

**DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE  
COMPLEXOS Cd, Cu, Pb E Zn-DTPA: MS,  
INFRAVERMELHO, RMN <sup>13</sup>C E  
INVESTIGAÇÃO TEÓRICA (DFT).**

**VANÉZIA LIANE DA SILVA**

**2007**

**VANÉZIA LIANE DA SILVA**

**DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE COMPLEXOS Cd, Cu, Pb E Zn-  
DTPA: MS, INFRAVERMELHO, RMN <sup>13</sup>C E INVESTIGAÇÃO  
TEÓRICA (DFT).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agroquímica, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador  
Prof. Dr. Ruy Carvalho

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Silva, Vanézia Liane da

Determinação estrutural de complexos Cd, Cu, Pb e Zn-DTPA: MS, Infravermelho, RMN  $^{13}\text{C}$  e Investigação teórica (DFT) / Vanézia Liane da Silva--Lavras : UFLA, 2007.

53 p. : il.

Orientador: Ruy Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. MS. 2. Infravermelho. 3. RMN  $^{13}\text{C}$  . 4. Investigação teórica. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-630.24

**VANÉZIA LIANE DA SILVA**

**DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE COMPLEXOS Cd, Cu, Pb E Zn-  
DTPA: MS, INFRAVERMELHO, RMN <sup>13</sup>C E INVESTIGAÇÃO  
TEÓRICA (DFT).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Agroquímica e Agrobioquímica, para a obtenção do título de “Mestre”.

Prof. Dr. Matheus Puggina de Freitas

UFLA

Prof. Dr. Cláudio Francisco Tormena

UNICAMP

Prof. Dr. Ruy Carvalho  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2007

**Aos meus pais, Valmira e Luiz e a  
minha irmã Wanderlúcia, pelo apoio,  
incentivo e confiança em todas as  
etapas da minha vida.**

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus , por me dar forças para vencer mais esta etapa.

A minha família, pela força, confiança e principalmente pela presença em todos os momentos da minha vida.

Ao meu namorado, pelo carinho, compreensão e incentivo.

Aos amigos e colegas de curso, pela amizade, apoio e incentivo.

Ao professor Ruy Carvalho, pela orientação, dedicação, apoio e também pela sua amizade.

Aos professores Matheus Puggina de Freitas, Cláudio Francisco Tormena e Walcleé de Carvalho Melo, pela paciência, críticas e sugestões para melhoria do trabalho.

A todos os professores do Departamento de Química, que de alguma forma contribuíram para a concretização deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras através do Departamento de Química pela oportunidade de realização do curso e pela infraestrutura disponibilizada.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	4
2.1 Metais pesados .....	4
2.2 Origem dos metais no solo .....	5
2.3 Interação metal-planta .....	9
2.4 Soluções extratoras .....	12
2.5 DTPA .....	15
2.6 Técnicas empregadas na análise das estruturas de complexos orgânicos .....	17
2.6.1 Espectrometria de Massas de Electrospray (ESIMS) .....	17
2.6.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	19
2.6.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	20
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	21
3.1 Síntese dos complexos DTPA - Metais pesados .....	21
3.2 Análise por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	22
3.3 Análise por espectrometria de massas (MS) .....	22
3.4 Análise por Ressonância Magnética Nuclear de carbono ( <sup>13</sup> C) e próton ( <sup>1</sup> H) .....	22
3.5 Análise Elementar .....	23
3.6 Cálculos Teóricos .....	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25

4.1 Espectroscopia no Infravermelho .....	25
4.2 Espectrometria de Massas .....	29
4.3 Ressonância Magnética Nuclear .....	32
4.4 Proposição de estruturas e cálculos teóricos (DFT) .....	40
5 CONCLUSÕES .....	44
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	45

## RESUMO

SILVA, Vanézia Liane. **Determinação estrutural de complexos Cd, Cu, Pb e Zn-DTPA: MS, infravermelho, RMN <sup>13</sup>C e investigação teórica (DFT)**. 2007 53 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

Metais pesados, como: Pb, Cd, Zn e Cu, têm dificuldade de translocação nas plantas. O fenômeno parece estar ligado à facilidade de complexação com aminoácidos de plantas, produzindo estruturas estáveis com alto impedimento estérico. É conhecido que o ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) é um poliaminocarboxilato com estrutura semelhante a um aminoácido e que suas soluções já vêm sendo empregadas para determinar teores de elementos de transição no solo. Então este ligante foi escolhido como um “modelo” para o estudo da interação e do transporte metal-aminoácido em plantas. O objetivo deste trabalho foi sintetizar, caracterizar e propor estruturas para os complexos formados pelos referidos metais e o DTPA, usando as técnicas de Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN <sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H), Espectrometria de Massas (MS) e aproximações com cálculos teóricos. Os espectros de MS mostraram que os complexos estudados têm uma relação estequiométrica de 1:1 entre metal e ligante. Espectros de IV sugeriram que os metais estão ligados através dos átomos de nitrogênio e oxigênio carboxílicos. Os espectros de RMN <sup>13</sup>C evidenciaram a existência de grupos carboxílicos livres e complexados. Estruturas puderam ser propostas por otimizações através dos Cálculos Teóricos DFT. Estes mostraram claramente que as estruturas são hexacoordenadas com grande impedimento estérico. Foi observado também que quanto maior o raio atômico do metal mais distorcido é a estrutura de um arranjo octaedral. Interações semelhantes são supostas para ocorrer em aminoácidos de plantas, e isso pode justificar a baixa translocação dos metais pesados em plantas.

---

<sup>1</sup>Comitê Orientador: Ruy Carvalho - UFLA (orientador), Walcleé de Carvalho Melo - UFLA.

## ABSTRACT

SILVA, Vanézia Liane. **Structural determination of Cd, Cu, Pb and Zn-DTPA complexes: MS, infrared, <sup>13</sup>C RMN and theoretical investigation (DFT)**. 2007. 53 p. Dissertation (Master in Agrochemistry)-Federal University of Lavras, Lavras, MG. <sup>1</sup>

Heavy metals, such as Pb, Cd, Zn and Cu, are hardly translocated in plants. The phenomenon seems to be linked to their easy complexation with amino acids of plants, producing stable structures with high steric hindrance. It is known that diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) is a polyaminocarboxylate with structure similar to amino acids and that their solutions have already been used to determine content of transition elements in soil. Thus, this ligand was chosen as a "model" for the study of the interaction and transport of metal-amino acid in plants. The goal of this work was to synthesize, characterize and propose structures for the complexes based on the mentioned metals and DTPA, using infrared (IV), nuclear magnetic resonance (<sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR), mass spectrometry (MS) and theoretical calculation approaches. The MS spectra showed that the studied compounds have stoichiometry 1:1 between metal and ligand. IV spectra suggested that metals are bonded to nitrogen and carboxyl oxygen atoms. <sup>13</sup>C NMR spectra evidenced the existence of both free and complexed carboxyl groups. Structures could then be proposed for the compounds, as optimized through DFT theoretical calculations. These clearly showed that structures are hexacoordinated with high steric hindrance. It was also observed that the larger the metal atomic radius, the most distorted is the structure from an octahedral arrangement. Similar interactions are supposed to occur in amino acids of plants, and this may justify the poor translocation of heavy metal in plants.

---

<sup>1</sup>Guidance Committee: Ruy Carvalho – UFLA (Major Professor), Walelé de Carvalho Melo – UFLA.

## 1 INTRODUÇÃO

Os metais, pesados ou não, apresentam-se como uma das bases para o desenvolvimento da sociedade, sendo utilizados como matéria prima em diversas indústrias de bens de consumo e em fertilizantes agrícolas. Em contrapartida, pela utilização indiscriminada, eles desempenham papel de destaque na poluição ambiental contaminando diretamente os organismos vivos do solo, tornando-se disponíveis às plantas em níveis tóxicos, além da possibilidade de sua transferência para a cadeia alimentar através das próprias plantas ou pela contaminação das águas de superfície e subsuperfície (Chang et al., 1987).

O grau de contaminação causado por metais pesados, bem como os teores de metais-nutrientes disponíveis às plantas em solos, é avaliado por extratores químicos específicos. Trata-se de soluções ácidas ou de agentes complexantes cuja capacidade extratora, quando em contato com amostras do solo, deve-se correlacionar com a extração feita pelas plantas cultivadas nesses ambientes. “Assim, o melhor extrator químico não é o que extrai os maiores teores de metais das amostras do solo, mas aquele que melhor correlaciona com o comportamento extrativo das plantas (Carvalho, 2006; Paim, 2006).”

É importante também considerar os efeitos das concentrações dos metais pesados do solo sobre a própria existência das plantas como “extrator biológico” e a sua influência na cadeia alimentar (Leschber et al., 1985). Como exemplos de soluções extratoras, destaque para a mistura duplo-ácida de HCl + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Melich-1), os quelatizantes ácido dietilenotriaminopentaacético + trietanolamina (DTPA-TEA) e a solução de CaCl<sub>2</sub>. As principais dificuldades na escolha de um extrator adequado são a variação de sua eficiência conforme a concentração e o tipo de metal presente no solo, o tipo de solo, a presença de

outras espécies químicas interferentes e a espécie vegetal cultivada (Bertoncini, 2002).

As plantas absorvem pelas raízes tanto micronutrientes (essenciais em baixas concentrações) quanto microcontaminantes. Cu e Zn são considerados essenciais e simultaneamente microcontaminantes; em níveis tóxicos o Cu causa redução na ramificação, engrossamento e coloração anormal das radículas das plantas. Já para o Zn a toxidez está relacionada a baixa lixiviação (percolação) deste elemento no solo (Gupta, 2001). Pb e Cd são microcontaminantes ambientais e um de seus efeitos deletérios causados às plantas é a redução da produção de matéria seca da parte aérea (MSPA) (Carvalho, 2006).

Cádmio, zinco, cobre e chumbo são elementos deficientes em elétrons  $d$  e, portanto, apresentam afinidade por ligantes doadores de elétrons para formar complexos estáveis. Como o DTPA é um ligante octadentado e, portanto uma poderosa base de Lewis, os complexos do tipo metal-DTPA podem ser facilmente formados.

O DTPA foi escolhido como um “modelo” para o estudo da interação e do transporte metal-aminoácido nas plantas, pois é um poliaminocarboxilato com estrutura semelhante a um aminoácido (classe de compostos orgânicos essenciais que contém os grupamentos carboxila e amina), suas soluções já vêm sendo empregadas para determinar teores de elementos de transição, essenciais às plantas, no solo e metais como cobre e zinco podem ser transportados via xilema para a parte aérea das plantas quando complexados a diversos aminoácidos (Kerby, 2004),

O estudo tornou-se necessário a partir das constatações de Carvalho (2006), que trabalhando com plantas de feijoeiro, cultivadas em casa de vegetação em dois solos representativos do Brasil, contaminados com Pb, Cd, Zn e Cu, o autor observou uma baixa mobilidade desses metais, principalmente Cd e Pb, nas plantas. A intoxicação vegetal deu-se mais por depósitos

radiculares que por transporte para a parte aérea, tendo havido baixo acúmulo principalmente nos frutos. Parece, portanto razoável inferir que a baixa translocação de metais pesados resulta de sua combinação com aminoácidos presentes no xilema originando estruturas com impedimento estérico, estáveis e pouco móveis.

Assim, o objetivo deste trabalho foi: a) sintetizar complexos DTPA-metal (Cu, Cd, Pb e Zn); b) caracterizar suas estruturas empregando as técnicas de Infravermelho, Análise Elementar (C, H, N), Ressonância Magnética Nuclear, Espectrometria de Massas e Cálculos Teóricos; c) propor possíveis estruturas que possam explicar a baixa mobilidade dos metais nas plantas.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Metais Pesados

O termo “metais pesados” é definido como metais de densidade relativa maior que  $5 \text{ g cm}^{-1}$  e altamente reativos, o que explica a dificuldade de encontrá-los puros na natureza. Normalmente apresentam-se em concentrações muito pequenas, associados a outros elementos químicos, formando minerais em rochas (Carneiro et al., 2001). O termo abrange um grupo de metais e não metais, alguns metais são perigosos pela sua toxicidade e potencial de bioacumulação, por exemplo: Cd, Cu, Zn e Pb (Chang et al., 1984).

Metais como Cu e Zn são considerados micronutrientes, ou seja, nutrientes que, embora essenciais, são requeridos em quantidades extremamente pequenas por plantas, animais e seres humanos. O Cu, por exemplo, tem papel importante na formação da melanina das plantas e da pigmentação da pele dos animais. A sua toxicidade causa redução na ramificação, engrossamento e coloração anormal das radículas de muitas plantas (Gupta, 2001). O Zn participa da síntese do DNA e do RNA em plantas e animais (Malavolta, 1994). A maioria das culturas é tolerante às altas concentrações de Zn. A fitotoxicidade existe porque muito pouco deste nutriente é lixiviado (percolado) e porque a reversão do Zn aplicado para formas não disponíveis é relativamente lenta em solos (Gupta, 2001). Já elementos como o Pb e o Cd são considerados microcontaminantes. O Pb nas plantas interfere na divisão celular e inibe a extensão do sistema radicular, a diminuição do processo respiratório, causada pela redução na assimilação de  $\text{CO}_2$ , provoca redução no crescimento, a interrupção do metabolismo de cálcio e a inativação enzimática (Ferreira, 2001). Nos seres humanos o Pb ataca principalmente o sistema nervoso, a medula óssea

e os rins, e como esses sistemas interferem nos processos genéticos ou cromossômicos, produzem alterações na estabilidade da cromatina, inibindo o reparo do DNA e agindo como promotor de câncer (Campos, 2005). O Cd nas plantas causa diminuição no crescimento da parte aérea e do sistema radicular (Oliveira et al., 1994a), indução da produção de fitoquelatinas (pequenos peptídeos ricos em cisteína em que a maior parte do Cd absorvido encontra-se complexado) (Valitutto, 2004), interferência na biossíntese de clorofila, aumento na atividade da enzima *peroxidase* (enzima oxidante na presença de peróxido de hidrogênio) (Oliveira et al., 1994b; Silva, 1994), diminuição das taxas fotossintéticas e da atividade da nitrogenase (enzima responsável na fixação biológica do nitrogênio atmosférico pelas plantas) (Oliveira et al., 2006). Em estudo recente, Carvalho (2006) verificou que plantas de feijoeiro cultivadas em solos altamente contaminados por cádmio apresentaram redução na produção de matéria seca da parte aérea e redução drástica na produção de grãos. Nos seres humanos, o Cd pode causar redução de crescimento, hipertensão arterial por retenção de sódio, além de produzir efeitos adversos em alguns metais essenciais aos tecidos (Doyle, 1977).

## **2.2 Origem dos metais pesados no solo**

Quanto às suas origens, os metais presentes no solo podem ser divididos em litogênicos e antropogênicos.

A fração litogênica é oriunda de fontes geológicas, como resíduo de rocha, ou é liberada por ocasião do intemperismo. O material de origem do solo é muito importante na delimitação da concentração dos elementos na solução do solo. O teor natural dos elementos tóxicos no solo varia muito com o tempo de intemperismo e a composição química do material de origem. A composição elementar total no solo tem utilidade limitada, mas é importante conhecê-la para

se ter idéia do teor no ambiente principalmente em estudos de contaminação e poluição. Se um elemento pode representar um perigo iminente à cadeia alimentar, é importante avaliar seus teores disponíveis ou solúveis, uma vez que ambos vão estar relacionados com a mobilidade e com a absorção pelas plantas (Camargo et al., 2001).

Conforme Krauskopf (1972) apud Ferreira et al. (2001, p.127-128), a concentração de Zn é, em  $\text{mg Kg}^{-1}$ , de: 70 na crosta terrestre; nas rochas ígneas, respectivamente 40 e 100 para granito e basalto; nas rochas sedimentares, 20, 16 e 95 para calcário, arenito e folhelho, respectivamente. A ocorrência variável de Zn nos materiais de origem é refletida nos solos que apresentam uma variação de 10 a  $300 \text{ mg Kg}^{-1}$ . Já a concentração de Cu é estimada, em média, em  $55 \text{ mg Kg}^{-1}$ , nas rochas ígneas, em 10 a  $100 \text{ mg Kg}^{-1}$ , respectivamente para granito e basalto; nas rochas sedimentares, em 4, 3 e  $45 \text{ mg Kg}^{-1}$  para calcário, arenito e folhelho, respectivamente, e há uma variação de 10 a  $80 \text{ mg Kg}^{-1}$  de Cu em solos. Kabata – Pendias & Pendias (1992) apud Ferreira et al. (2001, p.214) estimaram teores médios de Cd e Pb em solos do mundo inteiro da ordem de  $0,53 \text{ mg Kg}^{-1}$  e  $25 \text{ mg Kg}^{-1}$ , respectivamente.

Andersson (1977) apud Ferreira et al. (2001, p. 91) pesquisou a distribuição de cádmio, chumbo, cobalto, cobre, cromo, manganês e zinco ao longo de perfis de solos e na camada superficial e mostrou que os processos formadores de solos trazem como consequência uma separação desses elementos entre os vários componentes, o que provoca diferenças no padrão de distribuição. Concluiu que os raios iônicos têm um papel importante nessa separação e encontrou correlação positiva entre a quantidade de metal extraída e o teor de argila das amostras em função da diminuição dos raios iônicos dos elementos. A relação foi linear para os elementos com número de coordenação seis (Ca, Cu, Cr, Mn e Zn). Durante os processos de intemperismo e de formação do solo, estes são aprisionados em posições octaedrais nos minerais

secundários, sendo mais fortemente retidos quanto menor seu tamanho. Os elementos com número de coordenação maior do que seis são muito grandes para ocupar estas posições e aí são mais bem correlacionados com a quantidade de matéria orgânica. Esses elementos, assim como o chumbo e o cádmio, mostraram um padrão de distribuição semelhante ao dos teores de matéria orgânica, evidenciando sua ligação com o material humificado.

Embora a presença desses elementos, especialmente os metais pesados, seja generalizada nos solos em condições naturais, as atividades humanas (antropogênicas) acabam de alguma forma adicionando ao solo materiais que contêm esses elementos, os quais podem atingir concentrações muito altas, que comprometem a qualidade do ecossistema. As principais fontes antropogênicas de metais no solo são mineração e beneficiamento de metais, aplicação de defensivos agrícolas e fertilizantes, lodos de esgotos urbanos ou industriais, queima de combustíveis fósseis, águas residuárias, resíduos de indústrias de beneficiamento químico, manufatura e disposição de artigos eletrônicos, de caça e pesca e de treinamento militar e de guerra (Camargo et al., 2001).

A atividade de mineração é uma das principais fontes antropogênicas. Depósitos de rejeitos e pilhas de estéril (pilha artificial formada pelo material não aproveitável que recobre a jazida de minério a ser lavrada.), decorrentes de atividade de mineração, podem ser fontes de contaminação ambiental graças à presença de metais pesados, principalmente quando esses materiais contêm minerais sulfetados e teores elevados de metais. A atividade mineradora, quando comparada a outras fontes de degradação do ambiente, por exemplo, a agricultura e a pecuária, afeta diretamente pequenas áreas. Contudo, os elementos solubilizados de rejeitos, se atingirem os cursos de água, podem impactar negativamente áreas localizadas a centenas de quilômetros da mineração (Salomons, 2004). De acordo com a Organização Mundial de Saúde

(OMS) os níveis máximos de alguns contaminantes para água potável, expressos em mg L<sup>-1</sup>, são: Cd 0,01; Pb 0,1; Cu 3 e Zn 5 ( Rodella & Alcarde, 2001).

A atividade mineradora em áreas que contêm minerais sulfetados, como pirita (FeS<sub>2</sub>) e arsenopirita (FeSAs), pode expor à atmosfera os sulfetos confinados que, ao entrarem em contato com a água e ar, sofrem oxidação catalisada por bactérias, principalmente espécies do gênero *Thiobacillus* (*T. ferrooxidans*, *T. thioparus* e *T. thiooxidans*) (Blowes et al., 2004). Os produtos da oxidação dos sulfetos, além de serem altamente solúveis, apresentam reação fortemente ácida, de modo que são facilmente dissolvidos na fase líquida, acidificando as águas de drenagem (Mello & Abrahão, 1998). Em razão dos baixos valores de pH (que podem chegar a 2 ou menos), elementos tóxicos, incluindo Al, Mn, Cu, As, Zn, Pb, Hg e Cd, se presentes no meio, são solubilizados e mobilizados nas águas de drenagem, podendo ser absorvidos em níveis tóxicos pelas plantas e incorporados na cadeia trófica (Mello & Abrahão, 1998; Shu et al., 2004).

Portanto, o pH é uma das características que mais interferem no comportamento dos metais no solo, sendo que um aumento da acidez favorece a movimentação desses elementos, sejam eles micronutrientes ou microcontaminantes. Ambos tornam-se pouco disponíveis à absorção pelas plantas na faixa de pH 6,5 a 8,0, em que ocorre precipitação desses elementos. Segundo Martinez & Motto (2001), para Pb, Zn e Cu, os respectivos valores de pH 5,2; 6,2 e 5,5 são limiares de toxidez em solo; abaixo desses valores, tornam-se mais móveis e disponíveis biologicamente. Práticas comuns de adição de produtos básicos ao solo, tais como, óxidos, hidróxidos, carbonatos e silicatos de cálcio e magnésio, com o objetivo de elevar o pH, constituem importantes medidas amenizadoras de contaminação por metais pesados (Kabata-Pendias & Pendias, 1984; Silva, 2004; Malavolta, 1994). Paim (2006) constatou que silício e fósforo contribuíram para diminuir a disponibilidade de metais pesados no solo

às plantas. O Si, na forma de  $\text{CaSiO}_3$ , elevou o pH para valores entre 7 e 8, precipitando Cu, Zn, Pb e Cd, enquanto o P, na forma de  $(\text{H}_2\text{PO}_4)^-$ , combinou facilmente com os referidos metais originando fosfatos de baixa solubilidade.

Tanto o emprego de corretivos de acidez quanto a precipitação na forma de fosfatos resolvem apenas temporariamente a contaminação dos solos por metais pesados. Ocorre, com o tempo, uma redissolução dos precipitados (hidróxidos ou fosfatos) pelo efeito tampão do solo, ou seja, uma redução do pH, aumentando a movimentação e a atividade dos metais em solução (Paim, 2006).

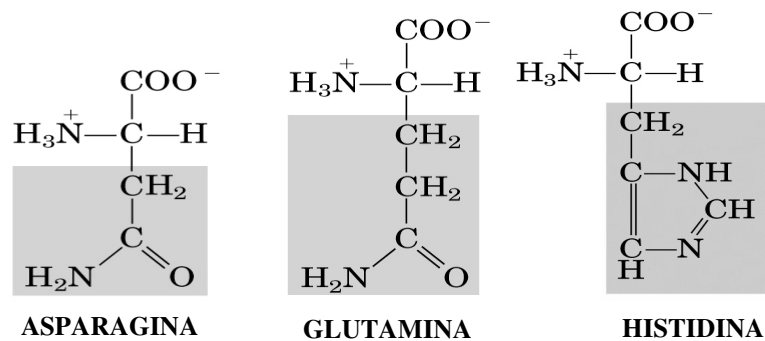
### **2.3 Interação metal-planta**

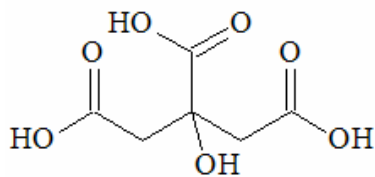
A planta absorve pelas raízes elementos minerais nem sempre essenciais à sua vida e ao seu ciclo reprodutivo, possuindo uma capacidade seletiva limitada, podendo absorver também elementos não-essenciais e/ou mesmo tóxicos (Kerby, 2004). Esta relação faz com que medidas de comprimento de raiz sejam uma indicação mais precisa de toxicidade de metal pesado, que determinações de biomassa (Godbold & Kettner, 1991).

O suprimento de nutrientes para as raízes que crescem no solo depende dos atributos físicos e químicos desse solo, da espécie iônica do nutriente e das características morfológicas e fisiológicas das raízes (Kerby, 2004). As raízes das plantas entram em contato com a solução do solo de onde retiram os nutrientes minerais de que necessitam. Existem três mecanismos responsáveis pelo movimento de íons da solução do solo para a superfície das raízes: (1) fluxo de massa, (2) interceptação radicular e (3) difusão. A importância de cada um desses mecanismos de movimento do nutriente no solo para a planta depende da espécie iônica envolvida, do genótipo da planta, dos parâmetros morfológicos das raízes (densidade, comprimento e superfície) e do fluxo de água na planta (Kerby, 2004). A chegada dos nutrientes à superfície radicular apenas garante a

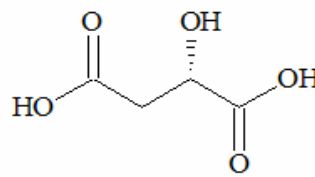
sua disponibilidade para as plantas, porém sua absorção vai do contato deles com as membranas das células das raízes e da espécie iônica presente na rizosfera. Assim sendo, um nutriente biodisponível (ou fitodisponível) é aquele que está presente na solução do solo na forma iônica e pode se mover para o sistema radicular (Kerby, 2004).

Os nutrientes absorvidos pelas raízes são transportados para a parte aérea das plantas através do xilema e, entre os órgãos das plantas, através do floema. O transporte radial do nutriente até o xilema da raiz pode possuir dois componentes: um metabólico e outro não-metabólico. Através da via metabólica, o nutriente absorvido pela raiz é imediatamente incorporado a substâncias orgânicas (ácidos ou açúcares) e transportados e liberados no xilema na forma orgânica ou inorgânica, dependendo do nutriente e da espécie. A maioria dos nutrientes é transportada para a parte aérea via xilema na forma iônica (inorgânica) (Kerby, 2004). Em experimentos com plantas de tomate e soja, verificou-se que o Cu é transportado no xilema para a parte aérea, quando complexado a diversos aminoácidos, principalmente asparagina e histidina em soja, e histidina, asparagina e glutamina em tomate. Nestas mesmas espécies, verificou-se ainda que o Zn liga-se também aos ácidos cítrico e málico (Kerby, 2004).





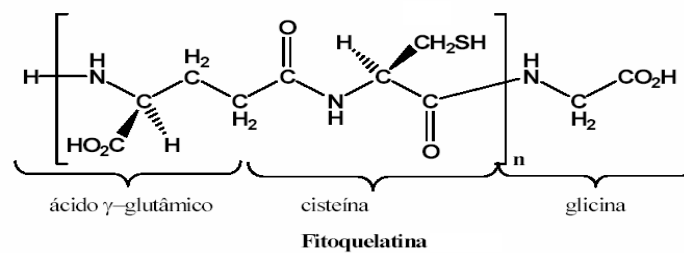
**ÁCIDO CÍTRICO**



**ÁCIDO MÁLICO**

A redistribuição ou remobilização de nutriente ocorre via floema. Welch (1999) apud Kerbuy (2004) classificou Cu e Zn de acordo com a capacidade da espécie em remobilizá-los para a semente, garantindo a viabilidade desta e a sobrevivência da geração seguinte, em metais de mobilidade variável. A capacidade de remobilização de locais de reserva da planta para órgãos reprodutivos (via floema) vai determinar o vigor da semente e das plântulas (Kerbuy, 2004). A remobilização de cádmio na planta está associada com fitoquelatinas (PCs) (Guo & Marschner, 2001). O complexo Cd-fitoquelatinas pode representar uma forma móvel para o transporte de cádmio das raízes para as partes aéreas. Observa-se, no esquema abaixo, que uma fitoquelatina é uma estrutura complexa, formando peptídeos ricos em cisteína, ou seja, ricos em aminoácidos, que são doadores de elétrons. Guo & Marschner (1995) apud FERREIRA et al. (2001, p.214) observaram que, em milho (*Zea mays L.*), a concentração de Cd na seiva do xilema foi positivamente correlacionada com a concentração de Cd na parte aérea, havendo alta remobilização das raízes para a parte aérea. A alta remobilização de Cd foi atribuída às PCs sintetizadas nas raízes. A função das PCs no transporte de Cd é sustentada por Wolterbeek et al. (1988) apud Ferreira et al. (2001, p. 58), que observaram um aumento no transporte de cádmio para a parte aérea de tomate, crescendo em solução com presença de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) como agente quelante.

Atribuiu-se o aumento da remobilização de Cd na presença de EDTA à absorção simultânea de Cd e EDTA como complexo Cd-EDTA, que é formado nas células da raiz. A redistribuição de chumbo é muito limitada (Dao Thi Puong et al., 2001).



Percebe-se, conforme observado por Carvalho (2006) em plantas de feijoeiro, que realmente há uma interação dos metais pesados com doadores de elétrons, resultando na formação de quelatos. No caso do tomateiro, os quelatos transportadores de metais no xilema, ou quaisquer outros redistribuidores dos mesmos nas plantas via floema, constituem-se estruturas com grande impedimento estérico.

## 2.4 Soluções Extradoras

A utilidade de qualquer extrator de solo em prever a fitodisponibilidade de metais pesados reside em sua habilidade de correlacionar-se com a capacidade extratora das plantas. Pensando assim, as plantas podem ser consideradas extratores biológicos. Embora comparações entre vários extratores seja um tanto problemática para diferentes tipos de solo e durações de tratamento (Krishnamirti et al., 2006), um extrator efetivo deveria ser capaz de

avaliar a fitodisponibilidade do metal sob uma grande variedade de condições (Menziés et al., 2006). Qualquer solo é um sistema por demais heterogêneo, dificultando a realização de estudos sob condição de equilíbrio químico. Há, por isso, a necessidade de se empregar parâmetros estatísticos ao se comparar extratores entre si ou entre extratores químicos e plantas, no caso de correlações.

Menziés et al. (2006) sugere também que, para avaliar o efeito de um extrator na determinação da fitodisponibilidade de metal, é necessário determinar parâmetros, por exemplo, a espécie analisada. Legumes como alface (*Lactuca sativa*), espinafre (*Spinacea oleracea*) e rabanete (*Raphanus sativa*), por exemplo, tendem a acumular mais Cd e Zn que as mono e as dicotiledôneas. A identificação desta fonte de variabilidade é importante ao considerar a revegetação de solos contaminados, que deverá ser feita usando uma espécie monocotiledônea, particularmente gramíneas.

Uma prática agrícola há muito tempo utilizada, no que se refere à nutrição das plantas com metais nutrientes essenciais, tais como, Zn, Cu, Mn e Fe, é a adubação foliar; ao contrário de N, P, K, Ca, Mg e S, que são aplicados de forma convencional, isto é, via absorção radicular no solo. Esse comportamento diferencial deve-se à baixa mobilidade dos elementos de transição no interior das plantas (Malavolta, 1989). É razoável admitir, portanto, que a dificuldade de mobilização dessas espécies deve-se a sua combinação com ligantes orgânicos do tipo aminoácidos, originando estruturas com elevado impedimento estérico.

Métodos, como extrações químicas, simples ou sequenciais em amostras de solo, permitem inferir sobre a disponibilidade dos metais em substratos e conhecer a dinâmica de equilíbrio químico entre as formas dos metais (Amaral Sobrinho, et al., 2001). Assim, diversas soluções vêm sendo testadas para extrair metais pesados do solo, incluindo água régia, soluções ácidas, soluções que

combinam quelantes e ácidos, soluções quelantes isoladamente e soluções neutras de sais (Tabela 1).

**TABELA 1:** Extratores usados para predizer a fitodisponibilidade de metais.

<b>Extrator/Método</b>	<b>Referência</b>
Água régia	Soares (1995), adaptada por Corrêa et al. (2002)
HF com aquecimento	Hossner (1996)
HCl (0,1M)	Baker & Amacher (1982)
Mehlich 1	Korcak & Fanning (1978)
Mehlich 3	Mehlich (1984)
DTPA (0,005M)	Lindsay & Norvell (1978)
EDTA (0,05M)	Quevauviller et al. (1997)
CaCl <sub>2</sub> (0,01M)	Novozamsky et al. (1993)
NH <sub>4</sub> OAc (1M)	Sanka & Dolezal (1992)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (1M)	Symeonides & McRae (1977)
NaNO <sub>3</sub> (0,1M)	Sanka & Dolezal (1992)

Muito antes de se considerar a poluição de solos por metais pesados, o uso do agente quelatizante DTPA (DTPA 0,005molL<sup>-1</sup> + trietanolamina 0,1molL<sup>-1</sup> + cloreto de cálcio 0,01molL<sup>-1</sup> + 5mL de HCl 4molL<sup>-1</sup>, corrigido o pH a 7,3) (Lindsay & Norvell, 1978) foi preconizado para identificar deficiências de micronutrientes em solos com valores de pH próximos à neutralidade e em solos calcários (pH>7). Entretanto, a partir da década de 90, alguns trabalhos confirmaram sua eficiência na extração de Cd, Zn e Ni (Cajuste et al., 2000; Simmons & Pongsakul, 2004), Cd, Cu, Ni e Zn em solos tratados com lodo de esgoto (Xiu et al., 2001; Oliveira, 1995) e Pb (Li & Schuman, 1997). Segundo

Abreu et al. (1995), o quelatizante apresenta baixa eficiência na avaliação da disponibilidade de Cd, Cr e Ni em solos cuja concentração desses elementos não é devida a adições antropogênicas.

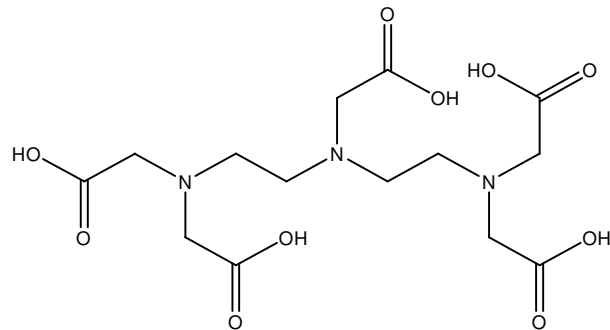
O DTPA, assim como o EDTA, extrai teores trocáveis, ou a fração dos elementos que estão disponíveis às plantas, com isso a capacidade de complexação de metais pelo DTPA é limitada por fatores, como pH (Camargo et al., 1982; Bataglia & Raij, 1989), flutuações no teor de matéria orgânica (Morel & Guckert, 1984) e mineralogia do solo (Fagbami et al., 1985). O emprego da solução de DTPA em pH 7 tem a seu favor o fato de ser a neutralidade da solução do solo a condição ideal para que as plantas cresçam, reproduzam e produzam.

## **2.5 DTPA**

Os chamados compostos de coordenação (complexos) apresentam uma espécie central ligada a íons ou moléculas denominadas ligantes. A formação de um complexo é uma reação ácido/base de Lewis, em que os ligantes são doadores de pares de elétrons e a espécie central é a receptora. Portanto, os ligantes são bases de Lewis e a espécie central é um ácido de Lewis (Araújo, 2002; Dias, 1999). Em alguns compostos de coordenação, um ligante ocupa mais de uma posição de coordenação, formando anéis de átomos cuja região central é ocupada pelo metal. Compostos possuindo tais estruturas cíclicas são denominados quelatos. Os quelatos são mais estáveis que complexos monodentados e quanto maior o número de átomos doadores no agente quelante mais estável será o complexo (Lee, 1999; Atkins & Jones, 2001).

O DTPA (ácido dietilenotriaminopentacético) é um ligante pertencente ao grupo dos poliaminocarboxilatos (PAC). Trata-se de um ligante octadentado, possuindo cinco grupos carboxílicos e três aminos, cujas constantes de

dissociação ácida (pK) são 1,8; 2,7; 4,3; 8,5; 10,5 e, portanto, considerado um dos melhores agentes quelatizantes (Blaedel & Meloche, 1963).



**ÁCIDO DIETILENOTRIAMINOPENTACÉTICO**

Cádmio, cobre, chumbo e zinco, sendo elementos de transição, deficientes em elétrons d, apresentam afinidade por substâncias orgânicas (ligantes) doadoras de elétrons para a formação de complexos estáveis, mas isso só ocorre em valores de pH ligeiramente básicos. No caso do DTPA, um ligante com cinco grupos ácidos necessita-se de pH elevado para desprotonar os íons  $H^+$  dos grupos carboxílicos. Segundo Durham & Ryskuawich (1958), quanto maior o pH, mais estável é o quelato formado e de acordo com Blaedel & Meloche (1963), os logaritmos das constantes de estabilidade para Pb, Cd, Cu e Zn são respectivamente 18,9; 19; 21 e 18,8 sendo a formação do quelato estável, dependente do pH.

Esse quelatizante tem uma grande variedade de aplicações. Em laboratórios de medicina, utiliza-se o DTPA no tratamento de pacientes com excesso de ferro no organismo. Nesse caso, o DTPA atua em meio extracelular com grande afinidade por íons metálicos tri e bivalentes, incluindo o ferro.

Contudo, foram associadas ao seu uso deficiências de Zn, levando a reações tóxicas como náuseas, vômitos e diarreia (Francischetti et al., 2002; Martins et al., 2001). Com o mesmo princípio, Zn-DTPA e Ca-DTPA também têm sido usados para descontaminação interna de organismos contaminados com Pu e Am (Stradling et al., 1999); Gd-DTPA tem sido extensamente usado como agente de contraste paramagnético em diagnósticos clínicos (RMN, angiografias, tomografias) (Bosmans & Marchal, 2004).

Percebe-se, portanto, que o forte poder quelatizante do DTPA tem ampliado a sua utilização em campos bem diversos: química sintética, nutrição mineral de plantas e o tratamento de doenças.

## **2.6 Técnicas empregadas na análise das estruturas de complexos orgânicos.**

A espectrometria de massas (MS), espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) fornecem informações que permitem identificar compostos. Essencialmente, a molécula a ser analisada é testada por diferentes feixes de energia e as respostas são registradas como espectros (Silverstein, 2000).

### **2.6.1 Espectrometria de Massa por Eletrospray (ESIMS).**

A espectrometria de massa é talvez a técnica de mais ampla aplicabilidade, no sentido em que é capaz de fornecer informações sobre a composição elementar de amostras, as estruturas de moléculas inorgânicas, orgânicas e biológicas, a composição qualitativa e quantitativa de misturas complexas, a estrutura e a composição de superfícies sólidas e as razões isotópicas de átomos nas amostras (Skoog et al., 2002). Os compostos podem ser

identificados em concentrações muito baixas (uma parte em  $10^{12}$  partes) em misturas complexas.

Os princípios científicos em que a técnica se baseia são simples. A essência envolve geração com posterior detecção de íons. A sofisticação surge nos métodos que são usados para a geração desses íons e no modo de analisá-los. Uma das técnicas de ionização, em maior expansão, é por eletrospray; há essencialmente características que fazem com que esta seja considerada distinta das outras técnicas de ionização. A primeira é a capacidade para produzir íons multiplamente carregados, com número de cargas elevado, reduzindo assim a razão  $m/z$  (razão massa/carga do íon molecular), de tal modo que seja possível analisar compostos de elevada massa molecular até centenas de KDa ( $1\text{Da} \sim 1,660540 \times 10^{-27}$  kg) (Andrade, 2006) e a segunda é que as amostras devem ser introduzidas em solução, o que faz com que seja possível o acoplamento com muitas técnicas de separação, como eletroforese capilar ou cromatografia líquida (Ashcroft, 2003).

O sucesso da técnica de ESIMS, que se desenvolveu a um ritmo acelerado desde os finais dos anos 80, deve-se, sem dúvida, às possibilidades que a técnica veio introduzir para a análise por espectrometria de massa de compostos de elevada massa molecular de todos os tipos, permitindo determinar, por exemplo, a seqüência de aminoácidos de um peptídeo ou uma alteração química específica em algum resíduo de aminoácidos (Steen & Mann, 2004), sem esquecer, no entanto, a sua aplicação a analitos de importância fundamental na área ambiental.

Outra técnica muito usada no estudo da composição de complexos é o CHN no qual é usado um Analisador Elementar Automático de Compostos Orgânicos. A técnica se baseia na oxidação em altas temperaturas dos compostos orgânicos, convertendo elementos como carbono, hidrogênio e nitrogênio em

moléculas gasosas. O resultado é expresso em porcentagens de C, H e N presentes na amostra (Skoog et al., 2002).

### **2.6.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).**

Os espectros de absorção na região do infravermelho permitem obter valiosas informações de compostos, comparando seus espectros com os de uma amostra conhecida. Essas comparações podem ser feitas tomando-se como base alterações nas frequências de absorções, tais como: deslocamento, alargamento e/ou deslocamento e números de bandas. Essas modificações são características da coordenação do ligante, coordenação ou não do ânion, tipo de átomo envolvido na coordenação e existência ou não de moléculas de água ao redor do íon central (Nakamoto, 1987; Bueno, 1989).

A radiação infravermelha corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situada entre as regiões do visível e das microondas. A porção de maior utilidade para o químico orgânico está situada entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$  (Silverstein, 2000). A absorção na região do infravermelho é causada por movimentos vibracionais e rotacionais dos grupos moleculares e ligações químicas de uma molécula. Essencialmente, existem duas vibrações fundamentais: estiramento, no qual os átomos permanecem no mesmo eixo de ligação, porém a distância entre os átomos aumenta e diminui, e, deformação, em que as posições dos átomos mudam em relação ao eixo de ligação original.

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica de aquisição do espectro mais rapidamente, permitindo obter um somatório de muitos espectros, melhorando a resolução e definição dos sinais e a exatidão das análises (Narimoto, 2006).

Os espectros na região do infravermelho são chamados de “impressão digital de moléculas”, pois além da diagnose estrutural, apresentam aplicação

muito ampla: importantes na identificação de compostos, na determinação de pureza e nas análises qualitativas e quantitativas de misturas. Portanto, é uma importante ferramenta na análise de grupos funcionais e de alguns parâmetros estruturais, por exemplo, características de ligações (Nakamoto, 1987; Bueno, 1989).

### **2.6.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

A partir da década de 50, a técnica de RMN começou a se tornar uma das mais poderosas técnicas de espectroscopia com a descoberta de que núcleos de uma mesma espécie absorvem energia em diferentes frequências de ressonância (Paiva, 2004). Hoje, a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear é reconhecidamente a técnica mais importante para a investigação em nível molecular, permitindo obter informação estrutural e dinâmica para qualquer estado da matéria (Skoog et al., 2002). Ocupa, igualmente, um lugar de destaque no campo da análise qualitativa e quantitativa, desde componentes em produtos alimentares, a fluidos biológicos e metabólitos em tecidos e órgãos de seres vivos intactos, de um modo não invasivo e não destrutivo. Então, após a década de 70, surgem os primeiros resultados de imagem *in vivo* por RMN, hoje uma das técnicas imageológicas fundamentais em medicina (Paiva, 2004).

A técnica está baseada na medida da absorção de radiação eletromagnética na região de radiofrequências de cerca de 4 a 900 MHz. Muitos núcleos atômicos comportam-se como pequenos ímãs, com energias que dependem da sua orientação em um campo magnético. Um espectrômetro de RMN detecta transições entre estes níveis de energia. Dois núcleos são mais usados para RMN: o próton ( $^1\text{H}$ ) e o carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ ) (Atkins & Jones, 2001).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Síntese dos complexos DTPA – Metais Pesados

As sínteses dos complexos foram realizadas a partir dos nitratos p. a. de Cd, Cu, Pb e Zn e uma solução de DTPA.

A solução de DTPA foi preparada seguindo metodologia proposta por Lindsay & Norvell, 1978. Pesou-se 1,96 g ( $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ ) de DTPA, adicionou 200 mL de água deionizada e 15 mL ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) de trietanolamina (TEA). Agitou-se para uma completa dissolução do DTPA e em seguida adicionou 1,47g ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) de  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 1L, completando-o com água deionizada. O pH foi então corrigido para 7,3 com uma solução de HCl  $4 \text{ mol L}^{-1}$ .

Para a síntese, foram pesadas separadamente quantidades estequiométricas na proporção de 1:1 m/v dos nitratos. Previamente, os sais foram dissolvidos em 10 mL de água deionizada e em seguida, foram adicionados 10 mL da solução de DTPA. A solução resultante foi agitada por duas horas (velocidade de 140 rpm) e levada a estufa ( $\sim 60^\circ\text{C}$ ) por 24 horas. As amostras foram então congeladas em um freezer e levadas ao liofilizador por 48 horas, a uma pressão de 50 mbar e a uma temperatura de  $-45^\circ\text{C}$ , para uma completa dissolução.

Técnicas espectroscópicas como RMN, FTIR, ESIMS acopladas a outras técnicas foram usadas visando a obter informações sobre a estrutura molecular.

### **3.2 Análise por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)**

Os espectros de absorção na região do infravermelho (4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ ) foram obtidos em um espectrofotômetro FTS 3000 Excalibur Digilab com transformada de Fourier (resolução 2  $\text{cm}^{-1}$  e 20 scans), do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, utilizando como suporte a técnica de pastilhamento com brometo de potássio. Para uma análise mais precisa, as amostras foram pesadas na proporção de 3% de complexo e 97% de KBr.

### **3.3 Análise por Espectrometria de Massas (MS)**

As amostras foram analisadas no espectrômetro ESI/Ion Trap do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras. As condições de análise foram: concentração da amostra  $10^{-4}$  mol  $\text{L}^{-1}$  em metanol 50%, modo negativo, temperatura 200°C, voltagem aplicada 3500 V, fluxo de gás 6  $\text{L min}^{-1}$ , fluxo da bomba 1,5  $\text{mL min}^{-1}$  e tempo de saída da amostra ~1min.

### **3.4 Análise por Ressonância Magnética Nuclear de Carbono ( $^{13}\text{C}$ ) e Próton ( $^1\text{H}$ )**

Os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram registrados em espectrômetro Varian GEMINI 300, operando em temperatura ambiente (296K) e 75,45 MHz para o carbono e 300 MHz para o próton, após solubilização de 30  $\text{mg cm}^{-3}$  do complexo em  $\text{D}_2\text{O}$  (água deuterada) e 30  $\text{mg cm}^{-3}$  do DTPA puro em ácido trifluoroacético. Utilizou-se, para a realização dessa análise, o equipamento do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas.

### 3.5 Análise Elementar

Os teores de C, H e N dos quelatos foram obtidos através de um analisador CHN Perkin-Elmer modelo PE 2400 do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas (ICEX) da Universidade Federal de Minas Gerais.

### 3.6 Cálculos Teóricos

Foram realizadas otimizações das geometrias para obtenção das energias das possíveis estruturas dos complexos metal-DTPA (arranjos octaédricos), utilizando o programa Gaussian 98 (Frisch et al., 1998). Foi utilizado o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) B3LYP (método DFT de Becke usando correlação funcional de Lee, Yan e Parr), que corresponde ao funcional de Lee et al. (1998), tratado de acordo com a aproximação tri-paramétrica de Becke (1993), e o conjunto de bases 6-31g(d,p), que é composto por três partes para descrever a estrutura eletrônica dos átomos: a primeira parte é uma contração de 6 gaussianas primitivas e representa a estrutura eletrônica interna a segunda função é obtida pela contração de 3 gaussianas primitivas e a terceira é 1 função gaussiana não contraída. A segunda e a terceira parte representam a camada de valência do átomo. Por essa razão, esse conjunto é denominado 6-31. O termo (d,p) representa funções de polarização “p” para átomos de hidrogênio e função de polarização adicional “d” para átomos pesados. Esse conjunto de bases (6-31g(p,d)) foi escolhido para os complexos de Zn e Cu. Para os complexos de Cd e Pb, o conjunto de bases 6-31g(d,p) foi aplicado para os átomos de C, H, O e N, enquanto a base LANL2DZ (base utilizada para átomos que estão além do terceiro período da tabela periódica), que inclui um pseudo-potencial obtido de Extensible Computational Chemistry Environment Basis Set Database, Version 02/02/06, foi utilizada para os átomos de Cd e Pb.

Os valores dos tensores de proteção magnética para o DTPA foram calculados utilizando o nível B3LYP/6-31g(d,p), através do modelo GIAO (Helgaker et al., 1999). Os valores calculados para os tensores de proteção magnética foram convertidos em deslocamentos químicos, (ppm) pela subtração dos tensores de proteção dos deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  (DTPA em relação aos respectivos valores calculados para o TMS (tetrametilsilano)).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho do ligante ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) livre e complexado com Cu, Cd, Pb e Zn estão apresentados nas Figuras 1a, 1b, 1c e 1d, respectivamente.

A frequência ( $\nu = c/\lambda$ ) ou o número de ondas ( $\tilde{\nu} = 1/\lambda$ ) de uma absorção depende das massas reduzidas ( $\mu$ ) dos átomos, das constantes de força ( $k$ ) das ligações e da geometria dos átomos [ $\tilde{\nu} = 1/2\pi c(k/\mu)^{1/2}$ ]. Na formação do complexo, as ligações envolvendo os átomos do DTPA ligados ao metal são enfraquecidas e, conseqüentemente, a constante de força ( $k$ ) e a frequência ( $\nu$ ) diminuem (Silverstein, 2000). Por isso, as bandas observadas na Figura 1(a, b, c e d) para os complexos estão deslocadas para frequências menores que as observadas no DTPA livre.

Tanto os complexos quanto o ligante exibem um banda de absorção muito intensa na região de 3600-2900  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde ao estiramento O-H. Em complexos do tipo poliaminocarboxilatos (PAC), incluindo os complexos de DTPA, essa banda aparece muito larga e forte em conseqüência da rede complexa de ligações de hidrogênio envolvendo dímeros de grupo carboxílico. As bandas de estiramento de C-H, que são fracas, aparecem superpostas com a banda larga do grupo O-H (Wullens et al., 2002).

Na forma livre, o DTPA existe na forma de zwitteriônica, resultado da troca de prótons entre os grupos -COOH e amina. O DTPA contém grupos cujas vibrações são facilmente identificadas como C-N e COOH.

Uma das regiões de interesse está entre 1800-1550  $\text{cm}^{-1}$  e corresponde ao estiramento assimétrico de grupo carboxílico  $\nu_{\text{AS(COOH)}}$ , um modo vibracional,

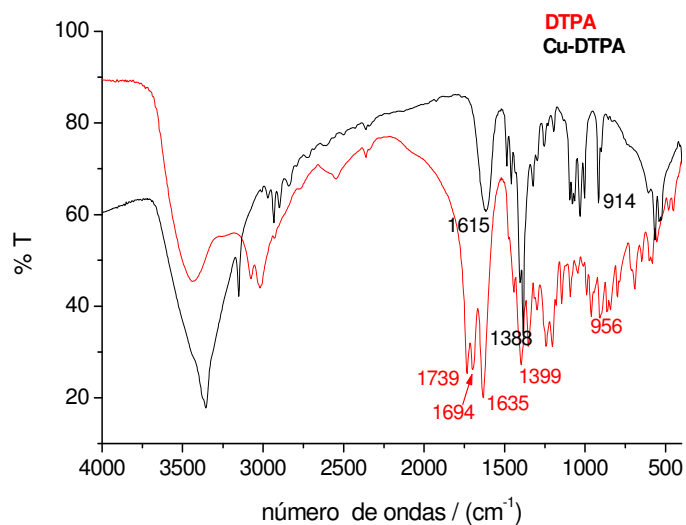
que é bem influenciado pela complexação. De acordo com Wullens et al. (2002), as frequências associadas com o  $\nu_{AS(COOH)}$  são tipicamente maiores que aquelas correspondentes a grupos ionizados, e valores de 1680-1700  $\text{cm}^{-1}$  ou maiores podem ser designados para grupos carboxílicos não ionizados. Bandas ocorrendo abaixo de 1680  $\text{cm}^{-1}$  podem ser designadas para  $-\text{COO}^-$  na forma zwitteriônica. Nos espectros apresentados para os complexos DTPA-metal (Figura 1a, 1b, 1c e 1d), não se pode concluir se há ou não carboxilas livres (não ionizadas), porque o que se observa nesta região é uma banda larga, que pode estar sobrepondo outras bandas menores. O estiramento simétrico do grupo carboxílico ( $\nu_{S(COOH)}$ ) aparece na região de 1420-1370  $\text{cm}^{-1}$ , mas é pouco afetado pelo processo de complexação. Também, bandas de fraca absorção de deformação fora do plano de grupos carboxilatos ( $\delta_{COO^-}$ ) podem ser identificadas em 956 e 917  $\text{cm}^{-1}$ , no DTPA livre e no complexado, respectivamente.

Bandas de fraca absorção de C-N ( $\nu_{C-N}$ ) podem ser observadas no DTPA livre e deslocadas na forma complexada. É possível afirmar também que não há nitrogênio livre, pois suas bandas características no DTPA livre não aparecem na forma complexada.

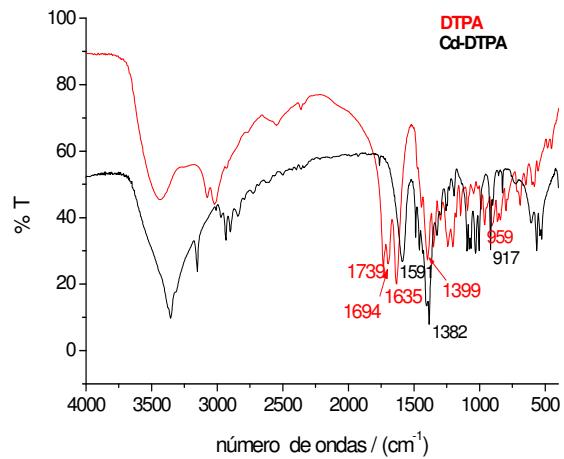
As alterações batômicas (deslocamento da banda para comprimentos de ondas maiores) observadas em ambas as vibrações (Tabela 2), do DTPA complexado em relação ao livre, para  $\nu_{AS(COOH)}$  e  $\nu_{C-N}$  indicam que tanto o nitrogênio quanto o oxigênio são sítios de coordenação. Como o DTPA tem oito sítios de coordenação, e os metais estudados (Cd, Cu, Pb e Zn) têm um número máximo de coordenação igual a seis, as quais assumem um arranjo octaédrico, supõe-se que dois sítios não estejam complexados.

**TABELA 2:** Os valores mais relevantes de  $\nu_{AS(COOH)}$  e  $\nu_{C-N}$  no DTPA livre e nos complexos metais-DTPA.

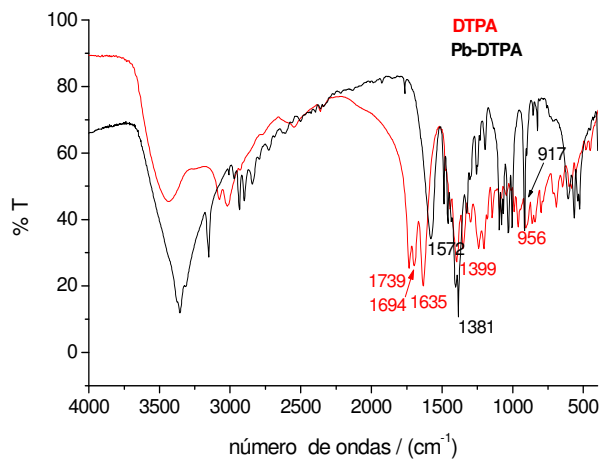
Vibrações no IV	DTPA	Cd-DTPA	Cu-DTPA	Pb-DTPA	Zn-DTPA
$\nu_{C-N} (cm^{-1})$	1200-1250	1000-1100	1000-1100	1000-1100	1000-1100
$\nu_{C=O} (cm^{-1})$	1635-1740	1590 (larga)	1615 (larga)	1572 (larga)	1595 (larga)



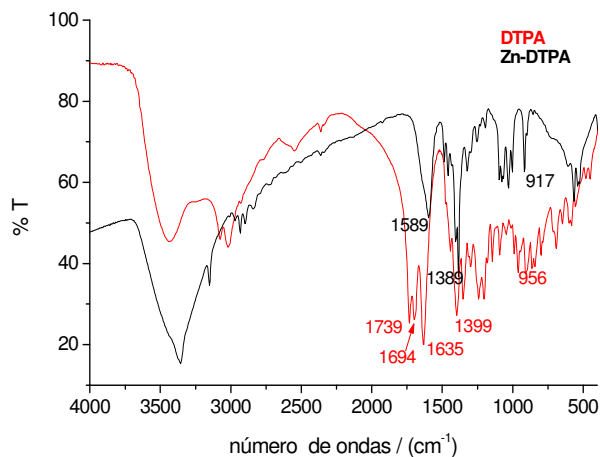
**FIGURA 1a:** Espectros de infravermelho do DTPA livre e do complexo Cu-DTPA.



**FIGURA 1b:** Espectros de infravermelho do DTPA livre e do complexo Cd-DTPA.



**FIGURA 1c:** Espectros de infravermelho do DTPA livre e do complexo Pb-DTPA.

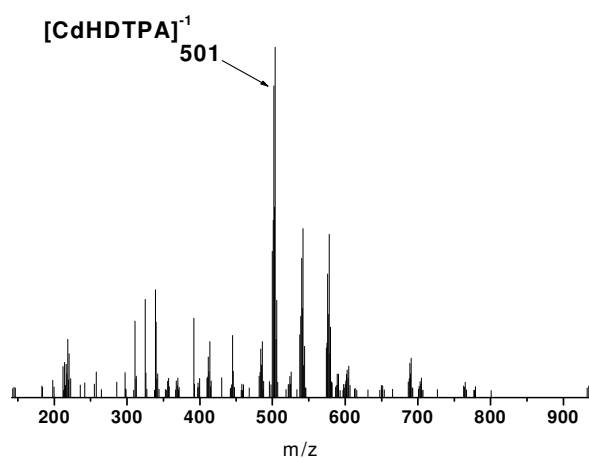
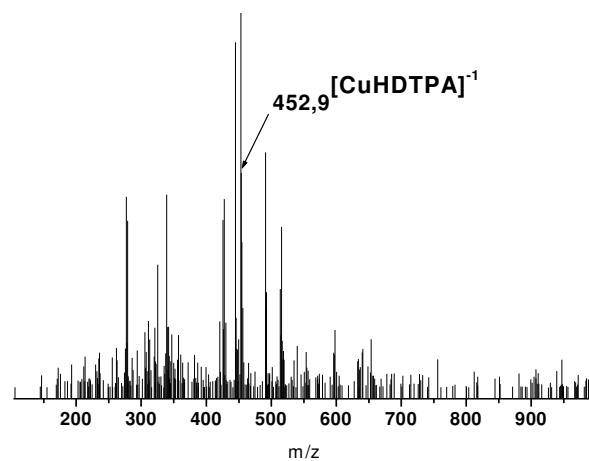


**FIGURA 1d:** Espectros de infravermelho do DTPA livre e do complexo Zn-DTPA.

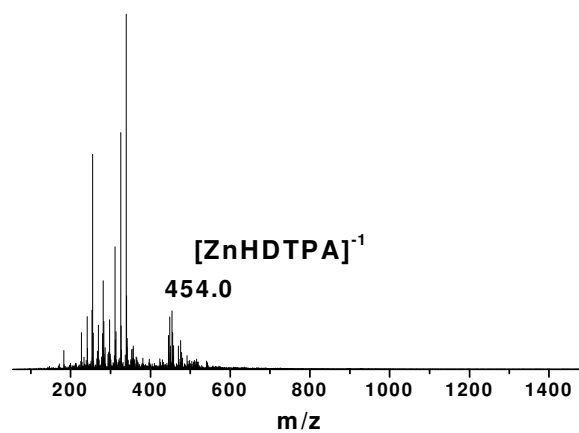
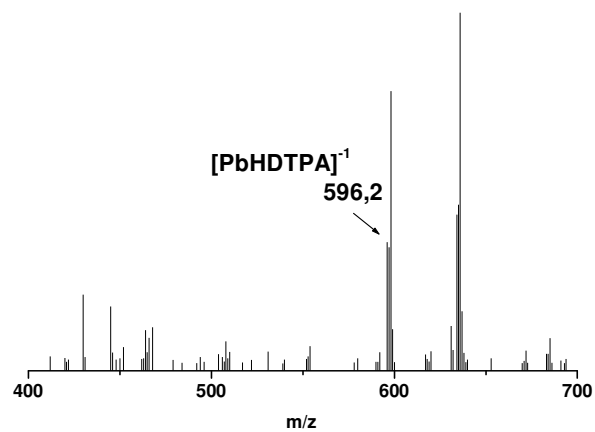
#### 4.2 Espectrometria de Massas

A espectrometria de massas foi usada principalmente para verificar as massas dos complexos e, conseqüentemente, determinar a razão metal: DTPA. Através dos espectros das figuras 2a e 2b, foram identificados íons moleculares com  $m/z$  de 592,2; 454,0; 452,9 e 501,0 que representam, respectivamente, os complexos de Pb, Zn, Cu e Cd. O ligante DTPA tem cinco grupos carboxilas ( $pK_{a_s}$  2,6; 2,0; 1,6; 0,7; -0,1) e três nitrogênios ( $pK_{a_s}$  10,5; 8,6; 4,3), que podem ser facilmente protonados (Moulin et al., 2006). Próximo ao pH 7, que é o pH da solução de DTPA usada na síntese, as formas principais são  $H_2L^{3-}$  e  $HL^{4-}$ . A forma dos complexos observados é  $[MHL]^{-1}$ , que confirma que o grau de complexação dos metais estudados (Cd, Cu, Pb e Zn) com o DTPA, está na razão de 1:1. Devido à existência de outros cátions na solução original (solução extratora), como  $Ca^{+2}$ , outros íons moleculares também foram observados e

provavelmente são complexos formados durante a síntese, por exemplo, CaDTPA.



**FIGURA 2a:** Espectros de massas dos complexos de Cu e Cd com DTPA



**FIGURA 2b:** Espectros de massas dos complexos de Pb e Zn com DTPA

Antes de obter os resultados discutidos, notadamente os do sub-ítem 5.2, foi feita a análise elementar (Tabela 3), que já havia sugerido uma relação de 1:1; o único resultado insatisfatório foi em relação ao teor de hidrogênio

experimental em todos os complexos, que foi superior ao teor calculado. Porém, a discrepância parece estar relacionada à quantidade de umidade absorvida pelos complexos.

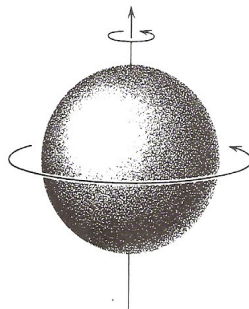
**TABELA 3:** Teores percentuais de C, H e N, experimentais e calculados, nos complexos metais-DTPA.

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>
	<b>% Calculado (Experimental)</b>	<b>% Calculado (Experimental)</b>	<b>% Calculado (Experimental)</b>	<b>% Calculado (Experimental)</b>
<b>% C</b>	33,5 (34,8)	37,1 (36,9)	28,2 (32,2)	37,0 (37,0)
<b>% H</b>	3,8 (8,3)	4,2 (8,4)	3,2 (7,4)	4,2 (8,8)
<b>% N</b>	8,4 (8,4)	9,3 (8,0)	7,0 (8,0)	9,2 (7,9)

### 4.3 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN são registros gráficos das frequências dos picos de absorção contra suas intensidades. A técnica é fundamentada nas propriedades magnéticas dos núcleos. O momento angular da carga em movimento pode ser descrito em termos do “número de spin”  $I$ , que pode assumir os valores 0;  $1/2$ ; 1;  $3/2$  etc, ( $I=0$  não apresenta momento magnético e, portanto, não é ativo no RMN). Em particular, núcleos com spin,  $I$ , igual a  $1/2$  (ex.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) recebem atenção especial, já que esses núcleos apresentam distribuição de cargas esférica e uniforme (Figura 3) e apresentam também basicamente propriedades de dipolos magnéticos. Os núcleos com número de spin,  $I$ , um ou maior que um possui distribuição de carga não esférica, descrita por um

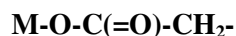
momento elétrico de quadrupolo que afeta o tempo de relaxação e, conseqüentemente, a largura do sinal e o acoplamento com núcleos vizinhos.



**FIGURA 3:** Esquema do dipolo magnético

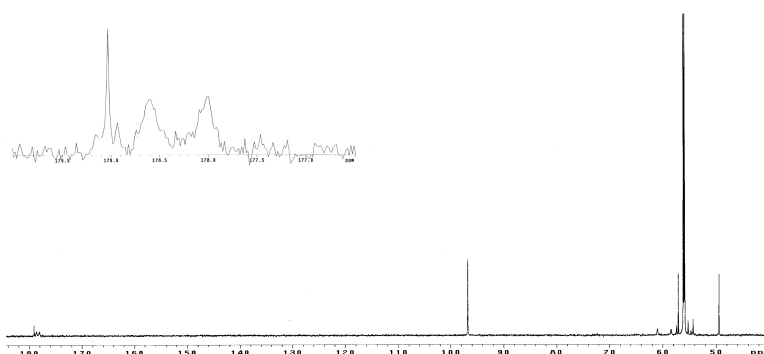
O cádmio-111, cádmio-113 e o chumbo-207, por possuírem  $I=1/2$  e uma abundância natural significativa, podem sofrer o fenômeno de acoplamento de spins, descrito como sendo o acoplamento indireto dos spins através dos elétrons de ligação. O fenômeno ocorre porque os elétrons da ligação tendem a alinhar o spin com o spin do núcleo mais próximo. Como o spin do elétron de ligação é afetado, ele afeta o spin do elétron de ligação mais próximo e, em conseqüência, no caso da RMN  $^{13}\text{C}$ , o carbono mais próximo. O acoplamento geralmente não é importante além de três ligações, exceto quando existem tensão no anel, deslocalização ou quatro ligações em uma configuração em W. O acoplamento de duas ligações é chamado acoplamento geminal (o n°. de ligações entre os núcleos acoplados é designado por J com um sobrescrito à esquerda, então nesse caso temos um  $^2\text{J}$ ) e o acoplamento de três ligações é chamado vicinal ( $^3\text{J}$ ).

Na estrutura dos complexos estudados, temos:



É possível observar acoplamento entre carbono 13 e metal nos espectros de  $^{13}\text{C}$  (para Cd e Pb), em que se tem um  $^2\text{J}$ . Nos espectros de  $^1\text{H}$ , o acoplamento não deve ser observado devido à presença de quatro ligações entre o metal (M) e o hidrogênio-1 mais próximo.

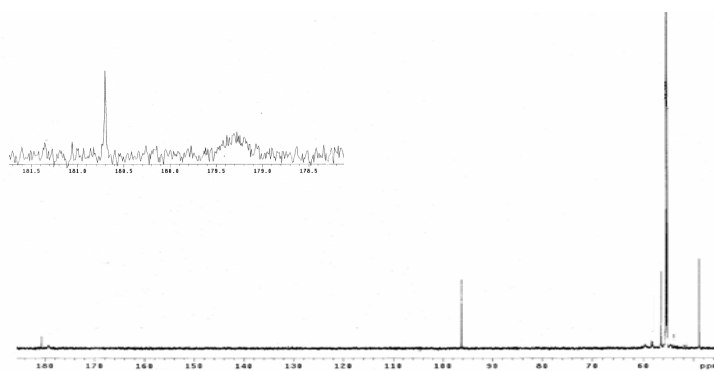
Na Figura 4, tem-se o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  para o complexo de cádmio. Podem-se observar três picos bem definidos na região de carboxilas (150 a 185 ppm): um singlete estreito em 179.0 ppm (grupo carboxila livre) e dois outros sinais, que podem corresponder a dois singletos alargados (178,0 e 178,6 ppm), devido à complexação com o metal ou a um duplete largo com  $^2\text{J}_{\text{Cd-C(=O)}} = 45,2$  Hz centrado em 178.3 ppm, devido ao acoplamento com  $^{111}\text{Cd}$  e  $^{113}\text{Cd}$  magneticamente ativos e de  $I=1/2$ . Esses resultados indicam a presença de grupos carboxilas coordenadas e não coordenadas.



**FIGURA 4:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo Cd-DTPA.

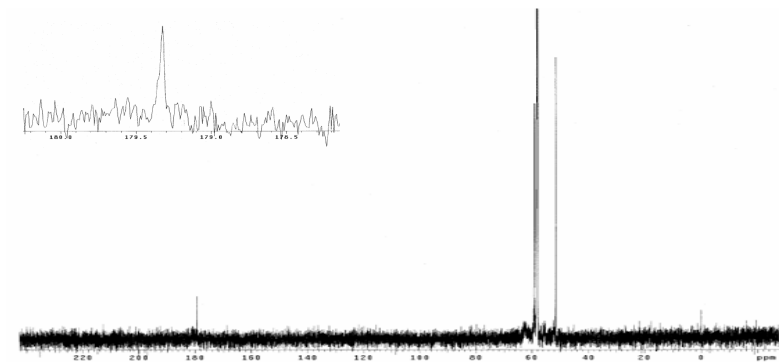
Para o complexo de chumbo (Figura 5), podem-se observar na região da carboxila dois sinais: um sinal agudo em 180.7 ppm, que pode ser atribuído às carboxilas livres e um sinal largo e fraco em 179.3 ppm às carboxilas

complexadas, que também pode exibir o efeito de acoplamento com o chumbo. O sinal alargado pode ser efeito do tamanho do chumbo, que afeta o tempo de relaxação e, conseqüentemente, a largura do sinal.



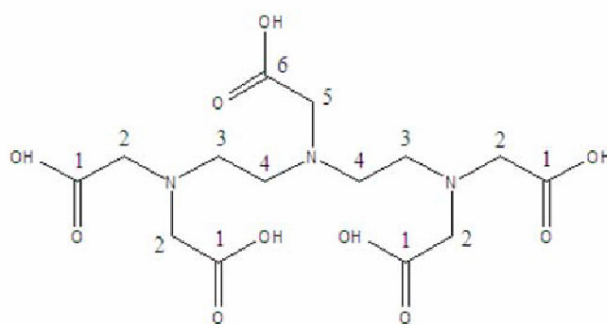
**FIGURA 5:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo Pb-DTPA

O zinco tem apenas 4,2% de abundância natural com núcleos magneticamente ativos e esses núcleos apresentam momento quadrupolar,  $I=5/2$ . Com isso, não é observado acoplamento entre os  $^{13}\text{C}$  das carboxilas e o metal (Figura 6). Lammers et al. (1998) também obtiveram para complexos de Zn-DTPA quatro sinais nos seguintes deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  (179.0; 61.4; 59.1; 54.3 ppm); as diferenças observadas em relação aos deslocamentos estão relacionadas às condições experimentais sendo que uma delas a temperatura. Lammers et al. (1998) trabalharam com 80°C, enquanto o presente trabalho foi realizado à temperatura ambiente (~25°C).



**FIGURA 6:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo Zn-DTPA

Com base na estrutura do DTPA (Figura 7) e nos seus deslocamentos químicos no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , foi possível relacionar cada deslocamento nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  dos complexos com os carbonos correspondentes (Tabela 4).

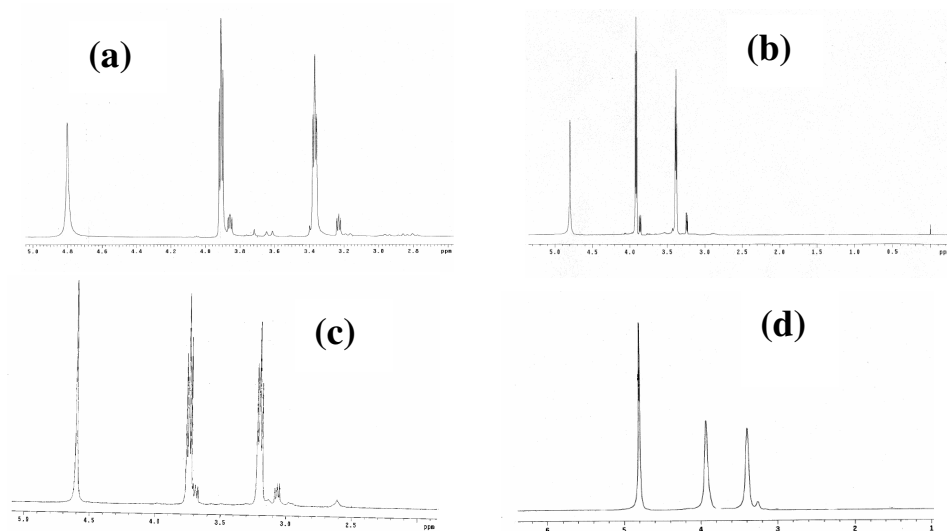


**FIGURA 7:** Estrutura do DTPA

**TABELA 4:** Deslocamentos químicos (ppm) para DTPA e complexos metal-DTPA obtidos pelo RMN  $^{13}\text{C}$ .

$^{13}\text{C}$	DTPA	Zn-DTPA	Cd-DTPA	Pb-DTPA	Cu-DTPA
C1	177.0	179.3	179.0, 178.3 (d, 45.2Hz)	180.7, 179.4	175.6
C2	57.2	59.2	57.2	56.5	57.0
C3	56.6	58.0	55.9	55.3	55.8
C4	58.6	58.2	56.1	55.5	56.0
C5	53.8	51.6	49.6	48.9	49.5
C6	172.0	179.3	178.3 (d, 45.2Hz)	179.4	175.6

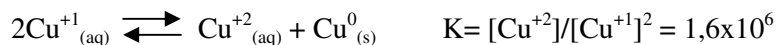
Pelo fato das moléculas apresentarem simetria, os espectros de RMN  $^1\text{H}$  dos complexos (Figura 8) não são de primeira ordem, o que dificulta atribuir a multiplicidade de sinais de  $^1\text{H}$ . Porém, pode-se dizer que os sinais menos deslocados correspondem aos hidrogênios do interior da molécula (-N- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -N-) e aos vizinhos às carboxilas (- $\text{CH}_2$ - $\text{COO}^-$ ), respectivamente. Os mais deslocados a HDO e os sinais de baixa intensidade podem ser de hidrogênios do DTPA livre ou de outros complexos (por ex. CaDTPA).



**FIGURA 8:** Espectros de RMN  $^1\text{H}$ : (a) Pb-DTPA, (b) Zn-DTPA, (c) Cd-DTPA e (d) Cu-DTPA.

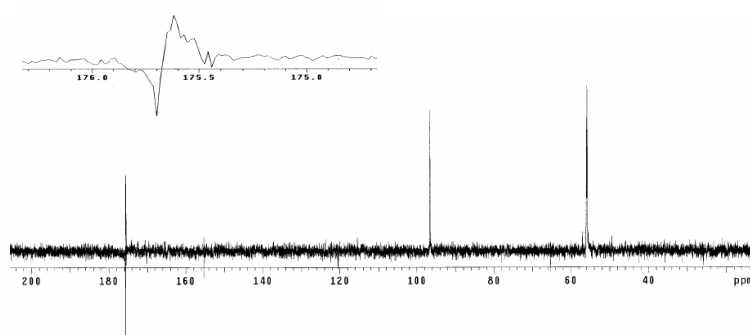
Os metais cádmio, zinco e chumbo têm o estado de oxidação (+2) como forma exclusiva ou, ao menos, mais importante.  $\text{Cd}^{+2}$  e  $\text{Zn}^{+2}$  têm configuração  $d^{10}$  e  $\text{Pb}^{+2}$  configuração  $s^2$ . Portanto, em todos os casos, seus compostos simples e seus complexos são diamagnéticos, ou seja, com todos os elétrons emparelhados. Conseqüentemente, esses cátions não geram campo magnético e, portanto, não são atraídos ou repelidos por campos magnéticos estáticos.

Com base na estabilidade resultante da configuração, seria de se esperar que  $\text{Cu}^{+1}$  fosse a espécie mais estável e comum, pois apresenta um nível completamente preenchido ( $d^{10}$ ). Surpreendentemente esse não é o caso, uma vez que  $\text{Cu}^{+1}$  só pode existir na forma de compostos insolúveis ou complexos, pois sofre desproporcionamento em água:



A constante de equilíbrio da reação de  $\text{Cu}^{+1}$  em solução (K) é elevada, mostrando que o equilíbrio está bastante deslocado para a direita. Então, no caso do cobre, o estado de oxidação (+2) também é importante; porém  $\text{Cu}^{+2}$  tem uma configuração  $d^9$  e é paramagnético, ou seja, o cobre possui camada interna que está incompleta, causando desemparelhamento dos elétrons e fazendo do átomo um ímã permanente que, na presença de um campo magnético externo, produz um torque que tende a alinhar os momentos magnéticos na mesma direção do campo, causando o aparecimento de uma certa magnetização.

Logo, no caso do cobre, a redução significativa na resolução do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 9) é devida, principalmente, ao elétron desemparelhado gerador de um campo magnético que interage com o momento magnético do núcleo, causando alargamento do sinal. Mesmo assim, o espectro forneceu informações sobre o complexo: além de se confirmar a presença de  $\text{Cu}^{+2}$ , o sinal distorcido e fora de fase pode corresponder aos carbonos carboxílicos (~175,6 ppm), que estão mais próximos do Cu e, por isso, sofreram um maior efeito do paramagnetismo.

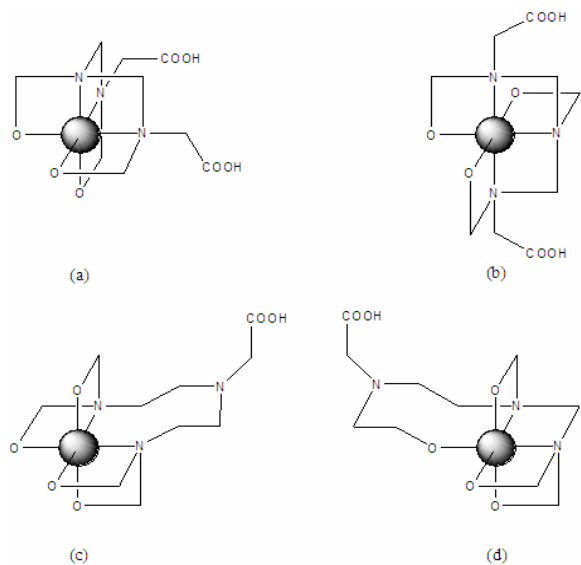


**FIGURA 9:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo Cu-DTPA

#### 4.4 Proposição de Estruturas e cálculos teóricos (DFT)

Sabendo-se que os metais estudados (Cd, Zn, Pb e Cu) têm tendência a formar complexos estáveis hexacoordenados (arranjo octaédrico) (Lee, 1999) e, conhecendo a estrutura clássica de complexos metal-EDTA (Harris, 2002) (o DTPA tem estrutura similar ao EDTA), surge a possibilidade dos complexos apresentarem estereoisomeria, ou seja, estruturas que apresentam mesma conectividade, mas com os átomos arranjados diferentemente no espaço.

Diante dessa possibilidade foram propostas quatro estruturas octaédricas (Figura 10a, 10b, 10c e 10d). Apesar de 10c e 10d terem sido propostas, elas não podem existir, pois no espectro de infravermelho não foi verificado estiramento C-N não complexado. O número de sinais e os deslocamentos químicos no RMN  $^{13}\text{C}$  também não condizem com tais estruturas.



**FIGURA 10:** Ilustração dos possíveis estereoisômeros para os complexos.

Espera-se que a estrutura 10b seja mais estável que 10a, pois ela apresenta baixo impedimento estérico e baixa repulsão eletrostática, envolvendo os grupos carboxílicos livres (eles estão em lados opostos), enquanto 10a é uma estrutura altamente tensionada.

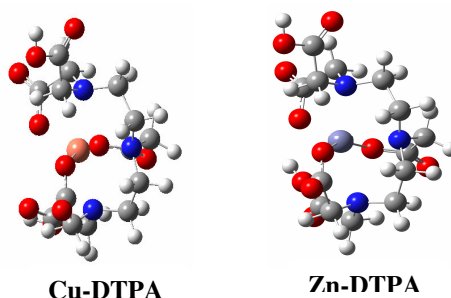
Embora o mecanismo de quelatização não seja conhecido, a diferença de energia entre os dois estereoisômeros fornece uma forte evidência de qual estrutura (10a ou 10b) é mais provável. Para dar uma visão sobre qual estrutura deveria prevalecer, otimizações geométricas através de cálculos DFT foram realizadas para ambos os estereoisômeros dos complexos de cobre, zinco, chumbo e cádmio (Tabela 4), dando uma geometria de um octaedro distorcido. Para o complexo de zinco, 10b é mais estável que 10a por 6,5 Kcal mol<sup>-1</sup>, enquanto que para o complexo de cádmio, 10b é mais estável que 10a por uma quantidade maior (7,4 Kcal mol<sup>-1</sup>). Para os complexos de Cu e Pb, a estrutura 10b também é mais estável que 10a por 3,09 e 4,77 Kcal mol<sup>-1</sup>, respectivamente, confirmando assim a sugestão proposta de estabilidade.

**TABELA 5:** Resultado das energias para os complexos Cd-DTPA e Zn-DTPA (estereoisômeros a e b).

Estereoisômeros	E (a.u.)	E <sub>rel</sub> (kcal mol <sup>-1</sup> )
Zn-DTPA ( <b>a</b> )	-3241.40909	6.51
Zn-DTPA ( <b>b</b> )	-3241.41947	0
Cd-DTPA ( <b>a</b> )	-1510.289858	7.38
Cd-DTPA ( <b>b</b> )	-1510.301623	0
Cu-DTPA ( <b>a</b> )	-3102,54023080	3,09
Cu-DTPA ( <b>b</b> )	-3102,54515937	0
Pb-DTPA ( <b>a</b> )	-1465,68927109	4,77
Pb-DTPA ( <b>b</b> )	-1465,69687827	0

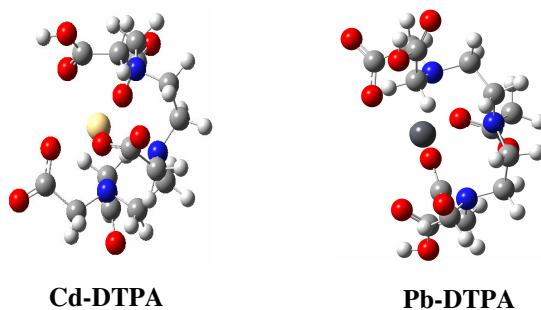
E (a.u.) = energia absoluta (hartree) E<sub>rel</sub> = energia relativa

Pode-se observar que, quanto menor o metal, mais próxima de um octaedro perfeito é a estrutura do complexo. Portanto, os complexos de Cu e Zn têm as estruturas mais próximas de um octaedro (Figura 11).



**FIGURA 11:** Estruturas otimizadas dos complexos de Cu-DTPA e Pb-DTPA

Os complexos de Cd e Pb (Figura 12), assim como os de Cu e Zn, são hexacoordenados, não apresentando todas as ligações do mesmo tamanho, portanto não considerados octaedros simétricos e perfeitos. As distâncias calculadas entre o metal e os sítios coordenados (O e N) para o estereoisômero 10b (que é o mais estável) estão apresentadas na Tabela 6. Observa-se ainda que o Pb por ter um raio atômico grande ( $175 \times 10^{-12}$  m) dificulta o ligante rodeá-lo completamente, originando assim uma estrutura hexacoordenada semelhante a uma “concha”.



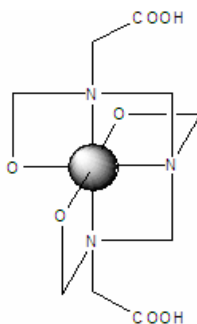
**FIGURA 12:** Estruturas otimizadas dos complexos de CdDTPA e PbDTPA

**TABELA 6:** Comprimentos de ligações calculados para os complexos estudados.

<b>Ligações</b>	<b>Comprimento de ligação (Å)</b>
Cu-N	2.574, 2.272 e 2.346
Cu-O	1.943, 1.941 e 1.937
Pb-N	2.686, 2.833 e 2.922
Pb-O	2.409, 2.414 e 2.398
Cd-N	2.601, 2.604 e 2.655
Cd-O	2.271, 2.267 e 2.267
Zn-N	2.334, 2.350 e 2.563
Zn-O	2.021, 2.039 e 1.995

## 5 CONCLUSÕES

**5.1** Os metais cádmio, zinco, cobre e chumbo formam complexos com DTPA na razão de 1:1. O metal se liga ao DTPA através de três carboxilas e os três grupos amino, sobrando, portanto, duas carboxilas livres como mostra a estrutura proposta abaixo:



**5.2** Os complexos formados apresentam uma estrutura hexacoordenada. Podemos observar ainda que quanto maior o raio atômico do metal mais distante de uma geometria octaédrica perfeita é o complexo.

**5.3** O fato dos complexos apresentarem estruturas com conformações espaciais de alta complexidade, dotadas de impedimento estérico, pode justificar o baixo movimento dos íons metálicos ao longo das plantas.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, C.A. et al. Comparação de métodos de análise para avaliar a disponibilidade de metais pesados no solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, n.19, p.463-468, 1995.

AMARAL SOBRINHO, A.N.M.B.; VELLOSO, A.C.X.; OLIVEIRA, C. Solubilidade de metais pesados em solo tratado com resíduo siderúrgico. In: FERREIRA, M.E. et al. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. Cap. 9.

ANDRADE, A. **Seqüenciamento, identificação e análise de proteínas do caule de mudas de *Eucalyptus grandis***. 2006. 120p. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/ USP, Piracicaba, SP.

ARAÚJO, E.T. **Efeitos biocidas de ácidos R(-) e S(+)-mandélicos e derivados diorganoestânicos sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense***. 2002. 45p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ASHCROFT, A. Protein and peptide identification: the role of mass spectrometry in proteomics. **Natural products reports**, London, v.20, p.202-215, 2003.

ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. Porto Alegre: Bookman, 2001. 912p.

BAKER, D.E.; AMACHER, M.C, 1982. Nickel, copper, zinc, and cadmium. In: PAGE, A.L.; MILLER, R.H.; KEENEY, D.R. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Part 2. Madison: Chemical and Microbiological Methods. American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, 1982. p.323-336.

BATAGLIA, O.C.; RAIJ, B. Eficiências de extratores de micronutrientes na análise de solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v.13, n.2, p.205-212, 1989.

BECKE, A.D. O método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) B3LYP. **Journal Chem. Phys.**, v.98, 5648, 1993.

BERTONCINI, E.I. **Comportamento de Cd, Cr, Cu, Ni e Zn em Latossolos sucessivamente tratados com biossólido: extração seqüencial, fitodisponibilidade e caracterização de substâncias húmicas**. 2002. 195p. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BLAEDEL, W.J.; MELOCHE, V.W. **Elementary quantitative analysis**. 2.ed. New York: Harper & Row, 1963. 964p.

BLOWES, D.W. et al. Geochemical, mineralogical and microbiological characterization of a sulphite-bearing carbonate-rich gold-mine tailings impoundment. In: SILVA, S.R. et al. Caracterização de rejeitos de mineração de ouro para avaliação de solubilização de metais pesados e arsênio e revegetação local. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, n.28, p.186-196, 2004.

BOSMANS, H.; MARCHAL, G. Contrast-enhanced MR angiography. **Der radiologe**, Berlin, v.36, n.2, 2004.

BUENO, W.A. **Manual de espectroscopia vibracional**. São Paulo: Mc Graw-Hill, 1989. 584p.

CAJUSTE, L.J.; CRUZ-DIAZ, J.; GARCIA-OSORIO, C. Extraction of heavy metals from contaminated soils: I. Sequential extraction in surface soils and their relationships to DTPA extractable metals and metal plant uptake. **Journal of Environmental Science and Health**, Part A: Toxic-Hazardous Substances and Environmental Engineering v.35. p.1141-1152, 2000.

CAMARGO, O.A. et al. Reações dos micronutrientes e elementos tóxicos no solo. In: FERREIRA, M.E. et al. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. Cap. 5, p.89-124.

CAMARGO, O.A.; VALADARES, J.M.A.S.; DECHEN, R.A. Efeitos do pH e da incubação na extração de manganês, zinco, cobre e ferro do solo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Campinas, v.9, n.2, p.83-88, 1982.

CAMPOS, M.J.A. **Metais pesados e seus efeitos**. Disponível em: <[www.mundoquimico.hpg.com.br](http://www.mundoquimico.hpg.com.br)>. Acesso em: 5 mar. 2005.

CARNEIRO, M.A.C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F.M.S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.12, p.1443-1452, dez. 2001.

CARVALHO, A.V.S. **Produção de matéria seca e de grãos por plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris L.*) cultivadas em solos tratados com metais pesados.** 2006. 76p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CHANG, A.C. et al. Sequential extraction of soil heavy metal following a sludge application. **Journal Environment Quality**, Madison, v.13, n.1, p. 33-38, 1984.

CHANG, A.C. et al. Effects of long term sludge application on accumulation of trace elements by crops. In: PAGE, A.L.; LOGAN, T.J.; RYAN, J.A. (Ed.). **Land application of sludge: food chain implications.** Chelsea: Lewis Publishers, 1987. Cap.4, p.53-66.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J.O.; MOREIRA, F. M. S. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1443-1452, dez. 2001.

CORRÊA, M.L.T. et al. Métodos de análise de sulfetos em amostras de rochas e sedimentos. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.26, p.103-115, 2002.

DAO THI PUONG, D. et al. Accumulation and translocation of lead in cucumber plants monitored by graphite furnace atomic absorption spectrometry. In: FERREIRA, M.E. et al. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura.** Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. Cap.3, p. 59.

DIAS, A.K.C. **Efeitos biocidas de alguns  $\alpha$ -hidroxicarboxílicos e compostos orgaestânicos sobre *fusarium oxysporum f. sp. Cubense e Plytophthora capsici*.** 1999. 54p. Dissertação (mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DOYLE, J.J. Effects of low levels of dietary cadmiun in animals. **Journal Environment Quality**, Madison, v.6, p. 111-116, 1977.

DURHAM, E.J.; RYSKIEWICH, D.P. The acid dissociation constants of diethylenetriaminepentaacetic acid and the stability constant of some of its metal chelates. **The Journal of American Chemical Society**, Washington, v.80, n.16, p.3171-5110, 1958.

EXTENSIBLE Computational Chemistry Environment Basis Set Database.  
Washington: Molecular Science Computing Facility/Environmental and  
Molecular Sciences Laboratory, 2006. Software.

FAGBAMI, A.; AJAYI, S.O.; ALI, E.M. Nutrient distribution in the  
basement complex soils of the tropical, dry rainforest of southwestern Nigeria: 2.  
Micronutrients-zinc and copper. **Soil Science**, Baltimore, v. 139, n. 6, p. 531-  
537, 1985.

FERREIRA, M.E. et al. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**.  
Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001.

FRANCISCHETTI, I. et al. Ação do ácido trissódio-cálcio-  
dietilenotriaminopentaacético ( $\text{Ca}_3\text{NaDTPA}$ ) nas lesões de isquemia-reperfusão  
em membro posterior de rato. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.17, n. 2,  
p.332-341, 2002.

FRISCH, M.J. et al. **Gaussian 98**: revision A.7. Gaussian, Pittsburgh, 1998.  
Software.

GODBOLD, D.L.; KETTNER, C. Use of roots elongation studies to  
determination aluminium and lead toxicity in *Picea abies* seedlings. **Journal of  
Plant Physiology**, n.138, p.231-235, 1991.

GUO, Y.; MARSCHNER, H. Uptake, distribution, and binding of cadmium and  
nickel in different plant species. In: FERREIRA, M.E. et al. **Micronutrientes e  
elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS,  
2001. Cap.3, p. 58.

GUPTA, U.C. Micronutrientes e elementos tóxicos em plantas e animais. In:  
FERREIRA, M.E. et al. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**.  
Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. Cap. 2, p.13-41.

HARRIS, D.C. **Quantitative chemical analysis**. 6<sup>th</sup> ed. NewYork: W.H.  
Freeman, 2002.

HELGAKEK, T.; JASZUNSKI, M.; RUUD, K. **Chem. Rev.**, v.99, p.293,  
1999.

HOSSNER, L.R. Dissolution for total elemental analysis. In: SPARKS, D.L. et al. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Part 3. Chemical methods. Madison, WI: Soil Science Society of America/American Society of Agronomy, 1996. p.49-64.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soil and plants**. Boca Raton, Flórida: CRC, 1984. 315p.

KERBUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.  
KORCAK, R.F.; FANNING, D.S. Extractability of cadmium, copper, nickel, and zinc by double acid versus DTPA and plant content at excessive soil levels. **Journal of Environmental Quality**, v.7, p.506-512, 1978.

KRISHNAMIRTI, G.S.R., SMITH, L.H., NAIDU, R.. Method for assessing plant-available cadmium in soils. In: MENZIES, N.W.; DONN, M.J.; KOPITTKE, P.M. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soil. **Environmental pollution**, 2006 (no prelo).

LAMMERS, H. et al. Multinuclear NMR study of the interactions between the La(III) complex of DTPA-bis (glucamide) and Zn (II) or borate. **Inorganica Chimica Acta**, v.268, p.249-255, 1998.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R.G. **Phys. Rev. B**, v.37, p.785, 1988.

LEE, J.D. **Química Inorgânica não tão concisa**. São Paulo: E. Blücher, 1999. 527p.

LESCHBER, R.; DAVIES, R.D.; L'HERMITE, P. **Chemical methods for assessing bioavailability metals in sludge and soils**. London: Elsevier, 1985. 96p.

LI, Z.; SHUMAN, L.M. Mehlich-1 and DTPA extractable lead in soil in relation to soil properties. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.28, n.3/5, p.351-363, 1997.

LINDSAY, W.L.; NORVELL, W.A. Development of DTPA soil test for zinc, iron, manganese and cooper. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v.42, n.3, p.421-428, May/June 1978.

MALAVOLTA, E. **ABC da adubação**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1989. Cap.13, p.160-170.

MALAVOLTA, E. **Fertilizantes e seus impactos ambientais:** metais pesados, mitos, mistificações e fatos. Piracicaba: Produquímica, 1994. 153p.

MARTINEZ, C.E.; MOTTO, H.L. Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils. **Environmental Pollutin**, London, v.111, n.3, p.429-435, 2001. Disponível em: <<http://www.Periodicos.capes.gov.br>>. Acesso em: 5 dez. 2006.

MARTINS, F.P.P. et al. Correlação do esquema de imunossupressão com complicações pós-operatórias em transplantes renais através do uso da cintilografia renal dinâmica. **Radiologia Brasileira**, Rio de Janeiro, v.34, n.5, p.267-272, 2001.

MEHLICH, A. Mehlich-3 soil test extractant: a modification of Mehlich-2 extractants. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.*, v.15, n.2, p.1409-1416, 1984.

MELLO, J.W.V.; ABRAHÃO, W.A.P. Geoquímica da drenagem ácida. In: SILVA, S.R. et al. Caracterização de rejeitos de mineração de ouro para avaliação de solubilização de metais pesados e arsênio e revegetação local. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, n.28, p.186-196, 1998.

MENZIES, N. W.; DONN, M. J.; KOPITTKKE, P. M. Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soil. **Environmental pollution**, 2006 (no prelo).

MOREL, J.L.; GUCKERT, A. Evolution enplein champ de la solubilité dans DTPA des métaux lourds du sol intruduits par des boues urbaines chaulees. **Agronomie**, v.4, p.377-386, 1984. (Resumo em CAB abstracts on CD-ROM, 1984-86.).

MOULIN, C. et al. Electrospray mass spectrometry for actinides and lanthanide speciation. **Journal of Alloys and Compounds**, n.408-412, p.1242-1245, 2006.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds**. New York: Wiley-Interscience, 1987.

NARIMOTO, K.M. **Técnicas Espectroscópicas aplicadas à análise da matéria orgânica do solo em pomares de citros sob adição de lodo de esgoto**. 2006.124p. Dissertação ( Mestrado)-Universidade de São Paulo / USP, São Carlos, SP,

NOVOZAMSKY, I.; LEXMOND, T.T.; HOUBA, V.J.G. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.51, p.47-58, 1993.

OLIVEIRA, F.C. **Metais pesados e formas nitrogenadas em solos tratados com lodo de esgoto**. 1995. 90p. Dissertação (Mestrado)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/ USP, Piracicaba, SP.

OLIVEIRA, L.A. et al. Atividade enzimática de isolados de rizóbia nativos da Amazônia central crescendo em diferentes níveis de acidez. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v.26, n.1, p.204-210, jan./mar. 2006.

OLIVEIRA, J.A. et al. Absorption, accumulation e distribution of cadmium by two soybeans. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.6, n.2, p.91-95, 1994a.

OLIVEIRA, J.A.; OLIVA, M.A.; CAMBRAIA, J. Effects of cadmium on chlorophyll contents and on peroxidase activity in soybeans. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.6, n.2, p.97-101, 1994b.

PAIM, L. A. et al. Estudo dos efeitos do silício e do fósforo na redução da disponibilidade de metais pesados em área de mineração. **Química Nova**, São Paulo, V.29, n.1, p. 28-33, jan./fev. 2006.

PAIVA, F. F. **Metodologia de Imagens de NMR que utiliza um único pulso adiabático de inversão**. 2004. 116p. Dissertação (Mestrado em Ciências: Física Aplicada)-Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.

QUEVAUVILLER, P. et al. Certified reference materials for the quality control of EDTA- and acetic acid-extractable contents of trace elements in sewage sludge amended soils (CRMs 483 and 484). Fresenius' **Journal of Analytical Chemistry**, v.357, p.611-618, 1997.

RODELLA, A.A.; ALCARDE, J.C. Legislação sobre micronutrientes e metais pesados. In: FERREIRA, M.E. et al. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. Cap.22, p.555- 576.

SALOMONS, W. Environmental impact of metals derived from mining activities: Processes, predictions, prevention. In: SILVA, S.R. et al. Caracterização de rejeitos de mineração de ouro para avaliação de solubilização de metais pesados e arsênio e revegetação local. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, n.28, p.186-196, 2004.

SANKA, M.; DOLEZAL, M. Prediction of plant contamination by cadmium and zinc based on soil extraction method and contents in seedlings. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.46, p.87-96, 1992.

SHU, W.S. et al. Acidification of lead/zinc mine tailings and its effect on heavy metal mobility. In: SILVA, S.R. et al. Caracterização de rejeitos de mineração de ouro para avaliação de solubilização de metais pesados e arsênio e revegetação local. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, n.28, p.186-196, 2004.

SILVA, A.J. **Metais pesados em plantas de milho (*Zea mays* L.) cultivadas com diferentes fontes e doses de fósforo, formas de localização de fertilizantes e níveis de calagem**. 1994. 135p. Tese (Doutorado em Solo e Nutrição de Plantas)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SILVA, J.G. **Complexos DTPA-metais pesados: uso de espectrofotometria no infravermelho**. 2004. 49p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000. 460p.

SIMMONS, R.W.; PONGSAKUL, P. Preliminary stepwise multiple linear regression method to predict cadmium and zinc uptake in soybean. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, n.35. p.1815-1828, 2004

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de análise instrumental**. 5.ed. São Paulo: Bookman, 2002.

SOARES, E.R. **Mobilização de metais pesados em materiais provenientes do complexo carboenergético de Candiota-RS**. 1995. 95p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

STEEN, H.; MANN, M. The ABC'S (and XYZ'S) of peptide sequencing. **Nature reviews**, London, v.5, p.699-771, 2004.

STRADLING, G.N. et al. The Efficacy of DFO-HOPO, DTPA-DX and DTPA for Enhancing the Excretion of Plutonium and Americium from the Rat.

**International Journal of Radiation Biology**, v.59, n.5, 1999.

SYMEONIDES, C.; MCRAE, S.G. The assessment of plant-available cadmium in soils. **Journal of Environmental Quality**, v.6, p.120-123, 1977.

VALITUTTO, R.S. **Acumulação de poluentes inorgânicos por macrófitas aquáticas nos reservatórios de Santana e Vigário, Barra do Pirai-RJ.**

2004.73p. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

XIU, U. et al. Comparison of extractants for available sludge-borne metals: a residual study. In: FERREIRA, M.E. et al. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. Cap.9.

WOLTERBEEK, H.T.; MEER, A. van der; DE BRUIN, M. The uptake and distribution of cadmium in tomato plants as affected by ethylenediaminetetraacetic acid and 2, 4-dinitrophenol. In: FERREIRA, M.E. et al. **Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura**. Jaboticabal: CNPq/FAPESP/POTAFOS, 2001. Cap. 3, p.58.

WULLENS, H.; BODART, N.; DEVILLERS, M. New Bismuth(III), Lanthanum(III), Praseodymium(III), and Heterodinuclear Bi-La and Bi-Pr Complexes with Poliaminocarboxylate Ligands. **Journal of Solid State Chemistry**, v.167, p.494-507, 2002.