linha contínua são das leituras das soluções dos cátions na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com o eletrólito de suporte KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ antes do contato com a soja, e os voltamogramas com linha tracejada são das leituras dessas soluções após permanecerem uma hora em contato com a soja.

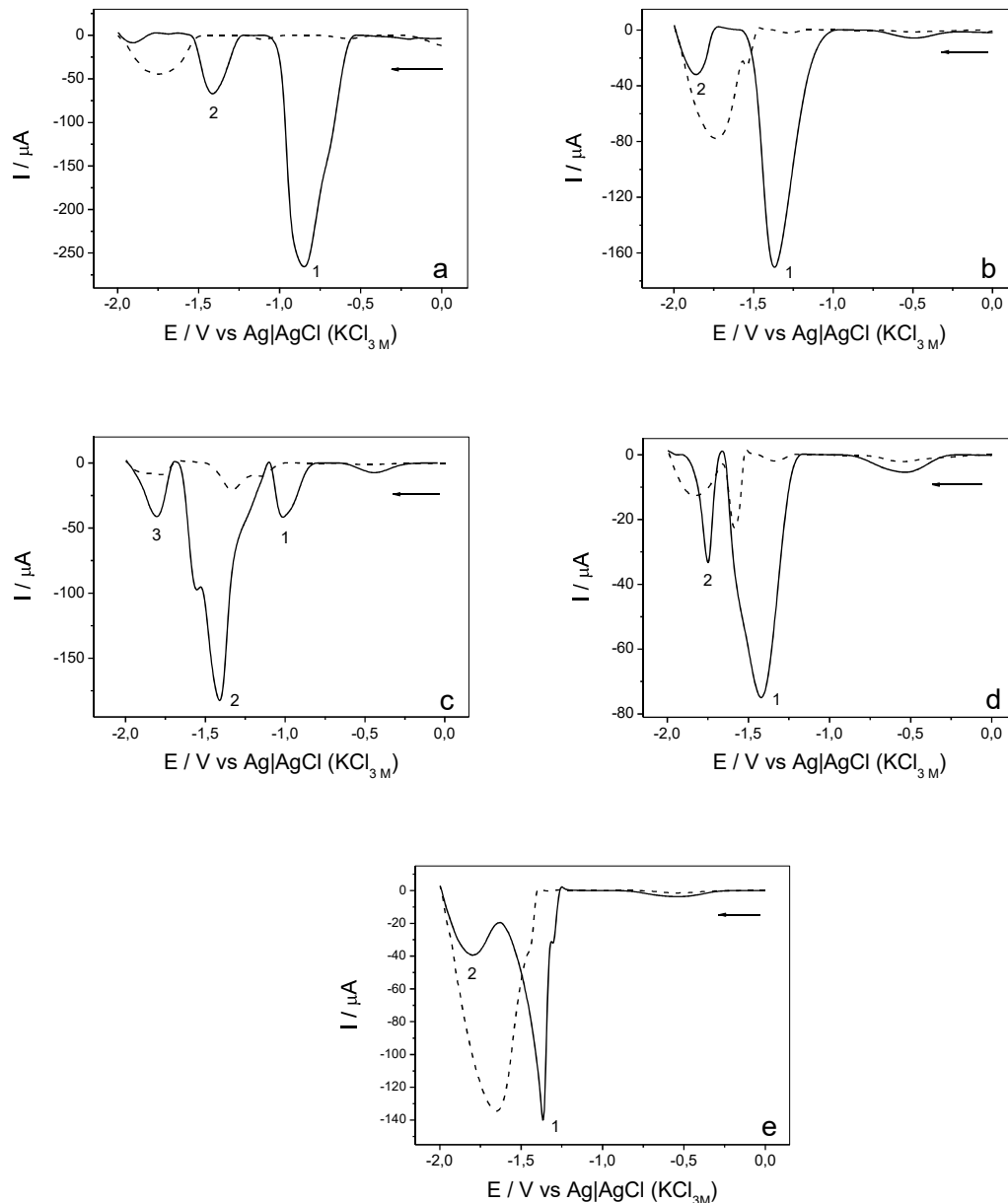


Figura 13. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (a) Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (b) Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (c) Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (d) Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e (e) Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; em solução de KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na (—) ausência e (---) presença de soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

As soluções dos cátions metálicos com o eletrólito de suporte que eram inicialmente incolores ficaram com tonalidade amarela clara e aspecto límpido após uma hora em contato com a soja em grão, sugerindo, portanto, a ocorrência de interação entre a soja e as soluções dos cátions. Na Figura 13 (a, b, c, d) constata-se que ocorreu uma diminuição acentuada nas intensidades de corrente dos picos catódicos dos cátions Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} e Mg^{2+} respectivamente, indicando uma

possível complexação entre os fitatos presentes na soja e os cátions metálicos. Além disso, nos voltamogramas das soluções dos cátions Cu^{2+} e Ca^{2+} depois do contato com a soja observa-se um pico com E_p próximo a $-1,700\text{ V}$ e com valor de intensidade de corrente significativo, o qual pode ser de algum componente eletroativo da soja. Os voltamogramas tracejados dos cátions Zn^{2+} e Mg^{2+} também apresentaram esse pico, mas com intensidade de corrente baixa.

Calculou-se a porcentagem de variação de potencial de pico e da intensidade de corrente do pico catódico dos cátions, relacionando os resultados das análises voltamétricas da solução antes do contato com a soja com os resultados da solução após o contato com a soja em grão por uma hora. Para tal, fez-se uma tabela com os valores de E_p e I_p do pico catódico do cátion obtidos nas três medidas da sua solução com eletrólito de suporte na ausência de soja e nas três medidas da solução na presença de soja. Posteriormente calculou-se as médias desses valores, e comparou-se as médias da solução com ausência e presença de soja, sendo o valor médio de E_p e I_p de antes do contato com a soja 100%, o valor médio de E_p e I_p da solução depois do contato com a soja X% e a variação de E_p e I_p $100\% - X\%$.

Os valores de E_p e I_p da solução do cátion Cu^{2+} na concentração $0,50\text{ mmol L}^{-1}$ com o eletrólito de suporte na concentração $0,05\text{ mol L}^{-1}$ estão indicados na Tabela 3, assim como as médias calculadas e os seus desvios padrão. Esses valores são para o pico catódico do cátion Cu^{2+} designado como 1 na Figura 13 (a). A Tabela 4 mostra que houve um deslocamento de potencial de pico de 24,05% após o contato da solução com a soja, e também evidencia o resultado da variação das intensidades de corrente, o qual foi de 89,25%, um valor bem expressivo sugerindo que o fitato associou-se ao cátion Cu^{2+} e que a metodologia aplicada é eficiente na avaliação desse efeito complexante.

Tabela 3. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Cu^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.

Medidas	Ausência de soja		Medidas	Presença de soja	
	E_p (V)	I_p (μA)		E_p (V)	I_p (μA)
1	-0,8550	-253,9	1	-1,050	-28,27
2	-0,8260	-270,5	2	-1,045	-27,86
3	-0,8500	-265,8	3	-1,045	-28,80
Média:	-0,8440	-263,4	Média:	-1,047	-28,31
Desvio padrão:	0,0155	8,6	Desvio padrão:	0,003	0,47

Tabela 4. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} antes e após o contato com a soja.

	Ausência de soja	Presença de soja	Variação (%)
Potencial médio (V)	-0,8440	-1,047	24,05
Corrente média (μA)	-263,4	-28,31	89,25

Na Tabela 5 estão apresentados os valores de E_p e I_p do pico do cátion Ca^{2+} que está indicado como 1 na Figura 13 (b), bem como as médias calculadas e os desvios padrão. A Tabela 6 mostra o resultado da variação de E_p e I_p da solução do cátion Ca^{2+} com eletrólito de suporte antes e depois do contato com a soja. O E_p variou 5,50%, variação inferior à variação para o cátion Cu^{2+} , já a I_p variou 96,13%, superior ao do cátion Cu^{2+} , indicando que o fitato complexou com uma quantidade maior de cátions Ca^{2+} .

Tabela 5. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Ca^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.

Medidas	Ausência de soja		Medidas	Presença de soja	
	E_p (V)	I_p (μA)		E_p (V)	I_p (μA)
1	-1,368	-171,5	1	-1,290	-5,561
2	-1,382	-164,4	2	-1,290	-7,358
3	-1,338	-168,3	3	-1,285	-6,607
Média:	-1,363	-168,1	Média:	-1,288	-6,509
Desvio padrão:	0,022	3,6	Desvio padrão:	0,003	0,902

Tabela 6. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Ca^{2+} antes e após o contato com a soja.

	Ausência de soja	Presença de soja	Variação (%)
Potencial médio (V)	-1,363	-1,288	5,50
Corrente média (μA)	-168,1	-6,509	96,13

Os valores de E_p e de I_p das leituras voltamétricas feitas da solução do cátion Zn^{2+} com eletrólito de suporte KCl estão representados na Tabela 7, bem como as médias calculadas e o desvio padrão respectivo. Tais valores são para o pico marcado como 2 na Figura 13 (c). Na Tabela 8 encontra-se as variações dos potenciais de pico e das intensidades de correntes. A variação do potencial de pico (5,92%) também foi relativamente pequena assim como para o cátion Ca^{2+} . E o valor calculado da variação das intensidades de correntes, foi de 91,32%. Esse resultado relevante mostrou que o fitato possui alto potencial de complexação com o cátion Zn^{2+} .

Tabela 7. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Zn^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.

Medidas	Ausência de soja		Medidas	Presença de soja	
	E_p (V)	I_p (μA)		E_p (V)	I_p (μA)
1	-1,426	-175,9	1	-1,338	-15,26
2	-1,412	-183,2	2	-1,338	-15,90
3	-1,421	-200,8	3	-1,333	-17,42
Média:	-1,420	-186,6	Média:	-1,336	-16,19
Desvio padrão:	0,007	12,8	Desvio padrão:	0,003	1,11

Tabela 8. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Zn^{2+} antes e após o contato com a soja.

	Ausência de soja	Presença de soja	Variação (%)
Potencial médio (V)	-1,420	-1,336	5,92
Corrente média (μA)	-186,6	-16,19	91,32

Para o cátion Mg^{2+} como ainda não se tem certeza de qual é o seu pico catódico calculou-se a variação de E_p e I_p para os dois picos presentes em seus voltamogramas (picos 1 e 2 determinados na Figura 13 (d)). Na Tabela 9 encontra-se os valores de

E_p e I_p dos dois picos de cada medida, as médias calculadas e seus respectivos desvios padrão. As variações dos potenciais de pico e intensidades de corrente de pico estão indicadas na Tabela 10. Nota-se que os deslocamentos dos potenciais dos dois picos foram relativamente pequenos, 4,75% para o pico 1 e 8,71% para o pico 2. A variação de intensidade de corrente para o pico 1 resultou em 96,87%, já para o pico 2 a variação foi de 36,13%, um valor menor se comparado aos outros valores de variação de intensidade de corrente de pico encontrados nesse estudo, sugerindo então, que o potencial de complexação dos fitatos presentes na soja com o cátion Mg^{2+} foi baixo se o seu pico catódico for o pico 2, pois a maioria dos cátions permaneceu na sua forma livre.

Tabela 9. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Mg^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.

	Medidas	Ausência de soja		Presença de soja		
		E_p (V)	I_p (μA)	Medidas	E_p (V)	I_p (μA)
Pico 1	1	-1,412	-73,44	1	-1,333	-2,085
	2	-1,421	-75,61	2	-1,353	-2,463
	3	-1,397	-79,39	3	-1,343	-2,593
	Média:	-1,410	-76,15	Média:	-1,343	-2,380
	Desvio padrão:	0,012	3,01	Desvio padrão:	0,003	0,264
Pico 2	1	-1,753	-36,70	1	-1,582	-22,07
	2	-1,749	-34,25	2	-1,597	-26,05
	3	-1,729	-34,60	3	-1,597	-19,31
	Média:	-1,744	-35,18	Média:	-1,592	-22,47
	Desvio padrão:	0,013	1,33	Desvio padrão:	0,009	3,39

Tabela 10. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Mg^{2+} antes e após o contato com a soja.

		Ausência de soja	Presença de soja	Variação (%)
Pico 1	Potencial médio (V)	-1,410	-1,343	4,75
	Corrente média (μA)	-76,15	-2,380	96,87
Pico 2	Potencial médio (V)	-1,744	-1,592	8,71
	Corrente média (μA)	-35,18	-22,47	36,13

Na Figura 13 (e) do cátion Fe^{2+} , no voltamograma da solução após o contato com a soja obteve-se o pico com E_p ao redor de -1,700 V bem intenso, e com seu valor de I_p próximo ao valor de I_p do pico do cátion livre, ou seja, do pico detectado na leitura da solução do cátion com eletrólito de suporte antes do contato com a soja. Esse resultado sugere que talvez o fitato presente na soja se associou com poucos cátions Fe^{2+} , e que ocorreu outra reação que apenas pode ter feito o potencial do pico indicado como 1 na Figura 13 (e) deslocar, ou até mesmo fez o pico de menor intensidade de corrente (pico 2 obtido no voltamograma da solução do cátion com KCl na ausência de soja) se tornar o de maior intensidade de corrente.

Como não se sabe ainda qual reação ocorreu entre o cátion Fe^{2+} e os componentes da soja, comparou-se o pico de maior intensidade de I_p (pico 1) encontrado no voltamograma da solução na ausência de soja com o pico encontrado no voltamograma da solução na presença de soja.

A Tabela 11 mostra os valores de E_p e I_p para o pico do cátion Fe^{2+} (indicado como 1 na Figura 13 (e)) obtidos nas leituras realizadas na solução do cátion com eletrólito de suporte antes do contato com a soja, mostra também os valores para o pico encontrado nas leituras da solução após o contato com a soja, as médias das medidas e seus desvios padrão. Na Tabela 12 estão os resultados das variações do E_p e I_p , que foram calculados com os valores do pico catódico do cátion e do pico que é detectado na solução na presença de soja. Verifica-se que houve um deslocamento de potencial de pico de 15,16%, e que a variação da intensidade de corrente de pico é significativamente pequena, sendo 4,28%. Desse modo, percebe-se que provavelmente não ocorreu a complexação entre os fitatos e o cátion Fe^{2+} .

Tabela 11. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Fe^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após o contato com a soja.

Medidas	Ausência de soja		Medidas	Presença de soja	
	E_p (V)	I_p (μA)		E_p (V)	I_p (μA)
1	-1,368	-135,7	1	-1,651	-143,3
2	-1,382	-136,9	2	-1,646	-122,1
3	-1,543	-141,1	3	-1,646	-130,6
Média:	-1,431	-137,9	Média:	-1,648	-132,0
Desvio padrão:	0,097	2,8	Desvio padrão:	0,003	10,7

Tabela 12. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Fe^{2+} antes e após o contato com a soja.

	Ausência de soja	Presença de soja	Variação (%)
Potencial médio (V)	-1,431	-1,648	15,16
Corrente média (μA)	-137,9	-132,0	4,28

Para entender melhor os resultados obtidos anteriormente nesse estudo, e compreender o comportamento dos componentes da soja, realizou-se análises voltamétricas da solução do eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ antes e depois do contato por uma hora com a soja em grão. Na Figura 14 encontra-se os voltamogramas da solução antes e após o contato com a soja.

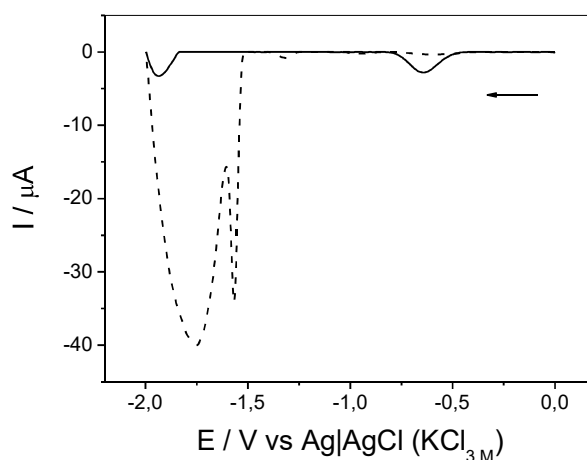


Figura 14. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na (—) ausência e (---) presença de soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

A solução do eletrólito de suporte inicialmente era incolor e após o contato por uma hora com a soja também adquiriu uma tonalidade amarela clara, assim como as soluções dos cátions metálicos, portanto houve uma interação entre a soja e a solução de KCl. Pode-se notar na Figura 14 que no voltamograma obtido da solução do eletrólito de suporte após o contato com a soja identificou-se um pico com o E_p próximo a -1,700 V, comprovando que esse pico provém de algum componente eletroativo que foi extraído da soja ou de alguma reação entre o eletrólito de suporte (KCl) e os compostos químicos da soja.

Porém, o pico encontrado na Figura 14 possui um valor de intensidade de corrente em torno de -40 μA , muito diferente do valor da intensidade de corrente do pico detectado no voltamograma da solução do cátion Fe^{2+} após contato com a soja que é próximo a -140 μA . Tal fato demonstra que o pico localizado no voltamograma da solução do cátion Fe^{2+} após contato com a soja também tem influência do cátion, e não é somente de um componente da soja ou o resultado de uma reação da soja com o KCl.

A Figura 15 apresenta a comparação entre o voltamograma da solução do cátion Fe^{2+} antes e após o contato com a soja e o voltamograma da solução do eletrólito de suporte depois do contato com a soja. Fica evidente a diferença entre as intensidades de corrente de pico e o potencial de pico das leituras das duas soluções após o contato com a soja.

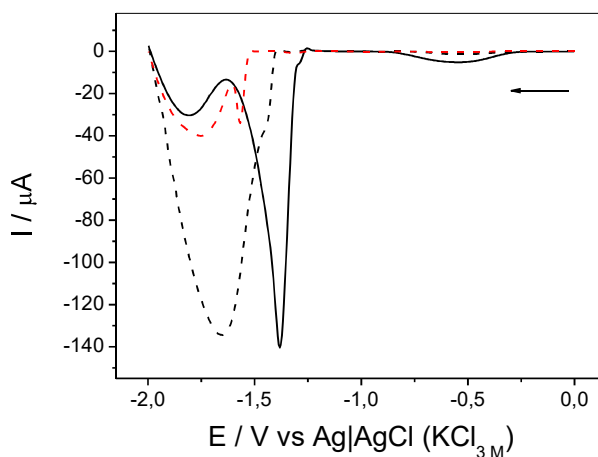


Figura 15. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de Fe^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} na (—) ausência e (---) presença de soja, e de KCl 0,05 mol L^{-1} na (-.-) presença de soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

4.3.1 Estudo do tempo de complexação dos cátions metálicos com os compostos presentes na soja

As soluções dos cátions metálicos com o eletrólito de suporte permanecem por uma hora em contato com a soja em grão para que aconteça a complexação dos compostos presentes na soja (fitatos) com os cátions. Contudo, esse tempo é muito longo e torna o experimento demorado. Então, realizou-se esse estudo com o objetivo de otimizar o tempo de complexação, ou seja, encontrar um tempo menor onde a complexação ocorra da mesma forma que no tempo de uma hora. Para isso, variou-se o tempo de complexação em intervalos fixos de 15 minutos até o limite de 60 minutos e fez-se a análise voltamétrica da solução após cada instante de tempo.

O estudo do tempo de complexação foi realizado apenas com a solução do cátion Cu^{2+} , porque esse, nos estudos anteriores, se mostrou mais estável em relação aos valores de potencial de pico e intensidade de corrente se comparado com os outros cátions analisados, sendo que de um experimento para o outro os valores variaram.

Na Figura 16 estão os voltamogramas adquiridos nas leituras em cada instante de tempo de contato com a soja, e o voltamograma da solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte nas concentrações $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente antes do contato com a soja. Todas as leituras voltamétricas foram feitas em triplicata, e os voltamogramas apresentados são das leituras que possuem seus valores de E_p e I_p mais próximos das médias.

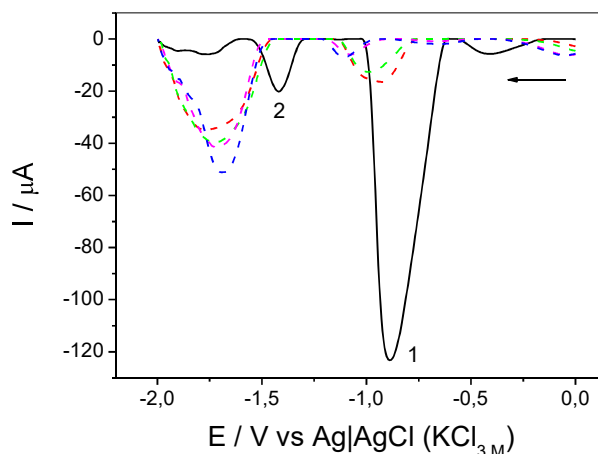


Figura 16. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na (—) ausência de soja e em (---) 15 minutos; (---) 30 minutos; (---) 45 minutos e (---) 60 minutos de contato com a soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Monitorando o pico do cátion Cu^{2+} que é o pico de maior intensidade de corrente (pico 1 da Figura 16) com E_p próximo a $-0,890 \text{ V}$, observa-se na Figura 16 que sua intensidade de corrente de pico diminuiu em todos os instantes de tempo de contato da solução do cátion com a soja, indicando que a complexação ocorre rapidamente, pois no tempo de 15 minutos sua intensidade de corrente já havia diminuído consideravelmente. No entanto, quanto maior o tempo de contato da solução com a soja, mais baixos foram os valores de I_p adquiridos. Dessa maneira, identificou-se no tempo de 60 minutos o menor valor de intensidade de corrente, então, presume-se que uma quantidade superior de cátions complexou com os fitatos presentes na soja nesse instante de tempo.

Na Tabela 13 estão os valores de potenciais de pico (E_p) e intensidades de corrente de pico (I_p) obtidos em cada leitura para o pico catódico do cátion Cu^{2+} (pico 1 da Figura 16) antes e depois do contato com a soja, bem como suas médias e desvios padrão

Tabela 13. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) para a solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte nas concentrações $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV antes e após cada instante de tempo do contato com a soja.

Tempo (min.)		Medida 1	Medida 2	Medida 3	Média	Desvio padrão
0	E_p (V)	-0,8940	-0,8890	-0,8790	-0,8870	0,0076
	I_p (μA)	-118,3	-123,4	-127,4	-123,0	4,6
15	E_p (V)	-0,9380	-0,9230	-0,9180	-0,9260	0,0104
	I_p (μA)	-15,04	-16,65	-14,59	-15,43	1,00
30	E_p (V)	-0,9920	-0,9920	-0,9920	-0,9920	----
	I_p (μA)	-12,85	-12,65	-12,84	-12,78	0,11
45	E_p (V)	-1,119	-1,104	-1,104	-1,109	0,009
	I_p (μA)	-6,910	-6,963	-7,582	-7,152	0,374
60	E_p (V)	-1,084	-1,075	-1,075	-1,078	0,005
	I_p (μA)	-4,932	-5,564	-5,944	-5,480	0,511

O menor valor de I_p médio encontrado foi no tempo de 60 minutos, $-5,480 \mu\text{A}$, portanto optou-se por continuar com o tempo de uma hora (60 minutos) já utilizado anteriormente, e assim garantir o máximo possível de complexação entre os cátions metálicos e os fitatos.

A Figura 17 apresenta um gráfico da média das intensidades de corrente de pico versus tempo de complexação, ou seja, tempo de contato da solução com a soja, para o pico designado como 1 na Figura 16, o qual possui potencial de pico ao redor de $-0,890 \text{ V}$. Verifica-se melhor nesse gráfico a alteração das intensidades de corrente ocorrida durante os instantes de tempo de contato da solução com a soja. A intensidade de corrente de pico cresce no sentido negativo pois as leituras voltamétricas nesse trabalho são realizadas no sentido da redução e o pico do analito se forma para baixo.

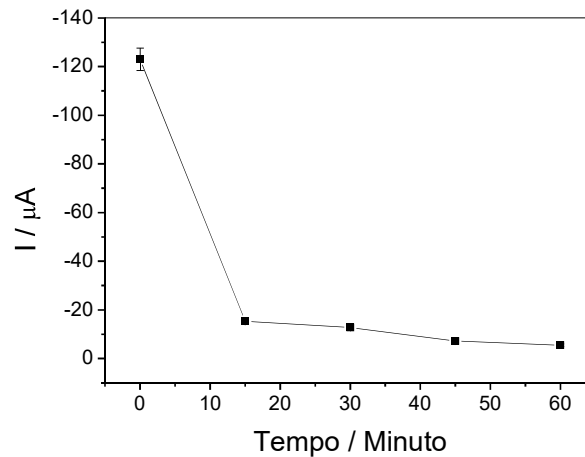


Figura 17. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de contato com a soja para a complexação do Cu^{2+} . Condições: solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ para o pico com E_p em torno de $-0,890 \text{ V}$.

4.4 Estudo da descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja

Uma estratégia para prevenir a deficiência de metais em seres humanos é aumentar a sua liberação e absorção. E, para isso, várias técnicas são empregadas com o intuito de aumentar a bioacessibilidade dos cátions metálicos (RAES, *et al.*, 2014). Assim, diferentes formas de tratamentos foram avaliadas nesse estudo, a fim de descomplexar os complexos formados entre os cátions metálicos e os compostos presentes na soja (fitatos), deixando os cátions livres novamente em solução. Para confirmar a descomplexação o valor adquirido da I_p do pico catódico do cátion após o tratamento precisa ser maior que o obtido para a solução do cátion com KCl que permaneceu por uma hora em contato com a soja em grão.

Realizou-se todas as análises voltamétricas pela técnica DPV, e essas foram feitas em triplicata. Os voltamogramas representados nas figuras são das leituras que obtiveram os valores de potencial de pico e intensidade de corrente de pico mais próximos da média das três medidas realizadas.

4.4.1 Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por aquecimento

Nesse estudo, primeiramente, houve uma tentativa de utilizar o aquecimento a uma temperatura de 80°C com o propósito de descomplexar os complexos formados entre os fitatos presentes na soja e o cátion Cu^{2+} . Durante o experimento foram retiradas alíquotas, nos tempos de 10 e 30 minutos de aquecimento, para serem analisadas voltametricamente, e ao serem retiradas houve um decréscimo acentuado da temperatura, dificultando que essa se mantivesse constante em 80°C. Além disso, como a solução estava sendo aquecida constantemente ocorreu a sua evaporação, o que a torna mais concentrada e interfere nas respostas das análises voltamétricas. Por consequência, não se empregou esse procedimento para as soluções de todos os cátions metálicos.

Os voltamogramas adquiridos nas leituras voltamétricas para a solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte antes e depois do contato com a soja na temperatura ambiente estão apresentados na Figura 18, assim como os voltamogramas da solução após o contato com a soja com 10 e 30 minutos de aquecimento à 80°C.

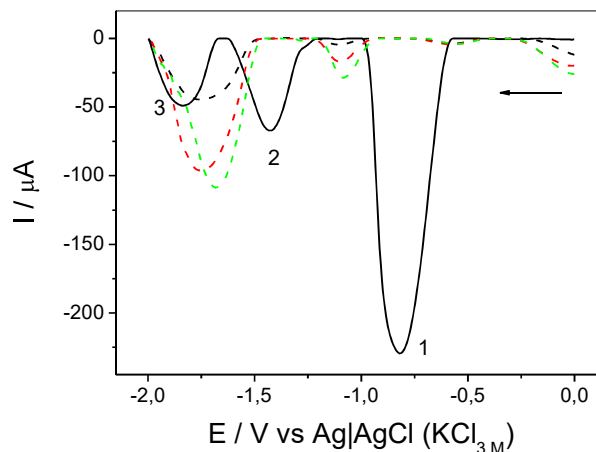


Figura 18. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} na (—) ausência e (---) presença de soja em temperatura ambiente, e na presença de soja com (---) 10 minutos e (---) 30 minutos de aquecimento à 80°C. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Quando os cátions metálicos complexam com os compostos presentes na soja (fitatos) a intensidade de corrente do seu pico catódico diminui, em vista disso, para confirmar a descomplexação desses complexos através dos voltamogramas é necessário que depois de aplicar o aquecimento a intensidade de corrente de pico aumente novamente.

Nota-se na Figura 18 que isso aconteceu com o pico do cátion Cu^{2+} (identificado como 1), sua intensidade de corrente diminuiu depois que sua solução com eletrólito de suporte teve contato por uma hora com a soja. O pico intenso que tinha anteriormente quase sumiu, já após o aquecimento à temperatura de 80°C a intensidade de corrente ampliou e o pico voltou a aparecer, mas com o potencial de pico um pouco deslocado. No entanto, esse aumento da intensidade de corrente de pico pode ter ocorrido por causa da evaporação da água da solução durante o aquecimento, o que consequentemente aumentou a concentração do cátion Cu^{2+} . Dessa maneira não é possível afirmar que houve descomplexação dos complexos formados entre o cátion e os fitatos.

Assim sendo, modificou-se o procedimento com o objetivo de manter a concentração inicial da solução, e a temperatura constante durante o experimento. Para isso, dividiu-se a solução do cátion com eletrólito de suporte que esteve por uma hora em contato com a soja em béqueres, em cada béquer colocou-se um volume específico (50,00 mL) completando-o depois que o béquer foi retirado do aquecimento e sua solução atingiu a temperatura ambiente. A solução permaneceu em ebulição no decorrer de todo o tempo.

A Figura 19 (a) apresenta os voltamogramas da solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte resultantes dessa metodologia. O voltamograma contínuo em preto é da solução antes do contato com a soja, o tracejado em preto é da solução depois do contato com a soja em grão por uma hora na temperatura ambiente sem nenhum procedimento, já os voltamogramas tracejados coloridos são da solução que esteve em contato com a soja após a ebulição por diferentes tempos. A Figura 19 (b) mostra os mesmos voltamogramas da Figura 19 (a) da solução depois do contato com a soja antes e após a ebulição, porém em escala ampliada no eixo y, sendo assim possível identificar todos os voltamogramas, e visualizar a diferença das intensidades de corrente de pico entre eles.

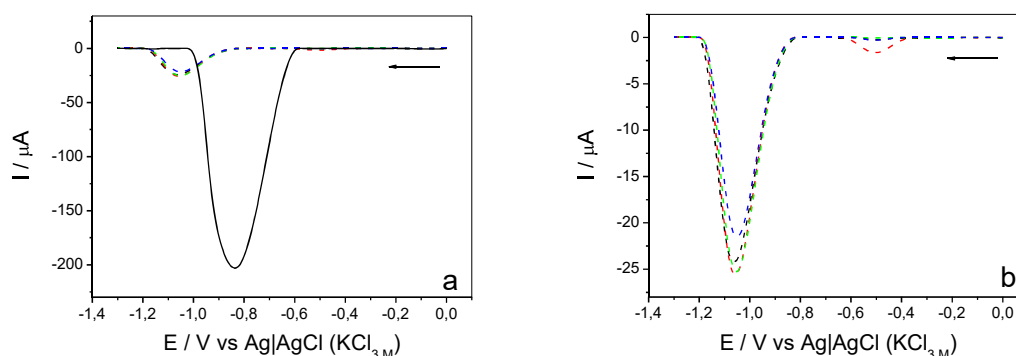


Figura 19. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de aquecimento em ebulição. (b) (---) presença de soja sem aquecimento, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de aquecimento em ebulição. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

As análises voltamétricas com a nova metodologia para a solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte foram realizadas variando a faixa de potencial de varredura apenas de $0,0$ a $-1,3 \text{ V vs. Ag|AgCl (KCl}_{3,0\text{M}})$, na qual se encontra o pico monitorado (pico catódico do cátion Cu^{2+}). Realizou-se dessa maneira com a intenção de melhorar a visualização da descomplexação ou não descomplexação dos complexos formados entre o cátion Cu^{2+} e os fitatos.

Na Figura 19 (a) constata-se que o pico catódico do cátion Cu^{2+} diminuiu sua intensidade de corrente após o contato com a soja, mas não é possível identificar se há diferença entre as intensidades de corrente de pico após a solução ter permanecido por tempos diferentes em ebulição. Essa diferença de I_p pode ser verificada na Figura 19 (b) onde a escala foi estendida. Nota-se que após 10 minutos de ebulição a I_p aumentou um pouco em relação à I_p da solução após o contato com a soja que não foi aquecida, mas com 50 minutos de ebulição a I_p diminuiu, e com 90 minutos de ebulição a I_p diminuiu ainda mais, tornando-se menor do que a I_p da solução antes da ebulição. Desse modo, não houve um crescimento contínuo da intensidade de corrente de pico com o aumento do tempo de ebulição como esperado, portanto o tratamento por aquecimento até ebulição não foi eficaz para o propósito da descomplexação entre o cátion Cu^{2+} e os fitatos presentes na soja.

A Figura 20 representa o gráfico da média das intensidades de corrente de pico com seus respectivos desvios padrão em função do tempo de ebulição da solução de Cu^{2+} com KCl que esteve em contato com a soja por uma hora. No gráfico é possível

observar melhor as variações das intensidades de corrente de pico dos diferentes instantes de tempo de ebulição da solução.

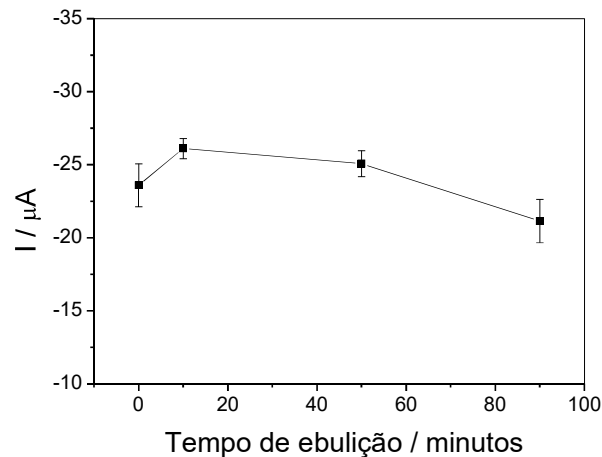


Figura 20. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de aquecimento em ebulição da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ que esteve em contato por uma hora com a soja em grão.

Na pesquisa bibliográfica encontrou-se a informação que os fitatos, em pH neutro, formam complexo com metais preferencialmente na seguinte ordem decrescente: $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Ca}^{2+}$ (SILVA & SILVA, 1999). Partindo do pressuposto que a solução dos cátions preparada com eletrólito de suporte seja neutra. Apesar da solução padrão (Sigma-Aldrich) ser ácida ela é muito diluída em água deionizada tipo I (utilizando sistema Milli-Q da Millipore) na preparação da solução do cátion com eletrólito de suporte, e o eletrólito de suporte KCl é uma solução neutra. Realizou-se o tratamento por ebulição também para a solução do cátion Ca^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, haja visto que o cátion Ca^{2+} é o último na preferência para a formação dos complexos com os fitatos, e com isso, esses possivelmente podem ser descomplexados mais facilmente.

Os voltamogramas adquiridos nas leituras voltamétricas para a solução do cátion Ca^{2+} com KCl estão indicados na Figura 21 na qual em (a) a solução antes do contato com a soja está representada pelo voltamograma preto contínuo, o voltamograma tracejado em preto é da solução depois do contato por uma hora com a soja e antes do aquecimento até ebulição, e os voltamogramas tracejados coloridos são da solução que esteve em contato com a soja após diferentes tempos de

aquecimento. A Figura 21 (b) representa os mesmos voltamogramas da solução após o contato com a soja antes e depois da ebulição, porém com uma escala diferente, para melhorar a visualização dos valores de intensidade de corrente de cada voltamograma.

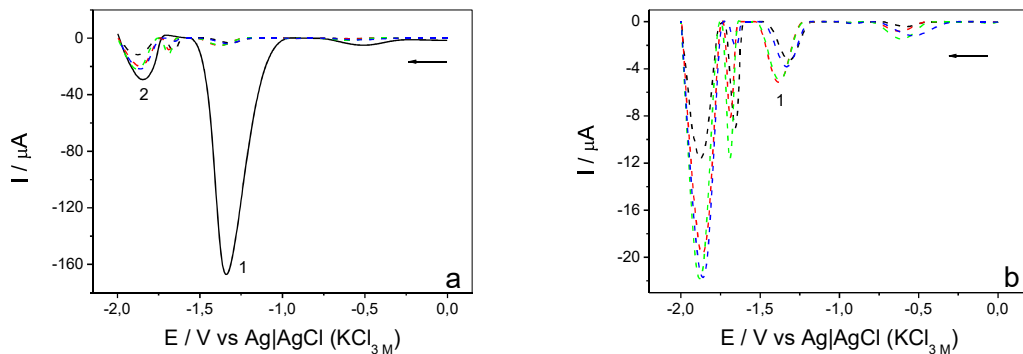


Figura 21. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de aquecimento em ebulição. (b) (---) presença de soja sem aquecimento, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de aquecimento em ebulição. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Verifica-se na Figura 21 que o pico catódico do cátion Ca^{2+} (identificado como 1) teve o comportamento parecido com o do pico catódico do cátion Cu^{2+} na Figura 19. Depois do contato da solução de Ca^{2+} com KCl com a soja a intensidade de corrente de pico diminuiu bastante, após 10 minutos de ebulição a I_p aumentou um pouco, e em 50 e 90 minutos de ebulição diminuiu. Mas diferentemente do pico do cátion Cu^{2+} , a I_p do cátion Ca^{2+} após sua solução permanecer 90 minutos em ebulição não chegou a ficar menor do que a I_p da solução sem aquecer até ebulição.

Nota-se melhor as diferenças entre as intensidades de corrente de pico na Figura 22, a qual representa um gráfico das médias das intensidades de corrente de pico (para o pico 1 da Figura 21) com seus desvios padrão versus o tempo de aquecimento em ebulição para a solução do cátion Ca^{2+} com eletrólito de suporte.

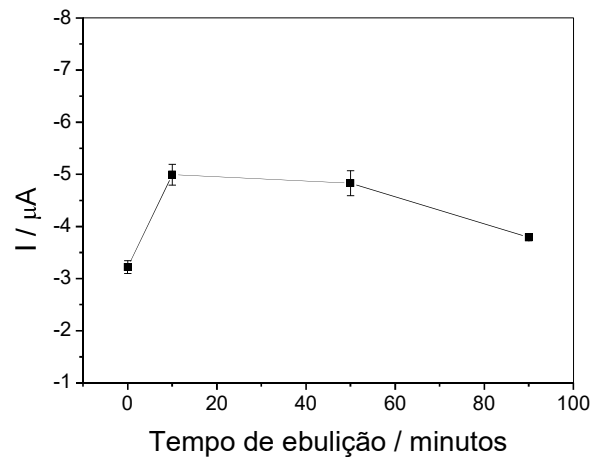


Figura 22. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de aquecimento em ebulição da solução de Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ que esteve em contato por uma hora com a soja em grão.

A diferença entre as intensidades de corrente de pico em cada instante de tempo de ebulição é relativamente pequena, e não houve aumento do valor de I_p com o aumento do tempo em que a solução permaneceu em ebulição, logo o tratamento de aquecimento em ebulição, assim como para o cátion Cu^{2+} , não foi eficiente para a descomplexação do complexo formado entre os fitatos presente na soja e o cátion Ca^{2+} .

4.4.2 Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por ultrassom

Outro tratamento utilizado com o intuito de desassociar os cátions metálicos dos fitatos presentes na soja foi aplicar o ultrassom. Realizou-se esse tratamento para todas as soluções dos cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} , nas quais suas soluções preparadas com o eletrólito de suporte após o contato com a soja por uma hora foram separadas em béqueres e levadas ao banho ultrassônico por tempos diferentes, os quais foram 10, 50 e 90 minutos.

A Figura 23 (a) apresenta o voltamograma em preto com linha contínua que é da solução do cátion Cu^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ antes do contato com a soja, o voltamograma em preto com linha tracejada é da solução depois de permanecer por uma hora em contato com a soja em grão e sem ultrassom, já os voltamogramas tracejados coloridos são da

solução que teve contato com a soja após diferentes instantes de tempo expostos ao ultrassom. A escala do eixo y foi ampliada, para verificar melhor os valores das intensidades de corrente de pico em cada instante de exposição ao ultrassom (Figura 23 b). Os voltamogramas de todos os outros cátions foram representados da mesma forma.

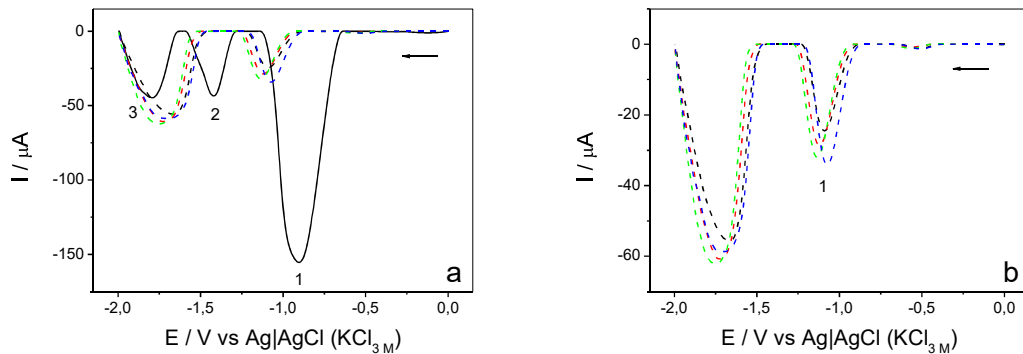


Figura 23. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

A Figura 24 mostra os voltamogramas adquiridos para a solução do cátion Ca^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

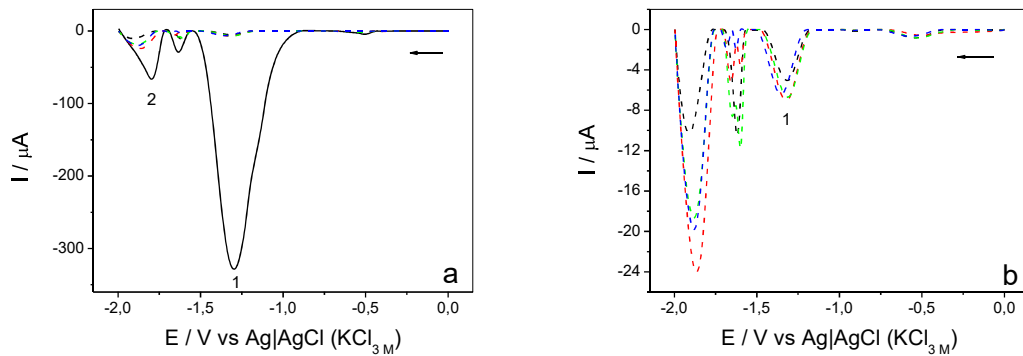


Figura 24. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Para a solução do cátion Zn^{2+} com eletrólito de suporte nas concentrações $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente os voltamogramas estão demonstrados na Figura 25.

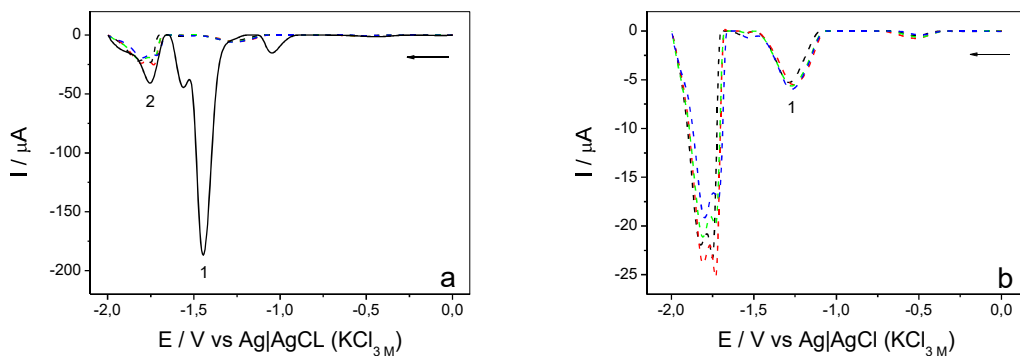


Figura 25. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Na Figura 26 estão indicados os voltamogramas da solução do cátion Mg^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

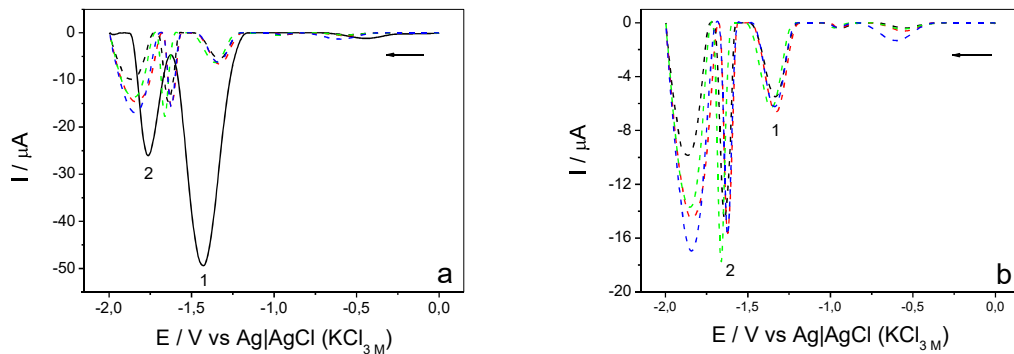


Figura 26. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

E a Figura 27 exhibe os voltamogramas da solução do cátion Fe^{2+} com eletrólito de suporte nas concentrações $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente.

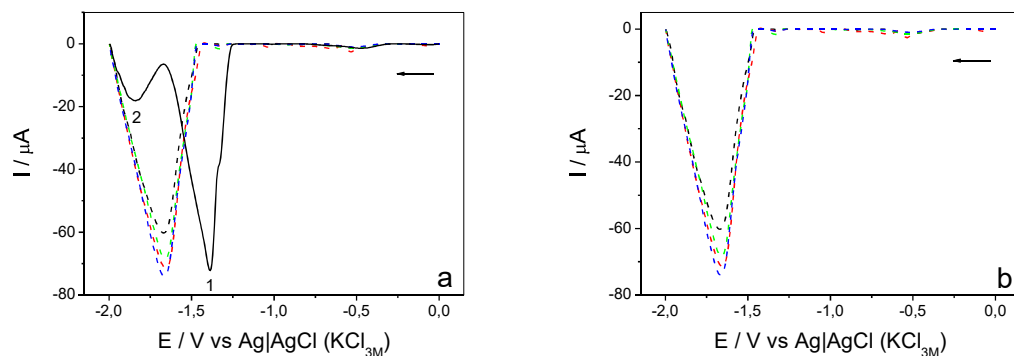


Figura 27. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. (b) (---) presença de soja sem ultrassom, e na presença de soja com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Verifica-se na Figura 23 que a intensidade de corrente do pico do cátion Cu^{2+} , identificado como 1, aumentou em pequenas proporções em cada instante de tempo em que a solução do cátion com o KCl permaneceu no banho ultrassônico. Logo, quanto maior o tempo de banho ultrassônico maior foi a intensidade de corrente de pico obtida, mas o valor da I_p ainda ficou consideravelmente menor do que o valor da I_p do pico do cátion livre encontrado no voltamograma preto de linha contínua da

Figura 23 (a), o qual representa a leitura voltamétrica da solução do cátion com eletrólito de suporte antes do contato com a soja. Dessa maneira, pode-se concluir que possivelmente houve a descomplexação de alguns cátions, porém a maioria dos cátions permaneceu complexada com os fitatos.

Para os cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} e Mg^{2+} não ocorreu uma relação direta entre o aumento do tempo no banho ultrassônico e o aumento da intensidade de corrente. Na Figura 24 nota-se que o valor de I_p do pico do cátion Ca^{2+} (pico assinalado como 1) ampliou com 10 minutos de banho ultrassônico, diminuiu com 50 minutos e diminuiu mais com 90 minutos. A I_p do pico do cátion Zn^{2+} , pico 1 da Figura 25, praticamente não variou. E na Figura 26, verifica-se que a I_p do pico 1 do cátion Mg^{2+} variou da mesma forma que para o cátion Ca^{2+} , aumentou com 10 minutos no banho ultrassônico e diminuiu com 50 e 90 minutos, e a I_p do pico 2 aumentou com 10 e 50 minutos de banho ultrassônico, e depois diminuiu com 90 minutos. Para o cátion Mg^{2+} os dois picos foram novamente avaliados, pois ainda não se tem certeza de qual é o pico catódico do cátion. Todas essas oscilações de I_p foram consideravelmente pequenas, sugerindo que o método de banho ultrassônico não foi eficiente para esses cátions, pois não sucedeu a descomplexação dos complexos formados entre os cátions e os fitatos presentes na soja.

A intensidade de corrente do pico encontrado no voltamograma da solução do cátion Fe^{2+} com KCl após o contato com a soja exibido na Figura 27 alterou com o ultrassom, mas, como para os cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} e Mg^{2+} não foi de uma forma contínua. A I_p cresceu com 10 minutos no banho ultrassônico, decresceu com 50 minutos e voltou a crescer com 90 minutos. No entanto, a variação da I_p do cátion Fe^{2+} foi maior se comparada às variações da I_p dos outros cátions. Desse modo constata-se que o ultrassom também não foi um tratamento eficaz para desassociar os cátions Fe^{2+} dos fitatos.

As variações das intensidades de corrente de pico de acordo com o tempo no banho ultrassônico de todos os cátions analisados estão demonstradas na Figura 28, onde construiu-se os gráficos das médias das intensidades de corrente de pico e seus respectivos desvios padrão versus o tempo no banho ultrassônico das soluções dos cátions com o eletrólito de suporte que estiveram em contato com a soja. Essas alterações da I_p nos gráficos são referentes ao pico 1 dos cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} e Fe^{2+} e aos dois picos do cátion Mg^{2+} . Através dos gráficos é possível visualizar melhor as diferenças entre as I_p .

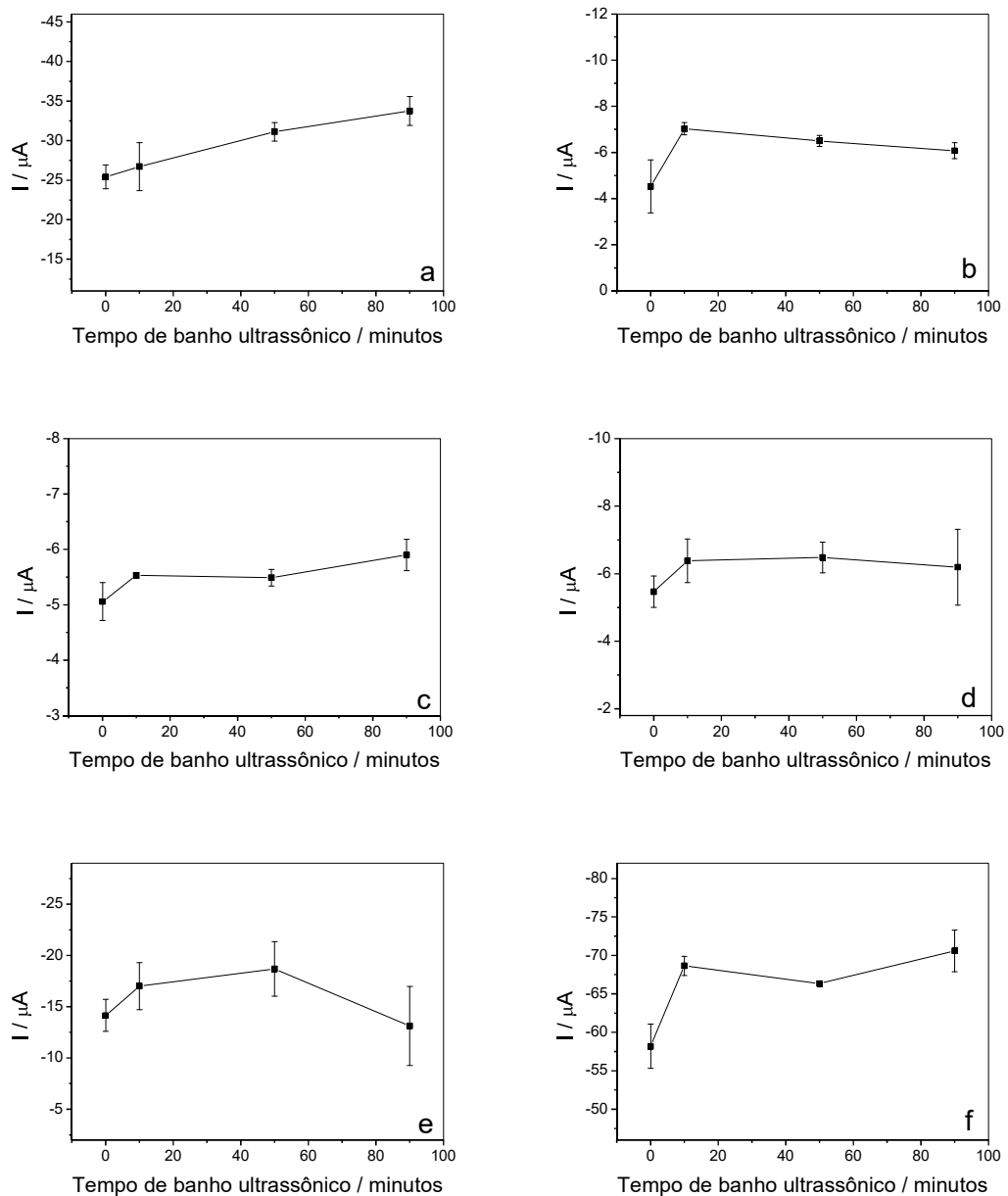


Figura 28. Variação das intensidades de corrente de pico com o tempo de exposição ao ultrassom da solução de (a) Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (b) Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (c) Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (d) Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ para o pico 1 da Figura 25; (e) Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ para o pico 2 da Figura 25 e (f) Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; em solução de KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, que estiveram em contato por uma hora com a soja em grão.

4.4.3 Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por aquecimento em micro-ondas

Aplicou-se o aquecimento em micro-ondas com o objetivo de descomplexar os cátions metálicos Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} com os compostos presentes na soja em grão (fitatos), deixando assim os cátions metálicos livres novamente. Aplicou-se

esse tratamento igualmente para todos os cátions, separou-se suas soluções preparadas com o eletrólito de suporte que permaneceram uma hora em contato com a soja em béqueres que foram levados ao micro-ondas por tempos distintos, os quais foram 10, 25 e 40 segundos. Realizou-se as análises voltamétricas pela técnica DPV, e os resultados adquiridos das leituras estão representados em forma de voltamogramas.

A Figura 29 (a) demonstra os voltamogramas da solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte nas concentrações $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente, antes e depois do contato com a soja, e após a aplicação do tratamento por micro-ondas. O voltamograma preto com linha contínua apresenta a resposta da medida voltamétrica da solução antes do contato com a soja, o voltamograma preto com linha tracejada corresponde a solução depois do contato com a soja, e os voltamogramas com linhas tracejadas coloridas são das soluções que estiveram em contato com a soja após serem aquecidas no micro-ondas por instantes de tempos diferentes, o vermelho representa a solução que ficou por 10 segundos no micro-ondas, o verde por 25 segundos e o azul por 40 segundos. Na Figura 29 (b) são exibidos os mesmos voltamogramas da solução na presença de soja antes e depois do micro-ondas da Figura 29 (a), porém com a escala do eixo da intensidade de corrente de pico ampliada, para visualizar melhor a diferença das intensidades de corrente de pico entre os voltamogramas de cada instante de tempo. Os voltamogramas de todos os outros cátions estão apresentados dessa mesma maneira.

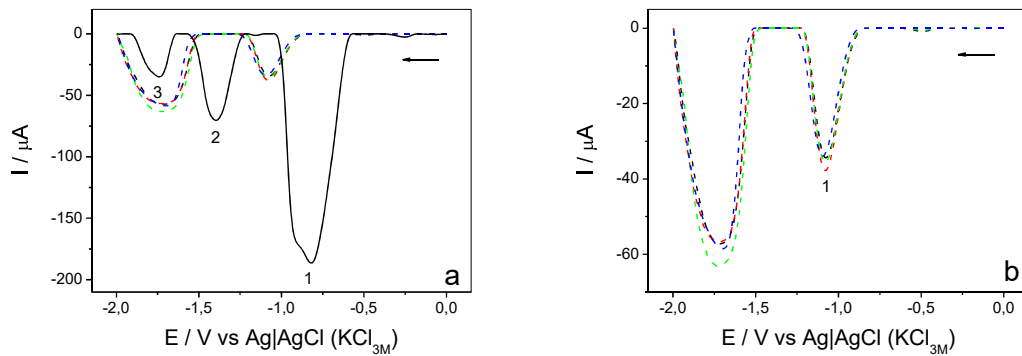


Figura 29. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Os voltamogramas obtidos nas análises voltamétricas da solução do cátion Ca^{2+} na concentração $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ estão demonstrados na Figura 30.

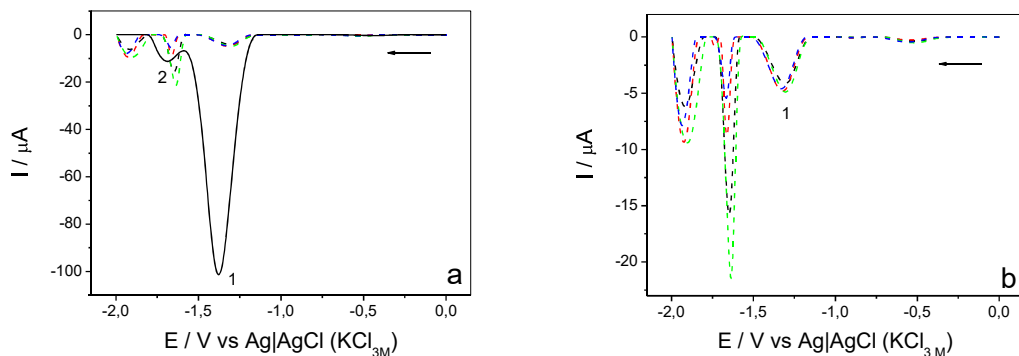


Figura 30. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Ca^{2+} $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Na Figura 31 estão indicados os voltamogramas da solução do cátion Zn^{2+} na concentração $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

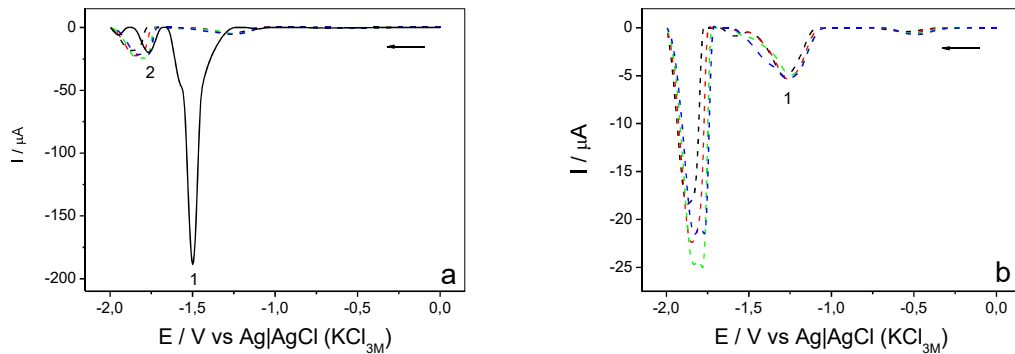


Figura 31. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Zn²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Para a solução do cátion Mg²⁺ com eletrólito de suporte nas concentrações 0,50 mmol L⁻¹ e 0,05 mol L⁻¹ respectivamente os voltamogramas adquiridos estão exibidos na Figura 32.

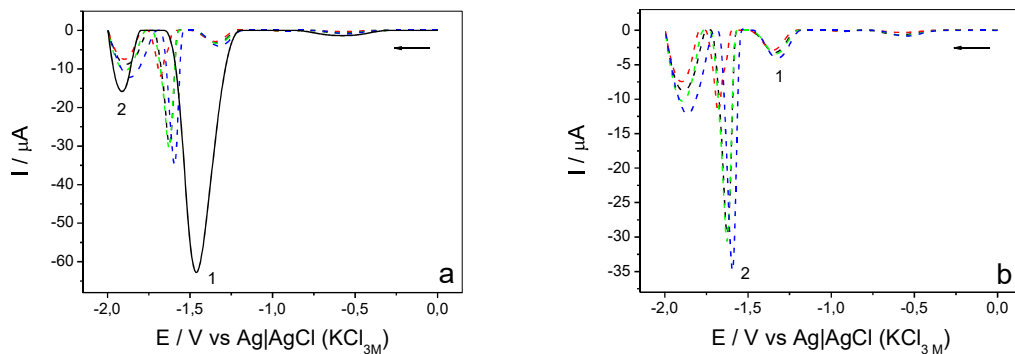


Figura 32. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Mg²⁺ 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

A Figura 33 mostra os voltamogramas da solução do cátion Fe²⁺ com eletrólito de suporte nas concentrações 0,50 mmol L⁻¹ e 0,05 mol L⁻¹ respectivamente.

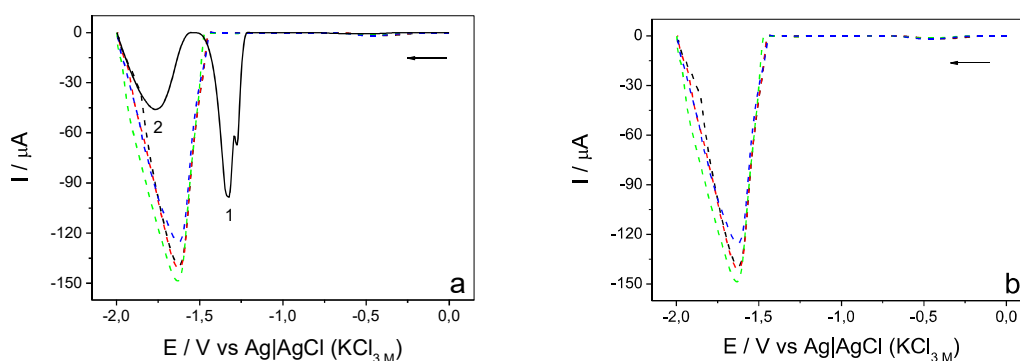


Figura 33. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Fe^{2+} $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência e (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. (b) (---) presença de soja sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de soja com (---) 10 segundos; (---) 25 segundos e (---) 40 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Nesse estudo ocorreu a variação das intensidades de corrente de pico dos cátions após o aquecimento por micro-ondas das suas soluções com KCl , mas essas variações não tiveram uma relação direta com o acréscimo do tempo no micro-ondas, ou seja, a I_p não aumentou na medida em que o tempo de permanência da solução no micro-ondas aumentava.

As mudanças nos valores de I_p dos picos dos cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} e Zn^{2+} foram consideravelmente pequenas, portanto o aquecimento por micro-ondas não desassociou os cátions dos fitatos. Na Figura 29 (b) observa-se que a I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} (pico indicado como 1) amplia após a solução permanecer por 10 segundos no micro-ondas, e diminui após 25 e 40 segundos. Para os cátions Ca^{2+} e Zn^{2+} não é possível visualizar a diferença entre as I_p dos picos designados como 1 nos voltamogramas na Figura 30 (b) e na Figura 31 (b) respectivamente.

Nas leituras voltamétricas realizadas nesse estudo da solução do cátion Mg^{2+} com eletrólito de suporte antes do contato com a soja o potencial do pico de menor intensidade de corrente (assinalado como 2 na Figura 32) deslocou, e o E_p encontrado foi próximo a $-1,909 \text{ V}$. Como mencionado anteriormente essas variações de E_p e I_p de um dia para o outro podem ocorrer por causa da inconsistência da rede elétrica do local onde as soluções são analisadas. Ainda assim, os dois picos do cátion Mg^{2+} foram monitorados, pois não se tem certeza qual é o pico do cátion, o que será investigado nos próximos estudos. A I_p do pico 1 pouco se alterou, diminuindo com o instante de tempo de 10 segundos da solução em micro-ondas e crescendo com 25 e

40 segundos. Já para a I_p do pico 2 percebe-se maior variação, diminuindo significativamente no instante de tempo de 10 segundos da solução em micro-ondas e depois crescendo em 25 e 40 segundos da solução em micro-ondas.

Ademais, o valor da I_p do pico detectado na medida voltamétrica da solução do cátion Fe^{2+} com KCl na presença de soja variou consideravelmente (Figura 33), diminuiu com 10 segundos em que a solução permaneceu no micro-ondas, aumentou com 25 segundos e voltou a diminuir com 40 segundos.

Desse modo, constata-se que o método de aquecimento por micro-ondas não foi eficiente para descomplexar os complexos formados entre os cátions metálicos e os fitatos presentes na soja.

Verifica-se melhor as variações das I_p dos picos designados como 1 dos cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} e Fe^{2+} e dos dois picos do cátion Mg^{2+} na Figura 34, onde apresenta-se os gráficos das médias das intensidades de corrente de pico adquiridas nas três medidas realizadas para cada solução com seus desvios padrão versus o tempo no micro-ondas das soluções dos cátions que tiveram contato com a soja por uma hora. Não se observou as variações de I_p dos picos catódicos dos cátions Ca^{2+} e Zn^{2+} em seus voltamogramas por serem consideravelmente pequenas, porém na Figura 34 nas letras “b” e “c” respectivamente já é possível visualizar tais alterações.

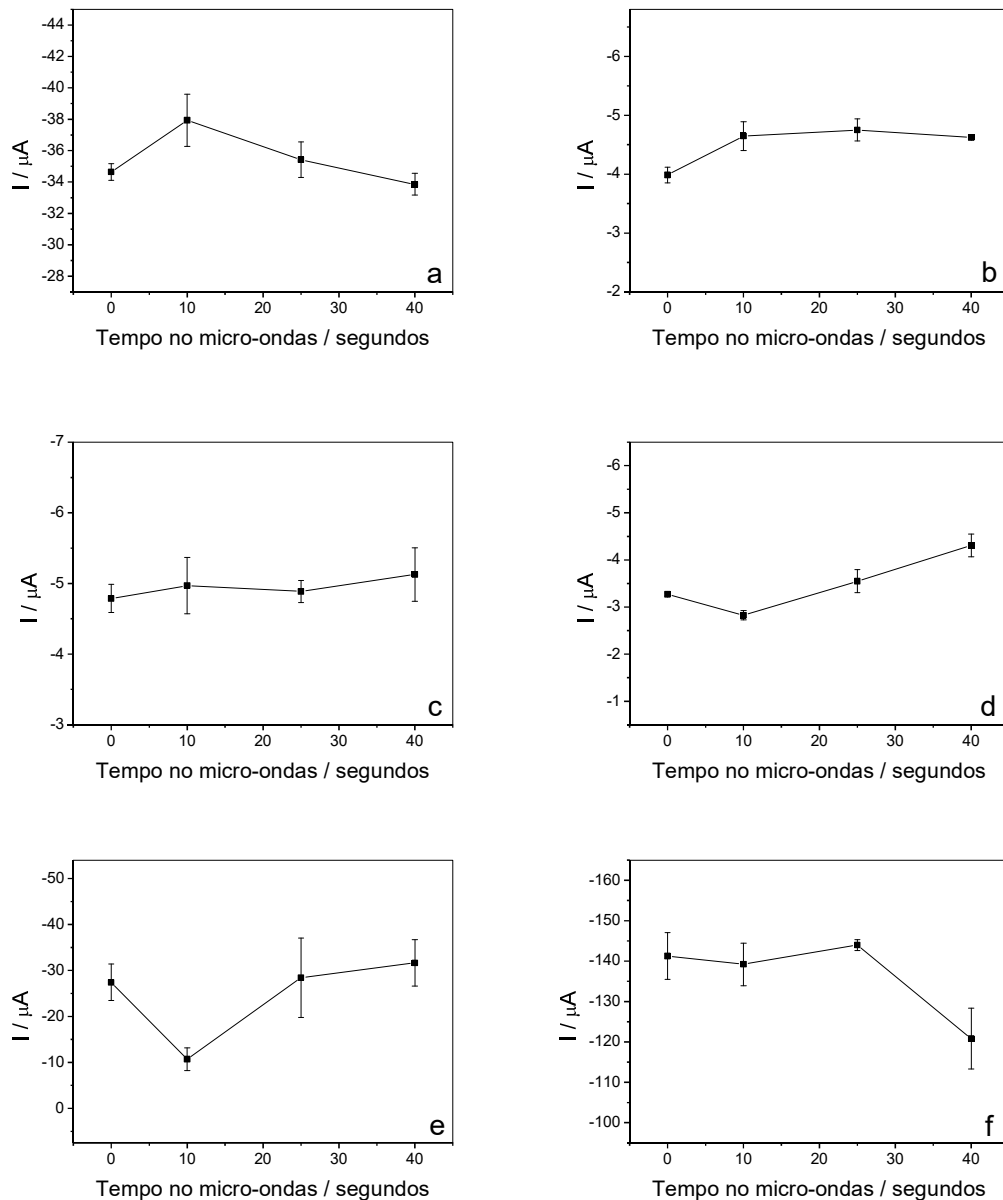


Figura 34. Variação das intensidades de corrente de pico com o tempo de aquecimento no micro-ondas da solução de (a) Cu^{2+} 0,50 mmol L⁻¹; (b) Ca^{2+} 0,50 mmol L⁻¹; (c) Zn^{2+} 0,50 mmol L⁻¹; (d) Mg^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ para o pico 1 da Figura 31; (e) Mg^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ para o pico 2 da Figura 31 e (f) Fe^{2+} 0,50 mmol L⁻¹; em solução de KCl 0,05 mol L⁻¹, que estiveram em contato por uma hora com a soja em grão.

4.4.4 Descomplexação dos cátions metálicos e os compostos presentes na soja por variação do pH

O último estudo empregado com o propósito de liberar os cátions metálicos Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} dos complexos formados entre eles e os compostos presentes na soja em grão (fitatos) foi a alteração do pH da solução dos cátions com eletrólito de suporte que estiveram em contato com a soja por uma hora.

Primeiramente, após preparar a solução do cátion na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ realizou-se a leitura do seu pH, e o valor encontrado inesperadamente foi baixo para todos os cátions (todos os valores foram próximos do pH 2), ou seja, as soluções dos cátions com KCl são ácidas. Anteriormente presumiu-se que essas soluções seriam neutras em função da quantidade significativamente pequena da solução padrão utilizada no seu preparo, sendo diluída consideravelmente com água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore). Além disso, a solução do eletrólito de suporte KCl é neutra.

Continuando o estudo, colocou-se as soluções do cátion com KCl em contato com soja por uma hora, e após esse tempo realizou-se novamente a leitura do pH, e o valor adquirido foi diferente, só o contato da solução com a soja modificou o seu pH para um valor maior, porém a solução continuava ácida. Obteve-se esse resultado para as soluções de todos os cátions.

Pressupondo que as soluções dos cátions com KCl seriam neutras e que possuíam o mesmo valor de pH na ausência e presença de soja, a intenção desse estudo era ajustar o pH dessas soluções após o contato com a soja e assim liberar os cátions metálicos dos complexos formados com os fitatos, pois em pH ácido, os cátions metálicos competem com H^+ e interações dos fitatos com a maioria dos cátions metálicos são insignificantes abaixo de pH 5 (MADSEN & PEDERSEN, 2016). Como o pH obtido em cada solução dos cátions com KCl na presença de soja é menor do que 5 percebeu-se que não era possível realizar a metodologia como se descreve, e que provavelmente em nenhum momento ocorreu a complexação entre os cátions metálicos e os fitatos presentes na soja, sendo a variação da I_p nos outros estudos apenas influência da alteração de pH da solução após o contato com a soja.

Para confirmar essa suspeita corrigiu-se o pH das soluções dos cátions com eletrólito de suporte após o contato com a soja para valores diferentes dos encontrados para verificar se ocorria alguma variação da intensidade de corrente de pico. Outrossim, modificou-se também o pH das soluções dos cátions com eletrólito de suporte que não tiveram contato com a soja para os mesmos valores a fim de constatar se também houve a alteração na I_p , e se o padrão de variação foi o mesmo.

Os voltamogramas adquiridos das medidas voltamétricas da solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte estão representados na Figura 35, onde na letra “a” o voltamograma preto com linha contínua é da solução preparada sem a presença de soja, da qual obteve-se o pH 1,84; o voltamograma preto com linha tracejada é da

solução após o contato com a soja, dela mediu-se o pH 3,77; os voltamogramas coloridos com linhas tracejadas são das soluções com o pH alterado, ajustou-se o pH para os valores: 0,76 (voltamograma vermelho), 1,77 (voltamograma verde), 2,77 (voltamograma azul) e 6,08 (voltamograma rosa). A Figura 35 (b) mostra os voltamogramas das soluções que não tiveram contato com a soja, o voltamograma preto é da solução preparada com pH 1,84, o vermelho é da solução com o pH modificado para 0,76, no verde o pH da solução foi ajustado para 1,76, no azul mais escuro o pH é de 2,77, no azul claro é de 3,76 e no rosa 6,07.

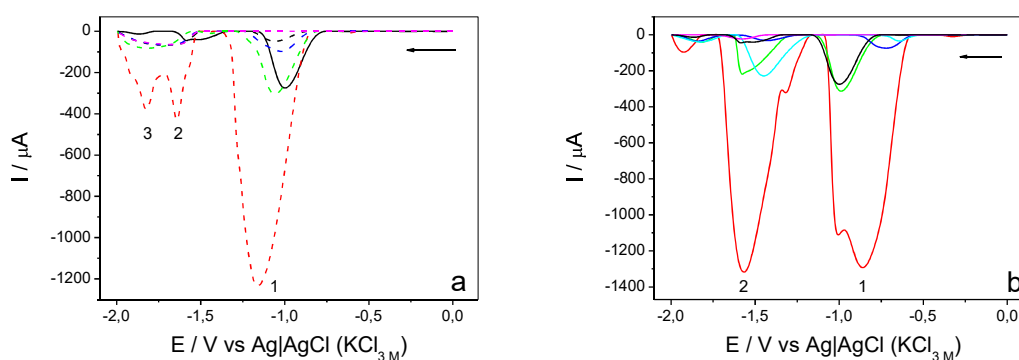


Figura 35. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência com pH 1,84 e (---) presença de soja com pH 3,77, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 0,76; (---) 1,77; (---) 2,77 e (---) 6,08. (b) (—) ausência de soja com pH 1,84, e na ausência de soja com pH ajustado para (—) 0,76; (—) 1,76; (—) 2,77; (—) 3,76 e (—) 6,07. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Verifica-se na Figura 35 (a) que a I_p do pico indicado como 1 diminuiu após o contato da solução do cátion e eletrólito de suporte com a soja, mas como descrito anteriormente ocorreu modificação no pH, e o valor de pH de 1,84 da solução na ausência de soja passou para 3,77 na presença de soja, sugerindo que essa diminuição da I_p não seja a complexação do cátion com o fitato, mas sim influência do pH. Para comprovar essa afirmação os valores de pH foram ajustados e como observa-se na Figura 35 (a) na medida que se diminui os valores do pH a I_p aumenta novamente, e nos valores de pH maiores os valores de I_p foram menores. Portanto, constata-se que as variações de I_p sucederam por causa da modificação do pH da solução.

Na Figura 35 (b) onde modificou-se o pH da solução na ausência de soja, percebe-se que o padrão de variação da I_p do pico designado com 1 é bem parecido

com o padrão de variação do pico 1 da letra “a”, a I_p possui uma relação inversa com o pH, ou seja, quanto maior o pH menor o valor de I_p , e quanto menor o pH maior o valor de I_p . Nota-se também na Figura 35 (b) que um outro pico com I_p consideravelmente alta é identificado com E_p próximo à -1,550 V.

Além da variação da I_p , houve também uma variação considerável do E_p do pico 1 entre as medidas das soluções do cátion Cu^{2+} e KCl com valores de pH diferentes, tanto na ausência quanto na presença de soja. Essa variação pode ter ocorrido por influência do ácido (HNO_3) ou da base (KOH) que foram utilizados para o ajuste do pH.

A variação da I_p do pico assinalado como 1 na Figura 35 pode ser melhor visualizada na Figura 36 através dos gráficos da média das intensidades de corrente de pico com seus respectivos desvios padrão versus o pH da solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte na presença e ausência de soja. Percebe-se nos gráficos que nos valores de pH menores, a variação da I_p é maior e que em valores de pH maiores, os valores da I_p ficam bem próximos do zero.

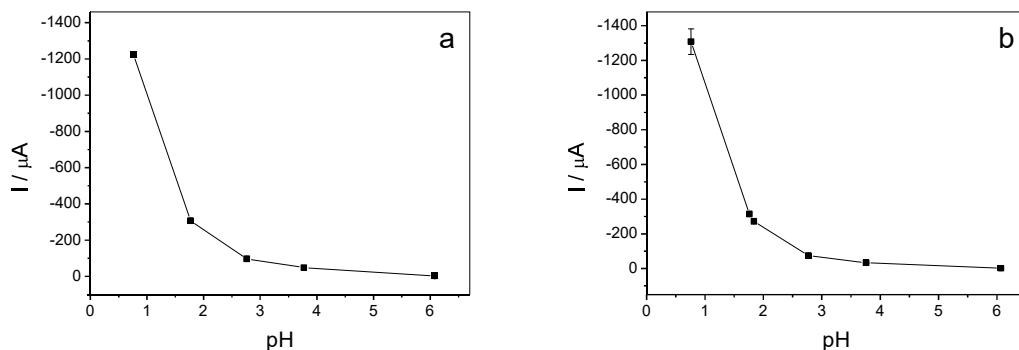


Figura 36. Variação da intensidade de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} (a) na presença e (b) na ausência de soja.

A Figura 37 apresenta os voltamogramas da solução do cátion Ca^{2+} e eletrólito de suporte. Na letra “a” está o voltamograma da solução antes do contato com a soja com o pH medido de 2,10 (voltamograma preto com linha contínua), o voltamograma preto com linha tracejada da solução após o contato com a soja com pH 4,44, e os voltamogramas tracejados coloridos que são da solução na presença de soja com os valores de pH modificados. Na letra “b” os voltamogramas demonstrados são de soluções do cátion e KCl na ausência de soja, o voltamograma preto é da solução que

foi preparada com pH 2,10, já os voltamogramas coloridos são da solução preparada, mas com os valores de pH alterados.

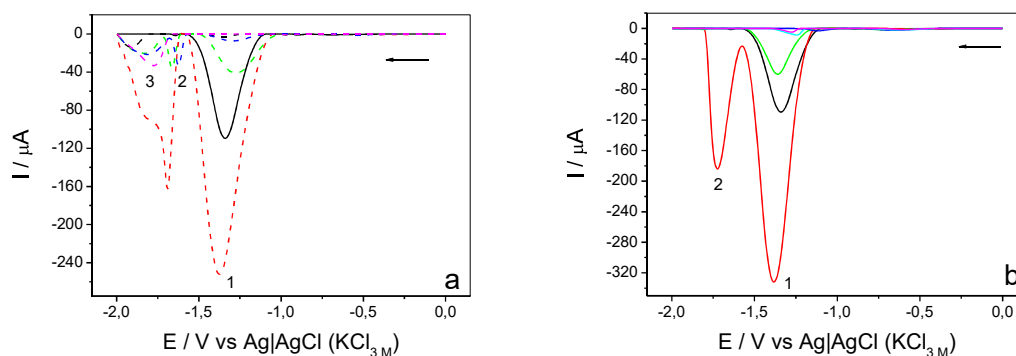


Figura 37. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência com pH 2,10 e (---) presença de soja com pH 4,44, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 1,44; (---) 2,43; (---) 3,43 e (---) 5,99. (b) (—) ausência de soja com pH 2,10, e na ausência de soja com pH ajustado para (—) 1,45; (—) 2,44; (—) 3,45; (—) 4,43 e (—) 5,98. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Nesse estudo o voltamograma da solução do cátion Ca^{2+} e KCl antes do contato com a soja apresentou somente o pico de maior intensidade de corrente, o qual foi monitorado nos estudos anteriores. Após o contato com a soja a I_p desse pico, indicado como 1, diminuiu consideravelmente como pode ser observado na Figura 37 (a), além disso o pH da solução passou de 2,10 para 4,44, assim, ao variar o pH da solução os valores de I_p também variaram da mesma maneira que para o cátion Cu^{2+} , isto é, em pH menores os valores de I_p são maiores e em pH maiores os valores de I_p são menores. Na presença de soja surgiram mais dois picos nos voltamogramas, os quais estão marcados com os números 2 e 3 na Figura 37 (a), no voltamograma da solução com pH 1,44 esses dois picos estão bem próximos formando praticamente um único pico.

Na Figura 37 (b) a variação da I_p do pico designado como 1 ocorreu na medida que o pH da solução do cátion Ca^{2+} e eletrólito de suporte na ausência de soja foi alterado, semelhantemente à variação da solução na presença de soja. Na solução com pH 1,45 outro pico também foi detectado com E_p em torno de $-1,750 \text{ V}$ (pico 2), o qual provavelmente é o pico que foi detectado e indicado como 2 nos voltamogramas da solução do cátion Ca^{2+} e KCl nos estudos anteriores.

Os gráficos da média das intensidades de corrente de pico e seus desvios padrão em função do pH das soluções do cátion Ca^{2+} com eletrólito de suporte antes e após o contato com a soja estão apresentados na Figura 38, onde é possível verificar melhor como ocorreu as variações da I_p do pico assinalado como 1 na Figura 37 durante a modificação do pH.

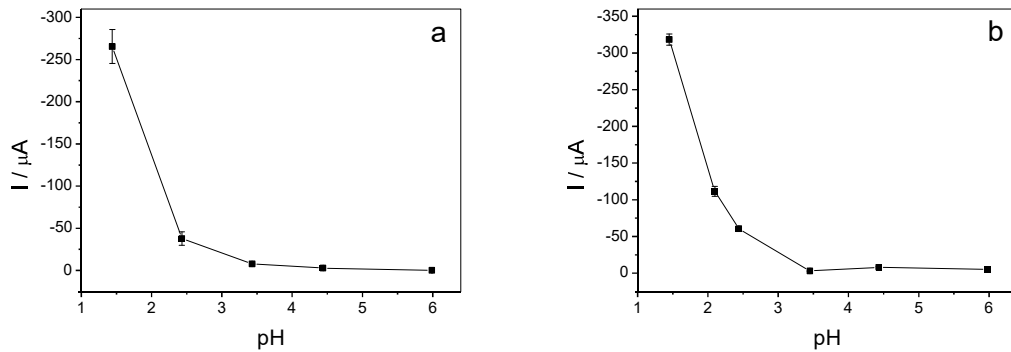


Figura 38. Variação da intensidade de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na presença e (b) na ausência de soja.

A Figura 39 (a) mostra o voltamograma preto e contínuo da solução do cátion Zn^{2+} e KCl antes do contato com a soja com pH 1,86, o voltamograma preto tracejado da solução após o contato com a soja com pH medido de 3,97, e os voltamogramas coloridos tracejados da solução na presença de soja, porém com o pH ajustado para valores diferentes do encontrado. Na Figura 39 (b) estão os voltamogramas da solução na ausência de soja, onde o voltamograma preto é da solução com pH 1,86, e os voltamogramas coloridos são dessa solução após a modificação do seu pH.

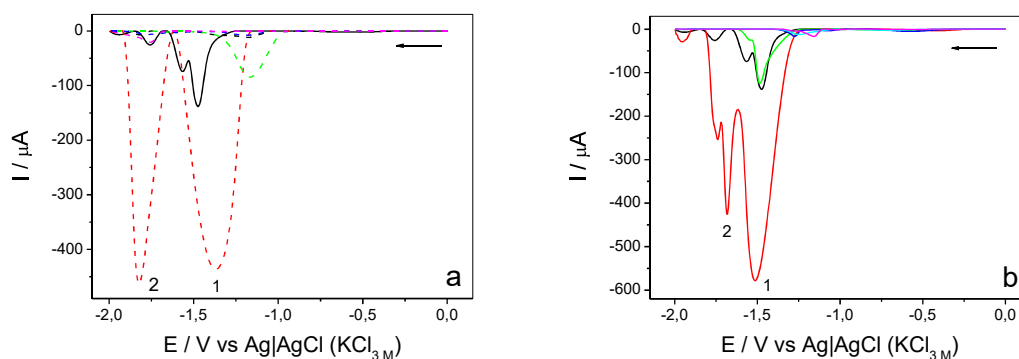


Figura 39. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência com pH 1,86 e (---) presença de soja com pH 3,97, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 0,96; (---) 1,98; (---) 2,96 e (---) 6,05. (b) (—) ausência de soja com pH 1,86, e na ausência de soja com pH ajustado para (---) 0,97; (---) 1,97; (---) 2,99; (---) 3,98 e (---) 6,07. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Para a solução do cátion Zn^{2+} com KCl após o contato com a soja a variação da I_p do pico indicado como 1 na Figura 39 (a) ocorreu de maneira análoga à variação dos outros cátions, quer dizer, em valores de pH maiores os valores de I_p foram consideravelmente baixos e os picos não apareceram nos voltamogramas, e em valores de pH menores os valores de I_p adquiridos foram significativamente altos. Os valores de E_p também variaram com a mudança do pH da solução, percebe-se no voltamograma da solução com pH 1,98 que o pico adquirido está deslocado, ou seja, com E_p diferente do E_p do pico da solução antes do contato com a soja. Além disso, no voltamograma da solução com pH 0,96 encontrou-se outro pico bastante intenso, indicado como 2, com I_p próxima à I_p do pico 1 e com E_p ao redor de $-1,850 \text{ V}$.

Na Figura 39 (b) a I_p da solução do cátion Zn^{2+} com eletrólito de suporte que não teve contato com a soja também variou com a alteração do pH, nas medidas voltamétricas das soluções em que se modificou o pH para valores mais baixos obteve-se valores de I_p consideravelmente altos, e vice-versa. Ademais, no voltamograma da solução com pH 0,97 detectou-se dois picos, aparentemente esses se apresentavam como um único pico nos voltamogramas das soluções com valores de pH maiores e se separaram com o valor de pH mais baixo. Nota-se que em todos os voltamogramas desse trabalho o pico catódico do cátion Zn^{2+} apresenta um “ombro” bem característico, isto é, apresenta um pico não definido unido ao pico principal, desse modo é provável que o pico catódico do cátion Zn^{2+} no voltamograma vermelho da solução com pH 0,97 seja o pico designado como 2 por apresentar a

característica descrita acima, já o pico 1 possivelmente é de alguma substância que está interferindo na análise voltamétrica do cátion Zn^{2+} .

Verifica-se melhor as alterações dos valores de I_p na Figura 40, onde estão demonstrados os gráficos da média das intensidades de corrente de pico com seus desvios padrão versus o pH da solução do cátion Zn^{2+} com KCl na presença e ausência de soja. Para a solução do cátion com KCl na presença de soja com o pH 0,96 (voltamograma vermelho com linha tracejada) utilizou-se os valores de I_p do pico indicado como 1 na Figura 39 (a) para construir o gráfico, já para a solução do cátion com KCl na ausência de soja com pH 0,97 (voltamograma vermelho com linha contínua) utilizou-se os valores de I_p do pico assinalado como 2 na Figura 39 (b).

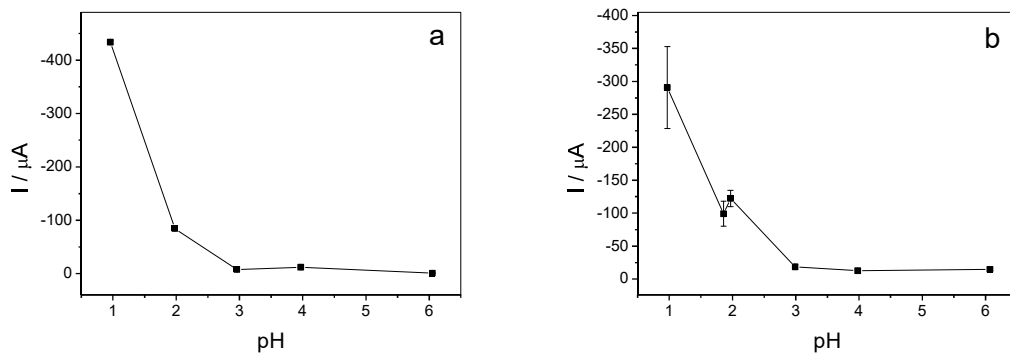


Figura 40. Variação da intensidade de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na presença e (b) na ausência de soja.

Os voltamogramas da solução do cátion Mg^{2+} com eletrólito de suporte estão apresentados na Figura 41. Na letra “a” está o voltamograma preto com linha contínua da solução na ausência de soja, na qual o pH obtido foi de 2,31, e os voltamogramas com linhas tracejadas são da solução após o contato com a soja, o voltamograma preto é da solução onde encontrou-se o pH de 4,83, e os voltamogramas coloridos são dessa mesma solução com os valores de pH alterados. Na Figura 41 (b) estão os voltamogramas das soluções que não tiveram contato com a soja, o voltamograma preto é da solução que foi preparada contendo o cátion com eletrólito de suporte e que possui pH 2,31, e os voltamogramas coloridos são dessa solução após a modificação dos seus valores de pH.

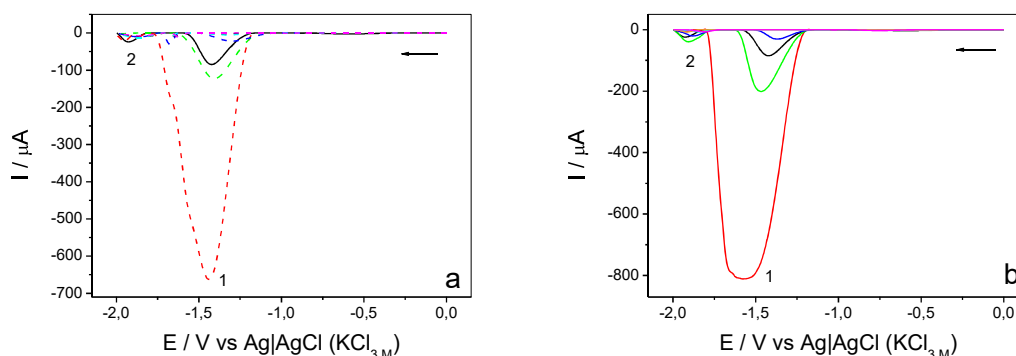


Figura 41. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência com pH 2,31 e (---) presença de soja com pH 4,83, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 0,83; (---) 1,81; (---) 2,83; (---) 3,82 e (---) 6,02. (b) (—) ausência de soja com pH 2,31, e na ausência de soja com pH ajustado para (—) 0,86; (—) 1,85; (—) 2,85; (—) 3,83; (—) 4,80 e (—) 5,98. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Na leitura voltamétrica da solução do cátion Mg^{2+} com eletrólito de suporte antes do contato com a soja obteve-se os dois picos, bem como nos estudos anteriores, mas o pico assinalado como 2 na Figura 41 possui o E_p próximo a $-1,925 \text{ V}$, similar ao E_p encontrado para esse pico no estudo da descomplexação dos complexos formados entre os cátions metálicos e os compostos presentes na soja por aquecimento no micro-ondas, porém, diferente dos outros estudos. Nota-se que para esse pico tanto para a solução na presença quanto na ausência de soja a I_p não variou conforme o pH como sucedeu para os cátions analisados anteriormente, houve alterações consideravelmente pequenas independentes do pH, essas pequenas variações podem ocorrer entre medidas voltamétricas por causa de erros que acontecem durante o procedimento experimental. Já para o pico indicado como 1 observa-se que nos dois casos, solução na presença e ausência de soja (Figura 41, letra “a” e “b” respectivamente), ocorreu a variação analogamente à variação dos cátions citados acima, onde para valores de pH maiores os valores de I_p foram menores, e para as soluções mais ácidas, ou seja, valores de pH menores, os valores de I_p foram maiores.

Os valores de I_p para as soluções na ausência de soja com pH 3,83, 4,80 e 5,98 foram significativamente baixos, e com isso seus voltamogramas não apresentaram pico quando comparados com os das outras soluções com pH mais baixos, apresentaram apenas uma linha reta, e por esse motivo não é possível identificar os

voltamogramas das soluções com pH 3,83 e 4,80 na Figura 41 (b), apenas o da solução com pH 5,98, pois eles se sobrepuseram.

A Figura 42 representa os gráficos da média das intensidades de corrente de pico e seus respectivos desvios padrão em função do pH da solução composta por Mg^{2+} e KCl tanto na presença quanto na ausência de soja. Nesses gráficos observa-se melhor as mudanças ocorridas nos valores de I_p dos dois picos detectados nos voltamogramas das soluções desse cátion.

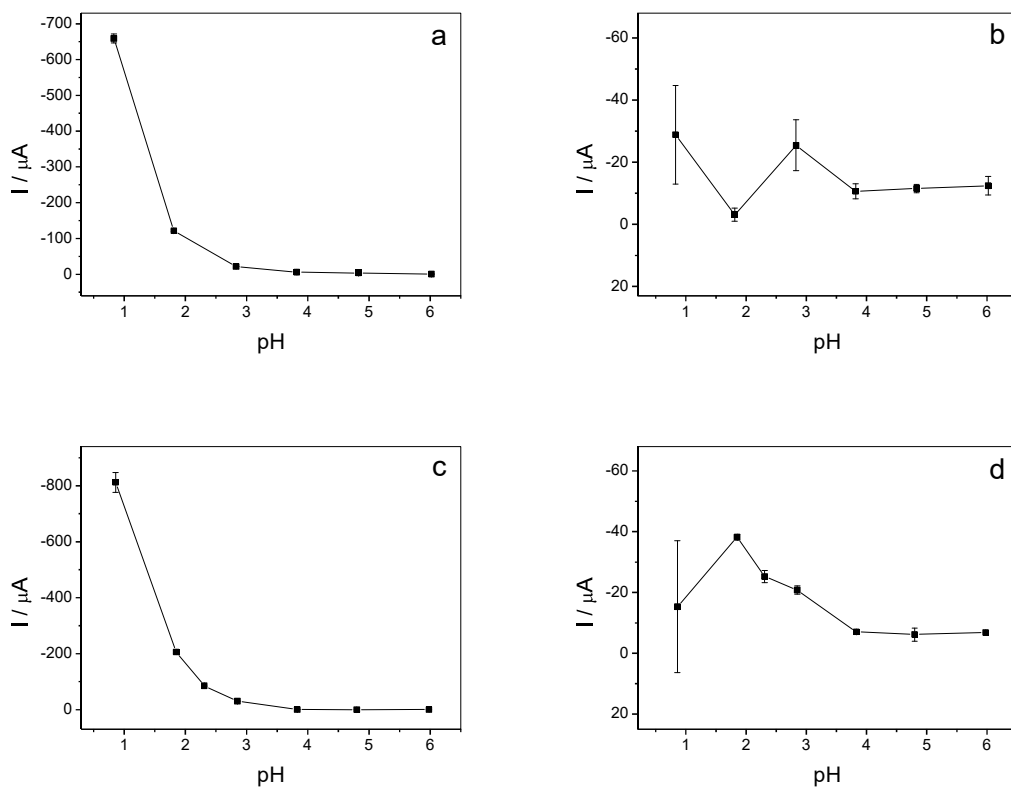


Figura 42. Variação das intensidades de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Mg^{2+} 0,50 mmol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ na presença de soja (a) pico 1 e (b) pico 2 indicados na Figura 41 (a) e na ausência de soja (c) pico 1 e (d) pico 2 indicados na Figura 41 (b).

Na Figura 43 (a) encontra-se o voltamograma preto com linha contínua que representa a medida da solução do cátion Fe^{2+} com KCl antes do contato com a soja cujo pH obtido foi de 1,94, o voltamograma preto com linha tracejada que é da solução após o contato com a soja onde o pH medido foi de 4,09 e os voltamogramas coloridos que são da solução na presença de soja com o pH ajustado para valores diferentes. Já na Figura 43 (b) encontra-se o voltamograma preto que é da solução na ausência

de soja com pH 1,94 e os voltamogramas coloridos que são dessa mesma solução, mas após a alteração do seu pH.

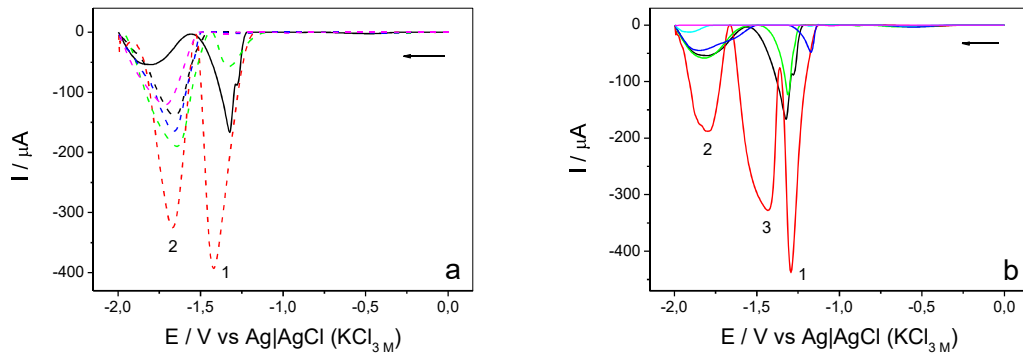


Figura 43. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (a) na (—) ausência com pH 1,94 e (---) presença de soja com pH 4,09, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 1,11; (---) 2,11; (---) 3,11 e (---) 6,05. (b) (—) ausência de soja com pH 1,94, e na ausência de soja com pH ajustado para (—) 1,12; (—) 2,11; (—) 3,10; (—) 4,09 e (—) 6,07. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Nesse estudo é possível verificar que o pico detectado nos voltamogramas das soluções do cátion Fe^{2+} e KCl após o contato com a soja não é o pico de maior intensidade de corrente (pico 1) da solução na ausência de soja com o E_p deslocado, como havia sido sugerido anteriormente, mas sim o pico 2 com valores de I_p maiores. Constata-se essa afirmação na Figura 43 onde o pH da solução é modificado e por consequência ocorre a variação da I_p do pico 1, e assim no valor de pH da solução após o contato com a soja não é possível visualizar o pico no voltamograma, mas em valores menores de pH identifica-se o pico.

Os dois picos identificados nos voltamogramas das soluções do cátion Fe^{2+} com eletrólito de suporte variaram com a alteração do pH tanto na presença quanto na ausência de soja. A variação foi semelhante à dos outros cátions e em valores de pH mais altos os valores de I_p encontrados foram menores e vice-versa.

Na Figura 43 (b) o voltamograma vermelho que pertence à medida da solução na ausência de soja com pH 1,12 apresentou um terceiro pico, indicando que possivelmente o pico de maior intensidade encontrado nos voltamogramas das soluções com valores de pH diferentes se dividiu formando os picos designados como 1 e 3.

Identifica-se melhor as variações da I_p dos dois picos encontrados nos voltamogramas acima por meio dos gráficos da média de intensidades de corrente de picos com seus desvios padrão versus o pH das soluções do cátion Fe^{2+} e eletrólito de suporte antes e após o contato com a soja, que estão exibidos na Figura 44. Para a solução do cátion Fe^{2+} com KCl na ausência de soja com o pH 1,12 (voltamograma vermelho com linha contínua) utilizou-se os valores de I_p dos picos indicados como 1 e 2 na Figura 43 (b) para construir o gráfico.

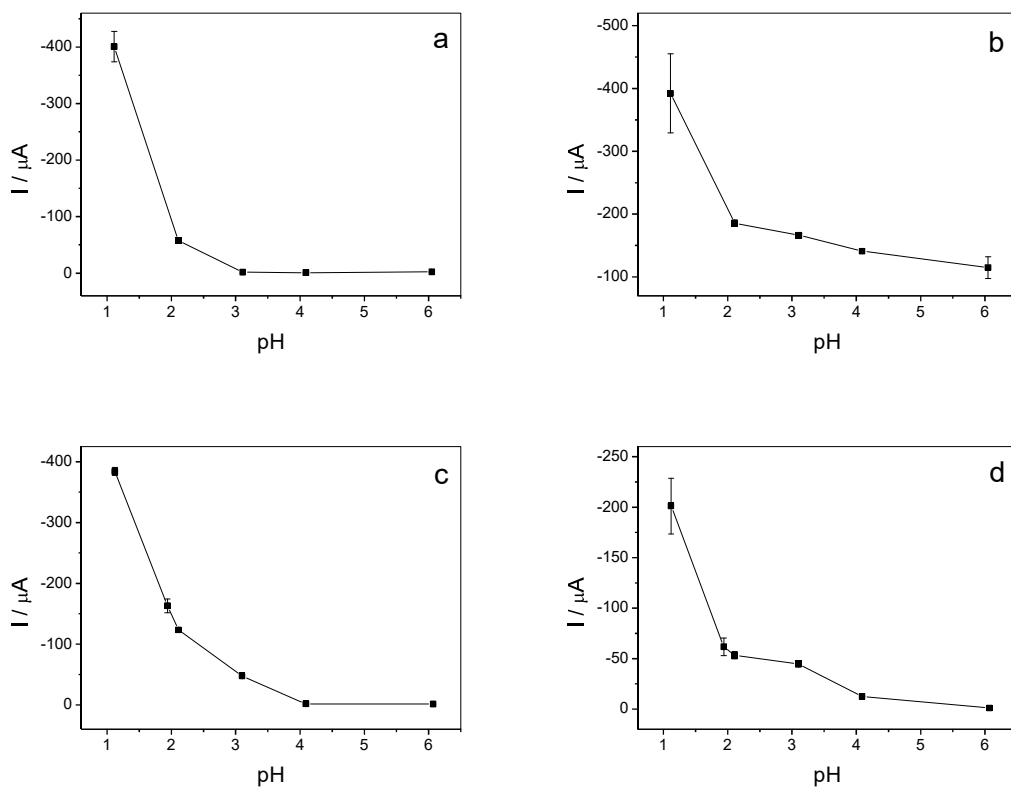


Figura 44. Variação das intensidades de corrente de pico com a mudança do pH da solução de Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de soja (a) pico 1 e (b) pico 2 indicados na Figura 43 (a) e na ausência de soja (c) pico 1 e (d) pico 2 indicados na Figura 43 (b).

Os picos de todos os cátions, exceto o pico assinalado como dois do cátion Mg^{2+} , apresentaram a variação da I_p em função do pH semelhantemente, nas soluções mais ácidas, ou seja, em valores de pH menores os valores de I_p encontrados foram significativamente altos, já em valores de pH maiores os valores de I_p foram consideravelmente baixos e os picos se tornaram menos intensos nos voltamogramas. E em virtude disso conclui-se que não foi possível identificar a complexação entre os cátions metálicos e os fitatos presentes na soja através da

metodologia aplicada nesse trabalho, sendo a variação da I_p resultado da mudança de pH que ocorreu quando as soluções dos cátions entraram em contato com a soja.

Para finalizar o estudo com o pH colocou-se também água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore) em contato com a soja em grão por uma hora. Mediu-se o pH da água antes e após o contato com a soja, e depois modificou-se o pH da solução na presença de soja para valores diferentes do encontrado. Esse experimento foi realizado com o intuito de constatar se há algum composto interferindo nas análises dos cátions metálicos.

Os voltamogramas adquiridos nas leituras voltamétricas das soluções de água deionizada tipo I na ausência e presença de soja estão demonstrados na Figura 45. O voltamograma preto com linha contínua é da água antes do contato com a soja, cujo pH medido foi de 7,96, o voltamograma preto com linha tracejada é da água após o contato com a soja, da qual obteve-se o pH 6,53 e os voltamogramas tracejados coloridos são da água na presença de soja, mas com o pH modificado para outros valores. Ajustou-se o pH para os seguintes valores: pH 1,55 (voltamograma vermelho), pH 2,53 (voltamograma verde), pH 3,55 (voltamograma azul), pH 4,55 (voltamograma azul claro) e pH 5,54 (voltamograma rosa).

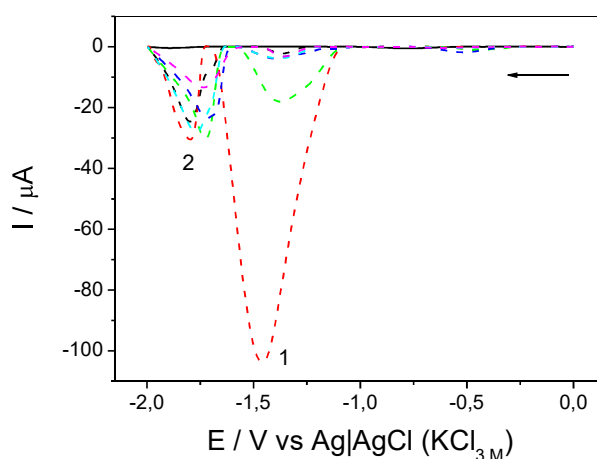


Figura 45. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore) (a) na (—) ausência com pH 7,96 e (---) presença de soja com pH 6,53, e na presença de soja com pH ajustado para (---) 1,55; (---) 2,53; (---) 3,55; (---) 4,55 e (---) 5,54. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Verifica-se que foram detectados dois picos nos voltamogramas da Figura 45, o pico indicado como 2 é o mesmo pico encontrado na maioria dos voltamogramas

das soluções dos cátions após o contato com a soja. Anteriormente, na análise voltamétrica realizada da solução do eletrólito de suporte (KCl) na presença de soja onde esse pico também foi localizado, sugeriu-se que ele seria de algum componente eletroativo da soja ou proveniente de alguma reação entre o eletrólito de suporte e algum elemento da soja. Porém, da mesma forma observou-se o pico no voltamograma da água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore) na presença de soja, assim sendo confirma-se que o pico representa a redução de um componente eletroativo da soja em grão.

Os valores de I_p desse pico variaram de uma leitura voltamétrica para outra, mas não por influência do pH como para as soluções dos cátions, pois a variação não obedeceu um padrão. Já para o outro pico detectado que possui E_p em torno de -1,400 V, assinalado como 1 na Figura 45, os valores de I_p alteraram com a mudança do pH da solução, analogamente à alteração para as soluções dos cátions com eletrólito de suporte, isto é, em pH menores os valores de I_p foram maiores e vice-versa. Nota-se que os picos de maior intensidade de corrente dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} monitorados nesse trabalho possuem E_p próximos ao E_p desse pico, e que após alterar o pH da solução do cátion Cu^{2+} para valores menores também foi detectado um pico com E_p parecido, portanto, provavelmente há uma substância que reduz na faixa de potencial de varredura estudada, interferindo assim nas análises voltamétricas dos cátions. Essa solução talvez seja o ácido nítrico (HNO_3) utilizado no ajuste do pH, visto que nos valores de pH menores, onde utilizou-se o HNO_3 mais concentrado para o ajuste, o pico se tornou mais intenso (com valores de I_p significativamente altos). No estudo seguinte essa hipótese será analisada.

A Figura 46 mostra o gráfico da média das intensidades de corrente com seus respectivos desvios padrão em função do pH da água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore) na presença de soja. Nesse gráfico é mais fácil visualizar as variações da I_p do pico indicado como 1 na Figura 45, e nele confirma-se que o padrão de variação é similar ao padrão de variação da I_p dos picos observados nas soluções dos cátions metálicos.

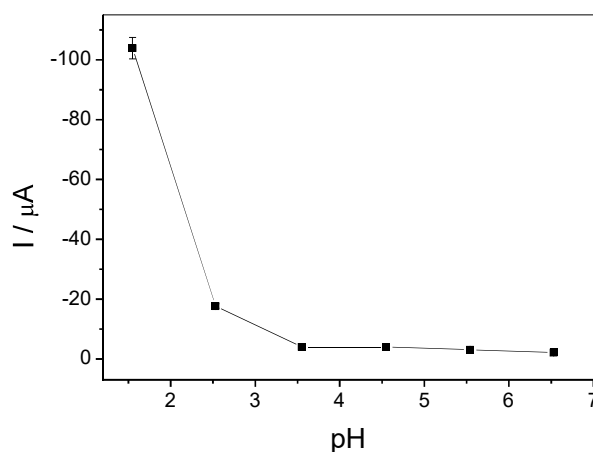


Figura 46. Variação da intensidade de corrente de pico com a mudança do pH da solução de água deionizada tipo I (sistema Milli-Q da Millipore) na presença de soja.

4.5 Efeito de ácidos

As soluções padrão dos cátions metálicos Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} são padrões AAS adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA). Esses são preparados em ácido nítrico (HNO_3), logo são soluções ácidas. Como foi verificado no estudo anterior, as soluções preparadas dos cátions com eletrólito de suporte (KCl), onde os padrões dos cátions são diluídos, ainda continuam ácidas. Além disso, ao ajustar o pH das soluções para valores menores, utilizou-se o HNO_3 , ácido presente nas soluções padrão dos cátions. Com a mudança do pH das soluções os picos de maior intensidade de corrente dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} que possuem E_p próximos alteraram seus valores de I_p , e um pico com E_p parecido com o E_p dos outros cátions apareceu no voltamograma da solução do cátion Cu^{2+} com KCl. Portanto, realizou-se esse estudo com o propósito de verificar se o HNO_3 reduz na janela de potencial de varredura utilizada em E_p próximo aos dos picos catódicos dos cátions, interferindo nas análises voltamétricas desses.

Para isso preparou-se uma solução de HNO_3 na concentração $0,01 \text{ molL}^{-1}$, na qual o pH obtido foi de 1,90, valor de pH próximo aos valores medidos das soluções dos cátions metálicos com eletrólito de suporte na ausência de soja. Realizou-se a leitura voltamétrica dessa solução do ácido, e através dos voltamogramas comparou-se com as leituras realizadas das soluções dos cátions com KCl antes do contato com a soja. Da mesma forma comparou-se com a medida voltamétrica da solução de HNO_3

com concentração $0,001 \text{ molL}^{-1}$, em que o pH adquirido foi de 2,92, mais parecido com o pH das soluções dos cátions após o contato com a soja.

Na Figura 47 estão os voltamogramas comparativos, nos quais os voltamogramas pretos são das soluções dos cátions com eletrólito de suporte na ausência de soja, os voltamogramas vermelhos são da solução de HNO_3 na concentração $0,001 \text{ molL}^{-1}$ e os verdes são da solução de HNO_3 na concentração $0,01 \text{ molL}^{-1}$.

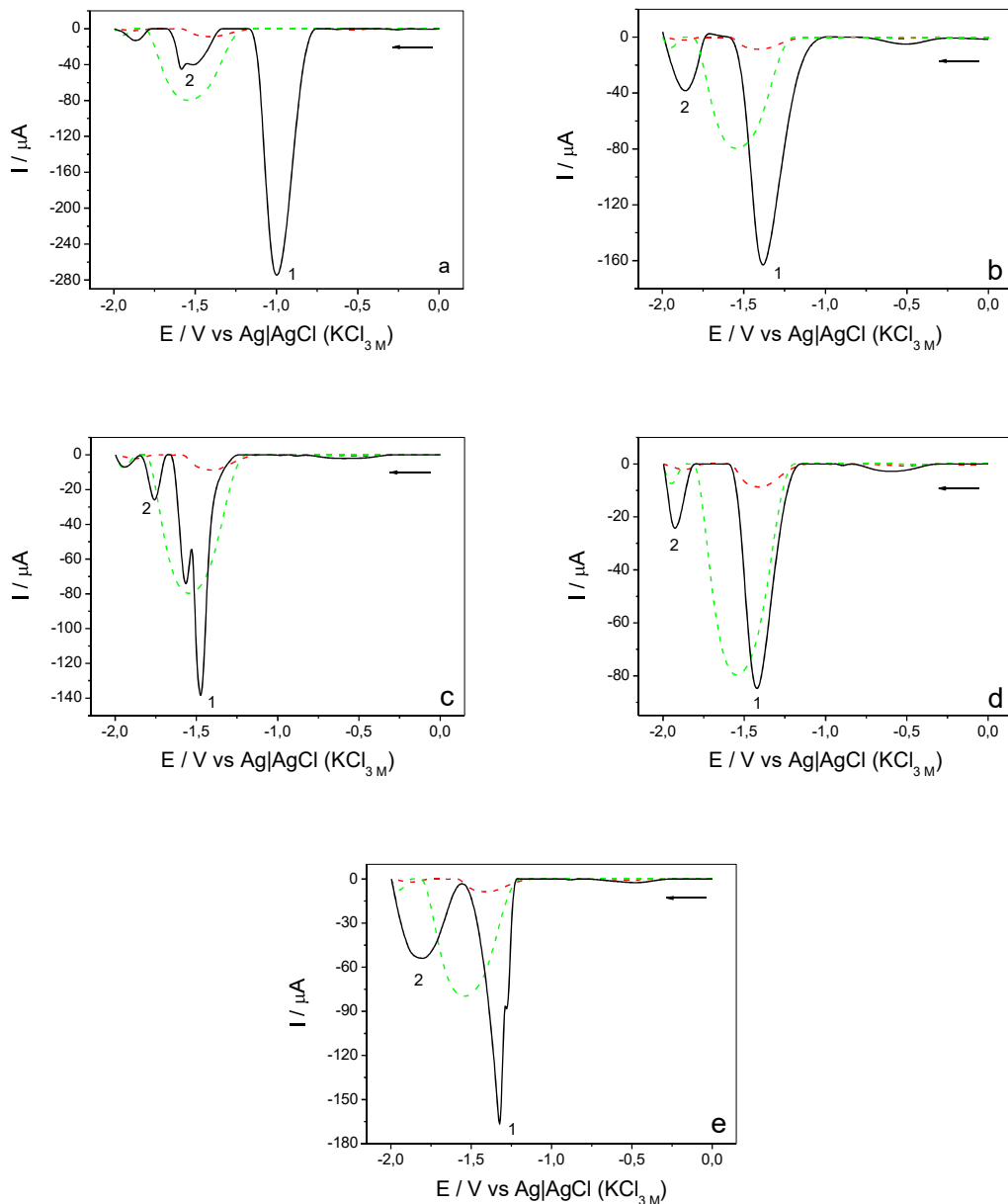


Figura 47. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de HNO_3 nas concentrações (---) $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 2,92$) e (---) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 1,90$) e das soluções de (a) Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (b) Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (c) Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (d) Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e (e) Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; em solução de KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (—) na ausência de soja. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Observa-se na Figura 47 (a) que o ácido nítrico (HNO_3) possui um E_p diferente do E_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} , e que provavelmente o pico 2 do voltamograma da solução do cátion Cu^{2+} com KCl na ausência de soja seja do HNO_3 , pois seus potenciais de pico são semelhantes. Dessa forma, o HNO_3 não interfere na análise voltamétrica do cátion Cu^{2+} e não influencia no valor de intensidade de corrente de

seu pico catódico. Para os outros cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} , isso não acontece, pois, o E_p do pico do HNO_3 é parecido com o E_p dos picos mais intensos (com valor maior de I_p) detectados nos voltamogramas das soluções desses cátions com eletrólito de suporte, os quais foram monitorados nos estudos anteriores e considerados como os picos catódicos dos cátions. Portanto, como pode ser verificado na Figura 47 (b, c, d, e) que o HNO_3 interfere nos valores de I_p e E_p dos picos indicados como 1 encontrados nos voltamogramas das soluções dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} respectivamente.

O valor da I_p do pico encontrado na leitura voltamétrica da solução de HNO_3 é bem próximo ao valor de I_p do pico 1 obtido no voltamograma da solução do cátion Mg^{2+} com KCl, indicando que certamente esse não é o pico catódico do cátion, mas sim o pico do HNO_3 contido na solução padrão, e assim constata-se que o pico de redução do cátion Mg^{2+} é o pico assinalado como 2 na Figura 47 (d). Esse resultado está de acordo com um estudo realizado anteriormente, em que se confirmou os potenciais dos picos dos cátions a partir do aumento da concentração da solução padrão.

Além disso, nota-se na Figura 47 que a I_p do pico do HNO_3 diminuiu consideravelmente no voltamograma vermelho, no qual a concentração da solução do ácido é menor e o valor de pH maior. Dessa maneira, a contribuição do HNO_3 no valor de I_p dos picos dos cátions nos voltamogramas de suas soluções com KCl reduz significativamente em valores de pH maiores, confirmando novamente que as variações da I_p dos picos dos cátions ocorreram por causa da alteração do pH e não por causa da complexação entre os cátions metálicos e os compostos presentes na soja (fitatos).

Realizou-se também análises voltamétricas de soluções de outros ácidos com valores de pH próximos aos valores de pH obtidos das soluções dos cátions com o eletrólito de suporte antes do contato com a soja para averiguar se poderiam ser utilizados para modificar o pH dessas soluções sem que prejudicassem a análise voltamétrica dos cátions.

A Figura 48 apresenta os voltamogramas adquiridos das leituras voltamétricas dos ácidos, onde o voltamograma preto é da solução do ácido nítrico (HNO_3) na concentração $0,01 \text{ molL}^{-1}$ e com o pH medido de 1,90, o voltamograma vermelho é da solução de ácido fosfórico (H_3PO_4) na concentração $0,02 \text{ molL}^{-1}$ e pH 1,89, o voltamograma verde é da solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) na concentração $0,01$

molL⁻¹ e pH 1,80, o azul é da solução de ácido acético (CH₃COOH) na concentração 3,00 molL⁻¹ e pH 1,88 e o rosa é da solução de ácido clorídrico (HCl) na concentração 0,012 molL⁻¹ e pH 1,83. Verifica-se que todos os ácidos analisados reduzem na faixa de potencial de varredura estudada em um potencial de pico bem próximo, e, portanto, também influenciariam no valor de I_p e E_p dos picos encontrados para os cátions metálicos Ca²⁺, Zn²⁺, Mg²⁺ e Fe²⁺.

A partir dessas constatações, verificou-se a necessidade de reestudar o sinal voltamétrico de todos os cátions metálicos (E_p). Adicionalmente, deve-se atentar para o fato da competição entre o aparecimento do pico de redução tanto do ácido, quanto do cátion, no mesmo valor de potencial (ou muito próximo).

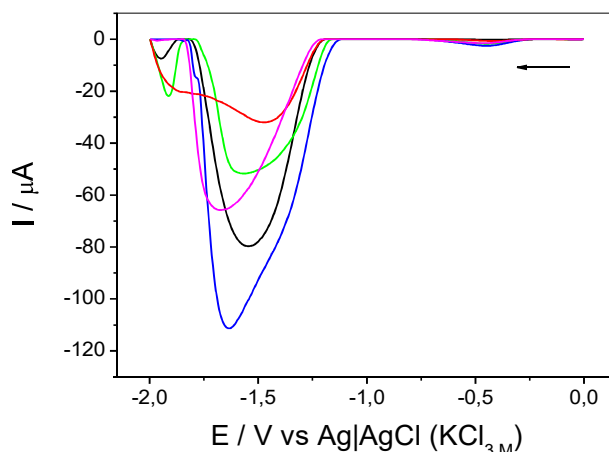


Figura 48. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (—) HNO₃ na concentração 0,01 molL⁻¹ e pH 1,90; (—) H₃PO₄ na concentração 0,02 molL⁻¹ e pH 1,89; (—) H₂SO₄ na concentração 0,01 molL⁻¹ e pH 1,80; (—) CH₃COOH na concentração 3,00 molL⁻¹ e pH 1,88 e (—) HCl na concentração 0,012 molL⁻¹ e pH 1,83. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s⁻¹, amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

4.6 Efeito de adição de sais correspondentes dos cátions no potencial de pico catódico

Os potenciais dos picos detectados nos voltamogramas das soluções dos cátions com KCl variaram notavelmente de um estudo para o outro, essas mudanças possivelmente ocorrem porque para cada estudo foram preparadas novas soluções e isso pode ocasionar pequenas variações nas concentrações dos analitos e nos valores de pH finais das soluções preparadas, outrossim as condições do dia, como

por exemplo a temperatura, podem influenciar. Como já mencionado antes, a variação da rede elétrica do local da análise voltamétrica também interfere nessas medidas. Além da variação do E_p , verificou-se no estudo anterior que o HNO_3 presente nas soluções padrão possui um pico catódico na janela de potencial de varredura estudada, prejudicando a análise dos cátions. Por conseguinte, realizou-se novamente uma confirmação do potencial de pico catódico dos cátions, mas dessa vez ao invés de aumentar a concentração da solução padrão que também possui o HNO_3 , acrescentou-se na solução preparada dos cátions o sal correspondente a cada cátion.

Os sais utilizados nesse experimento foram cloreto de cobre II dihidratado P.A. ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), cloreto de cálcio dihidratado P.A. ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sulfato de zinco heptahidratado P.A. ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), cloreto de magnésio hexahidratado P.A. ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) e cloreto férrico hexahidratado P.A. ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

Os voltamogramas obtidos para os cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} estão representados na Figura 49 (a, b, c, d, e) respectivamente, onde os voltamogramas pretos são das soluções dos cátions metálicos na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e os voltamogramas vermelhos são dessas mesmas soluções após o acréscimo do sal. A massa do sal não foi pesada, sendo diferente em cada caso, por isso o aumento da I_p para cada cátion também foi em proporções desiguais.

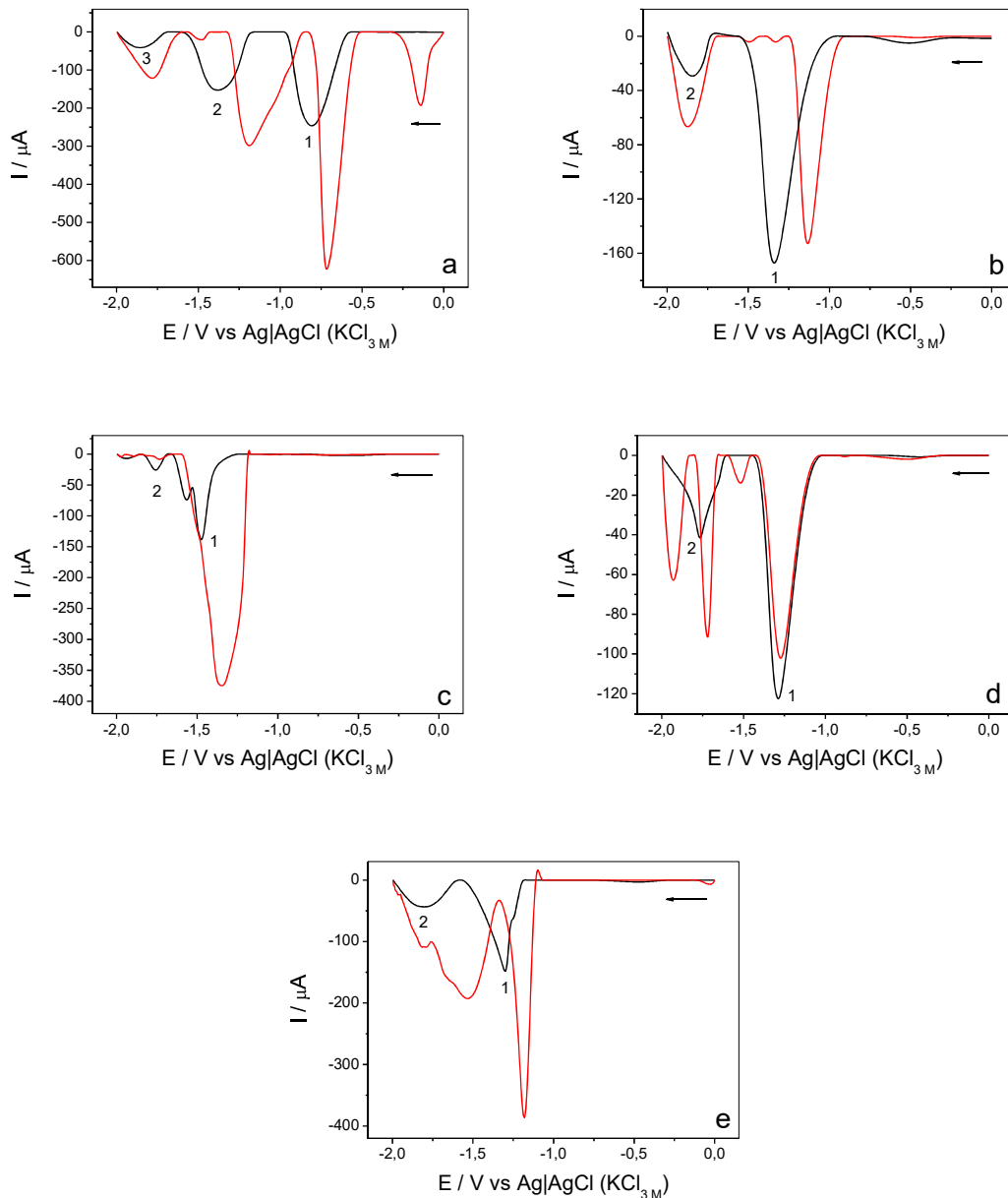


Figura 49. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (a) Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (b) Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (c) Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (d) Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e (e) Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; em solução de KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na (—) ausência e (—) presença do sal. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Na Figura 49 (a) percebe-se que o voltamograma da solução do cátion Cu^{2+} com KCl antes da adição do sal $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ apresentou três picos, após a adição do sal a I_p dos três picos aumentaram e os seus E_p deslocaram um pouco, porém como foi concluído no estudo anterior o pico indicado como 2 pertence ao HNO_3 presente na sua solução padrão. O pico assinalado como 1 com a adição do sal se tornou mais definido e o valor da sua I_p cresceu mais do que os dos outros picos, além disso o pico

3 possui a I_p consideravelmente pequena se comparado ao pico 1, portanto confirma-se que o pico catódico do cátion Cu^{2+} é o pico com E_p ao redor de $-0,850\text{ V}$.

Para a solução do cátion Ca^{2+} com eletrólito de suporte após o acréscimo do sal $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ o pico designado como 1 na Figura 49 (b) deslocou o seu E_p e o valor da I_p diminuiu. Já o valor da I_p do pico 2 aumentou, sugerindo então que o pico 2 é o pico catódico do cátion Ca^{2+} e o pico 1 é apenas o pico do HNO_3 .

Na letra “c” da Figura 49 nota-se que a I_p do pico 1 obtido para a solução do cátion Zn^{2+} com KCl expandiu significativamente na presença do sal $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, desse modo conclui-se que o pico indicado como 1 é o pico catódico do cátion Zn^{2+} , contudo no seu valor de I_p há uma contribuição do pico do HNO_3 , pois eles possuem potenciais de picos semelhantes.

Verifica-se na Figura 49 (d) que após a adição do sal $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ o pico assinalado como 1 da solução do cátion Mg^{2+} com KCl teve seu valor de I_p reduzido, similarmente ao resultado obtido para o cátion Ca^{2+} . Já o pico 2 talvez tenha se dividido em dois picos, mas se tornou mais definido e o seu valor de I_p aumentou, desse modo constata-se que o pico 1 é do HNO_3 e o pico catódico do cátion Mg^{2+} é o pico indicado como 2.

Os valores de I_p dos dois picos detectados no voltamograma da solução do cátion Fe^{2+} com KCl ampliaram consideravelmente após o acréscimo do sal $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ como pode ser visualizado na Figura 49 (e), porém, com a adição do sal foi adicionado o cátion Fe^{3+} , e por esse motivo os potenciais de pico encontrados foram um pouco diferentes. Assim, possivelmente os dois picos obtidos no voltamograma da solução de Fe^{2+} e eletrólito de suporte (KCl) pertencem ao cátion Fe^{2+} , entretanto o valor da I_p do pico designado como 1 possui contribuição do pico do HNO_3 .

Em função da descoberta tardia da influência do ácido no processo redox de complexação dos cátions e compostos presentes na soja, decidiu-se interromper esses estudos e propor outra matriz complexante: a própolis.

4.7 Estudo das soluções dos cátions metálicos com o extrato de própolis

A segunda matriz utilizada nesse trabalho foi a própolis, a qual foi estudada com a finalidade de avaliar a formação de complexos entre alguns de seus compostos,

possivelmente os compostos fenólicos, e os cátions metálicos Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} .

Antes de mais nada realizou-se análises voltamétricas de duas soluções preparadas apenas com o eletrólito de suporte KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e o extrato de própolis. Em uma das soluções adicionou-se $250 \mu\text{L}$ de extrato e na outra $500 \mu\text{L}$. Essas análises foram realizadas para verificar se o extrato de própolis possui algum componente eletroativo que reduz na faixa de potencial de varredura utilizada, podendo interferir nas análises voltamétricas dos cátions.

Os voltamogramas adquiridos das leituras voltamétricas das soluções de KCl com extrato de própolis foram examinados contra o branco, ou seja, foram comparados com o voltamograma da solução de KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A Figura 50 apresenta o voltamograma preto com linha tracejada da solução de KCl, o voltamograma preto com linha contínua da solução de KCl com $250 \mu\text{L}$ de extrato de própolis e o voltamograma vermelho da solução de KCl com $500 \mu\text{L}$ de extrato.

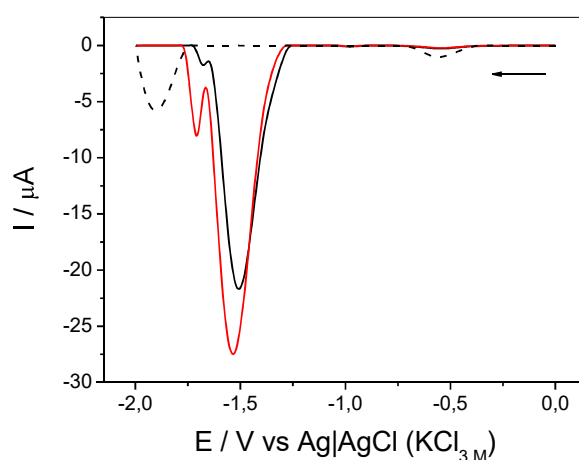


Figura 50. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (---) KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$; (—) KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com $250 \mu\text{L}$ de extrato de própolis e (—) KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com $500 \mu\text{L}$ de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Observa-se na Figura 50 que os voltamogramas da solução de KCl com extrato de própolis apresentaram um pico com E_p em torno de $-1,500 \text{ V}$, o qual possui valor próximo ao valor do E_p do pico da solução de HNO_3 detectado no estudo das soluções dos ácidos. Em vista disso, de acordo com o estudo anterior constata-se que assim como o pico do HNO_3 o pico do extrato de própolis pode influenciar nas análises

voltamétricas dos cátions Zn^{2+} e Fe^{2+} , fazendo com que os valores de I_p encontrados nos picos mais intensos desses cátions não tenham apenas uma relação com a concentração do cátion, mas também do extrato de própolis, e do HNO_3 que está presente nas soluções padrão dos cátions.

No entanto, o pico obtido para o extrato de própolis apresentou valor de I_p consideravelmente pequeno se comparado aos valores de I_p adquiridos nos picos catódicos dos cátions, sendo assim o extrato de própolis influencia no valor da I_p obtida, mas não impede a análise voltamétrica dos cátions.

Na Figura 51 encontra-se a comparação entre os voltamogramas das soluções de KCl com extrato de própolis e os voltamogramas das soluções dos cátions Zn^{2+} e Fe^{2+} com KCl. É possível visualizar a diferença dos valores de I_p obtidos em cada caso. Os voltamogramas pretos com linhas contínuas são das soluções dos cátions com KCl, os voltamogramas pretos com linhas tracejadas são da solução de KCl com 250 μL de extrato de própolis e os voltamogramas vermelhos da solução de KCl com 500 μL de extrato.

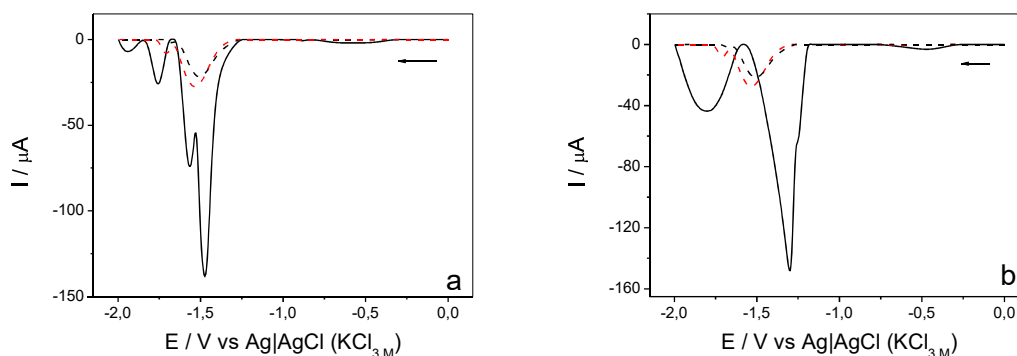


Figura 51. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de (---) KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com 250 μL de extrato de própolis; (---) KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com 500 μL de extrato de própolis e (—) (a) Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e (b) Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

4.7.1 Estudo da solução do cátion Cu^{2+} com o extrato de própolis

Primeiramente realizou-se o estudo do extrato de própolis com a solução do cátion Cu^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, pois conforme foi concluído nos estudos anteriores o HNO_3 não interfere no pico catódico do cátion Cu^{2+} e da mesma maneira, certamente o pico encontrado na solução de KCl

com extrato de própolis também não vai interferir. Além do mais o cátion Cu^{2+} apresentou melhor estabilidade em relação ao seu potencial de pico catódico e às intensidades de correntes obtidas nas leituras voltamétricas anteriores.

Nesse estudo adicionou-se 250 μL de extrato de própolis na solução preparada de Cu^{2+} com KCl, borbulhou-se o gás nitrogênio por um curto tempo e fez-se as análises voltamétricas imediatamente após colocar o gás e depois de 30 minutos e uma hora. Em seguida, adicionou-se mais 250 μL e repetiu-se o experimento.

Quando o gás nitrogênio foi borbulhado na solução do cátion Cu^{2+} com KCl na presença de extrato de própolis ela se tornou mais límpida, portanto, eventualmente ocorreu alguma reação quando o gás misturou melhor a solução.

A Figura 52 apresenta os voltamogramas adquiridos nas leituras voltamétricas da solução de Cu^{2+} e KCl antes e após a adição do extrato de própolis, na Figura 52 (a) a quantidade de extrato acrescentada foi de 250 μL e na Figura 52 (b) a quantidade total de extrato acrescentada foi de 500 μL . Os voltamogramas pretos são da solução na ausência de soja, os voltamogramas vermelhos são da solução logo após a adição do extrato, os verdes são da solução após 30 minutos que o extrato foi adicionado e os azuis são da solução após uma hora da adição do extrato.

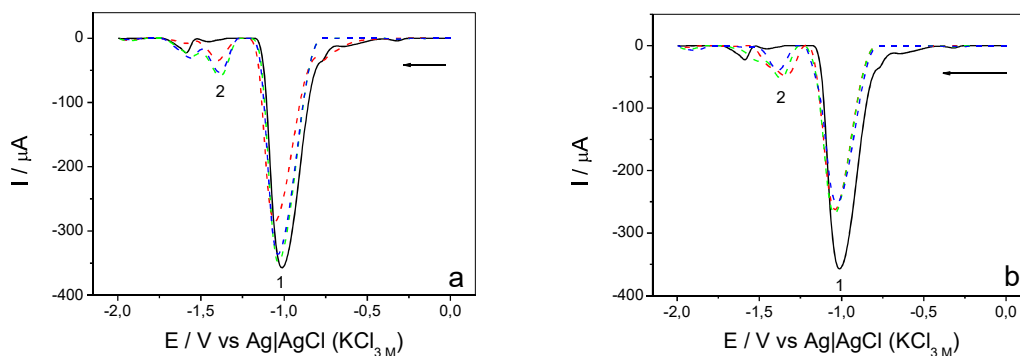


Figura 52. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} (a) (—) na ausência de extrato de própolis e (---) imediatamente; (---) 30 minutos e (---) uma hora após adicionar 250 μL de extrato de própolis e (b) (—) na ausência de extrato de própolis e (---) imediatamente; (---) 30 minutos e (---) uma hora após adicionar 500 μL de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Verifica-se na Figura 52 (a) que quando o extrato de própolis foi adicionado na solução a I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} (pico indicado como 1) diminuiu consideravelmente, contudo em 30 minutos e uma hora após a adição do extrato a I_p

aumentou novamente, sugerindo que a reação que ocorre entre o cátion Cu^{2+} e o extrato de própolis necessita de um tempo para entrar em equilíbrio, e que a quantidade de 250 μL adicionada de extrato foi insuficiente para demonstrar se ocorre a complexação entre os cátions Cu^{2+} e os compostos do extrato de própolis.

Na Figura 52 (b) onde foi acrescentado mais 250 μL de extrato de própolis (totalizando 500 μL de extrato adicionado) percebe-se que a I_p do pico do cátion Cu^{2+} (pico 1) reduziu e não ampliou com o tempo, indicando uma possível complexação entre o cátion Cu^{2+} e os compostos do extrato de própolis (polifenóis).

Com o objetivo de certificar se realmente acontece a complexação monitorou-se o pH da solução, isto é, mediu-se seu valor antes e após acrescentar o extrato, e os valores obtidos foram: pH 1,87 na ausência de extrato e pH 1,91 na presença de extrato. A diferença entre os valores de pH foi pequena, podendo até ser causada por erros na hora da leitura, sendo assim uma variação aceitável, em virtude disso pode-se concluir que o pH não interfere como interferiu para as análises com a soja, e que a complexação entre o cátion Cu^{2+} e os compostos do extrato de própolis ocorre efetivamente.

Além disso, nota-se que o pico detectado na leitura voltamétrica da solução contendo apenas KCl e extrato de própolis, pico esse que seria de algum componente do extrato, também apareceu nos voltamogramas da solução de Cu^{2+} com KCl após a adição do extrato (pico assinalado como 2), porém com o E_p um pouco deslocado, mas mesmo assim diferente do E_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} . Portanto, o pico do extrato de própolis não prejudica a análise voltamétrica do cátion Cu^{2+} .

4.7.2 Otimização do volume de extrato de própolis adicionado à solução do cátion Cu^{2+}

Visando a ampliação da quantidade de complexos formados entre os cátions metálicos e os componentes do extrato de própolis realizou-se a otimização do volume de extrato adicionado às soluções dos cátions com KCl.

Nesse experimento o extrato de própolis foi adicionado na preparação da solução, ou seja, preparou-se soluções do cátion na concentração 0,50 mmol L^{-1} e KCl na concentração 0,05 mol L^{-1} com volumes distintos de extrato, os quais foram 250 μL , 500 μL , 750 μL e 1.000 μL . Optou-se por não colocar mais que 1.000 μL de extrato porque o volume final da solução preparada foi de 10,00 mL, e na presença

de muito extrato de própolis a célula eletroquímica pode não identificar o cátion, afetando assim a análise voltamétrica desse. Com a solução preparada borbulhou-se o gás nitrogênio e depois esperou-se 30 minutos para fazer a análise voltamétrica com o intuito de garantir que reação entre os cátions e os compostos do extrato de própolis aconteça.

Realizou-se esse estudo apenas com o cátion Cu^{2+} , pois foi o cátion utilizado no estudo anterior no qual já se constatou que ocorre a associação desse com os compostos do extrato de própolis (polifenóis).

A Figura 53 exibe o voltamograma preto obtido da análise voltamétrica da solução de Cu^{2+} com KCl na ausência de extrato de própolis, o voltamograma vermelho adquirido da solução de Cu^{2+} com KCl com 250 μL de extrato, o verde da solução com 500 μL de extrato, o azul da solução com 750 μL de extrato e o voltamograma rosa da solução com 1.000 μL de extrato. Verifica-se que com 250 μL de extrato a I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} não diminuiu, mas para quantidades maiores de extrato o valor de I_p foi reduzindo proporcionalmente, quanto mais extrato presente na solução menor o valor de I_p obtido nas leituras voltamétricas.

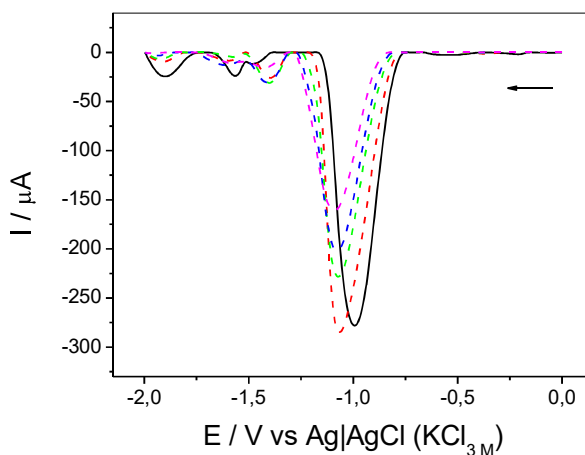


Figura 53. Voltamogramas de pulso diferencial das soluções de Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} (—) na ausência e na presença de (---) 250 μL ; (---) 500 μL ; (---) 750 μL e (---) 1.000 μL de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Para averiguar se não há alteração no valor de pH da solução de Cu^{2+} e KCl com a presença do extrato de própolis mediu-se o pH de todas as soluções preparadas, as quais possuíam quantidades diferentes de extrato, e os valores

encontrados estão indicados na Tabela 14. As variações dos valores de pH foram pequenas, por conseguinte, variações admissíveis.

Tabela 14. Valores de pH das soluções do cátion Cu^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência e presença de diferentes quantidades de extrato de própolis.

	Ausência de extrato	250 μL de extrato	500 μL de extrato	750 μL de extrato	1.000 μL de extrato
pH	1,88	1,88	1,90	1,87	1,90

No gráfico da média das intensidades de corrente de pico com seus desvios padrão versus a quantidade de extrato de própolis na solução de Cu^{2+} e KCl indicado na Figura 54 identifica-se melhor as diferenças entre os valores de I_p para cada quantidade distinta de extrato presente na solução. A solução de Cu^{2+} com KCl e 1.000 μL de extrato de própolis apresentou o menor valor de I_p , logo, uma maior quantidade de cátions complexou com os componentes do extrato de própolis. Em virtude disso 1.000 μL de extrato de própolis foi a quantidade escolhida para ser utilizada nos próximos estudos.

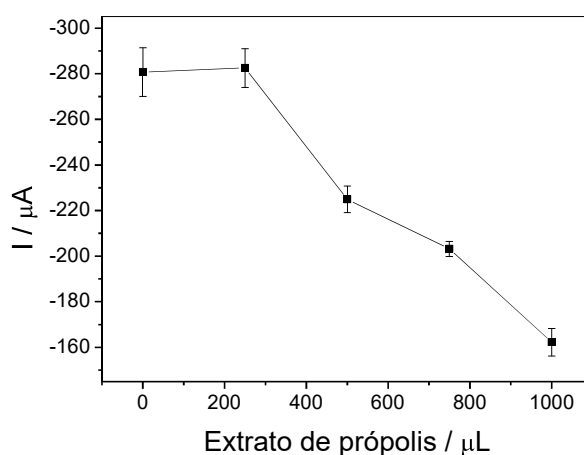


Figura 54. Variação da intensidade de corrente de pico com a quantidade de extrato de própolis adicionada na solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Na Figura 55 encontra-se apenas os voltamogramas adquiridos das medidas voltamétricas da solução de Cu^{2+} com KCl na ausência e presença de 1.000 μL de extrato de própolis, quantidade escolhida para ser utilizada nos estudos posteriores.

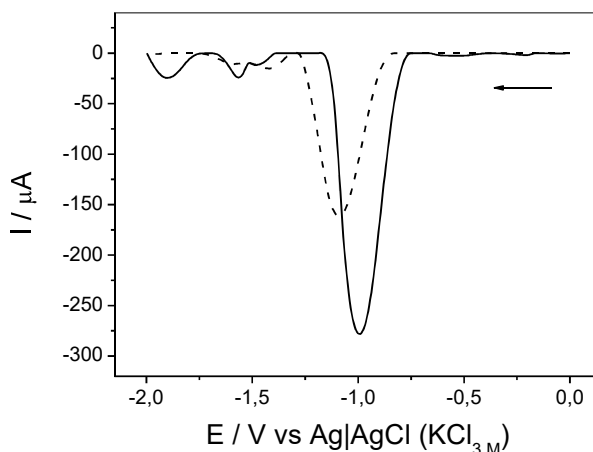


Figura 55. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (—) na ausência e (---) na presença de $1.000 \mu\text{L}$ de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Calculou-se a porcentagem de variação de potencial de pico e da intensidade de corrente do pico catódico do cátion Cu^{2+} semelhantemente ao cálculo realizado no estudo das soluções dos cátions metálicos com a soja. Dessa forma, comparou-se as médias da solução com ausência e presença de extrato de própolis, sendo o valor médio de E_p e I_p de antes do contato com a soja 100% , o valor médio de E_p e I_p da solução depois do contato com a soja $X\%$ e a variação de E_p e I_p $100\% - X\%$.

Os valores de E_p e I_p da solução do cátion Cu^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com o eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ estão indicados na Tabela 15, bem como as médias calculadas e os seus desvios padrão. A Tabela 16 mostra que houve um deslocamento de potencial de pico de $9,09\%$, valor consideravelmente pequeno, e também evidencia o resultado da variação das intensidades de corrente, o qual foi de $42,22\%$, sugerindo que algum composto presente no extrato de própolis, possivelmente polifenóis, associou-se ao cátion Cu^{2+} e que a metodologia aplicada é eficiente na avaliação desse efeito complexante.

Tabela 15. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Cu^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 μL de extrato de própolis.

Medidas	Ausência de extrato		Medidas	Presença de extrato	
	E_p (V)	I_p (μA)		E_p (V)	I_p (μA)
1	-0,9910	-278,1	1	-1,094	-161,4
2	-1,006	-292,5	2	-1,099	-156,7
3	-1,006	-271,6	3	-1,084	-168,6
Média:	-1,001	-280,7	Média:	-1,092	-162,2
Desvio padrão:	0,0087	10,7	Desvio padrão:	0,008	6,0

Tabela 16. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} na ausência e presença de 1.000 μL de extrato de própolis.

	Ausência de extrato	Presença de extrato	Variação (%)
Potencial médio (V)	-1,001	-1,092	9,09
Corrente média (μA)	-280,7	-162,2	42,22

4.7.3 Estudo das soluções dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} com o extrato de própolis

Realizou-se também o estudo das soluções dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} na presença de extrato de própolis com a finalidade de certificar se ocorre a complexação entre esses cátions e os compostos do extrato, assim como acontece para o cátion Cu^{2+} .

Nesse estudo as soluções que continham o extrato de própolis foram preparadas com os cátions na concentração 0,50 mmol L^{-1} , KCl na concentração 0,05 mol L^{-1} e 1.000 μL de extrato. Depois do preparo borbulhou-se o gás nitrogênio na solução e após 30 minutos realizou-se as leituras voltamétricas.

Os gráficos obtidos nas análises voltamétricas das soluções dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} estão representados na Figura 56 (a, b, c, d) respectivamente, nas quais os voltamogramas com linhas contínuas são das soluções dos cátions na concentração 0,50 mmol L^{-1} com o eletrólito de suporte na concentração 0,05 mol L^{-1} e os voltamogramas com linhas tracejadas são das soluções dos cátions na

concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com o eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e com $1.000 \text{ }\mu\text{L}$ de extrato de própolis.

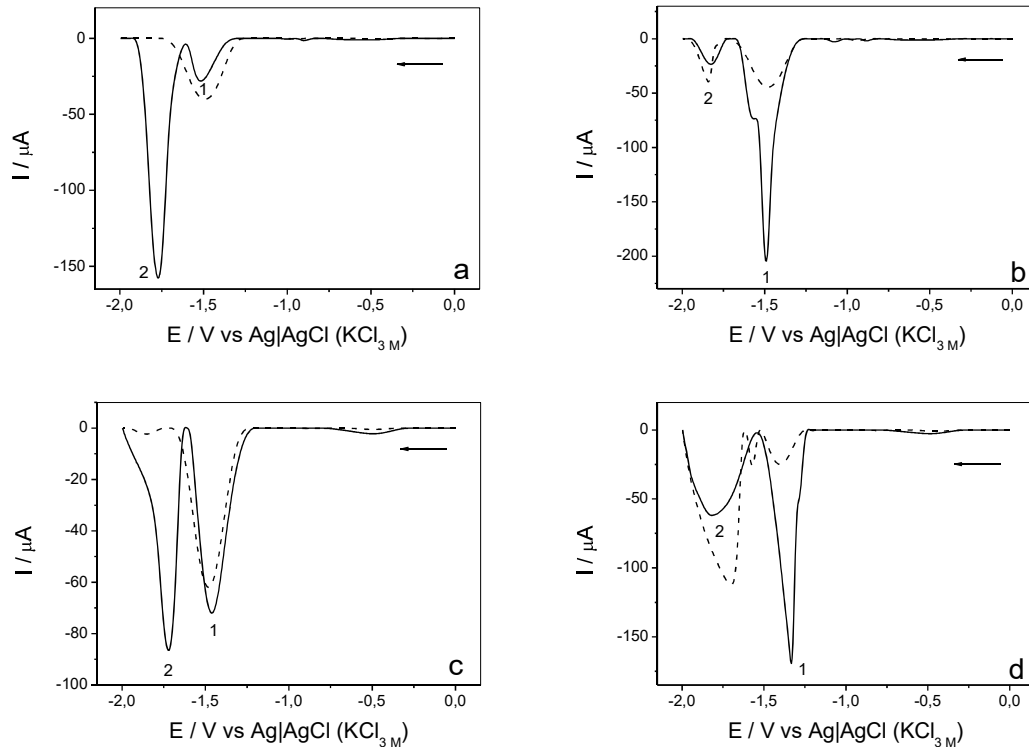


Figura 56. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de (a) Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (b) Zn^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; (c) Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e (d) Fe^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$; em solução de KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ (—) na ausência e (---) na presença de $1.000 \text{ }\mu\text{L}$ de extrato de própolis. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Observa-se na Figura 56 (a) que o voltamograma adquirido para a solução do cátion Ca^{2+} com KCl na ausência de extrato de própolis é diferente dos voltamogramas obtidos nos estudos anteriores, bem como o voltamograma da solução do cátion Mg^{2+} com KCl representado na Figura 56 (c). Em ambos os voltamogramas os picos indicados como 2 que anteriormente foram confirmados como os picos catódicos dos cátions apresentaram I_p maior que os picos assinalados como 1, os quais são os picos do HNO_3 , ácido presente nas soluções padrões dos cátions. Nos outros voltamogramas apresentados nesse trabalho os picos do HNO_3 possuem I_p maior do que os picos dos cátions.

Para confirmar se não ocorreu erros na preparação das soluções ou nas leituras voltamétricas dessas, preparou-se mais duas soluções em dias diferentes

tanto de Ca^{2+} com KCl quanto de Mg^{2+} com KCl e realizou-se suas análises voltamétricas.

Na Figura 57 estão os voltamogramas obtidos, os quais na letra “a” são de soluções do cátion Ca^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com o KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, e na letra “b” são de soluções do cátion Mg^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com o KCl na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções representadas pelos voltamogramas pretos foram preparadas e lidas dia 05/10/2016, as soluções dos voltamogramas vermelhos foram preparadas e lidas dia 11/10/2016 e as soluções dos voltamogramas verdes dia 19/10/2016. Percebe-se que apesar dos valores de E_p e I_p variarem de um voltamograma para o outro, os picos dos cátions (picos designados como 2) possuem os valores de I_p maiores que o os valores de I_p do pico do HNO_3 (pico 1) em todos os voltamogramas. Essa mudança ocorreu após o fusível do potenciostato utilizado nas análises voltamétricas ter queimado e ter sido trocado, essa troca possivelmente forneceu uma maior sensibilidade ao potenciostato, que passou a detectar melhor os cátions.

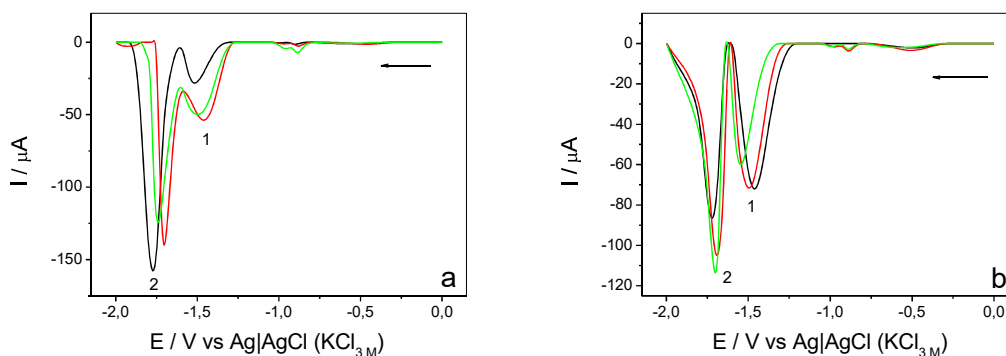


Figura 57. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de (a) Ca^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$; (b) Mg^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ preparadas e lidas dia (—) 05/10/2016 (—), 11/10/2016 e (—) 19/10/2016. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Desse modo, verifica-se na Figura 56 (a) e (c) que os cátions Ca^{2+} e Mg^{2+} respectivamente associam com os componentes do extrato de própolis, formando assim os complexos, pois os valores de I_p dos picos catódicos dos cátions (picos assinalados como 2) diminuiriam consideravelmente nos voltamogramas das suas soluções na presença de extrato.

O valor da I_p do pico catódico do cátion Zn^{2+} (pico indicado como 1) também reduziu significativamente no voltamograma da solução do cátion com KCl na

presença de extrato de própolis da Figura 56 (b), no entanto detectou-se um pico nesse voltamograma, e como mencionado anteriormente no valor da I_p desse pico há uma influência do valor da I_p do pico do extrato de própolis que possui o mesmo E_p que o pico do cátion Zn^{2+} . Embora esse pico com I_p considerável tenha sido encontrado, pode-se afirmar que ocorreu a complexação entre o cátion Zn^{2+} e os componentes do extrato de própolis.

Para o cátion Fe^{2+} a Figura 56 (d) mostra que no voltamograma da solução do cátion com KCl e extrato de própolis o valor de I_p do pico assinalado como 1 diminuiu enquanto o valor de I_p do pico 2 aumentou, em vista disso é possível concluir pelo comportamento do pico 1 que os cátions Fe^{2+} complexam com algum composto do extrato de própolis (polifenóis), contudo assim como para o cátion Zn^{2+} o pico do extrato de própolis interfere na análise, contribuindo para o valor da I_p do pico encontrado na solução na presença de extrato. Já para o pico 2 verifica-se que não há complexação, ocorre uma reação diferente que faz seu valor de I_p aumentar.

Para certificar se o que estava ocorrendo entre os cátions e o extrato de própolis era mesmo complexação e não uma influência da alteração do valor do pH da solução, mediu-se o pH das soluções dos cátions na ausência e presença de 1.000 μ L de extrato. Na Tabela 17 estão os valores de pH encontrados, verifica-se que as alterações são pequenas, portanto o pH não influencia na variação da I_p dos picos catódicos dos cátions.

Tabela 17. Valores de pH das soluções dos cátions na concentração 0,50 mmol L⁻¹ com eletrólito de suporte na concentração 0,05 mol L⁻¹ na ausência e presença de 1.000 μ L de extrato de própolis.

Cátions	Ausência de	Presença de
	extrato de própolis	extrato de própolis
	pH	pH
Ca^{2+}	2,09	2,20
Zn^{2+}	1,84	1,91
Mg^{2+}	2,41	2,45
Fe^{2+}	1,97	1,97

Além disso, calculou-se a porcentagem de variação de potencial de pico e da intensidade de corrente do pico catódico dos cátions Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} da mesma maneira que para o cátion Cu^{2+} .

No voltamograma da solução do cátion Ca^{2+} com KCl na presença de extrato de própolis não se detectou um pico com E_p próximo ao do pico catódico do cátion encontrado no voltamograma da solução na ausência de extrato, apenas detectou-se o pico do extrato de própolis, em virtude disso os valores de I_p das três medidas voltamétricas realizadas para a solução na presença de extrato foram coletados no valor médio de E_p calculado para o pico catódico do cátion adquirido nos voltamogramas da solução na ausência de extrato.

Os valores de E_p e de I_p das leituras voltamétricas feitas das soluções do cátion Ca^{2+} com eletrólito de suporte KCl na ausência e na presença de extrato de própolis estão representados na Tabela 18, bem como as médias calculadas e o desvio padrão respectivo. Tais valores são para o pico marcado como 2 na Figura 56 (a). Na Tabela 19 encontra-se a variação das intensidades de correntes, da qual o valor obtido foi de 99,95%. Esse resultado relevante mostrou que o extrato de própolis possui alto potencial de complexação com o cátion Ca^{2+} . Não houve variação do potencial de pico porque como explicado acima utilizou-se o valor médio de E_p do pico do cátion encontrado na solução na ausência de extrato para pegar os valores de I_p da solução na presença de extrato.

Tabela 18. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Ca^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 μL de extrato de própolis.

Medidas	Ausência de extrato		Medidas	Presença de extrato	
	E_p (V)	I_p (μA)		E_p (V)	I_p (μA)
1	-1,763	-156,6	1	-1,772	-0,07013
2	-1,782	-154,7	2	-1,772	-0,08163
3	-1,772	-156,0	3	-1,772	-0,08163
Média:	-1,772	-155,8	Média:	-1,772	-0,07780
Desvio padrão:	0,010	1,0	Desvio padrão:	0,008	0,00664

Tabela 19. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Ca^{2+} na ausência e presença de 1.000 μ L de extrato de própolis.

	Ausência de extrato	Presença de extrato	Variação (%)
Potencial médio (V)	-1,772	-1,772	---
Corrente média (μ A)	-155,8	-0,07780	99,95

Na Tabela 20 estão apresentados os valores de E_p e I_p do pico do cátion Zn^{2+} que está indicado como 1 na Figura 56 (b), bem como as médias calculadas e os desvios padrão. Na Tabela 21 encontra-se o resultado da variação de E_p e I_p da solução do cátion Zn^{2+} com eletrólito de suporte na ausência e na presença de extrato de própolis. O E_p variou 0,47%, variação expressivamente pequena, já a I_p variou 77,57% valor bastante significativo, indicando que algum componente do extrato de própolis complexou com os cátions Zn^{2+} . Esse valor de variação da I_p possivelmente é maior já que o pico do extrato de própolis influenciou nos valores de I_p adquiridos para o pico detectado no voltamograma da solução do cátion com KCl e extrato de própolis.

Tabela 20. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Zn^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 μ L de extrato de própolis.

Medidas	Ausência de extrato		Medidas	Presença de extrato	
	E_p (V)	I_p (μ A)		E_p (V)	I_p (μ A)
1	-1,504	-197,7	1	-1,479	-44,90
2	-1,489	-204,5	2	-1,479	-44,57
3	-1,470	-194,4	3	-1,484	-44,35
Média:	-1,488	-198,9	Média:	-1,481	-44,61
Desvio padrão:	0,017	5,2	Desvio padrão:	0,003	0,28

Tabela 21. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Zn^{2+} na ausência e presença de 1.000 μ L de extrato de própolis.

	Ausência de extrato	Presença de extrato	Variação (%)
Potencial médio (V)	-1,488	-1,481	0,47
Corrente média (μ A)	-198,9	-44,61	77,57

A Tabela 22 mostra os valores de E_p e I_p para o pico indicado como 2 na Figura 56 (c) do cátion Mg^{2+} obtidos nas leituras realizadas da solução do cátion e eletrólito de suporte com e sem extrato de própolis, assim como as médias das medidas e seus desvios padrão. Na Tabela 23 estão os resultados das variações de E_p e I_p . Verifica-se que houve um deslocamento de potencial de pico de 7,55%, valor relativamente pequeno, e que a variação da intensidade de corrente de pico foi alta de 97,11%, confirmando a complexação entre os cátions Mg^{2+} e os componentes do extrato de própolis.

Tabela 22. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Mg^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 μ L de extrato de própolis.

Medidas	Ausência de extrato		Medidas	Presença de extrato	
	E_p (V)	I_p (μ A)		E_p (V)	I_p (μ A)
1	-1,724	-84,24	1	-1,836	-2,877
2	-1,719	-86,98	2	-1,851	-2,293
3	-1,724	-85,69	3	-1,870	-2,268
Média:	-1,722	-85,64	Média:	-1,852	-2,479
Desvio padrão:	0,003	1,37	Desvio padrão:	0,017	0,345

Tabela 23. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Mg^{2+} na ausência e presença de 1.000 μ L de extrato de própolis.

	Ausência de extrato	Presença de extrato	Variação (%)
Potencial médio (V)	-1,722	-1,852	7,55
Corrente média (μ A)	-85,64	-2,479	97,11

Para o cátion Fe^{2+} calculou-se a variação de E_p e I_p para o pico indicado como 1 na Figura 56 (d). A Tabela 24 apresenta os valores de E_p e I_p de cada medida, as médias calculadas e seus respectivos desvios padrão. As variações dos potenciais de pico e intensidades de corrente de pico estão indicadas na Tabela 25. Nota-se que o deslocamento do potencial de pico foi de 5,25%, assim como para os outros cátions um valor consideravelmente baixo. A variação de intensidade de corrente resultou em um valor de 85,22%, esse valor provavelmente é maior, pois o pico do extrato de própolis contribui no valor de I_p do pico encontrado no voltamograma da solução do

cátion Fe^{2+} com KCl na presença de extrato, semelhantemente ao caso do cátion Zn^{2+} . Mesmo assim, conclui-se que a maioria dos cátions Fe^{2+} se associam com algum composto presente no extrato de própolis.

Tabela 24. Valores de potencial de pico (E_p) e intensidade de corrente de pico (I_p) obtidos para a solução do cátion Fe^{2+} utilizando-se a análise voltamétrica feita pela técnica DPV na ausência e presença de 1.000 μL de extrato de própolis

Medidas	Ausência de extrato		Medidas	Presença de extrato	
	E_p (V)	I_p (μA)		E_p (V)	I_p (μA)
1	-1,338	-160,0	1	-1,401	-26,07
2	-1,328	-175,1	2	-1,406	-23,41
3	-1,333	-168,9	3	-1,401	-25,00
Média:	-1,333	-168,0	Média:	-1,403	-24,83
Desvio padrão:	0,005	7,6	Desvio padrão:	0,003	1,34

Tabela 25. Variação de E_p e I_p do pico catódico do cátion Fe^{2+} na ausência e presença de 1.000 μL de extrato de própolis.

	Ausência de extrato	Presença de extrato	Variação (%)
Potencial médio (V)	-1,333	-1,403	5,25
Corrente média (μA)	-168,0	-24,83	85,22

4.8 Estudo da descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis

A utilização de ultrassom e aquecimento em micro-ondas foram os tratamentos aplicados nesse estudo com o propósito de descomplexar os cátions metálicos de compostos presentes no extrato de própolis, para a liberação dos cátions. Para que a descomplexação seja confirmada o valor adquirido da I_p do pico catódico do cátion após os tratamentos tem que ser maior que o obtido para a solução do cátion com KCl e extrato de própolis sem aplicação dos tratamentos.

Para esse estudo o cátion Cu^{2+} foi novamente escolhido para ser analisado pois os picos do extrato de própolis e do HNO_3 presente na sua solução padrão não prejudicam sua medida voltamétrica, e também pela facilidade nas análises voltamétricas.

Realizou-se todas as leituras voltamétricas pela técnica DPV, e essas foram feitas em triplicata. Os voltamogramas representados nas figuras foram das leituras que obtiveram os valores de potencial de pico e intensidade de corrente de pico mais próximos da média das três medidas realizadas.

Ademais, monitorou-se o pH, ou seja, foram feitas as medidas do pH de todas as soluções na ausência e presença de extrato de própolis, e após empregar os tratamentos.

4.8.1 Descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis por ultrassom

No tratamento aplicando ultrassom a solução preparada com o cátion, o eletrólito de suporte e 1.000 µL de extrato de própolis foi separada em béqueres e levada ao banho ultrassônico por tempos diferentes, os quais foram 10, 50 e 90 minutos.

A Figura 58 apresenta os voltamogramas adquiridos, nos quais o voltamograma preto com linha contínua é da solução do cátion Cu^{2+} na concentração 0,50 mmol L⁻¹ com eletrólito de suporte na concentração 0,05 mol L⁻¹ sem extrato de própolis, o voltamograma preto com linha tracejada foi da solução do cátion com KCl e com o extrato de própolis sem aplicar ultrassom, já os voltamogramas tracejados coloridos são da solução na presença de extrato após diferentes instantes de tempo no banho ultrassônico.

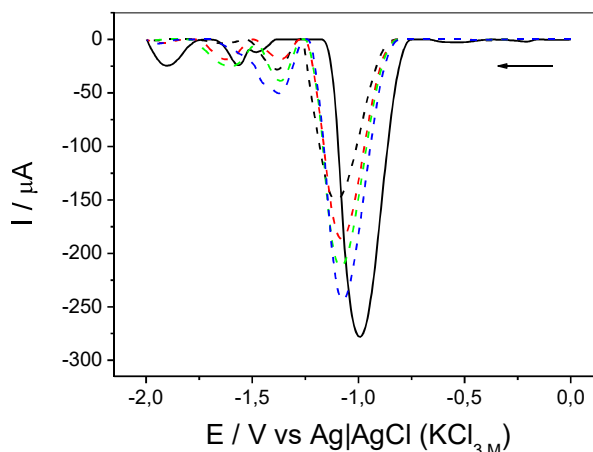


Figura 58. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na (—) ausência e (---) presença de $1.000 \mu\text{L}$ de extrato de própolis sem ultrassom, e na presença de $1.000 \mu\text{L}$ de extrato de própolis com (---) 10 minutos; (---) 50 minutos e (---) 90 minutos de exposição ao ultrassom. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Verifica-se na Figura 58 que a I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} diminuiu consideravelmente no voltamograma da solução de Cu^{2+} e KCl com $1.000 \mu\text{L}$ de extrato de própolis, mas após a solução ser levada ao banho ultrassônico a I_p do pico do cátion aumentou de acordo com o instante de tempo que a solução permaneceu no banho ultrassônico, ou seja, quanto mais tempo a solução permaneceu no banho ultrassônico maior foi o valor de I_p obtido nas leituras voltamétricas para o pico do cátion Cu^{2+} . Portanto é possível afirmar que após a aplicação de ultrassom houve desassociação de cátions Cu^{2+} dos compostos do extrato de própolis (polifenóis), liberando-os em solução.

As variações das intensidades de corrente de pico de acordo com o tempo de exposição no banho ultrassônico da solução do cátion Cu^{2+} com KCl e extrato de própolis estão demonstradas na Figura 59, na qual construiu-se o gráfico das médias das intensidades de corrente de pico e seus respectivos desvios padrão versus o tempo de permanência no banho ultrassônico. Através do gráfico é possível visualizar melhor o aumento das I_p , confirmando assim a descomplexação dos cátions dos compostos presentes no extrato de própolis e indicando que o tratamento aplicando ultrassom foi eficiente.

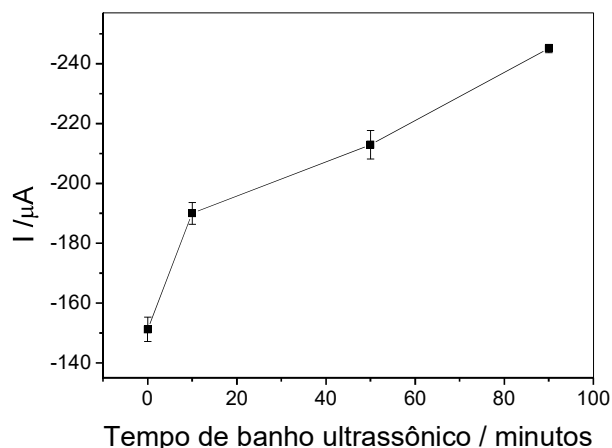


Figura 59. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de exposição em banho ultrassônico da solução de Cu^{2+} $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ e KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ com $1.000 \text{ }\mu\text{L}$ de extrato de própolis.

Além disso, o pH das soluções foi monitorado para comprovar que não houve uma mudança considerável do seu valor que poderia interferir nas análises voltamétricas e nos resultados obtidos. Os valores de pH obtidos estão representados na Tabela 26. Nota-se que os valores de pH tiveram poucas alterações, que são variações não controladas, e que o pH da solução do cátion com KCl na ausência do extrato de própolis possui o pH bem próximo ao da solução do cátion com KCl na presença de extrato após 10 minutos de banho ultrassônico, mas os valores de I_p obtidos nos seus voltamogramas são claramente diferentes, portanto o pH não influencia na variação da I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} .

Tabela 26. Valores de pH das soluções do cátion Cu^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência e presença de $1.000 \text{ }\mu\text{L}$ de extrato de própolis e na presença de extrato após o tratamento por ultrassom.

	Ausência de extrato		Presença de extrato		
	Sem banho ultrassônico	Sem banho ultrassônico	10 minutos de banho ultrassônico	50 minutos de banho ultrassônico	90 minutos de banho ultrassônico
pH	1,87	1,92	1,88	1,85	1,82

4.8.2 Descomplexação dos cátions metálicos e o extrato de própolis por aquecimento em micro-ondas

No tratamento por aquecimento no forno micro-ondas a solução do cátion Cu^{2+} preparada com o eletrólito de suporte e 1.000 μL de extrato de própolis foi separada em béqueres que foram levados ao micro-ondas por tempos distintos, os quais foram 20, 40 e 60 segundos.

A Figura 60 demonstra os voltamogramas da solução do cátion Cu^{2+} com eletrólito de suporte nas concentrações 0,50 mmol L^{-1} e 0,05 mol L^{-1} respectivamente, com e sem extrato de própolis, e após a aplicação do tratamento por aquecimento em micro-ondas. O voltamograma preto com linha contínua representa a resposta da medida voltamétrica da solução na ausência de extrato, o voltamograma preto com linha tracejada é da solução na presença do extrato, e os voltamogramas com linhas tracejadas coloridas são da solução na presença de extrato após ser levada ao micro-ondas por instantes de tempos diferentes.

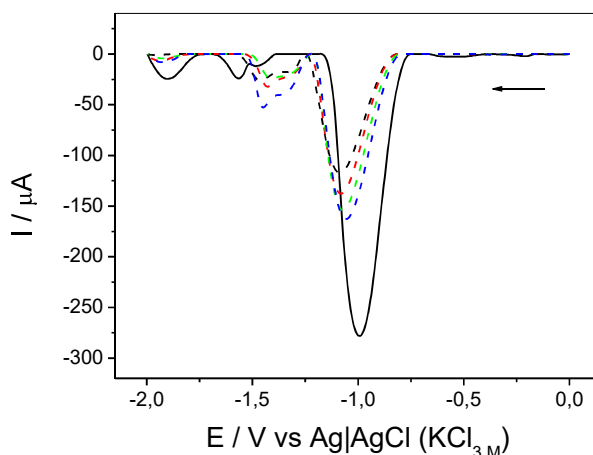


Figura 60. Voltamogramas de pulso diferencial da solução de Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} na (—) ausência e (---) presença de 1.000 μL de extrato de própolis sem aquecimento em micro-ondas, e na presença de 1.000 μL de extrato de própolis com (---) 20 segundos; (---) 40 segundos e (---) 60 segundos de aquecimento em micro-ondas. Condições: velocidade de varredura de potencial 5 mV s^{-1} , amplitude de pulso 150 mV e tempo de pulso 10 ms em eletrodo GCE.

Na Figura 60 percebe-se que semelhantemente ao tratamento por ultrassom, no tratamento por aquecimento em micro-ondas o valor de I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} também reduziu no voltamograma da solução de Cu^{2+} e KCl com 1.000

μL de extrato de própolis e após a solução ser levada ao micro-ondas a I_p do pico do cátion ampliou. O aumento do valor da I_p teve uma relação direta com o tempo de permanência da solução no micro-ondas, isto é, quanto maior o tempo, maior o valor de I_p apresentado no voltamograma. No entanto, o crescimento do valor da I_p foi menor se comparado ao tratamento por ultrassom, isso pode ter ocorrido porque os instantes de tempo que a solução permaneceu no micro-ondas não foram muito diferentes entre si, uma vez que após 60 segundos de permanência da solução no micro-ondas essa entrava em ebulição, suspendia o filme de PVC e entornava. Portanto, o limite de tempo de aquecimento em micro-ondas foi de 60 segundos. Apesar disso, constatou-se que o tratamento sob aquecimento em micro-ondas foi eficiente pois ocorreu a descomplexação de complexos formados entre o cátion Cu^{2+} e os compostos do extrato de própolis (polifenóis), liberando cátions Cu^{2+} em solução.

Verifica-se melhor as variações das I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} na Figura 61, onde apresenta-se o gráfico das médias das intensidades de corrente de pico adquiridas nas três medidas realizadas para cada solução com seus desvios padrão versus o tempo no micro-ondas da solução do cátion e KCl com 1.000 μL de extrato de própolis.

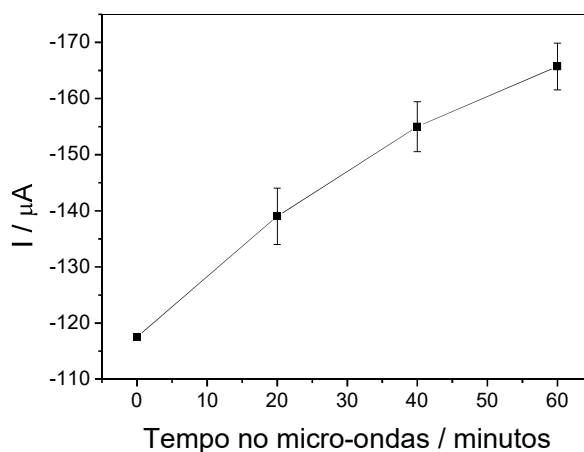


Figura 61. Variação da intensidade de corrente de pico com o tempo de aquecimento em micro-ondas da solução de Cu^{2+} 0,50 mmol L^{-1} e KCl 0,05 mol L^{-1} com 1.000 μL de extrato de própolis.

O pH das soluções também foi monitorado e medido (Tabela 27). Observou-se pequenas mudanças nos valores de pH, que são variações toleráveis. Por

consequente, conclui-se novamente que o pH não interferiu nos valores de I_p do pico catódico do cátion Cu^{2+} obtidos nas leituras voltamétricas desse estudo.

Tabela 27. Valores de pH das soluções do cátion Cu^{2+} na concentração $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte na concentração $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência e presença de $1.000 \mu\text{L}$ de extrato de própolis e na presença de extrato após o tratamento por aquecimento em micro-ondas.

	Ausência de extrato	Presença de extrato			
		Sem micro-ondas	20 segundos no micro-ondas	40 segundos no micro-ondas	60 segundos no micro-ondas
pH	1,84	1,90	1,92	1,89	1,91

5 CONCLUSÕES

Conclui-se a partir dos resultados obtidos, que pelo método utilizado neste trabalho, não é possível identificar com exatidão os complexos formados entre os fitatos presentes na soja em grão e os cátions analisados, os quais foram Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} e que as variações de intensidade de corrente de pico (I_p) observadas durante os estudos realizados sucederam por causa da mudança do pH que ocorre quando a solução do cátion com o eletrólito de suporte (KCl) entra em contato com a soja.

Ademais, as soluções padrão dos cátions são soluções ácidas feitas em ácido nítrico (HNO_3), e com isso as soluções preparadas dos cátions com eletrólito de suporte ficaram ácidas, mesmo adicionando quantidades significativamente pequenas das soluções padrão. As soluções na presença de soja também se mantiveram ácidas, o que contribuiu para que os complexos entre os fitatos e os cátions não formassem, uma vez que em pH ácido, os cátions metálicos competem com H^+ e interações dos fitatos com a maioria dos cátions metálicos são insignificantes (MADSEN & PEDERSEN, 2016). Além disso, o HNO_3 é eletroativo, ou seja, possui um pico catódico na faixa de potencial de varredura utilizada nas leituras voltamétricas com potencial de pico (E_p) próximo aos dos picos catódicos dos cátions Zn^{2+} e Fe^{2+} interferindo assim nas análises voltamétricas desses cátions.

Já a complexação dos cátions em extrato de própolis, possivelmente com os compostos fenólicos, ocorreu com todos os cátions analisados (Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+}). O pH das soluções na ausência e presença de extrato sofreu alterações consideravelmente pequenas, portanto não interferiu nas análises dos estudos dos cátions com o extrato de própolis. Entretanto, verificou-se que o efeito complexante aconteceu em proporções diferentes. O potencial de complexação dos compostos do extrato de própolis com os cátions Ca^{2+} e Mg^{2+} foi elevado, pois as porcentagens de variação das intensidades de corrente das soluções contendo esses cátions na ausência e presença de extrato foram maiores do que 97%. O cátion Ca^{2+} apresentou uma maior variação em relação aos demais. Para os cátions Zn^{2+} e Fe^{2+} as porcentagens de variação de I_p foram de 77,57% e 85,22% respectivamente. Esses valores também são consideravelmente altos, todavia ainda podem ser maiores, já que o pico do extrato de própolis assim como o do HNO_3 possui o E_p próximo ao desses cátions, o que influencia nos valores de I_p adquiridos para os picos detectados

nos voltamogramas das soluções dos cátions com KCl e extrato de própolis. E para o cátion Cu^{2+} a porcentagem de variação de I_p foi de 42,22%, um valor significativo, porém notadamente menor se comparado com os dos outros cátions.

Neste trabalho, uma metodologia usando o GCE sem modificações foi desenvolvida para a análise da capacidade de complexação dos compostos do extrato de própolis com os cátions Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} e Fe^{2+} , usando a técnica voltamétrica DPV. A superfície de carbono do GCE apresentou boa sensibilidade para a redução dos cátions, os quais apresentaram os picos catódicos bem definidos e característicos, além de boa resolução.

Adicionalmente, os experimentos empregando ultrassom e aquecimento no micro-ondas para descomplexar os complexos formados entre os cátions e os compostos presentes no extrato de própolis se mostraram eficientes. Embora o resultado obtido no tratamento por ultrassom seja melhor, os dois métodos descomplexaram cátions dos compostos presentes no extrato de própolis (polifenóis), deixando-os livres em solução. Nesses estudos de descomplexação apenas o cátion Cu^{2+} foi analisado, no entanto, é possível aplicar os tratamentos para as soluções dos outros cátions igualmente, e provavelmente, os resultados adquiridos seriam semelhantes.

O método eletroanalítico realizado oferece as vantagens de ser bastante sensível e rápido, além da simplicidade dos reagentes e equipamentos utilizados, se comparado com os outros métodos instrumentais.

6 REFERÊNCIAS

ABEBE, Y.; BOGALE, A.; HAMBIDGE, K. M.; STOECKER, B. J.; BAILEY, K.; GIBSON, R. S. Phytate, zinc, iron and calcium content of selected raw and prepared foods consumed in rural Sidama, Southern Ethiopia, and implications for bioavailability. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 20, p. 161–168, 2007.

ADEYEMO, S. M.; ONILUDE, A. A. Enzymatic Reduction of Anti-nutritional Factors in Fermenting Soybeans by *Lactobacillus plantarum* Isolates from Fermenting Cereals. *Official Journal of Nigerian Institute of Food Science and Technology*, v. 31, n. 2, p. 84-90, 2013.

ALEIXO, L. M. Voltametria: conceitos e técnicas. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2003. Disponível em: <<http://chemkeys.com/en/category/all-articles/electroanalytical/>>. Acesso em 21 junho de 2016.

ALVES, E.; KUBOTA, E. H. Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicadas*, v. 34, n. 1, p. 37-41, 2013.

APROSOJA BRASIL. Associação do Produtores de soja do Brasil. Uso da soja. Disponível em: <<http://aprosojabrasil.com.br/2014/sobre-a-soja/uso-da-soja/>>. Acesso em 08 de junho de 2017.

BAES, C. F.; MESMER, R. S. *The Hydrolysis of Cations*. John Wiley & Sons, New York, London, Sydney, Toronto, 1976.

BANKOVA, V.; CASTRO, S. de; MARCUCCI, M. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, v. 31, p. 3-15, 2000.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 2001.

BENEVIDES, C. M. de J.; SOUZA, M. V.; SOUZA, R. D. B.; LOPES, M. V. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.

BOCKRIS, J. O'M.; CONWAY, B. E.; WHITE, R. E. *Modern Aspects of Electrochemistry*, n. 34, 1 ed. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. EMBRAPA soja. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/historia>>. Acesso em 08 de janeiro de 2017 a.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. EMBRAPA soja. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=23>. Acesso em 18 de janeiro de 2017 b.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. *Electrochemistry: principles, methods, and applications*. 1 ed. Oxford: Oxford, 1994.

CALIXTO, C. M. F.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Eletrodo composto à base de grafite-araldite®: aplicações didáticas. *Química Nova*, v. 31, n. 8, p. 2194-2198, 2008.

CHAN, S. S. L.; FERGUSON, E. L.; BAILY, K.; FAHMIDA, U.; HARPER, T. B.; GIBSON, R. S. The concentrations of iron, calcium, zinc and phytate in cereals and legumes habitually consumed by infants living in East Lombok, Indonesia. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 20, p. 609-617, 2007.

COELHO, J. P. M. Identificação e quantificação de compostos fenólicos em própolis da região sul do Brasil. Avaliação da atividade antioxidante por técnicas espectroscópicas e eletroquímicas. Dissertação de mestrado. Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 2013.

DARI, R. L.; SHIROMA, N. Fitase – SMIZYME. Informativo Técnico Nº. 138. Disponível em: <<http://www.sossuinos.com.br/Tecnicos/info138.htm>> Acesso em 09 de janeiro de 2017.

DEKANSKI, A.; STEVANOVIC, J.; STEVANOVIC, R.; NIKOLIC, B. Z.; JOVANOVIC, V. M. Glassy carbon electrodes: I. Characterization and electrochemical activation. *Carbon*, v. 39, p.1195-1205, 2001.

DENG, Y.; ZAKOUR, O. P.; ZHAO, Y.; TAO, S. Influences of High Hydrostatic Pressure, Microwave Heating, and Boiling on Chemical Compositions, Antinutritional Factors, Fatty Acids, In Vitro Protein Digestibility, and Microstructure of Buckwheat. *Food Bioprocess Technol*, v. 8, p. 2235–2245, 2015.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. EMBRAPA soja. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1>>. Acesso em 08 de janeiro de 2017.

FERRARI, P. E.; REZENDE, M. C. Carbono polimérico: Processamento e aplicação. *Polímeros: Ciência e tecnologia*, São Paulo, p. 22-30, 1998.

FREIRES, I. A.; ALENCAR, S. M. de; ROSALEN, P. L. A pharmacological perspective on the use of Brazilian Red Propolis and its isolated compounds against human diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 110, p. 267-279, 2016.

HEFNAWY, T. H. Effect of processing methods on nutritional composition and anti-nutritional factors in lentils (*Lens culinaris*). *Annals of Agricultural Science*, v. 56, n. 2, p. 57-61, 2011.

HÍDVÉGI, M; LÁSZTITY, R. Phytic Acid Content of Cereals and Legumes and Interaction with Proteins. *Periodica Polytechnica Ser. Chem. Eng.*, v. 46, n. 1-2, p. 59-64, 2002.

HUMER, E.; SCHEDULE, K. Fermentation of food and feed: A technology for efficient utilization of macro and trace elements in monogastrics. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, p. 1-9, 2016.

JOUNG, H.; NAM, G.; YOON, S.; LEE, J.; SHIM, J. E.; PAIK, H. Y. Bioavailable zinc intake of Korean adults in relation to the phytate content of Korean foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 17, p. 713–724, 2004.

LAZART, C. E.; CARLSSON, N. G.; ALMGREN, A.; SANDBERG, A. S. Phytate, zinc, iron and calcium content of common Bolivian food, and implications for mineral bioavailability. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 39, p. 111-119, 2015.

MADSEN, C. K.; PEDERSEN, H. B. The antinutritional components of grains. *Encyclopedia of Food Grains*. 2 ed, p. 283-289. Elsevier Ltd., 2016.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Soja. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>>. Acesso em 08 de janeiro de 2017.

MASSABNI, A. C. Os metais e a saúde humana. *Química viva – Conselho Regional de Química 4ª Região*. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/default.php?p=texto.php&c=quimica_viva__os_metais_e_a_saude_humana> Acesso em 10 de janeiro de 2017.

MOREIRA, L. L.; PEREIRA, A. P., MORAIS, M.; ESTEVINHO, L. M. Estudo preliminar da actividade antifúngica e efeito quelante de iões do própolis. *Actas do 9º Encontro de Química dos Alimentos, Angra do Heroísmo - Açores, Portugal*, 2009.

NADEEM, M.; ANJUM, F. M.; AMIR, R. M.; KHAN, M. R.; HUSSAIN, S.; JAVED, M. S. An overview of anti-nutritional factors in cereal grains with special reference to wheat-A review. *Pakistan Journal of Food Sciences*, v. 20, n. 1-4, p. 54-61, 2010.

NIDHINA, N.; MATHUKUMAR, S. P. Antinutritional factors and functionality of protein-rich fractions of industrial guar meal as affected by heat processing. *Food Chemistry*, v. 173, p. 920–926, 2015.

OLIVEIRA, K. A. de M.; OLIVEIRA, G. V.; BATALINI, C.; ROSALEM, J. A.; RIBEIRO, L. S. Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fenóis totais em diferentes extratos de Própolis. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 33, n. 2, p. 211-222, 2012.

PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q. Voltametrias: uma breve revisão sobre os conceitos. *Revista Virtual de Química*, v. 5, n. 4, p. 516-537, 2013.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. de S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificações de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. *Química Nova*, São Paulo, v. 25, n. 6, p. 1012-1021, 2002.

PUPPIN, P. A. L. Estudo de complexos ternários de Co(II) e Ni(II) com os aminoácidos glicina, serina, ácido aspártico e ácido guanidoacético, em solução. Dissertação de mestrado do Departamento de Química. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC – Rio), Rio de Janeiro, 2006.

QUINTINO, M. S. Desenvolvimento de sensores eletroquímicos associados a batch injection analysis (bia) para aplicações analíticas. Tese de Doutorado do Instituto de Química. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

RAES, K.; KNOCKAERT, D.; STRUIJS, K.; CAMP, J. V. Role of processing on bioaccessibility of minerals: Influence of localization of minerals and antinutritional factors in the plant. *Trends in Food Science & Technology*, v. 37, p. 32-41, 2014.

RATHOD, R. P.; ANNAPURE, U. S. Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *LWT - Food Science and Technology*, v. 66, p. 114-123, 2016.

ROSA, T. F.; SACZK, A. A.; ZANONI, M. V. B.; STRADIOTTO, N. R. Determinação voltamétrica do nedocromil de sódio utilizando eletrodo de carbono vítreo. *Eclética Química*, São Paulo, v 28., n. 2, p. 63-68, 2003.

SILVA, J. G. da. Desenvolvimento e validação de métodos voltamétricos de análise para a determinação de metabólitos secundários em amostras de soja. Tese de Doutorado do Instituto de Química. Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. da. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 12, n. 1, p. 5-19, 1999.

SILVA, M. S.; NAVES, M. M. V.; OLIVEIRA, R. B. de; LEITE, O. de S. M. Composição química e valor protéico do resíduo se soja em relação ao grão de soja. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 3, p. 571-576, 2006.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica. 8 ed. São Paulo: THOMSON, 2006.

SOUZA, D. de; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. Química Nova, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.

UMETA, M.; WEST, C. E.; FUFU, H. Content of zinc, iron, calcium and their absorption inhibitors in foods commonly consumed in Ethiopia. Journal of Food Composition and Analysis, v. 18, p. 803–817, 2005.

VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; FILHO, J. M.; DELINCÉE, H.; GREINER, R. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. Radiation Physics and Chemistry, v. 57, p. 289-293, 2000.

WANG, J. Analytical Electrochemistry. 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 2000.

ZOSKI, C. G. Handbook of Electrochemistry. 1 ed. New York: Elsevier, 2007.