



**UFSC - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

ANDREIA NEVES FERNANDES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E REATIVIDADE DE
SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, SOLOS E TURFAS**

Florianópolis-SC
2007



**UFSC - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

ANDREIA NEVES FERNANDES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E REATIVIDADE DE
SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, SOLOS E TURFAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química (área de concentração: Química Analítica).

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Marta de Souza Sierra

Florianópolis-SC
2007

ANDREIA NEVES FERNANDES

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E REATIVIDADE DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, SOLOS E TURFAS

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química especialidade em Química Analítica, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof^ª Dr^ª Maria Marta de Souza Sierra
Orientadora, UFSC

Prof. Dr. Ademir Neves
Coordenador do Programa

Prof^ª Dr^ª Deborah Pinheiro Dick
Relatora, UFRGS

Prof^ª Dr. Renato Rodrigues Neto
UFES

Prof. Dr. Bruno Szpoganicz
UFSC

Prof. Dr. Valfredo Tadeu de Fávere
UFSC

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
UFSC

Florianópolis-SC
2007

A vitória é uma coisa muito subjetiva.

Sempre pequena para quem a vê e grande para quem a conquista.

(Roberto Duailibi)

*Aos meus pais Antonio e Cristina
pelo amor e incentivo e pela
minha formação.*

AGRADECIMENTOS

- ❖ A Deus por ter me orientado e iluminado em todas as horas.
- ❖ À minha família, em especial aos meus pais, minhas irmãs, minha afilhada Maria Eduarda e minha tia Marlize, por apoiarem meus sonhos, acreditarem em minha capacidade e por me amarem sempre.
- ❖ À professora Dr^a Maria Marta de Souza Sierra pela orientação e confiança.
- ❖ Ao professor Dr. Valdemar Inocêncio Esteves pela oportunidade e amparo durante o período em que estive em Portugal.
- ❖ Ao professor Dr. Carlyle Torres Bezerra de Menezes por me fornecer algumas das amostras empregadas neste estudo.
- ❖ Às minhas eternas amigas Janaína e Rosilene pela parceria, amizade, lealdade e por todos os momentos em que passamos juntas.
- ❖ Às minhas demais amigas: Annelise, Cristiane, Eliandra, Lílian, Manuela e Rusiene pela agradável convivência.
- ❖ Aos colegas dos laboratórios 209, 214, 216 e 311, em especial ao professor Dr. Marcelo Giovanela, Dr. Carlos Alberto Policiano de Almeida e Luciano Tormen pelos ensinamentos e contribuição para a realização deste trabalho.
- ❖ Aos membros da banca examinadora.
- ❖ A todos os professores do Departamento de Química.
- ❖ Ao Programa de Pós-Graduação em Química, em especial a Graça e Jadir.
- ❖ Ao CNPq pelo auxílio financeiro.
- ❖ A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Neste trabalho, amostras de solos, turfas e suas respectivas substâncias húmicas (SH) foram caracterizadas por meio de análise termogravimétrica (TG), análise elementar, espectroscopia de infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear de ^{13}C no estado sólido (CP/MAS-RMN ^{13}C). Os resultados revelaram evidências de modificações estruturais do material de origem após a extração e purificação das SH. As amostras de solos e turfas apresentaram uma estrutura mais alifática e rica em polissacarídeos do que suas respectivas SH. Entretanto, as razões atômicas assim como os resultados de IV e CP/MAS-RMN ^{13}C ainda assim puderam ser usadas para caracterizar e diferenciar amostras de matéria orgânica (MO) e de SH. Grupos funcionais ácidos (carboxílicos e fenólicos) de SH de ambientes distintos (estuarinos, marinhos, água doce, terrestres, turfeira) foram quantificados pelo método de titulação indireto. Os resultados obtidos nesta etapa do trabalho geraram algumas dúvidas com relação à validade da metodologia empregada e de possíveis interferências ocasionadas pelas características das amostras. Desta forma, experimentos foram idealizados de modo a testar a validade dos valores de acidez de SH determinados por diferentes métodos e tratados por dois diferentes modelos matemáticos: programa BEST7 e equação de Henderson-Hasselbalch modificada (EHHM). Os valores de acidez obtidos mostraram, em geral, uma considerável dependência do modelo aplicado e das condições experimentais. A remoção do azul de metileno (AM), do 17β -estradiol e do 17α -etinilestradiol de soluções aquosas pela turfa foi avaliada. Para o AM, a porcentagem de remoção foi maior para as soluções mais diluídas, mas a quantidade de massa de AM adsorvida pela turfa no equilíbrio aumentou com o aumento da concentração inicial. Para os hormônios, a turfa também apontou ser uma alternativa viável nos testes de adsorção. Em geral, a turfa mostrou-se eficiente na recuperação de efluentes contaminados com estes compostos, demonstrando a sua potencialidade para este uso.

Palavras-chave: matéria orgânica, substâncias húmica, solo e turfa.

ABSTRACT

In this study, samples of soils, peats and their respective humic substances (HS) were characterized by thermogravimetric analysis (TGA), elemental analysis, infrared spectroscopy (IR) and solid state ^{13}C nuclear magnetic resonance (^{13}C CP/MAS NMR). The results revealed evidences of structural modifications of the origin material after the extraction and purification of HS. Samples of soils and peats presented a more aliphatic structure and rich in polysaccharides than its respective HS. However, the atomic rations as well as IR and ^{13}C CP/MAS NMR spectroscopies can be used to characterize and to differentiate samples of organic matter (OM) like HS. Acidic functional groups (carboxylic and phenolic) of HS of distinct environments (estuarine, marine, freshwater, terrestrial, peatland) were determined by the indirect titration method. Acidity results did not show the expected trends for each type of material, generating some uncertainties in relations to the validity of methodology employed and of possible interferences caused by the characteristics of the samples. Thus, experiments were idealized to test the validity of the acidity values of HS determinated by different methods with titrations data, being handlede by two approaches: the BEST7 program and the modified Henderson-Hasselbalch model (MHHM). The obtained acidity values showed a strong dependence on the model procedure applied, as well as of the experimental conditions. The removal of methylene blue (MB), of 17β -estradiol and of 17α -ethynylestradiol from aqueous solution by peat was analyzed. For the MB, the percentage of removal was greater for diluted solutions, but the absolute amount of MB adsorbed by the peat at equilibrium increased with the increase of the initial concentration. For the hormones, the peat also pointed to be a viable alternative in the tests of adsorption. In general, peat showed to be efficient in the recuperation of effluents contaminated with these compounds, demonstrating its potentiality for this use.

Keywords: organic matter; humic substance, soil and peat.

LISTA DE FIGURAS

1. Representação esquemática da dinâmica da MO (Braga <i>et al.</i> , 2002).....	3
2. Mecanismo de formação das SH (Stevenson, 1994).....	5
3. Estrutura da molécula de AH proposta por Konova (1966): 1) anel aromático derivado de di e tri – hidróxifenol; 2) nitrogênio em formas cíclicas; 3) resíduos de aminoácidos; 4) resíduos de carboidratos.....	7
4. Estrutura química parcial de AF proposta por Schnitzer (1978).....	7
5. Estrutura proposta por Schulten e Schnitzer (1993) para o AH.....	8
6. Estrutura tridimensional de um AH proposta por Schulten e Schnitzer (1997). Carbono = azul; Oxigênio = vermelho; Nitrogênio = azul marinho; Hidrogênio = branco. As letras (A), (B) e (C) indicam os “vacúolos” provavelmente presentes na estrutura das SH.....	9
7. Exemplos de “building blocks” propostos por Steelink (1985).....	10
8. Formação de turfeiras em áreas de inundação (IPT, 1979).....	13
9. Processo de formação de turfeiras em lagoas (IPT, 1979).....	13
10. Representação esquemática das etapas envolvidas no processo de extração e purificação das SH.....	27
11. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra TD.....	31
12. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra TF.....	31
13. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra MI.....	32
14. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra SO.....	32
15. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----)	

DTG, da amostra AF-TD.....	33
16. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra AF-TF.....	33
17. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra AF-MI.....	34
18. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra AF-SO.....	34
19. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra AH-TD.....	35
20. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra AH-TF.....	35
21. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra AF-MI.....	36
22. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (----) DTG, da amostra AF-SO.....	36
23. Espectros de IV das amostras de TD, AH-TD e AF-TD.....	43
24. Espectros de IV das amostras de TF, AH-TF e AF-TF.....	44
25. Espectros de IV das amostras de MI, AH-MI e AF-MI.....	45
26. Espectros de IV das amostras de SO, AH-SO e AF-SO.....	46
27. Espectros de CP/MAS-RMN ¹³ C das amostras de TD-HF, AH-TD e AF-TD.....	48
28. Espectros de CP/MAS-RMN ¹³ C das amostras de TF-HF, AH-TF e AF-TF.....	49
29. Espectros de CP/MAS-RMN ¹³ C das amostras de MI-HF, AH-MI e AF-MI.....	49
30. Espectros de CP/MAS-RMN ¹³ C das amostras de SO, AH-SO e AF-SO.....	50
31. Áreas relativas para as amostras de TD-HF, AH-TD e AF-TD.....	51
32. Áreas relativas para as amostras de TF-HF, AH-TF e AF-TF.....	51
33. Áreas relativas para as amostras de MI-HF, AH-MI e AF-MI.....	52
34. Áreas relativas para as amostras de TD-SO, AH-SO e AF-SO.....	52

35. Pontos de amostragem dos diferentes ambientes estudados.....	59
36. Curvas de titulação das amostras de AF e AH do <i>Pahokee Peat</i> usando: (a) o programa BEST7 e (b) a EHHM.....	73
37. Curva de titulação teórica empregando a EHHM.....	75
38. Curvas de titulação da mistura de ácido ftálico e ácido 3,5-dihidroxibenzóico usando: (a) o programa BEST7 e (b) a EHHM.....	78
39. Curvas de titulação para o ácido 3,5-dihidroxibenzóico e para o peptídeo DL-alanil-DL-alanina usando a EHHM.....	81
40. Fórmula estrutural do AM.....	89
41. Fórmula estrutural do hormônio 17 β -estradiol.....	90
42. Fórmula estrutural do hormônio 17 α -etinilestradiol.....	90
43. Agitador mecânico de cinco eixos (Almeida, 2005).....	92
44. Remoção progressiva do AM de soluções aquosas pela turfa, para diferentes concentrações iniciais de AM, a 35°C. Legenda: ■ 200; ● 400; ▲ 600; ▼ 700; ◆ 800; ► 900; ◆ 1000; ■ 1200; ● 1400; * 1500 mg L ⁻¹	97
45. Remoção progressiva do AM de soluções aquosas pela turfa, a diferentes concentrações iniciais, a 45°C. Os símbolos têm o mesmo significado que na Figura 44	97
46. Remoção progressiva do AM de soluções aquosas pela turfa, a diferentes concentrações iniciais, a 60°C. Os símbolos têm o mesmo significado que na Figura 44	98
47. Isotermas de adsorção do AM pela turfa a 35, 45 e 60°C.....	100
48. Cinética de difusão intrapartícula da adsorção do AM pela turfa a 35°C.....	101
49. Variação da porcentagem de remoção do 17 β -estradiol para amostras de turfa de 50, 75 e 100 mg.....	102
50. Variação da porcentagem de remoção do 17 β -estradiol para amostras de turfa de 150 e 200 mg.....	103
51. Variação da porcentagem de remoção do 17 α -etinilestradiol para amostras de	

turfa de 50, 75 e 100 mg.....	103
52. Variação da porcentagem de remoção do 17 α -etinilestradiol para amostras de turfa de 150 e 200 mg.....	104

LISTA DE TABELAS

1. Classificação das turfas pelo grau de decomposição (Von Post, 1924).....	14
2. Atribuições das bandas de absorção de IV da MO.....	21
3. Programa de temperatura utilizado na TG.....	28
4. Perdas de massa das amostras estudadas obtidas por meio da TG.....	38
5. Análise elementar e razões atômicas das amostras estudadas.....	40
6. Atribuições das possíveis regiões de bandas bem definidas no CP/MAS-RMN ^{13}C das amostras estudadas.....	48
7. Áreas integradas das principais regiões dos espectros de CP/MAS-RMN ^{13}C	53
8. Valores de pK_a relativos à desprotonação dos compostos modelos estudados.....	64
9. Quantidade de grupos funcionais das SH estudadas medidas pelo método de Schnitzer e Gupta (1965).....	67
10. Quantidade de grupos funcionais (meq g^{-1}) das amostras da IHSS medidas pelo método de Schnitzer e Gupta (1965) e composição de aminoácidos (mol g^{-1}).....	70
11. Acidez, em meq g^{-1} , das amostras da IHSS calculadas com o programa BEST7 e pela EHHM (Ritchie e Perdue, 2003).....	72
12. Acidez, em meq g^{-1} , dos compostos modelos calculadas usando o programa BEST7, a EHHM (Ritchie e Perdue, 2003) e o método de titulação indireto (Schnitzer e Gupta, 1965).....	77
13. Valores de pK_a relativos a desprotonação dos compostos modelos usados neste estudo calculados usando o programa BEST7 e a EHHM (Ritchie e Perdue, 2003)..	79
14. Acidez, em meq g^{-1} , das amostras da IHSS usando diferentes procedimentos. Os dados de titulação lenta e rápida foram tratados pela EHHM (Ritchie e Perdue, 2003). Os dados de titulação indireta foram medidos usando o método de Schnitzer e Gupta (1965).....	83

15. Quantidade de massa de AM adsorvida e sua respectiva porcentagem de remoção, no equilíbrio, pela amostra de turfa.....	96
16. Resultados relativos à remoção dos hormônios de soluções aquosas pela de turfa.....	105

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Absorbância
AC	Acidez carboxílica
AF	Ácido fúlvico
AFL	Acidez fenólica
AH	Ácido húmico
AM	Azul de metileno
AMA	Aminoácidos
ASP	Turfeira do Balneário Arroio do Silva
AT	Acidez total
b	Caminho óptico
BPC	Bifenilas policloradas
c	Concentração
C_0	Concentração inicial
C_e	Concentração no equilíbrio
C/H	Razão atômica entre os elementos carbono e hidrogênio
CET	Cromatografia por tamanho de exclusão
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
C/N	Razão atômica entre os elementos carbono e nitrogênio
C/O	Razão atômica entre os elementos carbono e oxigênio
CP	Polarização cruzada
DDT	2,2-di(4-clorofenil)-1,1,1-tricloroetano
DTG	Primeira derivada da análise termogravimétrica
EC	Eletroforese capilar
EDC	Disruptores endócrinos

EHHM	Equação de Henderson-Hasselbalch modificada
H1-H10	Classificação de Von Post
HPA	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
IHSS	Sociedade internacional de substâncias húmicas
IPS	Sociedade internacional de turfas
IPT	Instituto de pesquisas tecnológicas
IV	Infravermelho
k_1	Constante de velocidade de adsorção de pseudo-primeira-ordem
k_2	Constante de velocidade de adsorção de pseudo-segunda-ordem
K_1	Constante de protonação dos grupos carboxílicos
K_2	Constante de protonação dos grupos e fenólicos
k_i	Constante de velocidade de adsorção de difusão intrapartícula
m	Massa
M	Molaridade
MAS	Rotação no ângulo mágico
MI	Solo mineral
MO	Matéria orgânica
MVI	Ilha do Mar Virado
n_1	Número de espécies carboxílicas
n_2	Número de espécies fenólicas
nd	Não detectado
nde	Não determinado
NEMAR	Núcleo de estudos do mar
Pi/CG-EM	Pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas
PLN	Lagoa do Peri

Q_1	Quantidade de grupos carboxílicos
Q_2	Quantidade de grupos fenólicos
q_e	Quantidade de massa de corante adsorvido no equilíbrio
q_t	Quantidade de massa de corante adsorvido em determinado tempo
Q_{TOT}	Carga orgânica calculada total
R_1-R_6	Áreas integradas nos espectros de ressonância magnética nuclear de C-13
RME	Manguezal de Ratonos
RMN ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de C-13
RMN 1H	Ressonância magnética nuclear de H-1
SH	Substâncias húmicas
SO	Solo horto
SPE	Extração em fase sólida
t	Tempo
T	Temperatura
TD	Turfa decomposta
TF	Turfa fibrosa
TG	Análise termogravimétrica
UA	Universidade de Aveiro
UBM	Praia de Ubatumirim
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UV-VIS	Espectroscopia de ultravioleta e visível
V_a	Volume de ácido
V_b	Volume de base
ϵ	Absortividade molar
μ	Força iônica
λ	Número de onda

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xv
APRESENTAÇÃO DO TRABALHO	1
CAPÍTULO I	3
1.1. MATÉRIA ORGÂNICA	3
1.2. SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	4
1.2.1. Classificação e Composição Elementar	5
1.2.2. Aspectos Estruturais	6
1.2.3. Importância para o Meio Ambiente	10
1.3. TURFA	12
1.3.1. Classificação	14
1.3.2. Composição Elementar e Aspectos Estruturais	15
1.3.3. Importância para o Meio Ambiente	16
CAPÍTULO II	17
2.1. OBJETIVOS	17
CAPÍTULO II	19

3.1. CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E TURFAS.....	19
3.1.1. Análise Termogravimétrica – TG.....	19
3.1.2. Análise Elementar.....	19
3.1.3. Espectroscopia de Infravermelho – IV.....	20
3.1.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 – RMN ¹³C.....	22
3.2. PARTE EXPERIMENTAL.....	23
3.2.1. Amostragem.....	23
3.2.2. Materiais.....	24
3.2.2.1. Reagentes e Solventes.....	24
3.2.2.2. Resinas.....	24
3.3. EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS.....	25
3.3.1. Purificação do Ácido Húmico.....	26
3.3.2. Purificação do Ácido Fúlvico.....	26
3.4. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	28
3.4.1. Análise Termogravimétrica – TG.....	28
3.4.2. Análise elementar.....	29
3.4.3. Espectroscopia de Infravermelho – IV.....	29
3.4.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 – RMN ¹³C.....	29
3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
3.5.1. Análise Termogravimétrica – TG.....	30
3.5.2. Análise Elementar.....	39
3.5.3. Espectroscopia de Infravermelho – IV.....	40
3.5.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 – RMN ¹³C.....	47
3.6. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS À CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE TURFAS, SOLOS E SH.....	55
CAPÍTULO IV.....	56

4.1. ANÁLISE DE GRUPOS FUNCIONAIS DAS SH.....	56
4.1.1. Análise Química de Grupos Funcionais.....	57
4.1.2. Titulação Potenciométrica.....	57
4.2. PARTE EXPERIMENTAL.....	58
4.2.1. Amostragem.....	58
4.2.2. Reagentes e Solventes.....	60
4.2.3. Análise Química de Grupos Funcionais.....	60
4.2.3.1. Determinação da Acidez Carboxílica – AC.....	60
4.2.3.2. Determinação da Acidez Total – AT.....	61
4.2.3.3. Determinação da Acidez Fenólica – AFL.....	62
4.2.3. Titulação Potenciométrica.....	62
3.3.3.1. Programa BEST7.....	64
3.3.3.2. Equação de Henderson-Hasselbalch Modificada – EHHM.....	65
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
4.3.1. Análise Química de Grupos Funcionais.....	66
4.3.2. Titulação Potenciométrica das Amostras da IHSS.....	71
4.3.2.1. Titulação Potenciométrica dos Compostos Modelos.....	75
4.4. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS AO ESTUDO DE QUANTIFICAÇÃO DE GRUPOS ÁCIDOS DAS SH.....	84
 CAPÍTULO V.....	85
5.1. ADSORÇÃO.....	85
5.1.1. Espectroscopia de Ultravioleta e Visível – UV-Vis.....	85
5.1.2. Extração em Fase Sólida – SPE.....	86
5.1.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE.....	87
5.2. CONTAMINANTES UTILIZADOS NOS ESTUDOS DE ADSORÇÃO.....	88
5.2.1. Azul de Metileno – AM.....	88
4.2.2. 17β-Estradiol e 17α-Etinilestradiol.....	89
5.3. PARTE EXPERIMENTAL.....	91
5.3.1. Amostragem.....	91

5.3.2. Reagentes e Solventes.....	91
5.4. EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO.....	91
5.4.1. Adsorção do azul de metileno – AM.....	91
5.4.2. Adsorção do 17 β -estradiol e do 17 α -etinilestradiol.....	93
5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	94
5.5.1. Adsorção do azul de metileno – AM.....	94
5.5.2. Adsorção do 17 β -estradiol e do 17 α -etinilestradiol.....	102
5.6. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS AO ESTUDO DE ADSORÇÃO DE DIFERENTES CONTAMINANTES PELA TURFA.....	104
 <i>CAPÍTULO VI</i>	 107
<i>CONCLUSÃO</i>	107
 <i>PRODUÇÃO COMPLEMENTAR</i>	 108
 <i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	 114

Ficha Catalográfica

FERNANDES, Andreia Neves.

Caracterização química e reatividade de substâncias húmicas, solos e turfas, 2007, xxii, 127 p.

Tese: Doutor em Química (Área: Química Analítica).

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Maria Marta de Souza Sierra

1. Matéria Orgânica; 2. Substâncias Húmicas; 3. Solos; 4. Turfas.

I. Universidade Federal de Santa Catarina

II. Título

APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

Este trabalho está organizado em seis principais capítulos. Dentre os capítulos citados, os **CAPÍTULOS III, IV e V** mostram os principais assuntos abrangidos neste estudo e são compostos por introdução, parte experimental, resultados e discussão e considerações finais.

No **CAPÍTULO I**, faz-se uma introdução dos temas de interesse envolvidos neste estudo, fornecendo informações relativas à estrutura e composição da matéria orgânica (MO), substâncias húmicas (SH) e turfas, e à importância destes materiais nos ecossistemas naturais.

No **CAPÍTULO II**, os objetivos deste trabalho são descritos.

No **CAPÍTULO III**, a caracterização das amostras de solos, turfas e de suas respectivas SH utilizadas neste estudo, por meio de diferentes técnicas é descrita. Um breve resumo a respeito das técnicas de análise termogravimétrica (TG), análise elementar, espectroscopia de infravermelho (IV) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{13}C no estado sólido (RMN ^{13}C) é apresentado. Neste capítulo discutem-se as diferenças de composição entre as amostras provenientes de ambientes distintos (solos e turfas).

No **CAPÍTULO IV**, apresenta-se o estudo de quantificação de grupos ácidos das SH. Os valores de acidez de um conjunto de SH, provenientes de diferentes ambientes (mar, manguezal, lagoa e turfeira), obtidos durante o desenrolar deste trabalho e de cinco amostras de SH da Sociedade Internacional de SH (IHSS, *International Humic Substances Society*) são determinados com o método de titulação indireta de Schnitzer e Gupta (1965). Os resultados obtidos nesta etapa de trabalho geraram algumas dúvidas com relação à validade da metodologia empregada e de possíveis interferências ocasionadas pelas características das amostras. Estas dúvidas deram origem a um estudo sobre a influência da metodologia nas medidas de acidez de SH. Este estudo é igualmente apresentado neste capítulo.

No ***CAPÍTULO V***, demonstra-se, por medidas de capacidade de adsorção, a potencialidade da turfa para o tratamento de efluentes contaminados com diferentes contaminantes, tais como: azul de metileno (AM), 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol.

No ***CAPÍTULO VI***, é apresentada a conclusão deste trabalho.

1.1. MATÉRIA ORGÂNICA

A MO encontrada no meio ambiente natural é de grande importância para os processos geoquímicos tais como solubilização, especiação e toxicidade dos metais e poluentes em sistemas naturais (Roubeuf *et al.*, 2000). Ela está presente nos solos, turfas, sedimentos e águas naturais e é formada por uma mistura de diferentes compostos contendo grupos aromáticos, alifáticos, fenólicos e quinólicos com uma variedade de propriedades e tamanho molecular (Aiken *et al.*, 1985; Suffet e MacCarthy, 1989). Estes compostos se originam a partir de diversas transformações (**Figura 1**), cuja dinâmica é governada pela adição de resíduos de diversas naturezas e por uma transformação contínua, sob a ação de fatores físicos, químicos e biológicos (Schnitzer e Khan, 1972; Ver *et al.*, 1999). Além disso, o tamanho, a composição química, a estrutura, os grupos funcionais e as características polieletrólíticas da MO podem variar significativamente, dependendo da fonte e estágio de decomposição do material de origem (Chin *et al.*, 1998).

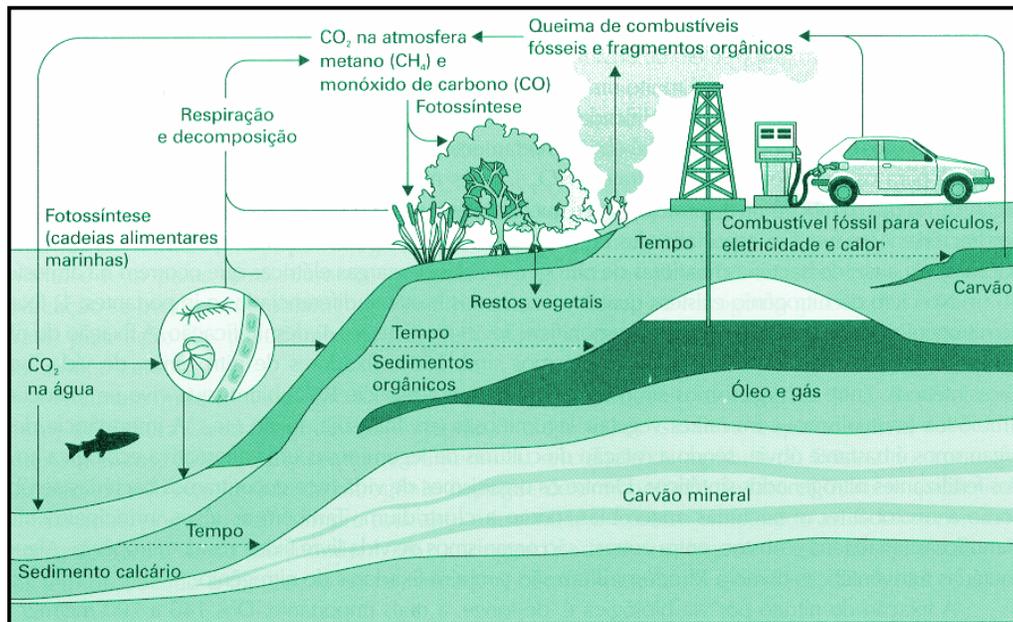


Figura 1. Representação esquemática da dinâmica da MO (Braga *et al.*, 2002).

Por ter um significativo papel no transporte e destino da maioria dos poluentes orgânicos ou inorgânicos e durante o processo de ciclagem dos nutrientes no meio ambiente, a caracterização da MO é particularmente importante (Thurman *et al.*, 1988).

Mais especificamente, um melhor entendimento das propriedades estruturais e funcionais da MO podem ajudar no esclarecimento dos mecanismos responsáveis pela complexação, redução, biodisponibilidade, mobilização e imobilização dos metais, pesticidas, e outros compostos químicos tóxicos, com a MO (Chen *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2003).

Dois principais grupos caracterizam a MO: as substâncias não húmicas e as substâncias húmicas (SH). O primeiro grupo é considerado relativamente pequeno, representando cerca de 10 a 20% da MO total (Konova, 1966; Schnitzer e Khan, 1972; Wood, 1996; Santos e Camargo, 1999). São constituídos de moléculas de baixa massa molar e de características químicas bem definidas, tais como carboidratos, proteínas, aminoácidos, gorduras, resinas, pigmentos, ácidos graxos e ácidos orgânicos. A maioria destes compostos é facilmente atacado pelos microorganismos e tem um pequeno tempo de residência no meio ambiente, embora alguns ácidos carboxílicos mais simples tenham sido encontrados em uma diversidade de ambientes geológicos (Wood, 1996).

O segundo grupo é classificado como sendo o principal componente da MO (80-90%) e está onipresente nos diferentes ambientes (Konova, 1966; Schnitzer e Khan, 1972; Wood, 1996; Santos e Camargo, 1999). As SH são as principais responsáveis pelos inúmeros processos físicos e químicos que ocorrem com participação da MO. Deste modo, é de extrema importância conhecer-se mais detalhadamente sua formação e composição.

1.2. SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

As SH apresentam-se como uma mistura heterogênea de moléculas polidispersas com diferentes macromoléculas e grupos funcionais distintos (Stevenson, 1994; Santos e Camargo, 1999). Apresentam coloração escura (marrom ou preta), estrutura complexa com propriedades ainda não definidas, caráter hidrofílico e alta estabilidade, se comparadas com as substâncias não húmicas (Konova, 1966; Schnitzer e Khan, 1972; Wood, 1996; Janos, 2003). Originam-se da degradação oxidativa e subsequente polimerização da MO animal e vegetal, tendo sido sugeridas pelo menos quatro possíveis

mecanismos (**Figura 2**) pelas quais as SH podem ser formadas (Schnitzer e Khan, 1972; Stevenson, 1994).

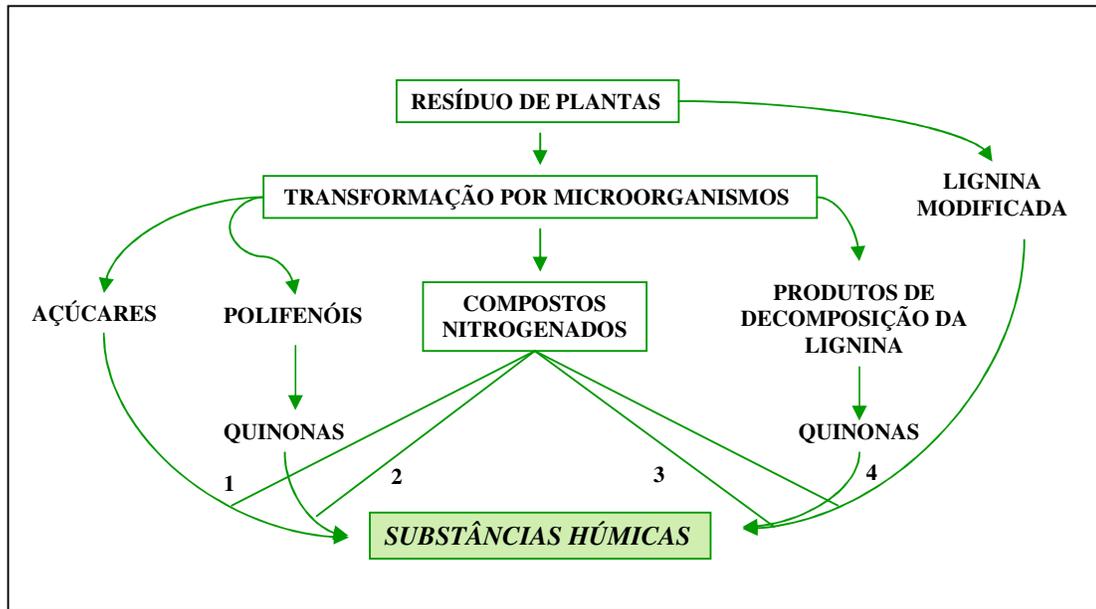


Figura 2. Mecanismo de formação das SH (Stevenson, 1994).

1.2.1. Classificação e Composição Elementar

Comumente, as SH são classificadas, operacionalmente, de acordo com a sua solubilidade em solução aquosa, em três frações. Os ácidos húmicos (AH) compreendem as substâncias orgânicas solúveis em soluções alcalinas diluídas, mas precipitam quando acidificados ($\text{pH} \leq 2$). Os ácidos fúlvicos (AF) consistem dos compostos orgânicos solúveis em toda faixa de valores de pH. A Humina é o termo utilizado para a fração insolúvel em ambas as condições ácidas e básicas (Stevenson, 1994; Wood, 1996; Janos, 2003).

A composição elementar das SH, bem como suas propriedades, pode variar de acordo com a fonte de MO e o local de formação. Fatores como a vegetação, o clima e o tipo de ambiente influenciam na humificação, determinando de certa forma as

características das SH. O alto grau de alifaticidade do húmus marinho, por exemplo, é resultante da contribuição de lipídios de origem microbiana, particularmente algas (Rashid, 1985); enquanto que a abundância de substituintes policarboxílicos e fenólicos tem correlação com insumo terrestre, indicando que ligninas e, provavelmente, taninos são importantes na formação de húmus em ambientes continentais (Killops e Killops, 1993). A composição química dos AH varia de acordo com seu material de origem, mas geralmente fica em torno de: 50-60% de C; 30-35% de O; 4-6% de H, 2-4% de N e 0-2% de S. A humina tem uma composição química similar a dos AH, mas os AF contêm menos C (40-50%) e N (< 1-3%) e mais O (44-50%) (Schnitzer e Khan, 1972).

1.2.2. Aspectos Estruturais

A caracterização estrutural das SH tem sido objeto de estudos de inúmeros pesquisadores (Konova, 1966; Schnitzer, 1978, Steelink, 1985; Schulten e Schnitzer, 1993; Giovanela, 2003). Na busca de uma estrutura padrão para estas substâncias, várias técnicas analíticas têm sido extensivamente utilizadas, dentre as quais se destacam a análise elementar, as espectroscopias de IV, ultravioleta e visível (UV-Vis) e de RMN ^1H e RMN ^{13}C , a pirólise acoplada à cromatografia gasosa e à espectrometria de massas (Pi/CG-EM), a cromatografia por exclusão de tamanho (CET), a eletroforese capilar (EC), a difração de raios-X, o espalhamento de luz, entre muitas outras.

Considerando que os diferentes compostos, aminoácidos, carboidratos, lipídios, monoaromáticos, poliaromáticos, fenóis, polifenóis, ácidos benzenocarboxílicos, ácidos carboxílicos alifáticos, ácidos graxos e alcanos, dão origem às SH, tem-se que a composição destas representa a combinação de todas estas entidades em diferentes configurações e combinações (Konova, 1966; Schnitzer, 1978). Como resultado, obtém-se estruturas tridimensionais diversas, de características químicas distintas, dependendo do seu grau de humificação. As fórmulas apresentadas na literatura (**Figuras 3 e 4**) são consideradas apenas como tentativas para a obtenção da estrutura das SH (Rashid, 1985).

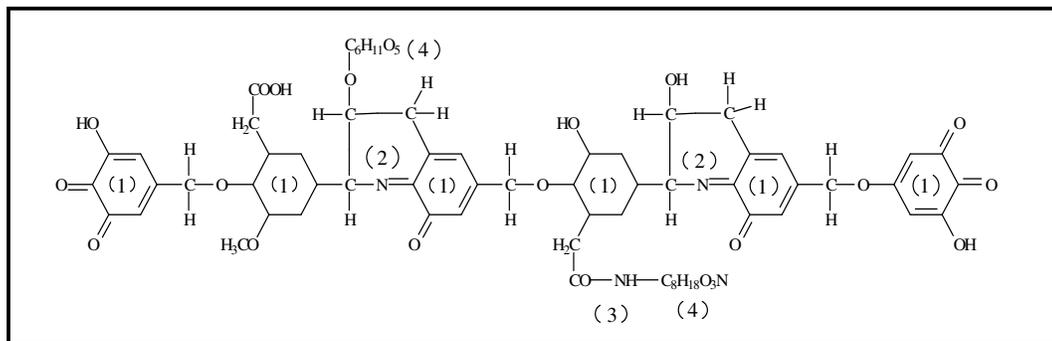


Figura 3. Estrutura da molécula de AH proposta por Konova (1966): 1) anel aromático derivado de di e tri – hidróxifenol; 2) nitrogênio em formas cíclicas; 3) resíduos de aminoácidos; 4) resíduos de carboidratos.

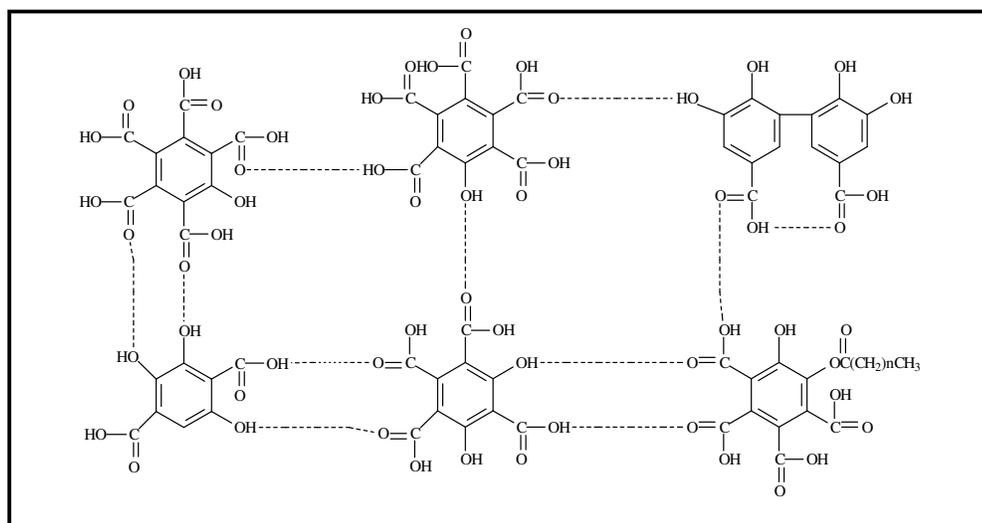


Figura 4. Estrutura química parcial de AF proposta por Schnitzer (1978).

Por meio da análise conjunta de diversas técnicas, Schulten e Schnitzer (1993) propuseram uma estrutura para o AH (**Figura 5**). Esta estrutura consiste de um extenso esqueleto de carbono com átomos de O, H e N presentes nas proporções indicadas por dados analíticos. O oxigênio está presente na forma de carboxilas, hidroxilas fenólicas e alcoólicas, carbonilas, éster, éter e em anéis de cinco membros. Os principais grupos encontrados são carboxílicos alifáticos e aromáticos, hidroxilas alcoólicas e fenólicas, grupos amino, quinonas, carbonilas e metoxilas. A exata combinação molecular e

estrutural desses compostos dinâmicos é ainda objeto de discussão. Muito pouco se conhece, por exemplo, sobre a interação entre os grupamentos funcionais.

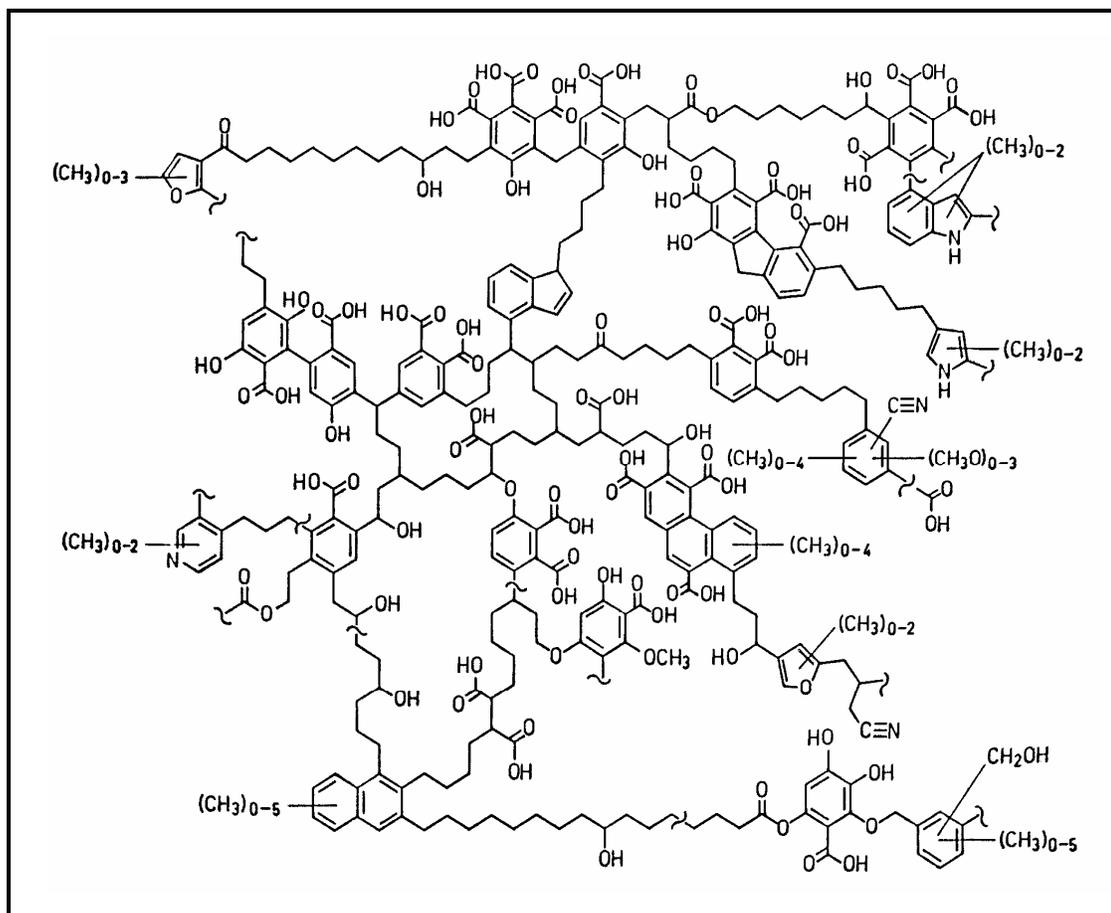


Figura 5. Estrutura proposta por Schulten e Schnitzer (1993) para o AH.

Em 1997, esses mesmos pesquisadores apresentaram um exemplo de estrutura tridimensional (**Figura 6**) para a estrutura de AH proposta em 1993. Schulten e Schnitzer (1997) puderam constatar que a estrutura em questão, otimizado por cálculos matemáticos, apresentava uma série de “vacúolos” (representados pelas letras **(A)**, **(B)** e **(C)** na **Figura 6**), onde poderiam se alojar outros compostos orgânicos, hidrofílicos ou hidrofóbicos, como carboidratos e proteínas, lipídios, agrotóxicos e outros poluentes. Poderiam também estar presentes os elementos inorgânicos, como argilas, óxidos-hidróxidos e metais.

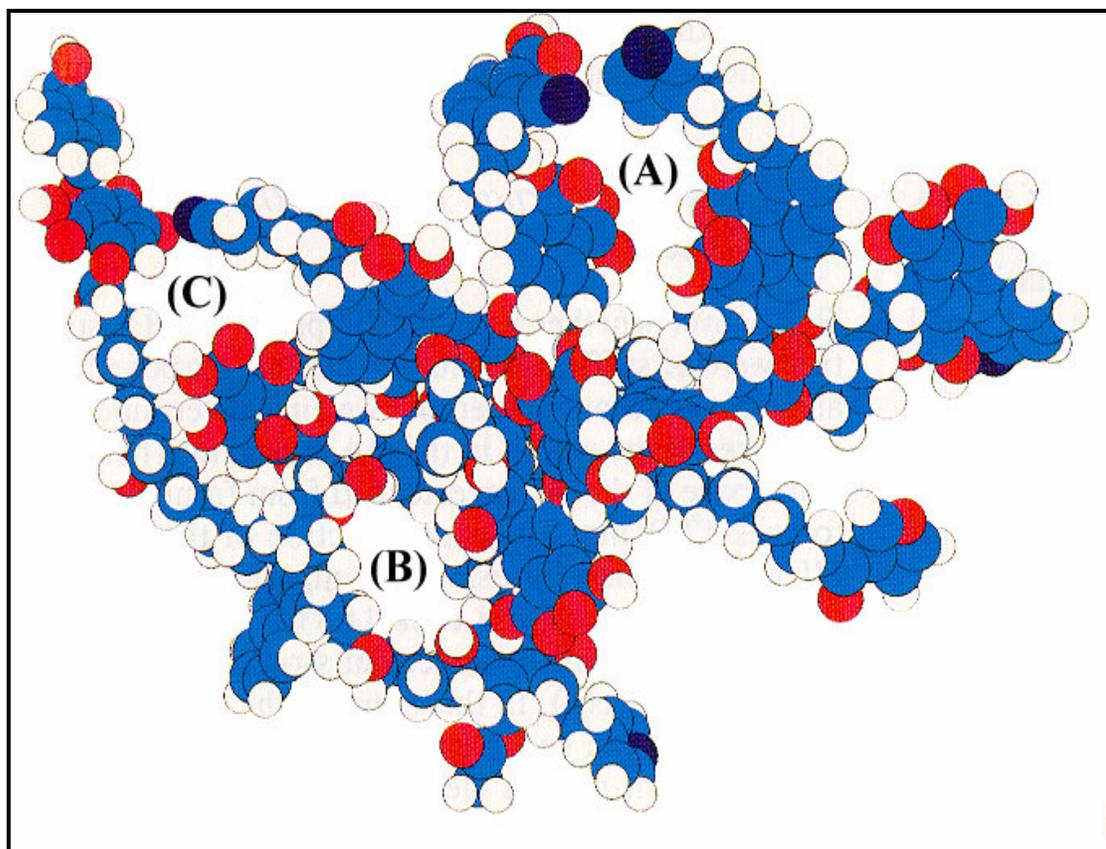


Figura 6. Estrutura tridimensional de um AH proposta por Schulten e Schnitzer (1997). Carbono = azul; Oxigênio = vermelho; Nitrogênio = azul marinho; Hidrogênio = branco. As letras (A), (B) e (C) indicam os “vacúolos” provavelmente presentes na estrutura das SH.

Estudos mais recentes, no entanto, têm levado a acreditar que as SH, contrariamente aos exemplos macromoleculares até então propostos, podem consistir de agregados de moléculas menores apresentando uma espécie de “fórmula unitária média universal” (**Figura 7**) (Sein *et al.*, 1999; Cozzolino *et al.*, 2001). Assim, as SH, contrariamente as estrutura postuladas anteriormente, podem ser formadas por agregados de estruturas menores, denominadas “*building blocks*”, como àqueles mostrado na **Figura 7**, associados por interações supramoleculares.

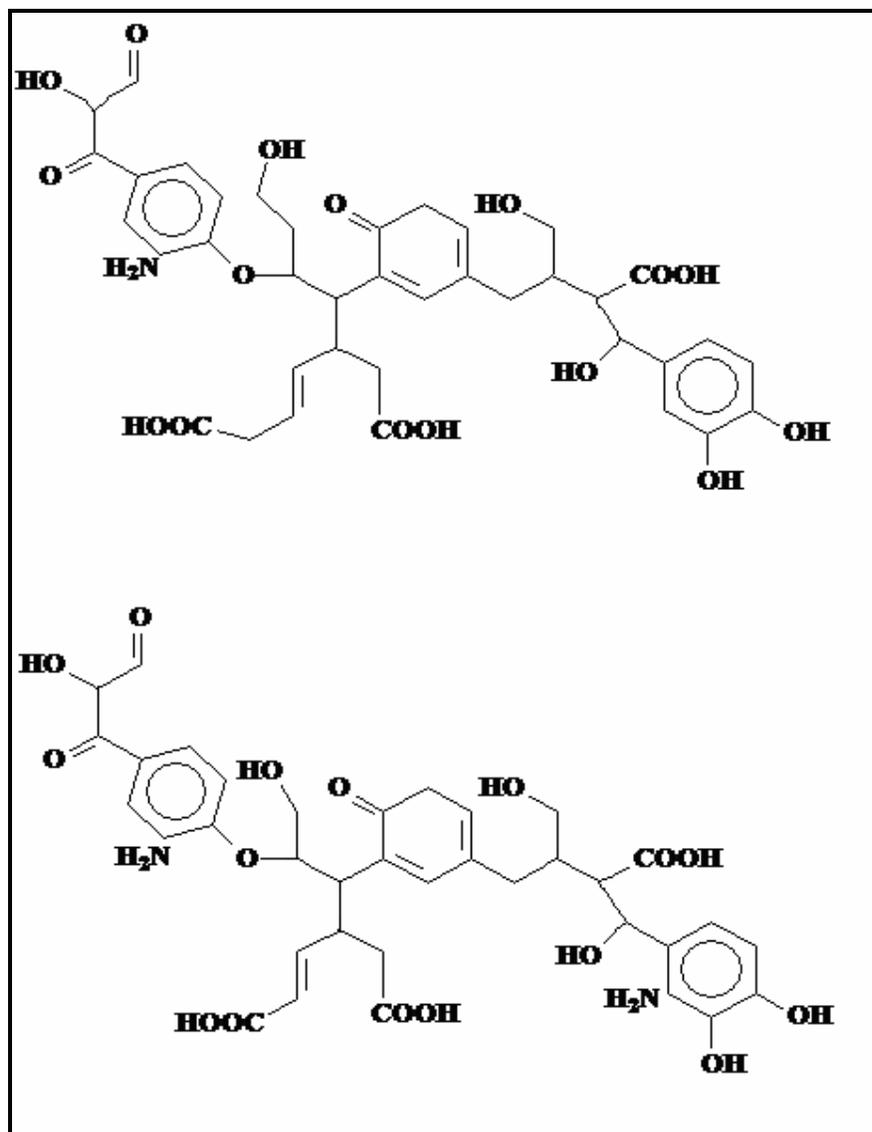


Figura 7. Exemplos de “building blocks” propostos por Steelink (1985).

1.2.3. Importância para o Meio Ambiente

As SH desempenham um papel importante no meio ambiente devido a várias características. Nos solos, sedimentos e turfas, por exemplo, elas contribuem para a retenção de calor, estimulando dessa maneira a germinação de sementes e o desenvolvimento de raízes. Devido à sua alta capacidade de retenção de água (até vinte

vezes a sua massa) as SH evitam o escoamento sendo, portanto, importantes na conservação do solo contra a erosão (Barros *et al.*, 1994). Elas também cimentam as partículas em agregados, o que possibilita a aeração dos mesmos e, conseqüentemente, o aumento de sua permeabilidade (Stevenson, 1994; Kordel *et al.*, 1997).

Outra propriedade importante das SH é a habilidade de interagir com íons metálicos para formar complexos de diferentes estabilidades e características estruturais (Lobartini *et al.*, 1992; Stevenson, 1994; Kordel *et al.*, 1997). A presença de grupos funcionais contendo oxigênio, tais como carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas, faz com que as SH assumam um comportamento polieletrólítico e atuem como agentes tamponantes de íons metálicos (Saar e Weber, 1982; Borges *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2005). A principal dificuldade em se estudar estas interações está no fato de as SH representarem uma mistura de moléculas distintas contendo um diferente número de sítios de variadas forças. É possível que de acordo com suas características funcionais uma SH seja mais seletiva em relação a um determinado metal do que a outro (Evangelou *et al.*, 2002; Borges *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2005).

Além da complexação com metais, as SH podem ainda interagir com outros poluentes, tais como o 2,2-di(4-clorofenil)-1,1,1-tricloroetano (DDT), bifenilas policloradas (BPC), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), hormônios (17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol) e corantes (AM) entre outros (Manahan, 1989; Jones e Huang, 2003; Prado *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2004). As interações das SH com os poluentes orgânicos e inorgânicos acontecem por meio de adsorção na superfície e reações de troca catiônica. Estas reações alteram a solubilidade do agente tóxico influenciando em sua biodisponibilidade, transporte e migração no ambiente (Kango e Quinn, 1992).

Alguns pesquisadores ainda revelam que as SH, devido as suas propriedades químicas, podem apresentar alguns efeitos indiretos aos microorganismos aquáticos, isto é, redução da acidez (Petersen, 1990); redução da irradiação ultravioleta (Schindler *et al.*, 1996); nutrição indireta aos microorganismos devido ao aumento da biodisponibilidade dos micronutrientes inorgânicos como o N e o P (Chen e Aviad, 1990); e redução no grau de contaminação (Steinberg *et al.*, 2000).

1.3. TURFA

A turfa é uma mistura do material formado pela decomposição de restos vegetais e de material mineral acumulado no fundo de lagoas e depressões alagadas nas áreas ribeirinhas. Resultam do atrofiamento e decomposição incompleta de material lenhoso e de arbustos, musgos e líquens, em condições de excessiva umidade, além de materiais inorgânicos (Couillard, 1994; Franchi, 2000; Brown *et al.*, 2000). Suas propriedades dependem de vários fatores, incluindo os parâmetros ambientais sob as quais ela foi gerada, o seu grau de decomposição e do método de sua coleta (Brown *et al.*, 2000).

Apresenta coloração variando do marrom claro ao preto, dependendo do grau de decomposição em que se encontra (Fuchsman, 1980; Franchi, 2000). Basicamente, as turfeiras têm se formado por dois modos (Instituto de Pesquisas Tecnológicas – IPT, 1979):

- Pela inundação constante e formação de lagoas ribeirinhas em terras baixas de vales, ou estuários de rios, com o conseqüente acúmulo de plantas mortas, folhas, galhos, frutos silvestres, flores e outros. O espalhamento do ambiente saturado de água por áreas planas (charcos ou pântanos), com pouca drenagem, possibilita o início do processo de deposição em camadas de material vegetal orgânico. Esta formação inicial propicia a retenção das águas da inundação e das chuvas, permitindo o aparecimento de musgos. O posterior atrofiamento nas áreas ricas em musgos é lento, devido à sua alta acidez e grande capacidade de absorção de água. O retardamento da decomposição da matéria morta, combinado com o crescimento vigoroso dos musgos, resulta em rápida acumulação da turfa de musgos em muitas áreas (**Figura 8**).

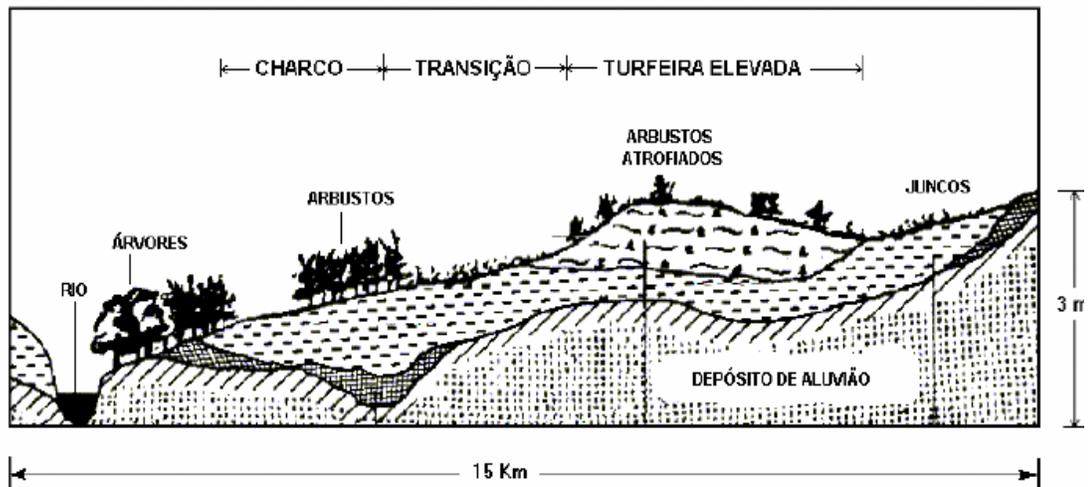


Figura 8. Formação de turfeiras em áreas de inundação (IPT, 1979).

• Pelo preenchimento das depressões de pequenos lagos e lagoas por MO morta. O processo começa quando a vegetação das margens cresce em direção ao centro da depressão, constituindo uma camada de plantas aquáticas. A expansão desta esteira vegetal sobre as águas permite que outras plantas migrem para as porções mais estáveis das bordas do lago (Figura 9). O desenvolvimento deste processo pode levar as plantas aquáticas e semi-aquáticas a se acumularem no topo do material orgânico morto (turfa em decomposição), cobrindo toda a superfície do lago e enchendo-o completamente.

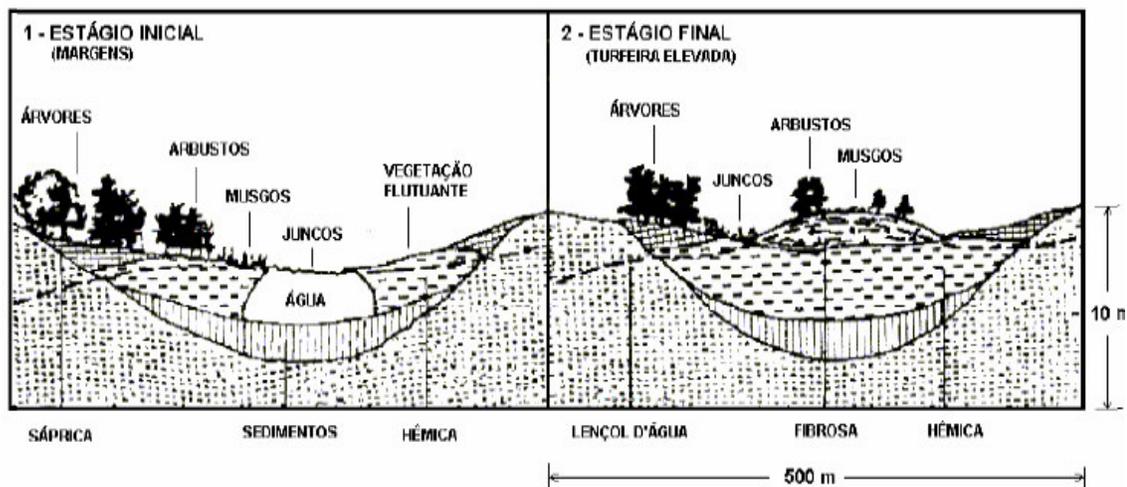


Figura 9. Processo de formação de turfeiras em lagoas (IPT, 1979).

1.3.1. Classificação

Existem várias classificações para as turfas, bastante semelhantes entre si, as quais procuram ressaltar, essencialmente, seu grau de decomposição. O modelo mais freqüentemente utilizado até os dias de hoje foi desenvolvido por Von Post (1924), onde a turfa é classificada numa escala visual de 10 pontos após um teste de campo expedito de *squeezing* – que consiste em espremer-se à mão uma amostra fresca e molhada e observar-se o aspecto do material que flui entre os dedos e daquele que fica retido (**Tabela 1**).

Tabela 1. Classificação das turfas pelo grau de decomposição (Von Post, 1924).

Grau de humificação	Características	Cor da água que flui entre os dedos	Fração da turfa que flui entre os dedos	Resta na mão	
				Forma	Estrutura vegetal
H1	sem decomposição	Incolor		não tem aspecto gelatinoso	estrutura vegetal nitidamente reconhecível
H2	muito pouco decomposta	ligeiramente castanha	não passam sólidos entre os dedos		
H3	fracamente decomposta	castanha fraca			
H4	fracamente decomposta	muito castanha			
H5	decomposta		poucos sólidos	apresenta aspecto gelatinoso	poucos restos vegetais reconhecível
H6	bem decomposta		passa 1/3 do volume		restos vegetais muito pouco reconhecível
H7	fortemente decomposta	líquido bem escuro	passa metade do volume		
H8	muito fortemente decomposta		passa 3/5 do volume	ficam na mão	resíduos de fibras raízes, etc
H9	quase integralmente decomposta		passa quase tudo		
H10	completamente decomposta		flui integralmente	sobra muito pouco ou quase nada nas mãos	

De acordo com o sistema da Sociedade Internacional de Turfa (IPS, *International Peat Society*), as principais características dos diferentes tipos de turfas são as seguintes (IPS *home page*, 2006):

- *Turfa fibrosa ou leve* – é pouco decomposta (H1 a H3), geralmente marrom-avermelhada, com a porção orgânica contendo mais de 2/3 de fibras vegetais reconhecíveis e o restante decomposto além do reconhecimento. É encontrada em ambiente ácido, formando as camadas mais superficiais das turfeiras (em geral, derivadas de musgos), sendo utilizada principalmente para horticultura e agricultura.
- *Turfa decomposta ou escura* – representa um grau de decomposição intermediário (H4 a H7), com tonalidade entre o marrom e o preto, apresentando 1/3 a 2/3 de fibras reconhecíveis. Normalmente é formada por gramas, arbustos, plantas rasteiras silvestres e plantas aquáticas, e é valiosa para fins energéticos, podendo ainda ser utilizada na agricultura.
- *Turfa sáprica ou preta* – é bastante escura e tem um elevado grau de decomposição (H8 a H10), contendo 1/3 de fibras reconhecíveis, podendo apresentar forma gelatinosa. Algumas vezes se forma a partir da acentuada decomposição dos dois tipos de turfas anteriormente citados. Por outro lado, o seu processo de formação pode se originar a partir da sedimentação, no fundo de lagos rasos, de material orgânico morto de plantas aquáticas e algas (sapropelito). Geralmente, elas aparecem em camadas relativamente pouco espessas, chegando algumas vezes a atingir quase dois metros de espessura. Sua utilização é primariamente energética, entretanto, é ainda utilizada na recuperação de áreas degradadas.

1.3.2. Composição Elementar e Aspectos Estruturais

A composição elementar das turfas, assim como suas propriedades dependem de vários fatores, como a natureza da vegetação, o clima da região, a acidez da água e seu grau de decomposição (Brown *et al.*, 2000). Sua estrutura varia de fibrosa a sáprica, e a proporção relativa de C, H e O variam, dependendo de sua composição botânica e grau de

humificação. A faixa de valores de composição elementar (livre de umidade e cinzas) varia de 50-60% de C e 5-6% de H; estes elementos tendem geralmente a aumentar com o aumento do grau de decomposição, enquanto a quantidade de O (30-40%) diminui (Fuchsman, 1980; Coccozza *et al.*, 2003).

As turfas possuem uma estrutura complexa, que possui como principais constituintes os betumes (ácidos graxos, ceras e esteróides), as SH, os carboidratos (principalmente celulose e proteínas) e as ligninas (substâncias polifenólicas) (Fuchsman, 1980; Couillard, 1994; Brown *et al.*, 2000). Normalmente lignina e celulose são os constituintes predominantes, sendo a porcentagem de SH função direta do grau de decomposição, uma vez que elas não existem naturalmente nas plantas vivas e são produtos intermediários no ciclo de decomposição da MO.

1.3.3. Importância para o Meio Ambiente

Há cerca de pelo menos 2000 anos, o homem tem usado a turfa para fins energéticos. Em regiões carentes de outros combustíveis fósseis ela é aproveitada para a geração de energia elétrica, térmica, industrial e doméstica. Embora seja conhecida mundialmente como um bem mineral energético, a turfa, em função do seu elevado teor de MO, atua também como um condicionador de solos, como um armazenador de nutrientes e na recuperação de áreas degradadas (Franchi, 2000).

Recentemente, a turfa tem sido muito estudada como um material alternativo para a remoção de impurezas de diferentes efluentes (Couillard, 1994; Brown *et al.*, 2000; Sun e Yang, 2003; Fernandes *et al.* 2004 e 2005), como por exemplo, óleo (Mathavan e Viraraghavan, 1989), metais (Fernandes *et al.*, 2004), odores (McLellan e Rock, 1986), pesticidas (Toller e Flaim, 1988) e corantes (Fernandes *et al.*, 2005 e No Prelo). Sua aplicação se dá devido à existência de grupos funcionais, tais como carboxílicos e fenólicos, de grande reatividade que atuam nas reações de troca iônica, fazendo com que o potencial de adsorção das turfas para sólidos específicos, tais como metais e moléculas orgânicas polares, seja muito alto (Brown *et al.*, 2000).

2.1. OBJETIVOS

Diante da periculosidade dos compostos tóxicos à saúde humana e à manutenção da biodiversidade, há hoje a necessidade urgente de intensificarem-se os estudos que possibilitam o monitoramento eficiente de possíveis contaminantes ao meio ambiente. Tais estudos são fundamentais para que se estabeleçam estratégias visando a redução dos riscos de contaminação. Um melhor entendimento das propriedades estruturais e funcionais da MO, a qual é de grande importância para os processos geoquímicos tais como solubilização, especiação e toxicidade dos metais e poluentes em sistemas naturais, é de grande interesse neste tipo de estudo. Diversos tipos de MO têm sido objeto de estudos voltados para a recuperação de ambientes contaminados com diferentes poluentes. Entretanto, o conhecimento detalhado da reatividade destas substâncias é ainda incipiente devido à complexidade do material e ao fato de suas características físico-químicas serem aparentemente dependentes do ambiente onde estas substâncias são formadas.

Desta forma, são objetivos desta tese:

❖ extrair e purificar, de acordo com o protocolo adaptado por Giovanela (2003), um conjunto de amostras de AF e AH, provenientes dos seguintes solos e turfas:

- Solo Mineral (MI) – Bonn (Alemanha);
- Solo do Horto Florestal (SO) – Florianópolis;
- Turfa decomposta (TD) – Turfeira em Balneário Arroio do Silva;
- Turfa fibrosa (TF) – Turfeira em Balneário Arroio do Silva.

❖ determinar as propriedades físico-químicas das amostras de solos e turfas anteriormente mostras e seus respectivos AF e AH por meio das seguintes técnicas analíticas:

- 1) análise termogravimétrica – TG;
- 2) análise elementar – CHNS;

- 3) espectroscopia de infravermelho – IV ;
- 4) espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^{13}C – RMN ^{13}C ;

❖ testar, usando amostras padrão de SH da IHSS e de compostos modelo (ácido 3,5-dihidroxibenzóico, ácido ftálico, 4-hidroxibenzaldeído e DL-alanil-DL-alanina), a validade de diferentes métodos de quantificação de grupos funcionais, a saber:

- método de titulação indireta de Schnitzer e Gupta (1965);
- titulação potenciométrica com análise de dados pelo programa BEST7 e pela equação de Henderson-Hasselbalch modificada (EHHM).

❖ quantificar a acidez das amostras de SH, provenientes dos diferentes ambientes abaixo apresentados, pelo método de químico de Schnitzer e Gupta (1965):

- Ilha do Mar Virado (MVI) – São Paulo;
- Praia de Ubatimirim (UBM) – São Paulo;
- Manguezal de Ratoles (RME) – Florianópolis;
- Lagoa do Peri (PLN) – Florianópolis;
- Turfeira do Balneário Arroio do Silva (ASP) – Araranguá.

❖ avaliar, por meio de espectroscopia de UV-Vis e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), o potencial de adsorção da amostra de TD com relação ao corante AM e com relação aos hormônios 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol.

3.1. CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E TURFAS

3.1.1. Análise Termogravimétrica – TG

A TG mede as variações de massa de uma amostra (ganho ou perda) em função da temperatura e/ou do tempo, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura, sob uma atmosfera especificada. É utilizada para avaliar processos como degradação, oxidação, redução, evaporação, sublimação e outras mudanças relacionadas com o calor, que ocorrem nas substâncias (Hatakeyama, 1992).

No estudo das SH e da MO em geral, a TG é bastante utilizada na quantificação do teor de cinzas e de umidade das amostras (Huffman e Stuber, 1985). Entretanto, alguns autores têm usado esta técnica, juntamente com outras análises térmicas, para caracterizar e estudar as mudanças estruturais (no que se refere aos grupos funcionais) que podem ocorrer com as SH após o aquecimento (Esteves e Duarte, 1999; Giovanela *et al.*, 2004). As curvas de decomposição térmica e especialmente sua primeira derivada (DTG) fornecem informações importantes relativas à estabilidade térmica das amostras (Hatakeyama, 1992; Esteves e Duarte, 1999). Diferenças nas curvas de decomposição térmica de amostras de SH são provavelmente devido aos diferentes graus de humificação e aos diferentes mecanismos químicos e biológicos que originaram as SH (Ioselis *et al.*, 1985; Esteves e Duarte, 1999; Giovanela *et al.*, 2004).

3.1.2. Análise Elementar

A composição elementar das SH, assim como dos diferentes tipos de MO, pode variar de acordo com a fonte de origem e local de formação. Fatores como a vegetação, o clima e tipo de ambiente influenciam diretamente no processo de humificação, determinando de certa forma, as características da substância originada.

As razões atômicas C/H, C/N e C/O podem ser usadas para indicar a origem de MO, o grau de condensação e as condições ambientais sob as quais as SH foram geradas

(Rice e MacCarthy, 1991; Steelink, 1985). A razão atômica C/H é frequentemente associada ao grau de condensação ou de aromaticidade, e esta, por sua vez, ao grau de humificação, sendo que menores valores de C/H (ou maiores valores de H/C) indicam maior quantidade de grupos alifáticos, típicos de materiais menos humificados, dependendo do grau de oxidação e do material de origem. As razões C/O e C/N indicam, respectivamente, o teor de grupos oxigenados presentes na molécula e o grau de incorporação de nitrogênio na estrutura. Apesar de não ter uma relação muito direta, amostras mais humificadas apresentam, em geral menores valores de C/O e C/N (Stevenson, 1994).

3.1.3. Espectroscopia de Infravermelho – IV

A espectroscopia de IV tem sido amplamente utilizada na caracterização da MO, existindo na literatura uma quantidade apreciável de informações e dados resultantes desta técnica (Goh e Stevenson, 1971; Lobartini e Tan, 1988; Tam *et al.*, 1991; Kawahigashi *et al.*, 1996; Dick *et al.*, 1997; Sierra *et al.*, 2005).

As atribuições das principais bandas de absorção usualmente observadas nos espectros de IV da MO estão mostradas na **Tabela 2** (Schnitzer e Khan, 1972; Rice e MacCarthy, 1991; Stevenson, 1994).

Segundo Stevenson (1994), a importância da espectroscopia de IV reside no fato de, por meio dela, ser possível: obter informações sobre a natureza e a reatividade dos grupos funcionais presentes no material analisado; avaliar os efeitos provocados por modificações químicas, tais como metilação e acetilação; estabelecer a presença ou ausência de impurezas; assim como caracterizar as interações entre os grupos funcionais presente no material de análise com os metais e/ou pesticidas (Stevenson, 1994). Além disso, a aplicação da espectroscopia de IV em conjunto com outras técnicas, como a espectroscopia de RMN, têm sido usadas para identificar os possíveis processos de oxidação e alteração de grupos funcionais, associados aos efeitos do processo de extração das SH por meio de uma solução alcali.

A restrição quanto à aplicação mais abrangente da espectroscopia de IV no estudo de MO não se deve à inadequação do método, mas está relacionada com a

complexidade do espectro e com o baixo grau de pureza das amostras analisadas. Os presentes autores concordam com esta afirmação e alertam que esses obstáculos podem ser facilmente contornados, com um estudo mais aprofundado dos espectros e de suas respectivas interpretações.

Tabela 2. Atribuições das bandas de absorção de IV da MO.

Frequência (cm ⁻¹)	Atribuições ^a
3400 – 3300	Estiramento axial de O–H de álcoois e/ou de fenóis e/ou de ácidos carboxílicos e N–H em ligação de hidrogênio intermolecular
2940 – 2840	Estiramento axial simétrico e assimétrico de C–H alifáticos
1725 – 1720	Estiramento axial de C=O de ácidos carboxílicos, aldeídos e cetonas
1660 – 1630	Estiramento axial de C=O de amidas (banda de amida I), C=O de quinonas e/ou C=O ligados ao hidrogênio de cetonas conjugadas
1630 – 1600	Estiramento axial de C=C do anel aromático, estiramento axial de C=O ligados ao H de cetonas fortemente conjugadas
1600 – 1580	Estiramento axial simétrico de COO ⁻
1590 – 1520	Deformação angular de N–H de amidas (banda de amida II) e estiramento axial de C=N
1500 – 1400	Estiramento axial de C=C do anel aromático
1400 – 1380	Estiramento axial de C–O de OH fenólico e deformação angular de O–H de fenóis, deformação angular simétrica e assimétrica de C–H, estiramento assimétrico de COO ⁻
1280 – 1220	Estiramento axial de C–O e deformação angular de O–H de ácidos, estiramento C–O de aril-éteres, ésteres e fenóis
1170 – 950	Estiramento axial de C–O de estruturas do tipo polissacarídeo, estiramento axial de Si–O (impurezas do tipo silicato)

^a Adaptado de Stevenson, 1994.

3.1.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C – RMN ^{13}C

A RMN é uma potente técnica para estimar a quantidade relativa de grupos orgânicos funcionais, como estruturas alifáticas, aromáticas, fenólicas e carboxílicas. Embora o ^{13}C corresponda a apenas 1,1% do carbono natural, o fato do núcleo desse isótopo do carbono provocar um sinal de RMN tem grande importância para a análise de compostos orgânicos. O principal isótopo do carbono, o ^{12}C , com abundância natural de cerca de 90% não tem spin magnético, e por isso não gera sinais de RMN. Devido ao fato de o ^{13}C existir naturalmente em porcentagem tão baixa, os sinais de RMN gerados pelos seus núcleos não poderiam ser visualizados no espectro. Porém, a técnica utilizada nos aparelhos de RMN ^{13}C consiste em irradiar um pulso curto e potente de radiofrequência, que excita todos os núcleos de ^{13}C existentes na amostra. Os dados são digitalizados automaticamente e guardados em computador em uma série de pulsos repetidos, que acumula os pulsos, construindo os sinais (Skoog, 2002).

No que se refere à MO, o primeiro estudo envolvendo RMN foi reportado por Barton e Schnitzer (1963) na avaliação de um AH metilado. Entretanto, somente nos últimos quinze anos o aprimoramento da tecnologia de RMN tornou possível a sua utilização mais intensa em estudos sobre SH (Preston, 1996). O desenvolvimento de magnetos supercondutores com altos campos, a técnica da transformada de Fourier para aquisição e manipulação dos dados, o desacoplamento de alta potência, a polarização cruzada (CP, *cross-polarization*) e a rotação no ângulo mágico (MAS, *magic-angle spinning*), foram fundamentais para a obtenção de espectros bem resolvidos (Esteves, 1995; Preston, 1996).

A RMN ^{13}C tem demonstrado ser uma técnica promissora e de muita importância na caracterização da MO, principalmente no que se refere às SH. Atualmente, a maioria dos trabalhos envolvendo MO tem sido desenvolvido com amostras no estado sólido, devido ao menor tempo requerido para a obtenção dos espectros sem alterar a estrutura das amostras e mantendo estas intactas. As vantagens de se utilizar esta técnica com amostras no estado sólido, com relação à utilização de amostras no estado líquido, é que não existe uma concentração limite para amostra e conseqüentemente não haverá problemas de solubilidade. Além disso, a amostra em sua forma sólida é mais estável com o passar do tempo (Cook e Langford, 1998).

A técnica RMN ^{13}C com utilização de técnicas como CP e MAS pode ser aplicada à MO, principalmente aos solos, sem a necessidade de se extrair as SH. Entretanto espectros desse tipo apresentam alargamento das linhas e grande redução da relação sinal/ruído, devido à presença de grande quantidade de íons paramagnéticos (especialmente Fe^{3+} e Mn^{2+}) nas amostras intactas (Canellas *et al.*, 2001; Gonçalves *et al.*, 2003; Smernik, 2005). Diversos métodos têm sido desenvolvidos com a finalidade de aperfeiçoar os espectros de RMN ^{13}C de solos removendo o material mineral e os compostos paramagnéticos, entre eles o tratamento com HF diluído tem sido o de maior destaque (Gonçalves *et al.*, 2003; Smernik, 2005; Lorenz *et al.*, 2006).

3.2. PARTE EXPERIMENTAL

3.2.1. Amostragem

As amostras de turfa estudadas foram coletadas na Turfeira Arroio do Silva localizada no município de Balneário Arroio do Silva no sul do Estado de Santa Catarina. Estas foram classificadas de acordo com seu grau de decomposição conforme modelo proposto por Von Post (1924) e apresentado na **Tabela 1**, sendo aquela com o maior grau de decomposição (H7) designada como turfa decomposta – TD e a outra contendo um teor de decomposição um pouco menos (H4) do que a anterior como turfa fibrosa – TF. As amostras foram coletadas com uma pá de alumínio, por raspagem de cerca de 10 cm abaixo da superfície do solo.

As amostras de solo estudadas foram coletadas em dois diferentes lugares: a amostra de solo-MI é proveniente de uma área de cultivo utilizando somente adubo mineral, situada na cidade de Bonn na Alemanha e a amostra de solo-SO foi coletada no Horto Florestal da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizado na Ilha de Santa Catarina. As amostras foram coletadas com uma espátula de teflon, por raspagem de cerca de 10 cm abaixo da superfície do solo.

3.2.2. Materiais

3.2.2.1. Reagentes e Solventes

Os reagentes e solventes utilizados foram todos de grau analítico. O ácido clorídrico, ácido fluorídrico, hidróxido de sódio e nitrato de prata foram adquiridos da CARLO ERBA REAGENTI. Os solventes etanol e metanol foram adquiridos da VETEC QUÍMICA LTDA; e o éter etílico e acetonitrila foram adquiridos da VETEC QUÍMICA LTDA. A água utilizada neste trabalho foi a destilada e a Milli-Q ($\rho = 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

3.2.2.2. Resinas

❖ *Resina Amberlite 200*

A resina de troca iônica Amberlite 200 é uma resina macro-reticular de poliestireno, apresenta-se com grupo funcional do ácido sulfônico e se encontra 20 % na forma sódica. Entre as suas principais aplicações estão a remoção de metais pesados e descalcificação do sangue (Catálogo Supelco, 2003/2004).

Foi adquirida da SUPELCO e previamente purificada para a remoção das impurezas, segundo a seguinte metodologia proposta por Collins *et al* (1971): a resina foi mantida sob agitação em solução de HCl $2,125 \text{ mol L}^{-1}$ durante 1 hora, o ácido é removido por sifonação e a resina é limpa com água destilada até teste de cloretos com AgNO_3 ser negativo.

❖ *Resina Supelite XAD-8*

A resina Supelite XAD-8 é uma resina hidrofóbica, macroporosa contendo um éster de metil metacrilato a qual concentra a MO. A resina foi adquirida da SUPELCO e previamente purificada, segundo a metodologia proposta por Thurman e Malcolm (1981), descrita abaixo:

A resina foi lavada com NaOH 0,113 mol L⁻¹ diversas vezes para eliminar parte do material que se forma pela estocagem da mesma. A seguir, a resina foi lavada seqüencialmente, por períodos de 6 horas para cada solvente, com metanol, éter etílico, acetonitrila e metanol, num extrator Soxhlet e posteriormente lavada com água destilada para eliminar o metanol remanescente.

3.3. EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

O fluxograma abaixo (**Figura 10**) mostra, de maneira simplificada, as etapas envolvidas no processo de extração e purificação das SH deste trabalho, segundo a metodologia adaptada por Giovanela (2003).

Inicialmente, a amostra é lavada com 1 L de solução de HCl 0,145 mol L⁻¹ durante 1 hora, sob agitação mecânica constante, de forma a eliminar os materiais minerais presentes. A suspensão permanece em repouso durante 24 horas e a 4°C, até a completa deposição da parte sólida. O sobrenadante ácido é retirado inicialmente por sifonação e, em seguida, por centrifugação a 10000 rpm.

A segunda etapa do método de extração consiste na lavagem do sedimento com 1 L de NaOH 0,113 mol L⁻¹ durante 4 horas. Esta operação é efetuada sob atmosfera inerte de N₂ e com agitação mecânica constante. O conjunto é então deixado em repouso por 24 horas e a 4°C. O sobrenadante alcalino é separado do sedimento inicialmente por sifonação e, em seguida, por centrifugação a 10000 rpm.

O extrato alcalino é finalmente acidificado com solução de HCl 6,034 mol L⁻¹ até pH 1,203. Neste exato momento, ocorre a separação das duas frações, devido às diferenças de solubilidade neste meio – os AF permanecem em solução, à medida que os AH vão precipitando e se depositando no fundo do recipiente.

O conjunto é deixado novamente em repouso por 24 horas e a 4°C. Em seguida, os AF são separados dos AH inicialmente por sifonação e, em seguida, por centrifugação a 10000 rpm.

3.3.1. Purificação do Ácido Húmico

Os precipitados de AH são lavados inicialmente com uma solução de HCl 0,141 mol L⁻¹ / HF 0,324 mol L⁻¹ por um período de 12 horas e com leve agitação. Esta etapa tem por objetivo a solubilização de materiais de origem inorgânica (sobretudo silicatos) que podem ainda estar adsorvidos nos AH.

A suspensão é, em seguida, congelada com o intuito de se diminuir ainda mais a solubilidade dos mesmos. Após o degelo, o sobrenadante ácido é removido inicialmente por sifonação e, em seguida, por centrifugação a 10000 rpm. Este procedimento é repetido por mais duas vezes, pois diminui consideravelmente o teor de cinzas das frações de AH.

Numa segunda etapa, os AH são filtrados e lavados sob vácuo com água Milli-Q a 4°C. O filtrado é monitorado, entre uma lavagem e outra, com uma solução de AgNO₃ 0,142 mol L⁻¹. Esta operação é conduzida até que não se perceba mais a formação de AgCl no mesmo.

Os AH são finalmente solubilizados em uma solução de NaOH 0,113 mol L⁻¹ e eluídos várias vezes por meio de uma coluna empacotada com resina Amberlite IRA 200, previamente purificada. O eluato é então concentrado, por meio da remoção do excesso de água, em um rotaevaporador a 40°C, sendo em seguida, congelado e liofilizado.

3.3.2. Purificação do Ácido Fúlvico

O sobrenadante contendo os AF é eluído por meio de uma coluna empacotada com resina Supelite XAD-8, previamente purificada e acidificada com uma solução de HCl 0,145 mol L⁻¹. Após a adsorção do material, a coluna é lavada diversas vezes com água Milli-Q a 4°C para eliminar os sais que se formaram durante a etapa de separação das duas frações.

Em seguida, a coluna é eluída com uma solução de NaOH 0,113 mol L⁻¹ e o eluato é passado várias vezes por meio de uma coluna empacotada com resina Amberlite IRA 200 previamente purificada, de maneira análoga aos AH. O eluato é então

concentrado, por meio da remoção do excesso de água, em um rotaevaporador a 40°C, sendo em seguida, congelado e liofilizado.

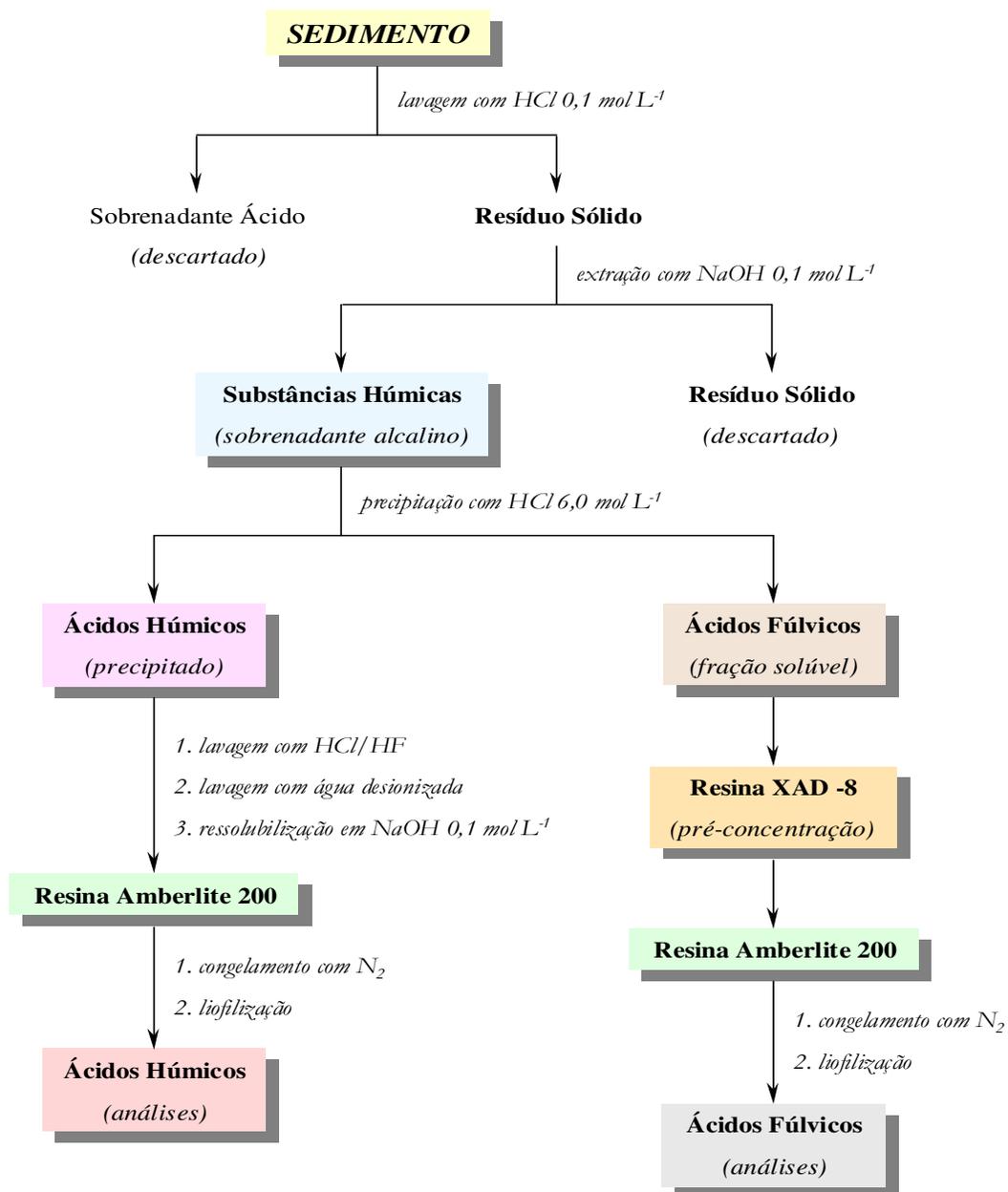


Figura 10. Representação esquemática das etapas envolvidas no processo de extração e purificação das SH.

3.4. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

3.4.1. Análise Termogravimétrica – TG

Os termogramas foram registrados em um analisador termogravimétrico modelo TGA-50 da SHIMADZU acoplado a um computador por meio de uma interface modelo TA-50WSI da SHIMADZU, do Departamento de Química da Universidade de Aveiro (UA). A amostra seca (~ 2 mg para os ácidos fúlvicos – AF; ~ 5 mg para os ácidos húmicos – AH e demais amostras) foi analisada sob atmosfera inerte de Ar com fluxo de 20 mL min⁻¹, utilizando-se um porta-amostra de platina que foi aquecido de 25 a 750°C, com uma taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹. Um branco foi realizado, após a análise de 6 amostras, empregando o mesmo programa de temperatura utilizado para as amostras.

O programa de temperatura utilizado em todas as TG é apresentado na **Tabela 3**. A utilização de rampas de aquecimento a 60°C e 100°C com duração de uma hora cada, tem como objetivo a determinação da umidade. Para a determinação do teor de cinzas das amostras utilizou-se uma rampa de aquecimento a 750°C com duração de 30 minutos.

Tabela 3. Programa de temperatura^a utilizado na TG.

Rampa de aquecimento (°C min ⁻¹)	Temperatura das rampas de aquecimento (°C)	Tempo de espera das rampas de aquecimento (min)
10,0	-	-
0,0	60	60
10,0	-	-
0,0	100	60
10,0	-	-
0,0	750	30

^a Esteves, 1995.

3.4.2. Análise elementar

Os percentuais de C, H, N e S das amostras de turfas e solos, assim como das suas amostras de AF e AH foram medidos em um Analisador Elementar LECO modelo CHNS-932, do Departamento de Química da UA.

O percentual de O foi obtido por diferença, após a correção dos percentuais de C, H, N e S com relação ao teor de cinzas, de acordo com a seguinte expressão:
$$\% O = 100 \% - (\% C + \% H + \% N + \% S).$$

3.4.3. Espectroscopia de Infravermelho – IV

Os espectros de IV foram registrados em um espectrofotômetro de IV/ATR BRUCKER IFS-55 com um *golden gate* SPEAC, do Departamento de Bioquímica da UA. Os espectros foram registrados com uma resolução nominal de 4 cm^{-1} dentro da faixa espectral compreendida entre 4000 e 400 cm^{-1} , utilizando cerca de 50 mg de amostra.

3.4.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 – RMN ^{13}C

Os espectros de RMN de ^{13}C no estado sólido das amostras de turfas e solos e também das frações de AF e de AH foram obtidos em um espectrômetro de RMN da BRUCKER AMX 500 MHz modelo Avence a 125,75 MHz, utilizando amostras cerca de 100 mg de amostra (turfa, solo ou SH) no estado sólido num rotor de 4 mm. O tempo de contato foi de 1 ms, o tempo de repetição de 5 s, a rotação da amostra segundo o ângulo mágico à frequência de 7 kHz, e a duração do impulso de 90° aplicado aos prótons de 4 μs .

Esta análise foi realizada Departamento de Química da UA. As técnicas de CP e MAS foram utilizadas em todas as seqüências, resultando espectros mais bem resolvidos.

Cada espectro contém cerca de 20000 transientes. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm relativos a glicina (referência externa).

Anteriormente à obtenção dos espectros de RMN de ^{13}C , as amostras de turfa (TD e TF) e de solos (MI e SO) foram purificadas usando o procedimento de Skjemstad *et al.* (1994) de modo a isolar da MO os compostos paramagnéticos nas análises de RMN de ^{13}C . Este procedimento consiste de sete sucessivos tratamentos com HF 2%. Cada tratamento envolve a agitação de cerca de 5 g de amostra em 50 mL de ácido por períodos de 1 hora (cinco vezes), 16 horas (uma vez) e 64 horas (uma vez). Entre os tratamentos, as amostras foram centrifugadas, o sobrenadante descartado e substituído pela solução de ácido. No final do tratamento, o resíduo sólido foi lavado com água e congelado para liofilização.

3.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1. Análise Termogravimétrica – TG

As **Figuras 11 a 22** apresentam típicos gráficos termogravimétricos para as amostras estudadas, incluindo o programa de temperatura, curvas termogravimétricas e a primeira derivada das TG. A DTG das curvas mostra a porcentagem de perdas de massa em função da temperatura, com curvas que representam os principais picos de perda máxima de energia necessária ao rompimento das ligações das diferentes estruturas orgânicas presentes.

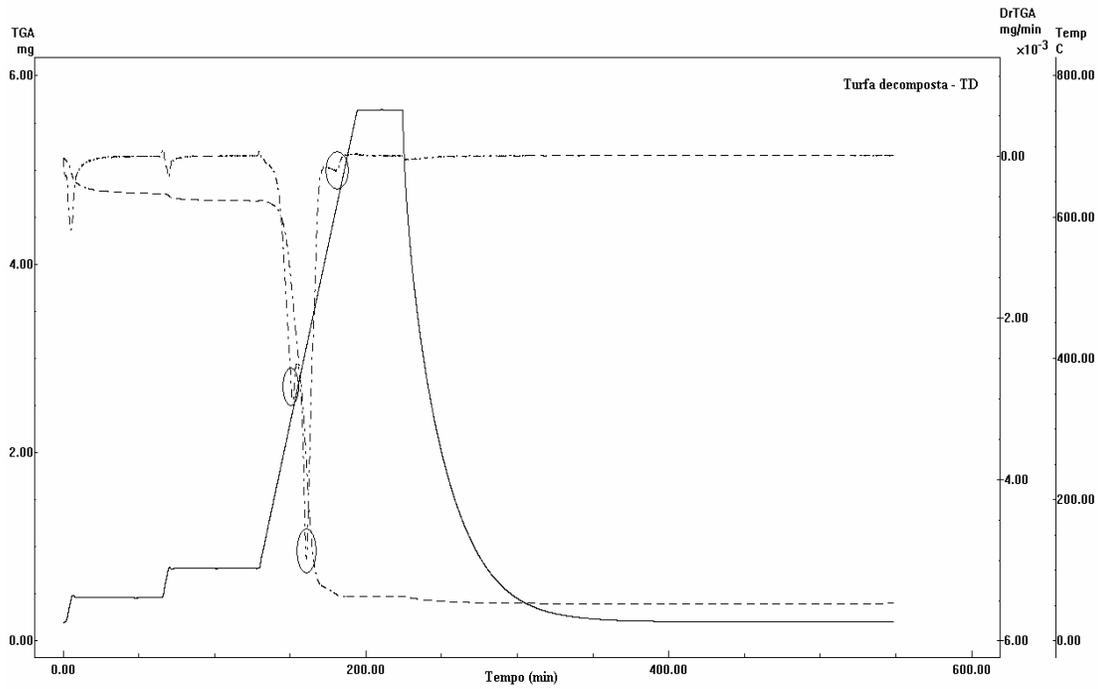


Figura 11. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra TD.

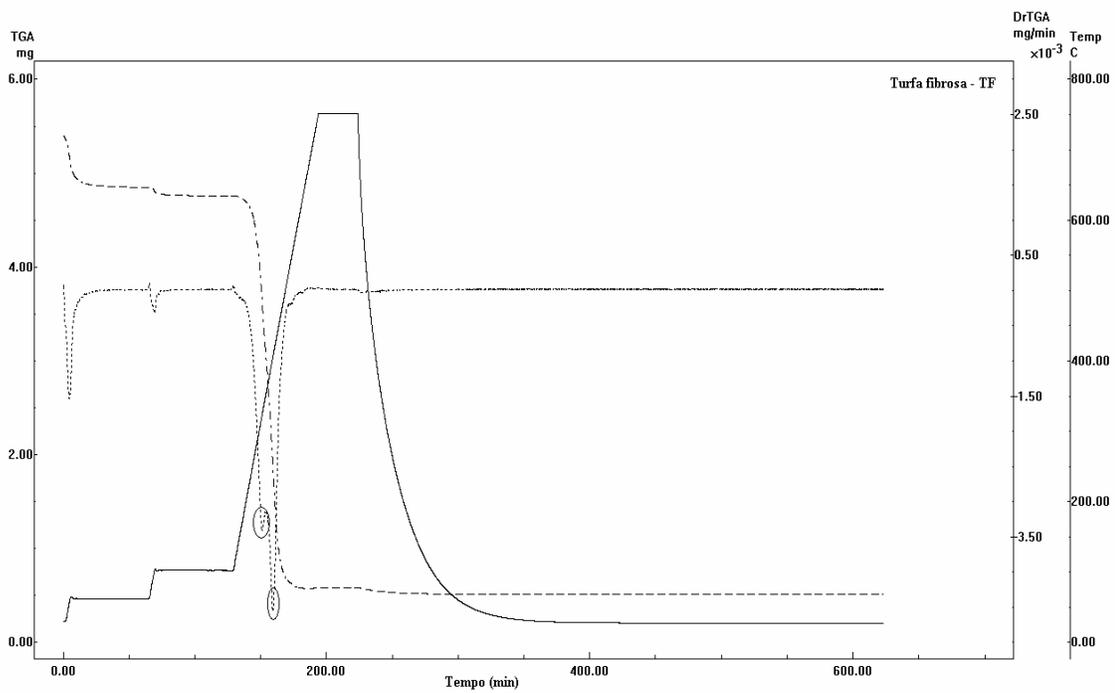


Figura 12. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra TF.

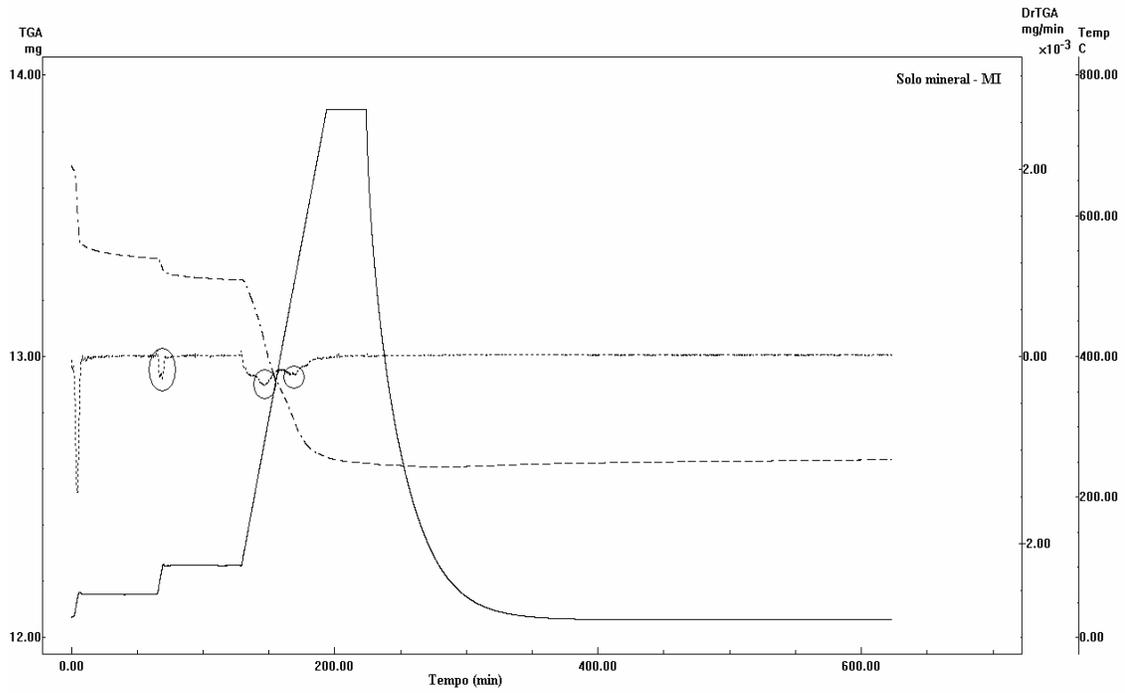


Figura 13. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra MI.

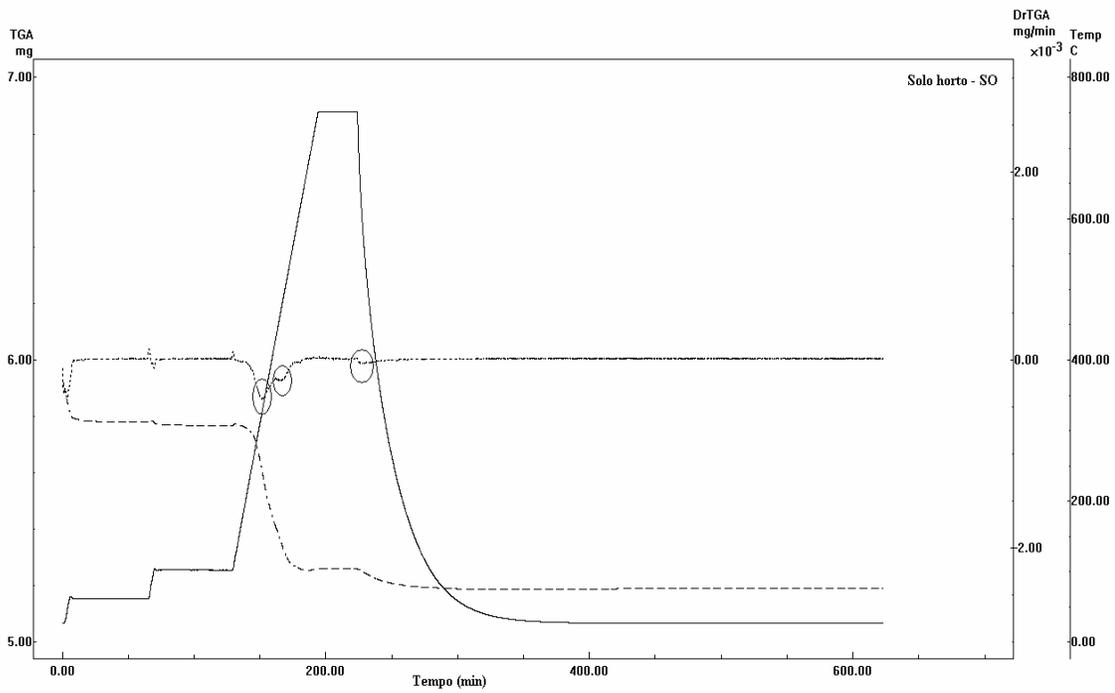


Figura 14. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra SO.

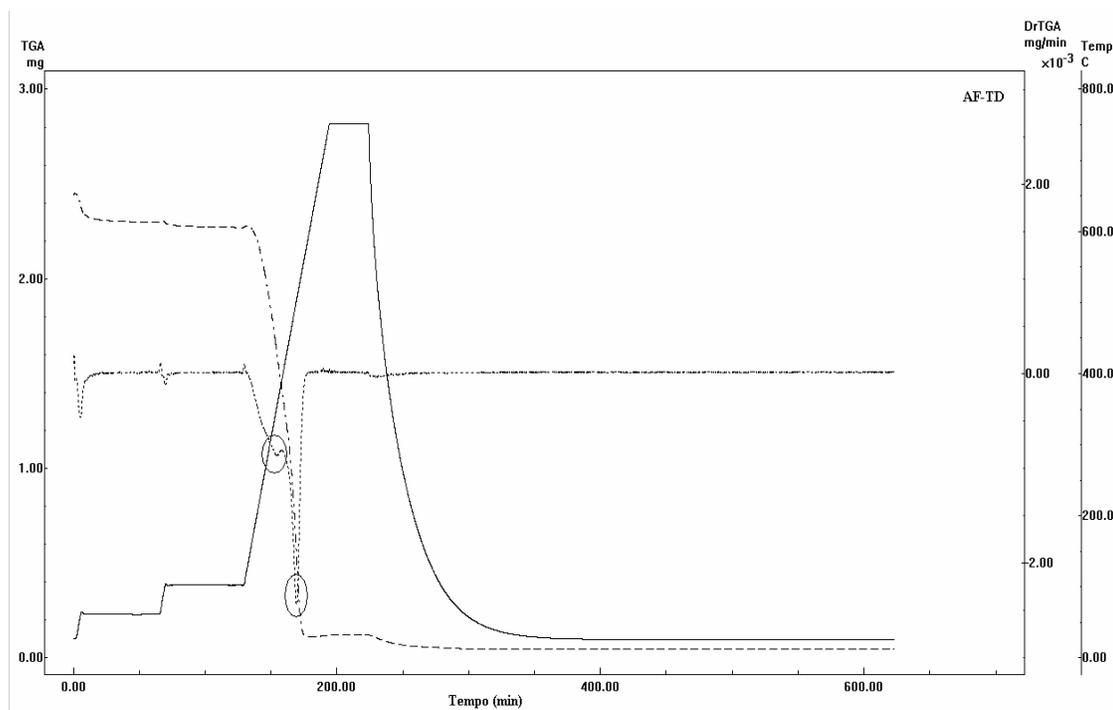


Figura 15. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (· · · ·) DTG, da amostra AF-TD.

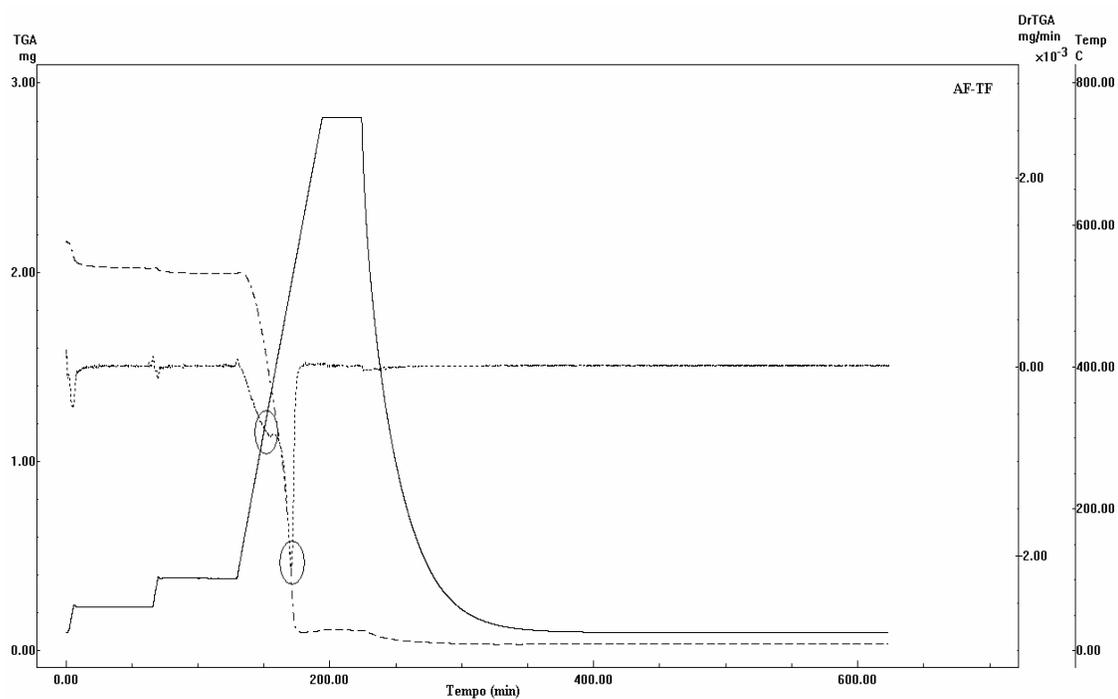


Figura 16. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (· · · ·) DTG, da amostra AF-TF.

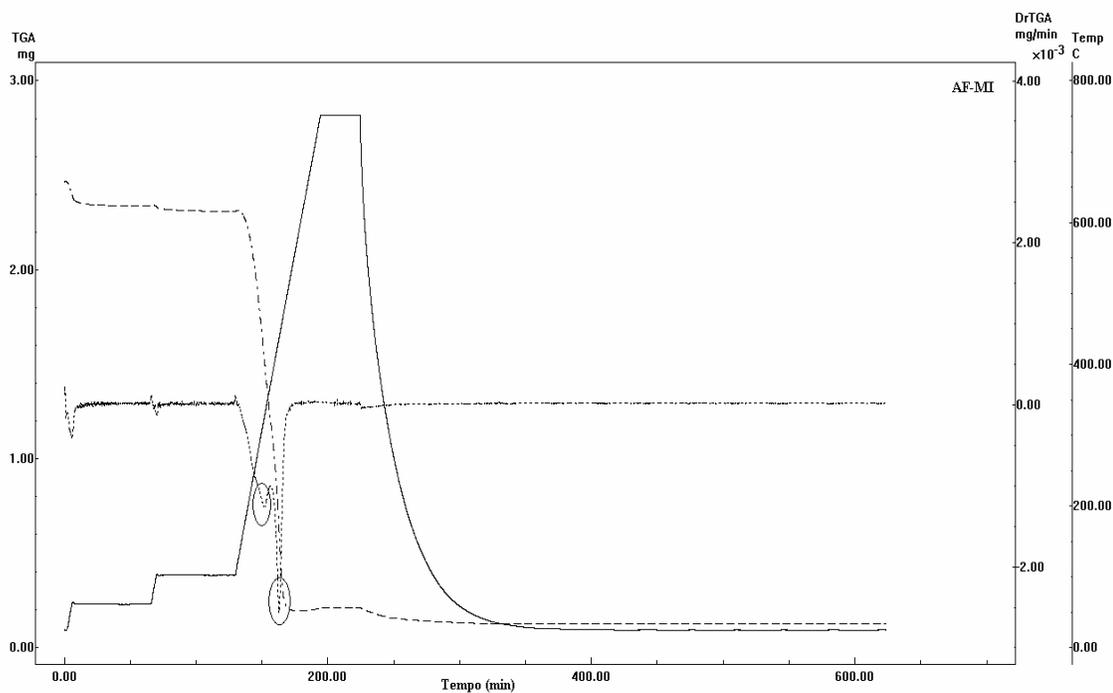


Figura 17. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra AF-MI.

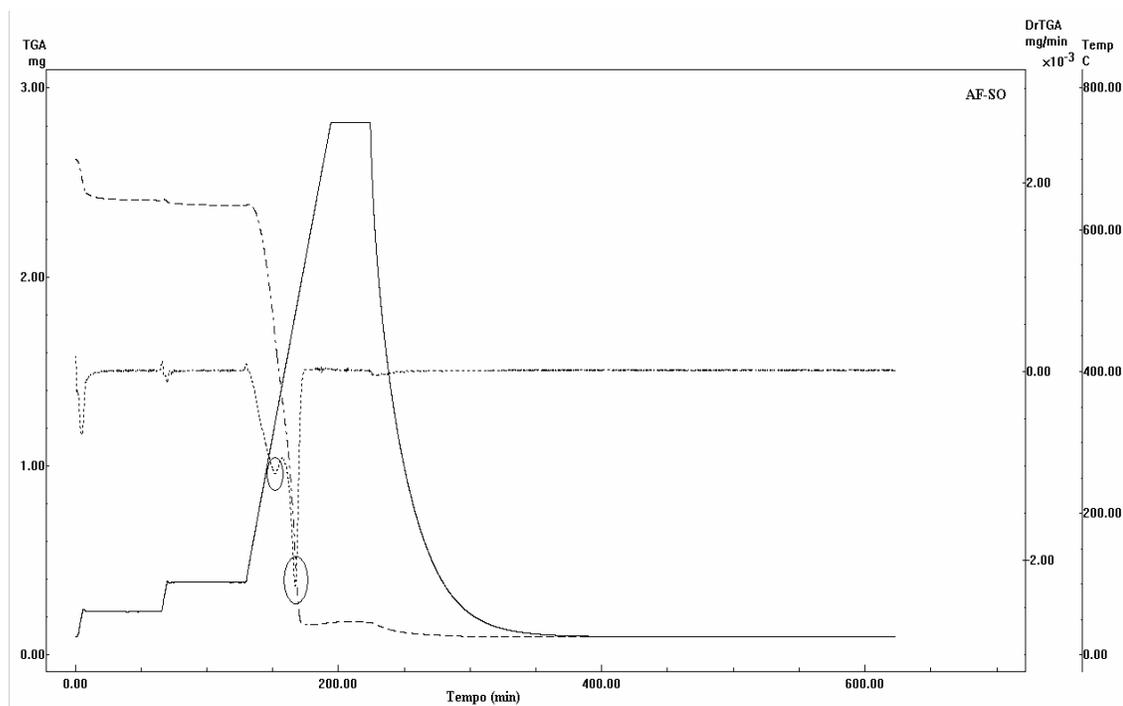


Figura 18. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra AF-SO.

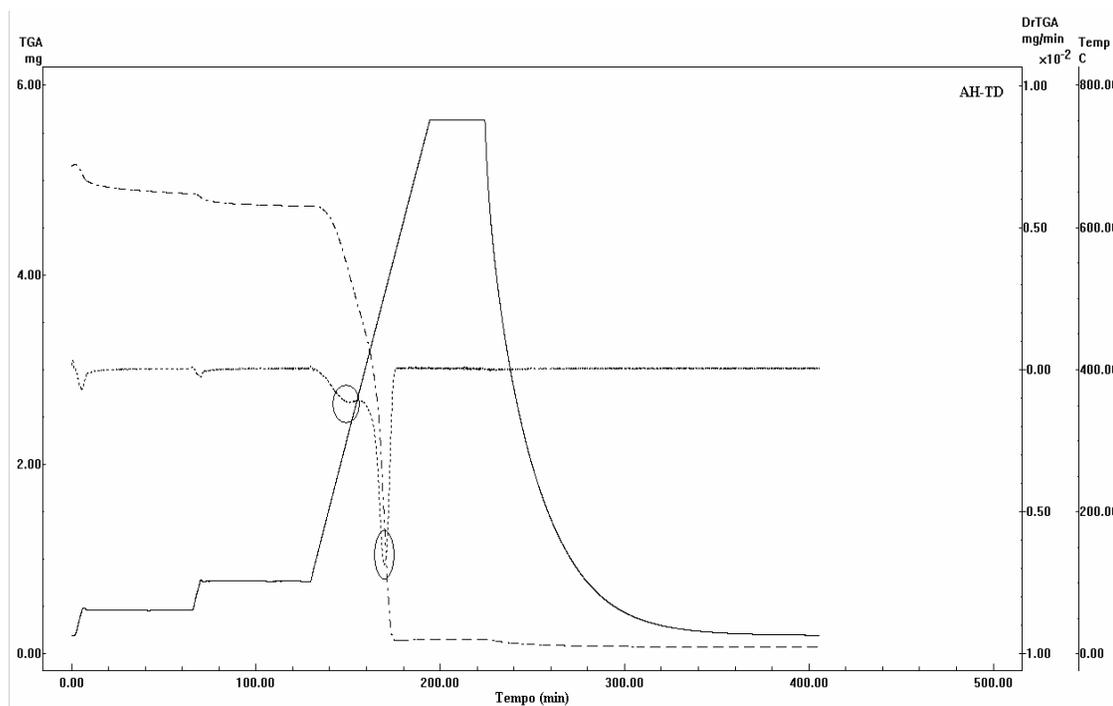


Figura 19. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra AH-TD.

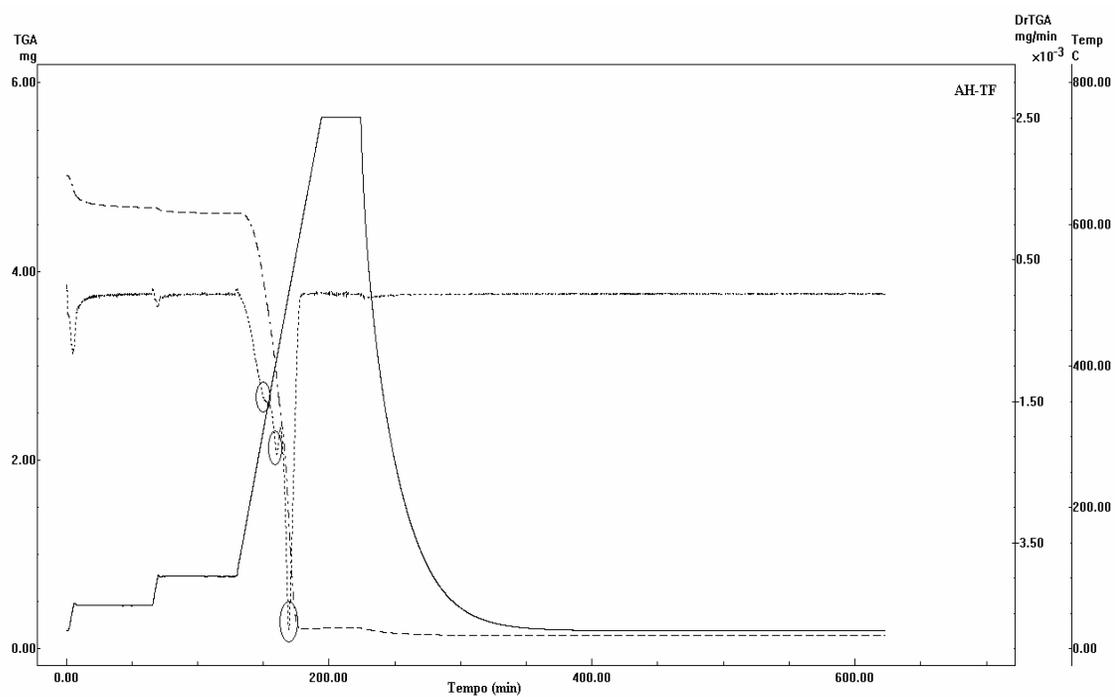


Figura 20. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra AH-TF.

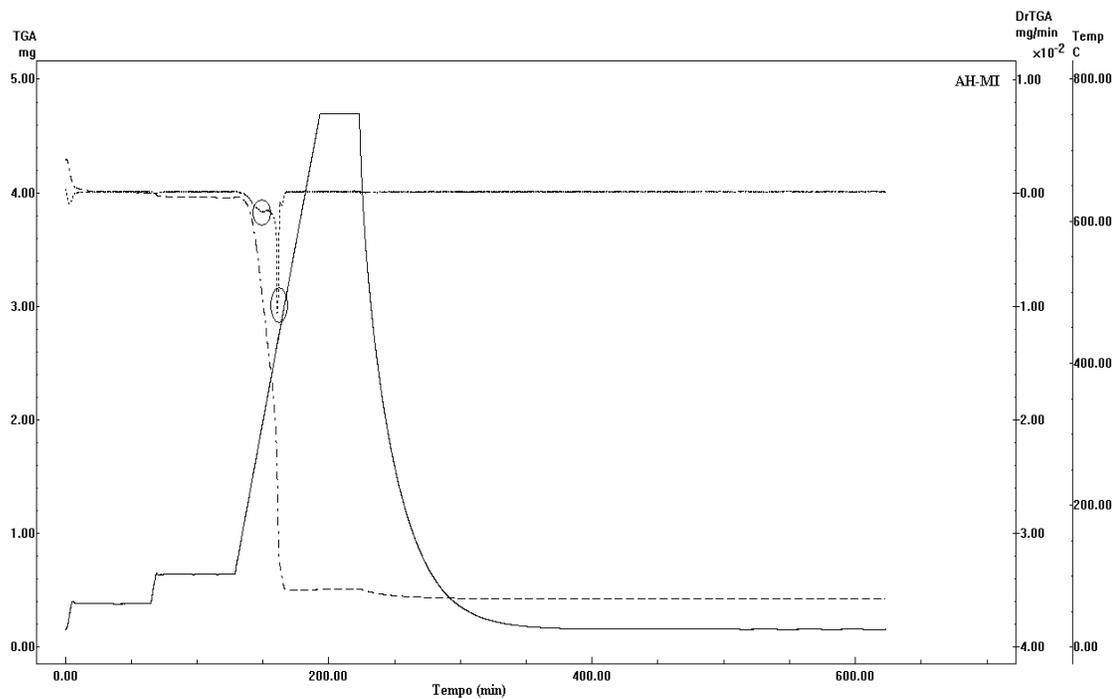


Figura 21. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra AH-MI.

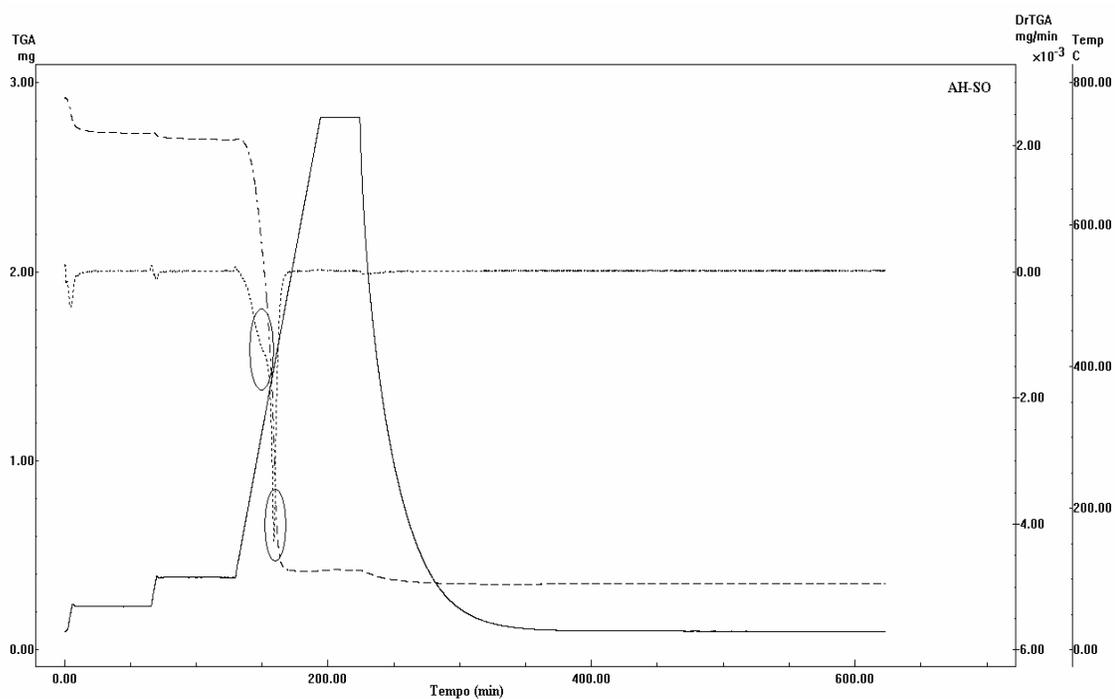


Figura 22. Curvas do: (—) programa de temperatura, (---) termograma e (····) DTG, da amostra AH-SO.

De maneira geral, podem ser observados de dois a três picos nos termogramas das amostras estudadas (**Figuras 11 a 22**) correspondentes as perdas de massa, no intervalo de temperatura estudada (25–750°C). Em todas as amostras, a primeira perda de massa progressiva até cerca de 130°C é proveniente principalmente as reações de desidratação (Esteves, 1995; Esteves e Duarte, 1999). Entre 130-600°C são verificadas etapas de perdas de massa atribuídas à decomposição térmica da parte orgânica das amostras. No intervalo de 280-350°C, ocorre a eliminação e decomposição de compostos alifáticos (incluindo a celulose) e de grupos funcionais (descarboxilação) (Schnitzer e Hoffman, 1964 e 1965). Além destes, alguns grupos fenólicos são eliminados a temperaturas abaixo de 350°C (Schnitzer e Hoffman, 1964). Entre 400-500°C a perda de massa é correspondente à decomposição térmica dos grupos aromáticos (Schnitzer e Hoffman, 1964 e 1965). Para temperaturas acima de 400°C, ainda tem sido demonstrado que algumas estruturas alifáticas, notadamente os hidrocarbonetos de cadeias longas e compostos de nitrogênio, também contribuem para algumas das reações térmicas (Leinweber *et al.*, 1992). Para as amostras de solos, a perda de massa acima de 600°C é devida a decomposição dos carbonatos minerais (Ioselis *et al.*, 1985; Campanella *et al.*, 1990; Leinweber *et al.*, 1992; Stevenson, 1994).

A **Tabela 4** apresenta as perdas de massa das amostras estudadas correspondentes aos principais picos mostrados na DTG. As perdas de massa ocorridas no intervalo de 280 a 350°C são, em geral, menores para as amostras de AH (23% a 37%), seguido das amostras de AF (26% a 52%) e de MO (38% a 70%). Por outro lado, as perdas de massa ocorridas entre 400-500°C, atribuídas à dissociação de estruturas aromáticas e sistemas polinucleares, foram maiores para as amostras de AH do que para as amostras de AF e de MO. Algumas amostras ainda apresentaram mais um pico em temperaturas superiores (500-600°C), correspondentes aos grupos aromáticos mais fortemente ligados às amostras. Para este intervalo de perda de massa as amostras de AH e AF foram muito semelhantes entre si, com valores de 54% a 75% e de 60% a 74%, respectivamente. As amostras de turfas e solos apresentaram uma pequena porcentagem neste intervalo de temperatura (3% a 7%). Para a amostra de solo MI um pico correspondente à perda de massa em temperaturas mais baixas (166°C) é evidenciado (dado não apresentado na **Tabela 4**). Esta perda de massa indica a existência de algum composto menos termo-resistente nesta amostra.

Tabela 4. Perdas de massa das amostras estudadas obtidas por meio da TG.

Amostras ^a	Pico 1		Pico 2		Pico 3	
	(%)	(°C)	(%)	(°C)	(%)	(°C)
AMOSTRAS						
TD	38	322	55	418	7	557
TF	40	322	60	403	nd ^b	nd ^b
MI ^c	47 ^d	280	40 ^d	466	nd ^b	nd ^b
SO	70 ^d	325	27 ^d	476	3 ^d	613
ÁCIDOS FÚLVICOS						
AF-TD	40	353	nd ^b	nd ^b	60	506
AF-TF	26	354	nd ^b	nd ^b	74	515
AF-MI	52	326	48	438	nd ^b	nd ^b
AF-SO	47	328	53	480	nd ^b	nd ^b
ÁCIDOS HÚMICOS						
AH-TD	25	298	nd ^b	nd ^b	75	497
AH-TF	23	316	23	407	54	502
AH-MI	37	310	63	439	nd ^b	nd ^b
AH-SO	36	288	64	396	nd ^b	nd ^b

^a Abreviações: TD = turfa decomposta, TF = turfa fibrosa, MI = solo mineral, SO = solo horto; ^b não detectado; ^c para esta amostra um pico com 13% à temperatura de 166 °C é demonstrado; ^d valores determinados considerando os valores de C total.

Observando-se os resultados de TG (**Figuras 11 a 22 e Tabela 4**) pôde-se constatar a existência de um comportamento térmico diferente para cada grupo de amostra estudada. As diferenças nas curvas de decomposição térmica são provavelmente devido aos diferentes graus de humificação de cada amostra (Ioselis *et al.*, 1985). De maneira geral, os AH são os compostos mais termo-resistentes, apresentando os maiores valores de

perda de massa (63% a 75%) em temperaturas acima de 350°C. Os AF são ligeiramente menos termo-resistentes do que os AH, tendo valores de perda de massa entre 48% a 74%. Ao contrário, as amostras de turfas e solos são menos termo-resistentes, apresentando os maiores valores de perda de massa em temperaturas inferiores a 350°C.

3.5.2. Análise Elementar

A **Tabela 5** apresenta os dados referentes à análise elementar, às razões atômicas (C/H e C/N) e ao teor de cinzas das amostras estudadas. Os resultados foram corrigidos considerando a quantidade de umidade (determinada após a secagem das amostras até massa constante a 60°C na TG) e pelo teor de cinzas residuais (determinada após queima da amostra a 750°C na TG). Os valores aqui encontrados variam de uma amostra para outra e estão dentro da faixa esperada, correlacionando-se bem com os dados normalmente apresentados na literatura (Rashid, 1985; Rice e MacCarthy, 1991; Stevenson, 1994). Para as amostras de turfa, a TF que contém um menor grau de humificação (H4) apresentou maiores percentuais de C e H enquanto que a amostra TD (H7) apresenta maior concentração de N. A amostra de solo SO apresentou uma concentração de C relativamente baixa quando comparada com as demais amostras estudadas. Por outro lado, esta amostra apresenta elevadas concentrações de N, ficando estes resultados de acordo com seu elevado teor de cinzas (86%). Os AF apresentam menores concentrações de C, H e N do que os AH. Essa tendência é esperada, considerando-se que os AF são compostos com moléculas de massa molecular aparentemente mais baixa do que os AH e com maior conteúdo de grupos funcionais oxigenados (mais ricos em O).

Tabela 5. Análise elementar e razões atômicas molares das amostras estudadas.

Amostras ^a	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)	O (%)	C/H ^b	C/N ^b	Cinzas (%) ^c
AMOSTRA								
TD	55,79	5,69	2,74	nd ^d	35,78	0,82	23,75	9,35
TF	56,98	6,41	1,43	nd ^d	35,18	0,74	46,48	6,82
MI	nde ^e	93,00						
SO	31,94	nde ^e	3,65	0,23	nde ^e	nde ^e	10,21	86,34
ÁCIDOS FÚLVICOS								
AF-TD	47,28	4,70	1,38	0,99	45,65	0,84	39,97	0,49
AF-TF	50,76	3,99	1,41	0,45	43,39	1,06	42,00	nd ^d
AF-MI	43,20	4,71	4,30	0,96	46,83	0,76	11,72	5,50
AF-SO	48,32	4,67	2,55	0,52	43,94	0,86	22,10	1,89
ÁCIDOS HÚMICOS								
AH-TD	53,48	4,67	2,42	0,88	38,55	0,95	25,78	1,04
AH-TF	55,51	5,11	2,31	0,43	36,62	0,90	28,03	2,10
AH-MI	44,20	4,72	4,90	0,74	45,44	0,78	10,52	7,50
AH-SO	49,10	5,11	4,11	0,67	41,01	0,80	13,94	10,56

^a Abreviações tem o mesmo significado que na Tabela 4; ^b C/H = [%C/12,01]/[%H/1,00]; C/N = [%C/12,01]/[%N/14,01]; ^c Teor de cinzas calculado por meio da TG; ^d não detectado; ^e não determinado.

Comparando-se as diferentes amostras estudadas (**Tabela 5**), os dados das razões C/H e C/N mostraram tendências que estão de acordo com o esperado. A relação C/H para as amostras de turfas (TD e TF) é semelhante, mas pode-se observar um valor ligeiramente maior para a TD, sugerindo um maior grau de insaturações para esta amostra. De fato, um caráter mais aromático para a amostra TD seria consistente com um estado mais avançado de decomposição. A TF, por outro lado, apresenta uma estrutura mais

saturada, por ser um material mais recente. A relação C/N para a TF é consideravelmente maior do que para a amostra TD. O enriquecimento em N na turfa TD deve estar provavelmente relacionado com uma maior incidência de bactérias neste estágio de decomposição. Para a amostra de solo SO o valor C/N foi relativamente baixo quando comparado com as demais amostras. Os dados de C/H e C/N das amostras de SH de solos foram menores do que para as amostras de SH de turfas, indicando uma menor proporção de estruturas condensadas nas SH de solos. Este resultado confirma o esperado, uma vez que as turfas são bem mais humificadas do que as amostras de solos.

3.5.3. Espectroscopia de Infravermelho – IV

As **Figuras 23 a 26** mostram os espectros de IV das amostras TD, TF, MI, SO e de seus respectivos AH e AF. Os grupos funcionais que são sensíveis à irradiação IV – hidroxilas fenólicas e alcoólicas, carboxilas e carbonilas alifáticas e aromáticas, C-H alifático, e amidas – estão presentes em todas as amostras, independentemente da sua origem. Entretanto, as quantidades relativas destes grupos podem diferenciar de uma amostra para outra e também podem ser dependentes dos processos de extração e purificação que foram usados.

Com exceção das amostras de solo (MI e SO), todos os espectros são caracterizados por um número similar de bandas de absorção (**Tabela 2**), exibindo intensidades relativas variáveis, típicas de materiais como SH (Stevenson, 1994), por exemplo: (1) uma banda larga por volta de 3400 cm^{-1} , geralmente atribuída ao estiramento O-H de ligações de hidrogênio em O-H de álcoois e/ou de fenóis e/ou de ácidos carboxílicos, além de ligações de hidrogênio em N-H; (2) uma ou duas bandas em torno de 2940 e 2840 cm^{-1} , devido ao estiramento assimétrico de C-H alifáticos; (3) uma banda em aproximadamente 1720 cm^{-1} , tipicamente associada ao estiramento de C=O de grupos funcionais carbonilas, particularmente aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos; (4) uma banda de absorção entre 1630 - 1600 cm^{-1} , relacionada às vibrações C=C de aromáticos; (5) uma banda discreta em 1520 cm^{-1} , possivelmente designada às vibrações de esqueleto aromático para sistemas de C=N conjugados e grupos amino; (6) duas bandas em torno de

1400 e 1380 cm^{-1} , tipicamente atribuída à deformação O-H de fenólicos; (7) uma banda larga por volta de 1280-1220 cm^{-1} , provavelmente devido ao estiramento C-O de ésteres e/ou carboxilas; (8) uma banda intensa em 1170-950 cm^{-1} , referente ao estiramento C-O de estruturas de polissacarídeos e impurezas (Stevenson, 1994; Cocozza *et al.*, 2003).

Nos espectros das duas amostras de turfas, algumas diferenças são observadas. Por exemplo, as bandas de absorção que aparecem na região compreendida entre 2940 e 2840 cm^{-1} (banda 2), referentes ao estiramento C-H, são bem mais definidas e intensas na amostras TF e sugerem uma maior alifaticidade para esta amostra com relação a amostra TD. Esta mesma tendência foi anteriormente evidenciada pela TG e análise elementar. Uma segunda característica bastante interessante, diz respeito às bandas de absorção situadas entre 1720 e 1600 cm^{-1} (bandas 3 e 4): a banda referente ao estiramento C=O de ácidos, aldeídos e cetonas (em torno de 1720 cm^{-1} , banda 3) é mais intensa no espectro da amostra TD do que no da TF. Outra diferença é aquela observada para valores de número de onda em torno de 1280 cm^{-1} (banda 7). Para a amostra TD, esta banda que é atribuída ao estiramento de C-O de aril-éteres, ésteres e fenóis, é mais intensa e está melhor definida do que para a amostra TF. Para as amostras de solos (MI e SO), a região compreendida entre 4000 e 1250 cm^{-1} nenhum sinal de absorção no IV é evidenciado devido o alto teor de cinzas para estas amostras (MI = 93% e SO = 86%). Outra vez, devido ao alto teor de cinzas, na região de abaixo de 1250 cm^{-1} , uma banda intensa em torno de 1050 cm^{-1} , sugere a presença de impurezas do tipo silicato.

Comparando-se os espectros das amostras de AH e de AF de mesma amostra, algumas diferenças são observadas. Primeiro, a banda relativa a carbono alifático (aproximadamente 2920 cm^{-1} , banda 2) é mais evidente nos espectros dos AH do que nos AF. Além disso, a banda de absorção referente ao estiramento C=O da carboxila (próximo de 1718 cm^{-1} , banda 3) é mais intensa nos espectros de AF do que nos espectros de AH, devido ao maior teor de grupos carboxílicos nos AF. Para as amostras de AH, por outro lado, é a banda 4 (por volta de 1640 cm^{-1}) que é a mais evidenciada. Diferenças entre AH e AF podem também ser observadas para valores de números de onda cerca de 1280 cm^{-1} (banda 7). Esta banda, referente ao estiramento C-O de aril-éteres, ésteres e fenóis, é mais intensa para os AF do que para os AH. Este resultado é esperado, uma vez que os AF devem conter um teor de grupamentos funcionais oxigenados mais elevados quando comparados com as demais amostras estudadas.

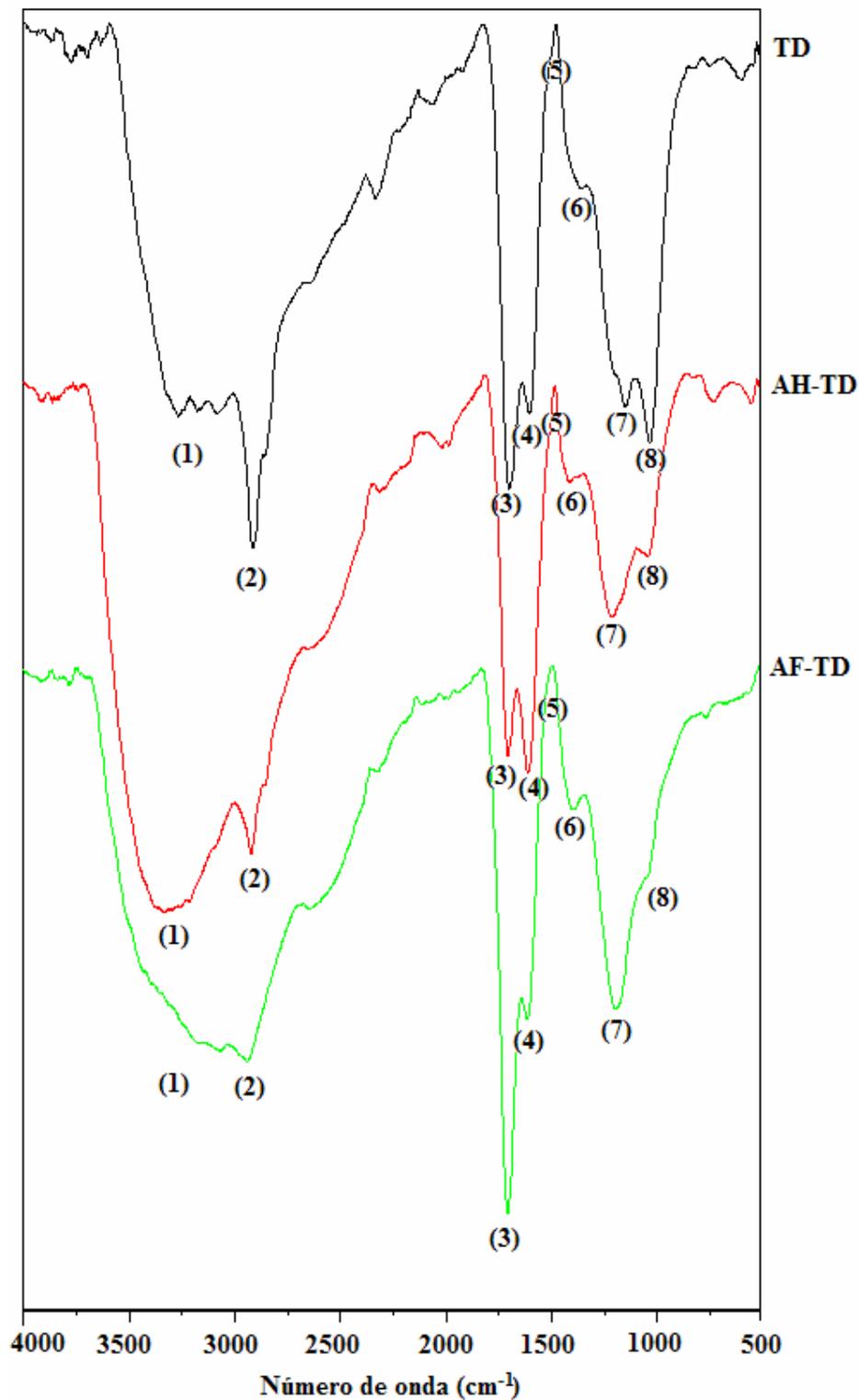


Figura 23. Espectros de IV das amostras de: (—) TD, (—) AH-TD e (—) AF-TD.

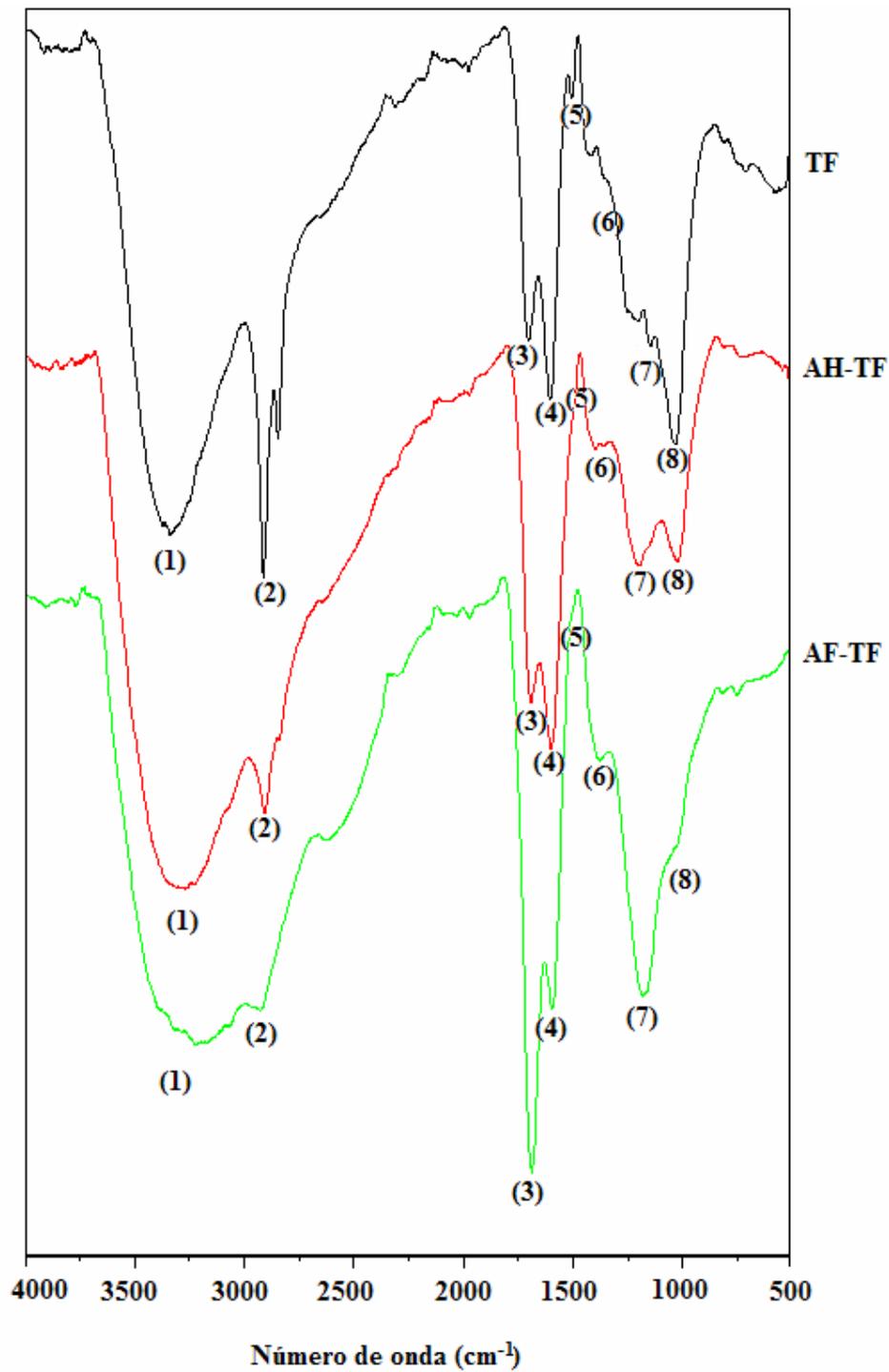


Figura 24. Espectros de IV das amostras de: (—) TF, (—) AH-TF e (—) AF-TF.

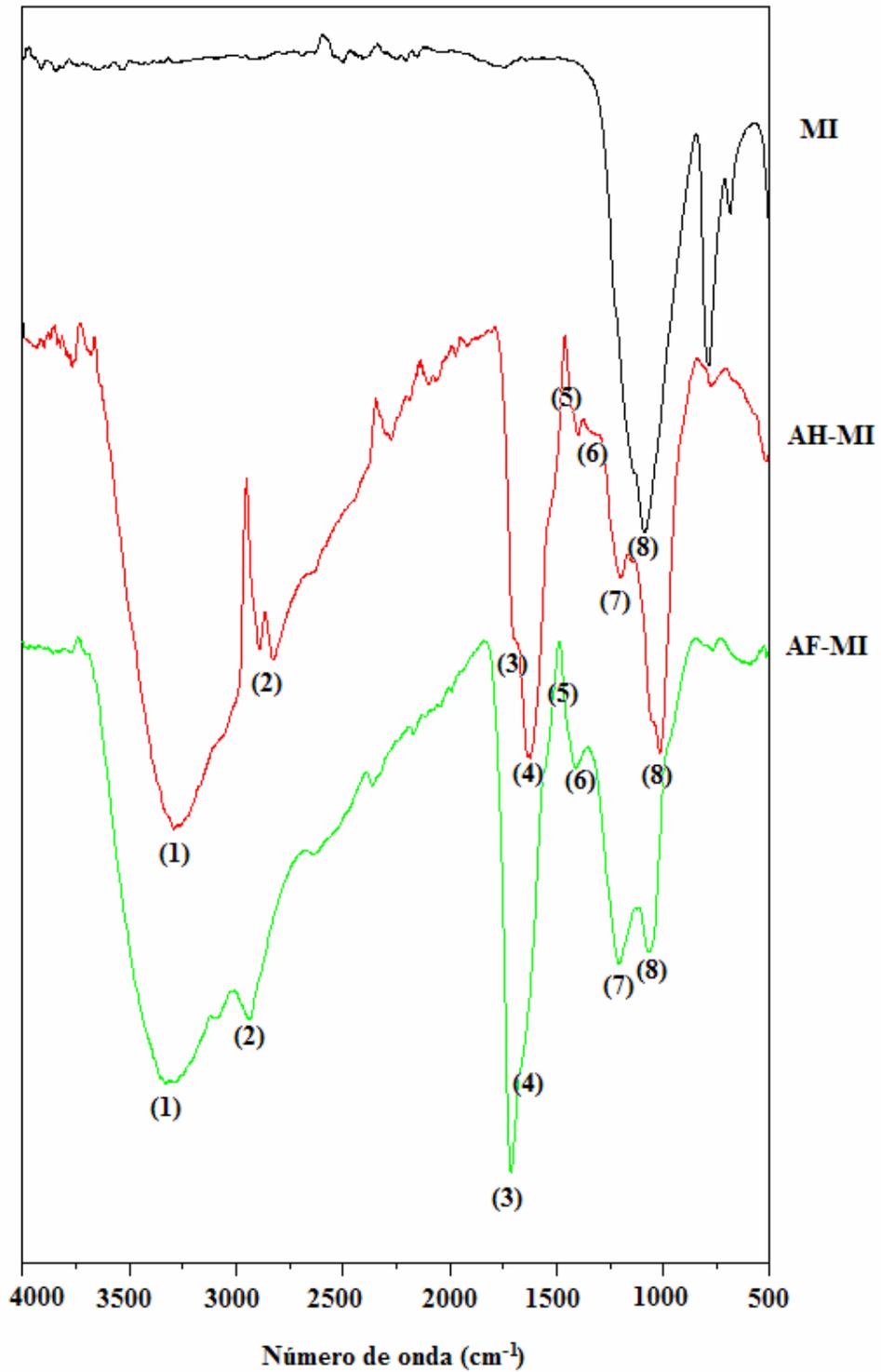


Figura 25. Espectros de IV das amostras de: (—) MI, (—) AH-MI e (—) AF-MI.

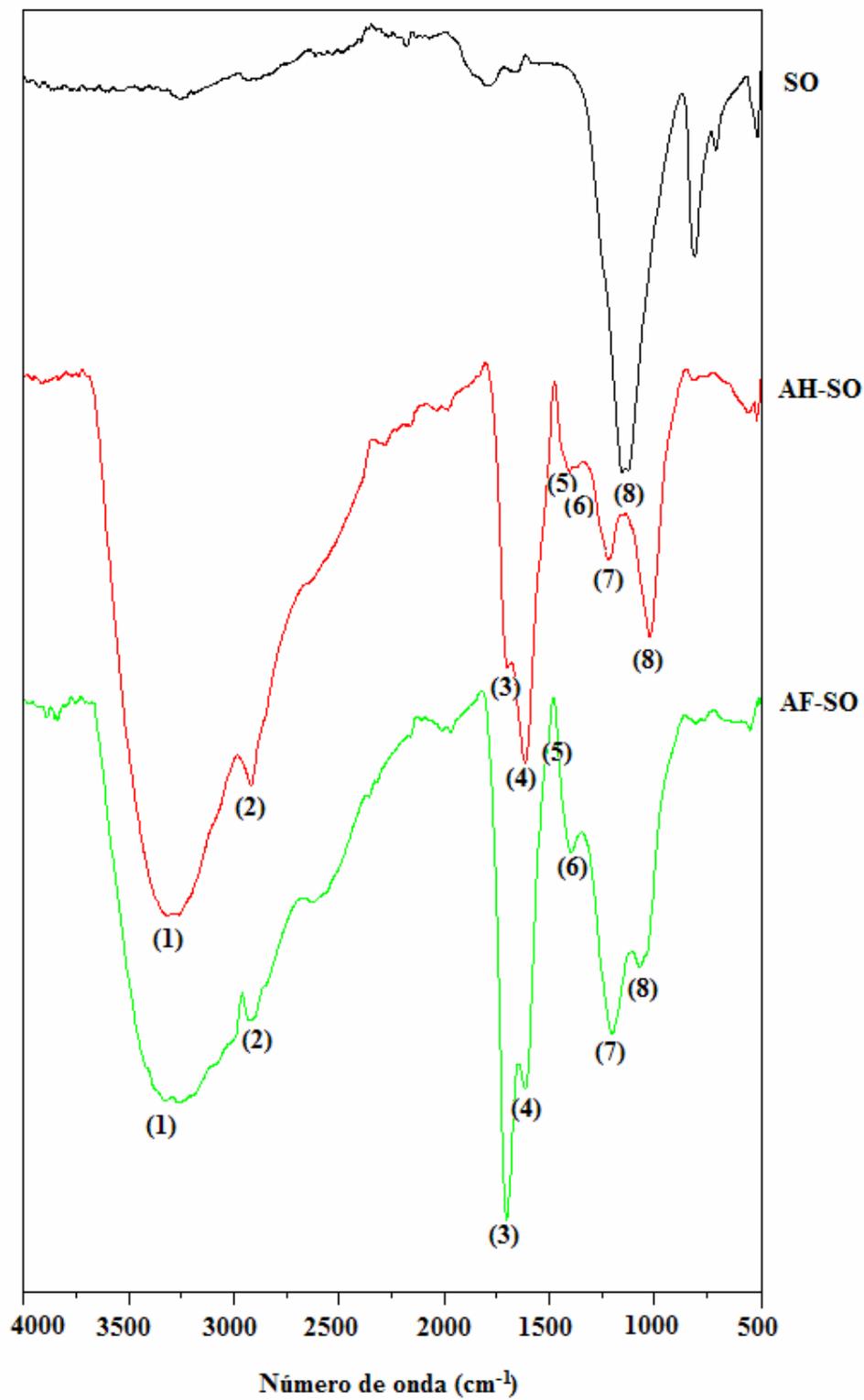


Figura 26. Espectros de IV das amostras de: (—) SO, (—) AH-SO e (—) AF-SO.

Um comportamento bastante interessante é observado para a banda relativa ao estiramento C-O de polissacarídeos (1080 cm^{-1} , banda 8) para as amostras de SH. Em geral, esta banda é mais intensa para as amostras de AH do que para as amostras de AF. Esta diferença pode ser proveniente dos diferentes processos de extração e purificação que são realizados para a obtenção das SH (Aiken, 1988). Uma vez que os AH não foram purificados como os AF (os AF foram eluídos por meio da resina XAD-8), a banda referente ao estiramento de polissacarídeos aparece mais intensa do que para os AF. Finalmente, resultados como esses demonstram que mesmo que o processo de extração das SH possa modificar o material resultando em amostras com características diferentes das amostras de origem, as razões atômicas assim como as propriedades espectrais de IV ainda assim podem ser usadas para caracterizar amostras de MO como as SH.

3.5.4. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 – RMN ^{13}C

Os espectros de CP/MAS-RMN ^{13}C das amostras estudadas estão representados nas **Figuras 27 a 30**. De um modo geral, os espectros apresentaram características similares apresentando bandas que podem ser associadas a diversos grupos funcionais alifáticos (CH, C-N, O-CH₃, polissacarídeos) e aromáticos (CH e fenólicos). Os picos observados têm sido frequentemente relatados por outros pesquisadores que utilizam RMN de ^{13}C no estudo e caracterização de solos e SH (Esteves, 1995; Canellas *et al.*, 2001; Dignac *et al.*, 2002; Sierra *et al.*, 2005). A intensidade relativa destes picos, entretanto, varia de uma amostra para outra. Como citado anteriormente, fatores como vegetação, clima e tipo de ambiente influenciam diretamente no processo de humificação, determinando as características químicas e estruturais das SH originadas. Além disso, os diferentes processos que ocorrem durante a extração e purificação das SH podem levar a modificações do material de origem e/ou a inclusão de contaminantes provenientes das resinas de purificação com a extração (Aiken, 1988). As atribuições das possíveis regiões de bandas melhor definidas nos espectros de CP/MAS-RMN ^{13}C das amostras estudadas estão demonstradas na **Tabela 6**.

Tabela 6. Atribuições das possíveis regiões de bandas bem definidas nos espectros de CP/MAS-RMN ^{13}C das amostras estudadas.

Região	Desvio Químico (ppm)	Possíveis Atribuições ^a
R ₁	0-45	Deslocamento químico de carbonos alifáticos saturados não substituídos (alcanos)
R ₂	45-90	Deslocamento químico de carbonos alifáticos ligados a O ou N por ligações simples (polissacarídeos)
R ₃	90-110	Deslocamento químico de carbonos anoméricos ligados a dois átomos de O por ligações simples (polissacarídeos)
R ₄	110-160	Deslocamento químico de carbonos aromáticos
R ₅	160-190	Deslocamento químico de carbonos carbonílicos de ácido carboxílico, éster e amida (lipídios e proteínas)
R ₆	190-220	Deslocamento químico de carbonos carbonílicos de aldeídos e cetonas

^a Adaptado de Dignac *et al.*, 2002.

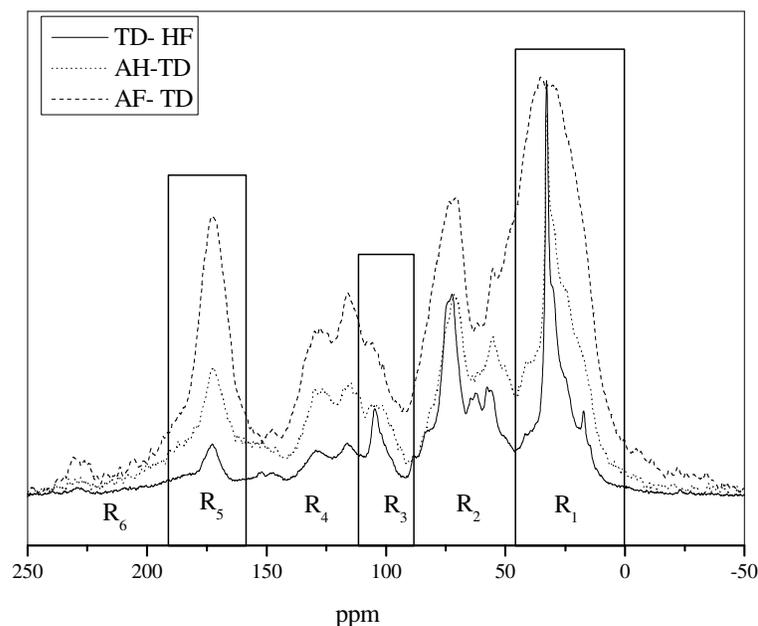


Figura 27. Espectros de CP/MAS-RMN ^{13}C das amostras de TD-HF, AH-TD e AF-TD.

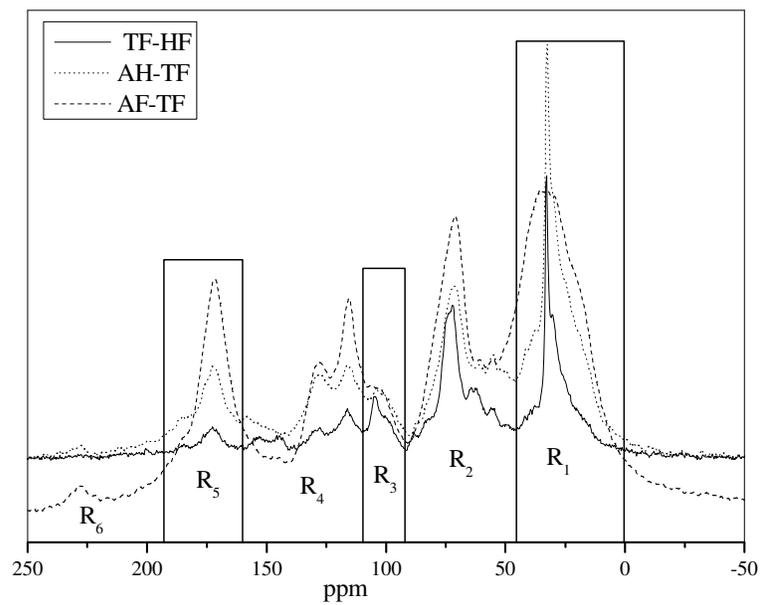


Figura 28. Espectros de CP/MAS-RMN ^{13}C das amostras de TF-HF, AH-TF e AF-TF.

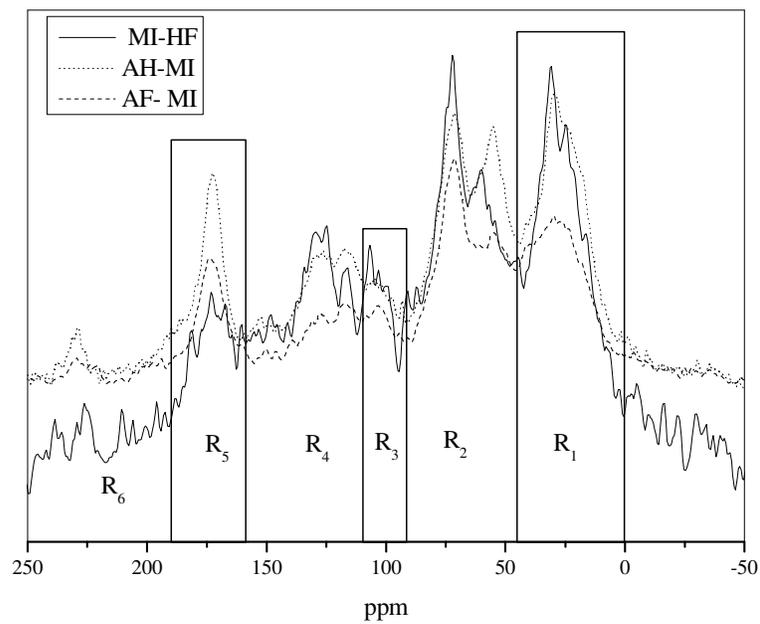


Figura 29. Espectros de CP/MAS-RMN ^{13}C das amostras de MI-HF, AH-MI e AF-MI.

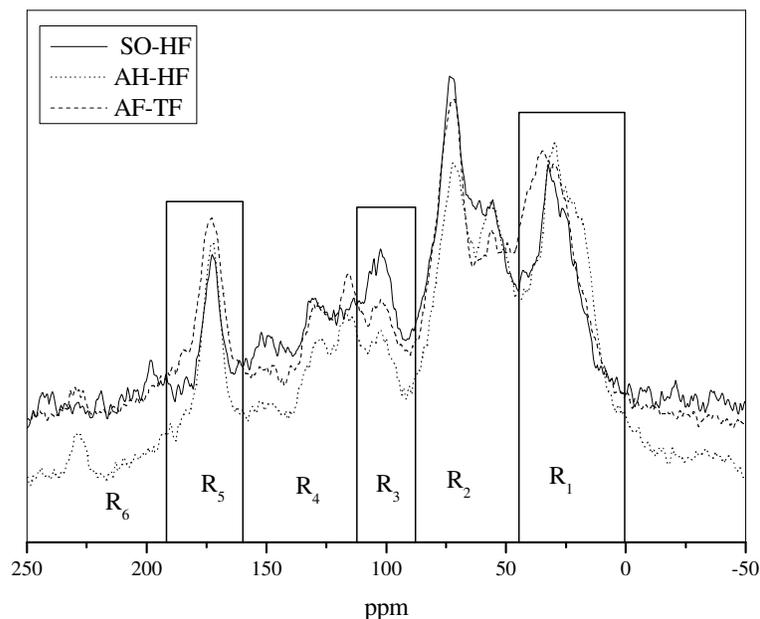


Figura 30. Espectros de CP/MAS-RMN ^{13}C das amostras de SO-HF, AH-SO AF-SO.

Na primeira região ($R_1 = 0-45 \text{ ppm}$), atribuída à ressonância de carbonos alifáticos saturados não substituídos, observa-se um pico em aproximadamente 32 ppm para todas as amostras estudadas. Para a amostra TD-HF um pico em 16 ppm também é observado. Para os solos e seus respectivos AH, os resultados foram semelhantes só que, neste caso, os espectros destas amostras apresentaram mais ruídos devido a interferência dos compostos paramagnéticos nas análises (Canellas *et al.*, 2001; Gonçalves *et al.*, 2003; Smernik, 2005). As **Figuras 31 a 34** e a **Tabela 7** mostram a relação entre as áreas relativas das diferentes classes de compostos de amostras estudadas. Pode-se observar que, para todas as amostras, a área relativa aos carbonos alifáticos é maior que todas as outras, evidenciando mais uma vez, o alto grau de alifaticidade da MO natural. Com exceção do grupo da amostra MI, a área relativa aos carbonos alifáticos nos espectros das amostras de SH é, em geral, maior do que suas respectivas amostras de origem, sendo este efeito, provavelmente, uma consequência do processo de extração e purificação que seleciona uma categoria específica de compostos.

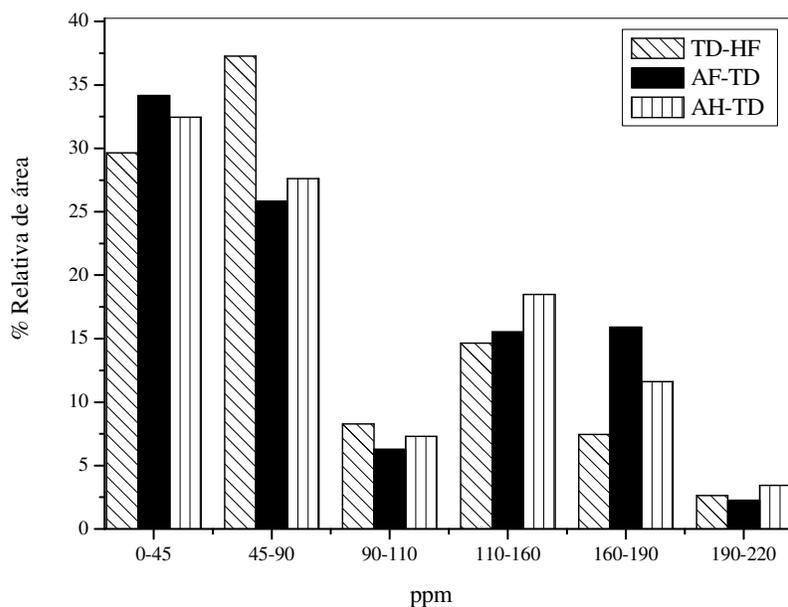


Figura 31. Áreas relativas para as amostras de TD-HF, AH-TD e AF-TD.

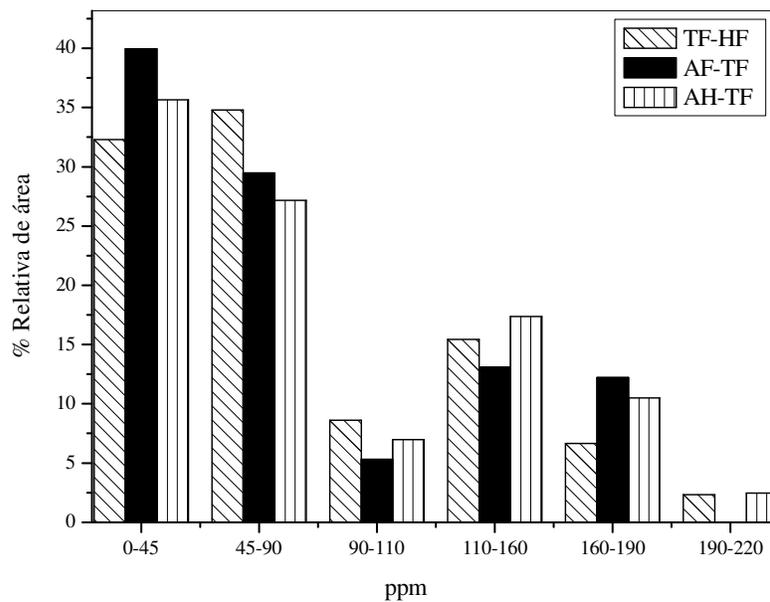


Figura 32. Áreas relativas para as amostras de TF-HF, AH-TF e AF-TF.

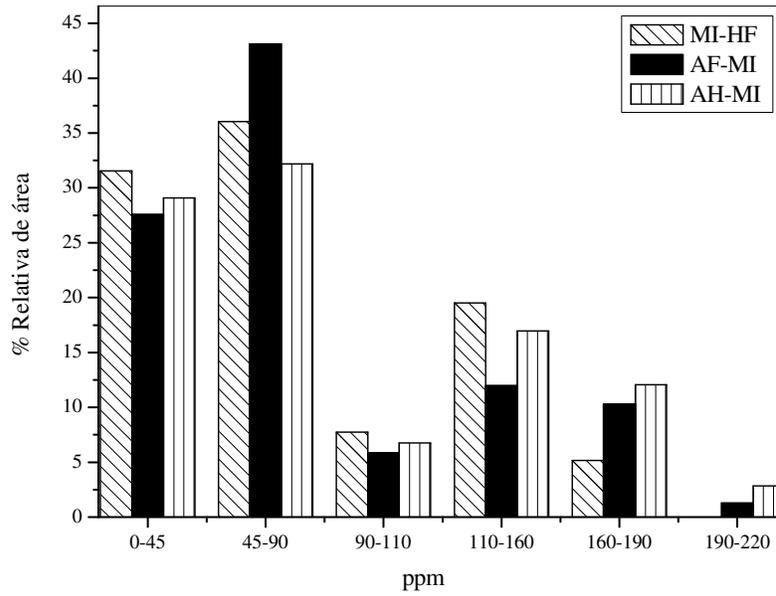


Figura 33. Áreas relativas para as amostras de MI-HF, AH-MI e AF-MI.

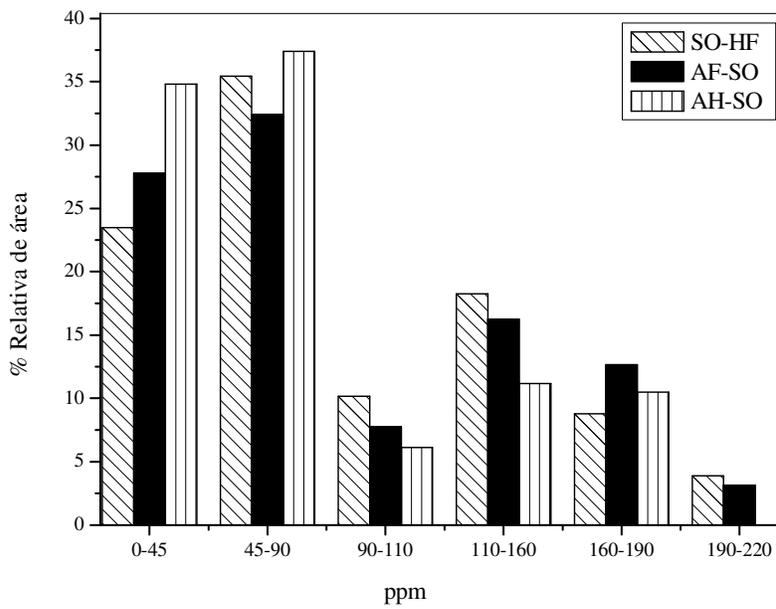


Figura 34. Áreas relativas para as amostras de SO-HF, AH-SO e AF-SO.

Tabela 7. Áreas integradas das principais regiões dos espectros de CP/MAS-RMN ¹³C.

Amostras ^a	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
	0-45 ppm	45-90 ppm	90-110 ppm	110-160 ppm	160-190 ppm	190-220 ppm
AMOSTRA						
TD	29,63	37,28	8,27	14,64	7,47	2,64
TF	32,29	34,78	8,62	15,43	6,65	2,35
MI	41,92	25,69	7,74	19,52	5,18	nd ^b
SO	34,33	24,61	10,17	18,26	8,78	3,89
ÁCIDOS FÚLVICOS						
AF-TD	34,16	25,85	6,27	15,54	15,90	2,25
AF-TF	39,95	29,45	5,32	13,10	12,22	nd ^b
AF-MI	37,62	33,07	5,85	11,96	10,30	1,27
AF-SO	38,05	22,22	7,75	16,25	12,66	3,12
ÁCIDOS HÚMICOS						
AH-TD	32,46	27,62	7,31	18,50	11,62	3,43
AH-TF	35,64	27,16	6,97	17,37	10,50	2,46
AH-MI	41,19	20,09	6,77	16,97	12,08	2,84
AH-SO	48,60	23,64	6,13	11,15	10,48	nd ^b

^a Abreviações tem o mesmo significado que na Tabela 4; ^b não detectado.

A segunda região dos espectros (**R₂ = 45-90 ppm**) é caracterizada pela incidência de um pico bem definido em torno de 71 ppm para todas as amostras estudadas. Este pico tem correlação direta com a incidência de C em anéis de polissacarídeos (Malcolm, 1989; Dignac *et al.*, 2002). Os percentuais relativos a esta região do espectro são, em geral, maiores para as amostras de solos e turfas do que para seus respectivos AH e AF (**Figuras 31 a 34 e Tabela 7**). Estes resultados sugerem o mesmo indício anteriormente evidenciado pela IV, ou seja, as diferentes classes de amostras estudadas são relativamente mais ricas em estruturas do tipo polissacarídeos, mesmo após o tratamento com o ácido fluorídrico. Estes resultados indicam que as amostras de solos e turfas estudadas são

majoritariamente constituídos por estruturas com uma grande incidência de C alquílicos substituídos por O (polissacarídeos).

A região compreendida entre 90-110 ppm (**R₃**) apresenta um pico relativamente definido em torno de 102 ppm (**Figuras 27 a 30**). Este pico tem sido associado a incidência de C anoméricos em polissacarídeos (Malcolm, 1989; Dignac *et al.*, 2002). Por meio dos resultados apresentados nas **Figuras 31 a 34** e pela **Tabela 7** puderam-se observar, mais uma vez, um maior teor de polissacarídeos para as amostras de solos e turfas do que para suas respectivas SH.

Na quarta região dos espectros (**R₄ = 110-160 ppm**) é possível observar três picos localizados em torno de 117, 129 e 150 ppm, respectivamente. Estes picos têm sido geralmente associados ao deslocamento químico de carbonos aromáticos. Além disso, o pico localizado em 150 ppm é indicativo de C ligados a OH fenólico (Liang *et al.*, 1996). Os percentuais desta região variam de 14,6 a 19,5% para as amostras de MO, 12,0 a 16,2% para os AF e 11,2 a 18,5% para os AH (**Tabela 7**).

Na região atribuída ao deslocamento químico de carbonos carbonílicos de ácido carboxílico, éster e amida (**R₅ = 160-190 ppm**) é possível observar para todas as amostras um pico intenso e bem definido em torno de 172 ppm. Com exceção da amostra de solo MI, os dados estão de acordo com o esperado, ou seja, o percentual de carbonos carbonílicos nesta região é maior para os AF, depois para os AH e por último para as amostras de MO (**Tabela 7**). Estes resultados corroboram com aqueles obtidos pela TG, análise elementar e IV.

A sexta e última região dos espectros (**R₆ = 190-220 ppm**) não é tão definida e o pico pertinente a carbonos carbonílicos de aldeídos e cetonas é muito fraco. O percentual desta região é relativamente baixo, não sendo nem mesmo observado nenhum sinal para algumas das amostras. Os resultados de CP/MAS-RMN ¹³C demonstram mais uma vez que, apesar das amostras estudadas procederem de diferentes ambientes e passarem por processos de extração e purificação distintos, o mesmo conjunto de compostos é apresentado em todas as amostras podendo estas ser comparadas e diferenciadas.

3.6. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS À CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE TURFAS, SOLOS E SH

A caracterização de turfas, solos e de suas respectivas SH mostraram diferenças específicas entre as amostras estudadas. Por meio dos resultados de TG pôde-se constatar a existência de um comportamento térmico diferente para cada grupo de amostra estudada devido aos seus diferentes graus de decomposição. Os AH mostraram-se ser os compostos mais termo-resistentes, sendo os AF ligeiramente menos termo-resistentes e os solos e as turfas apresentando-se como os compostos mais lábeis. A análise elementar e as razões atômicas das amostras indicaram que estas têm características que revelam os seus diferentes estágios de decomposição. As amostras de turfas e seus respectivos AH e AF apresentaram relações atômicas elevadas, características de um material mais antigo com maior grau de decomposição. Os baixos valores de C/H e C/N para a amostra de solo SO e para as SH provenientes dos solos MI e SO revelam que estas amostras são pouco aeradas e que há uma deposição contínua de MO, constituindo um material geoquimicamente recente e pouco decomposto. Os espectros de IV refletiram características que estavam de acordo com a origem das amostras, exibindo bandas de absorção típicas de materiais como SH. Os dados de CP/MAS-RMN ^{13}C foram caracterizados por diversos grupos funcionais alifáticos e aromáticos. De maneira geral, os resultados obtidos pelas diferentes técnicas utilizadas para a caracterização dos solos, turfas e suas respectivas SH demonstram que, apesar das amostras estudadas procederem de diferentes ambientes, o mesmo conjunto de grupos funcionais é apresentado para todas as amostras, porém com diferentes intensidades, podendo estas ser ainda comparadas entre si.

4.1. ANÁLISE DE GRUPOS FUNCIONAIS DAS SH

A análise de grupos funcionais é um importante critério na caracterização da MO e das SH, pois indica o número de sítios ácidos (principalmente carboxílicos e fenólicos) presentes em sua estrutura. Estes grupos funcionais podem complexar com prótons metálicos, afetando a geoquímica dos ecossistemas naturais, regulando a capacidade tampão das águas, solos e sedimentos, e também a especiação e transporte dos cátions metálicos (Stevenson, 1994; Masini *et al.*, 1998; Santos *et al.*, 1999; Ritchie e Perdue, 2003).

Devido à complexidade da MO, os valores de acidez podem variar muito de uma amostra para outra. A ausência de uma estrutura definida, a variedade de métodos de isolamento e extração, bem como a ausência de um método específico susceptível somente para estas substâncias tem dificultado bastante a avaliação de suas propriedades. Por isto, resultados obtidos por métodos dependentes da troca iônica ou pelos valores de pK_a devem ser interpretados com cautela. Ácidos policarboxílicos, por exemplo, exibem uma série de constantes de dissociação que diminuem com a sucessiva dissociação dos prótons. Os grupos fenólicos substituídos são freqüentemente mais fortemente dissociados do que qualquer composto não substituído (Stevenson, 1994). Por outro lado, alguns grupos podem não ser reativos devido às ligações de hidrogênio ou por impedimento estérico. Outros problemas na determinação quantitativa de grupos funcionais incluem a insolubilidade do material em água e solventes orgânicos, oxidação, redução, interações com reagentes usados formando derivados, e a natureza não estereoquímica das reações (Stevenson, 1994).

Vários métodos são utilizados para a determinação das propriedades ácidas e complexantes da MO destacando-se entre estes o método de titulação indireta ou análise química de grupos funcionais (Fernandes, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, 2006) e o método de titulação direta ou potenciométrica (Marshall *et al.* 1995; Santos *et al.*, 1999; Sierra *et al.*, 2001; Fernandes *et al.*, aceito), entre outros.

4.1.1. Análise Química de Grupos Funcionais

Dentre os métodos classicamente utilizados para determinar a acidez da MO encontra-se aquele desenvolvido por Schnitzer e Gupta (1965) o qual emprega reações de troca iônica, com o acetato de cálcio $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ca}]$, para determinar a acidez carboxílica (AC) e com o hidróxido de bário $[\text{Ba}(\text{OH})_2]$, para determinar a acidez total (AT). A diferença entre esses dois valores é então atribuída à acidez fenólica (AFL).

A vantagem deste método é a simplicidade e a reprodutibilidade (Perdue, 1985). Entretanto, algumas desvantagens têm sido citadas (Fernandes, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, 2006). A determinação da AC é frequentemente reprodutível e não exige maior cuidado, porém a determinação da AT não é reprodutível podendo resultar em valores muito altos, em casos especiais. Como esta reação não é específica, outros grupos além dos carboxílicos e fenólicos podem interferir no cálculo (Sierra *et al.*, 2001; Fernandes, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, 2006). Schnitzer e Gupta (1965) sugeriram, inclusive, que se colocasse a palavra “fenólica” entre aspas sempre que esse método fosse usado para quantificar grupos fenólicos em MO. Outras limitações desse método têm sido periodicamente discutidas (Holtzclaw e Sposito, 1979; Perdue, 1985; Bowles *et al.* 1989; Sierra *et al.*, 2001; Ritchie e Perdue, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, 2006).

Apesar das suas limitações este tem sido o método mais utilizado devido a sua simplicidade. Por esta razão, no presente trabalho utilizou-se num primeiro momento esta mesma técnica, de modo a poder avaliar e comparar os dados obtidos com aqueles encontrados na literatura.

4.1.2. Titulação Potenciométrica

A titulação potenciométrica tem sido uma técnica muito utilizada para o estudo das características ácidas ligantes, bem como para os estudos de medidas de parâmetros de equilíbrio de complexos metálicos em solução. Neste tipo de titulação adiciona-se, em

incrementos conhecidos, uma base padronizada a um sistema contendo ligante, quer na ausência ou na presença de íon metálico. Por meio dos valores das constantes de estabilidade ou das constantes de equilíbrio de formação de complexos metálicos é possível verificar a tendência de complexação de um determinado ligante por um íon metálico em solução. Para o caso de estruturas complexas, consideradas ligantes multidentados, geralmente utilizam-se misturas de moléculas modelo para avaliar o grau de confiabilidade do método utilizado.

Titulações potenciométricas têm sido empregadas para avaliar a acidez de SH (Santos *et al.*, 1999; Sierra *et al.*, 2001; Ritchie e Perdue, 2003; Fernandes *et al.*, aceito), entretanto, a falta de pontos nítidos de inflexão nas curvas de titulação e a sobreposição de uma imensa gama de valores de pK_a dificultam uma quantificação precisa das diferentes contribuições dos grupos carboxílicos e fenólicos. Além destas fontes de imprecisão, em geral, o pH das soluções tende a baixar a cada adição de base, principalmente na faixa de pH alcalino, sugerindo a ocorrência de reações laterais geradoras de grupos ácidos (Santos *et al.*, 1999; Fernandes *et al.*, aceito).

Diversos modelos matemáticos têm sido propostos para distinguir grupos ácidos de diferentes forças (Seymor *et al.*, 1977; Martell, 1981; Stevenson, 1994; Sierra *et al.*, 2001; Ritchie e Perdue, 2003; Fernandes *et al.*, aceito). Os dados potenciométricos podem ser tratados de diversas maneiras, baseando-se tanto em métodos que utilizam a linearização das curvas de titulação como em métodos não lineares. Entre estes, encontram-se o método de Gran modificado (Seymor *et al.*, 1977), o programa BEST7 (Martell, 1981; Sierra *et al.*, 2001; Fernandes *et al.*, aceito), a EHHM (Ritchie e Perdue, 2003; Fernandes *et al.*, aceito), entre outros (Tipping, 1998; Milne *et al.*, 2001).

4.2. PARTE EXPERIMENTAL

4.2.1. Amostragem

As amostras utilizadas neste estudo vieram de diferentes ambientes (**Figura 35**): as de sedimento marinho foram coletadas na Ilha do Mar Virado – MVI e Praia de

Ubatumirim – UBM, do litoral paulista em São Paulo, as de sedimentos estuarino e lacustre foram coletadas no Manguezal de Ratores – RME e Lagoa do Peri – PLN, respectivamente, na Ilha de Santa Catarina. As amostras de ambiente terrestre foram representadas por turfas e foram coletadas na Turfeira do Balneário Arroio do Silva – ASP no sul de Santa Catarina.

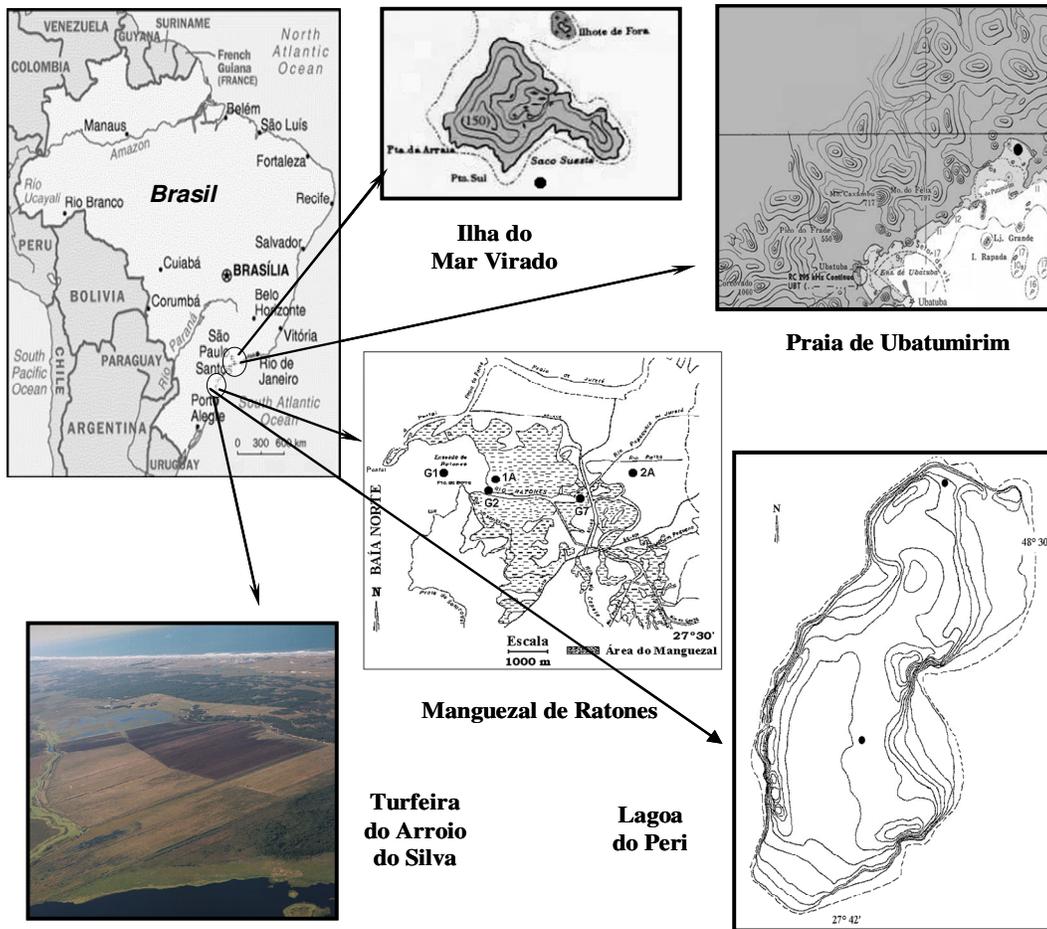


Figura 35. Pontos de amostragem dos diferentes locais estudados.

As amostras de fundo da MVI e da UBM foram coletadas em duas estações pré-definidas e estão localizadas nas águas circundantes. As amostras estuarinas (RME) foram coletadas em pontos distintos do estuário: a) as amostras G1 e G2 originam-se de um ponto no fundo do mar, dentro da baía; b) a amostra 1A vem de uma área próxima do mar, inundada periodicamente; c) as amostras RME G7 e RME 2A vieram de um ponto que raramente recebe aporte marinho. Os sedimentos de fundo da Lagoa do Peri (PLN)

foram coletados em duas estações pré-definidas: na borda (4) e no meio da lagoa (7). As amostras de turfa foram classificadas de acordo com seu grau de decomposição como TD e TF, como já citado anteriormente na *seção 3.2.1* do *Capítulo III* desta tese.

As amostras foram preparadas no Laboratório de Hidrogeoquímica do Núcleo de Estudos do Mar (NEMAR) da UFSC, passando pelos seguintes processos: lavagem para a retirada de sais solúveis, secagem em estufa à temperatura inferior a 60°C, tamização, pulverização e homogeneização e separação granulométrica.

4.2.2. Reagentes e Solventes

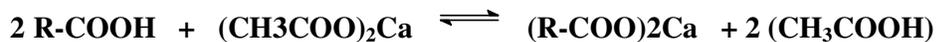
Os reagentes e solventes utilizados foram todos de grau analítico. O acetato de cálcio, hidróxido de bário e cloreto de potássio foram adquiridos da SYNTH. O hidróxido de potássio foi adquirido da J. T. BAKER. O ácido clorídrico foi adquirido da MERCK. As soluções tampão com valores de pH igual a 4 e 7 foram adquiridas da CARLO ERBA REAGENTI. Os ácidos benzenocarboxílicos: ácido 3,5-dihidroxibenzóico, ácido 2,4-dihidroxibenzóico, ácido ftálico, o aldeído: 4-hidroxibenzaldeído e o peptídeo: DL-alanil-DL-alanina foram adquiridos da ALDRICH.

Todas as amostras de AH e AF foram extraídas e purificadas segundo a metodologia da IHSS apresentada na *seção 3.3* do *capítulo III* desta tese. A água utilizada foi bidestilada, fervida e livre de CO₂.

4.2.3. Análise Química de Grupos Funcionais

4.2.3.1. Determinação da Acidez Carboxílica – AC

A determinação de grupos carboxila foi feita por meio do método proposto por Schnitzer e Gupta (1965), que envolve a reação abaixo, onde o ácido acético liberado é quantificado, por titulação com uma solução básica padrão.



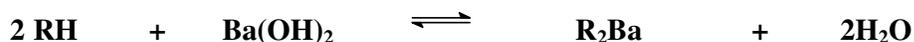
Inicialmente pesou-se uma amostra (10 mg para cada composto individual da mistura modelo e 10 mg para cada composto da mistura modelo; 10 mg para cada amostra de AF ou AH), que foi colocada em um erlenmeyer juntamente com 10 mL de solução de 0,213 mol L⁻¹ de (CH₃COO)₂Ca. Simultaneamente, um branco com 10 mL de solução de 0,213 mol L⁻¹ de (CH₃COO)₂Ca foi adicionado em outro frasco. O volume foi completado para 40 mL com água bidestilada e fervida, livre de CO₂. Manteve-se o sistema vedado em atmosfera inerte com fluxo de gás N₂ por 24 horas em temperatura ambiente. O resíduo foi lavado com água bidestilada e fervida, livre de CO₂. A mistura (filtrado + água de lavagem) foi titulada com solução padrão de NaOH 0,024 mol L⁻¹, sob atmosfera inerte. A titulação foi acompanhada com auxílio de um pHmetro até pH 9,845, garantindo, assim, que todo ácido acético estivesse desprotonado. A AC foi então determinada conforme a equação:

$$AC = \frac{(Va - Vb) \cdot M \cdot 1000}{m}$$

onde AC significa acidez carboxílica, *Va* e *Vb* representam o volume de base padrão gasto para titular a amostra e o branco, respectivamente, *M* é a molaridade do hidróxido de sódio e *m* é a massa da amostra.

4.2.3.2. Determinação da Acidez Total – AT

Para determinar a AT foi utilizado o método também proposto por Schnitzer e Gupta (1965), que consiste em reagir a amostra com um excesso de Ba(OH)₂:



O excedente de base é então titulado com solução padrão de ácido clorídrico.

Foi colocado em 25 mL de solução de 0,053 mol L⁻¹ de Ba(OH)₂, uma massa de amostra conhecida (10 mg para cada composto individual da mistura modelo e 10 mg para cada composto da mistura modelo; 10 mg para cada amostra de AF ou AH). A solução ficou sob agitação durante 24 horas, com fluxo de gás N₂ em temperatura

ambiente. Da mesma maneira foi feito o preparo do branco, constituído por 25 mL de solução 0,053 mol L⁻¹ de Ba(OH)₂. A suspensão foi filtrada em papel de filtro. O resíduo foi lavado com água bidestilada e fervida, livre de CO₂. A mistura (filtrado + água de lavagem) foi titulada com solução padrão de HCl 0,142 mol L⁻¹, sob atmosfera inerte. A titulação foi acompanhada com auxílio de um pHmetro até pH 8,421, neutralizando assim todo o hidróxido presente na solução. A AT foi então determinada conforme a equação:

$$AT = \frac{(Vb - Va) \cdot M \cdot 1000}{m}$$

onde AT significa acidez total, *Vb* e *Va* representam o volume de ácido padrão gasto para titular o branco e a amostra respectivamente, *M* é a molaridade do ácido clorídrico e *m* é a massa da amostra.

4.2.3.3. Determinação da Acidez Fenólica – AFL

A quantidade de grupos OH ácidos foi calculado pela diferença entre a AT e a AC, conforme a equação abaixo, onde AFL representa a acidez fenólica.

$$AFL = AT - AC$$

4.2.4. Titulação Potenciométrica

As titulações potenciométricas foram realizadas em uma célula termostaticada a 25°C usando uma solução padrão de KOH 0,103 mol L⁻¹ descarboxilado, sob agitação. A força iônica (μ) foi mantida constante com KCl 0,102 mol L⁻¹. Para produzir uma atmosfera inerte, as soluções foram gaseificadas com gás argônio (lavado com pirogalol 5% em 0,103 mol L⁻¹ de KOH para eliminar O₂ e CO₂) durante os experimentos. O sistema foi calibrado antes de cada experimento com soluções diluídas de HCl com valores de pH em torno de 2,254 e $\mu = 0,105$ mol L⁻¹. As medidas de pH foram feitas usando um

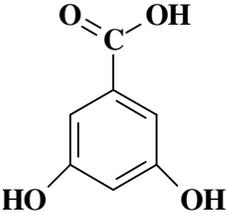
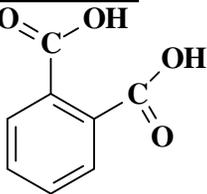
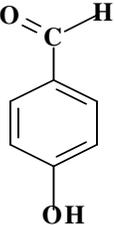
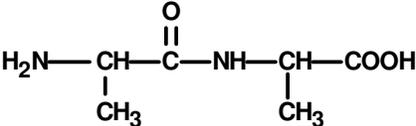
pHmetro (MICRONAL B 375) com um eletrodo de vidro e um eletrodo de referência (Ag/AgCl).

Soluções de AH e AF (140-250 mg L⁻¹) foram preparadas diretamente na célula de titulação. Previamente às titulações, as amostras de AH (10 mg) foram dissolvidas em uma alíquota de 10 mL de KOH 0,022 mol L⁻¹. Para a titulação dos AH, um volume de 35 mL de água bidestilada, fervida e descarboxilada foram adicionadas a solução de AH dissolvido. Além disso, um volume de 25 mL de HCl 0,014 mol L⁻¹ foi adicionado para neutralizar o excesso de KOH e para que o pH ficasse em torno de 3. As titulações dos AF (10 mg) foram realizadas por meio da adição direta de um volume de 40 mL de água bidestilada, fervida e descarboxilada. Incrementos de 0,025 mL de titulante KOH foram adicionados na célula. Depois de cada adição a solução foi mantida sob agitação e temperatura constante até atingir o equilíbrio do pH e o valor de pH correspondente foi anotado. O intervalo de tempo entre as adições foi determinado pelo tempo necessário para se obter o equilíbrio do pH. As soluções de AF, cujo intervalo de tempo entre as adições foram menores, foram tituladas por períodos de aproximadamente 1,5 horas. As titulações de AH, por outro lado, levaram cerca de 4 horas. Todas as titulações foram conduzidas em triplicata.

O sistema modelo (**Tabela 8**) foi composto de dois ácidos benzenocarboxílicos (ácido 3,5-dihidroxibenzóico e ácido ftálico), um aldeído (4-hidroxibenzaldeído) e um peptídeo (DL-alanil-DL-alanina). Estes compostos foram escolhidos por simularem algumas das propriedades ácido-base das SH. O ácido 3,5-dihidroxibenzóico, por exemplo, tem grupos carboxílicos e fenólicos dentro de uma ampla faixa de valores de pK_a. O ácido ftálico não tem grupos fenólicos em sua estrutura, mas contém dois grupos carboxílicos com valores de pK_a distintos. O 4-hidroxibenzaldeído tem um grupo fenólico com um baixo valor de pK_a e o peptídeo foi escolhido para avaliar tanto a influência dos outros grupos ácidos diferentes do carboxílico e fenólico, como a possível hidrólise dos grupos amida durante as titulações (Fernandes, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, aceito). As soluções para as titulações foram preparadas dissolvendo 10 mg de cada composto individualmente em 40 mL de água bidestilada, fervida e descarboxilada. No caso da mistura (ácido ftálico e 3,5-dihidroxibenzóico), 10 mg de cada composto foram usados.

Todas as soluções foram deixadas sob atmosfera de argônio durante 30 minutos, antes de cada titulação com 0,103 mol L⁻¹ de KOH até pH 11.

Tabela 8. Valores de pK_a relativos à desprotonação dos compostos modelos estudados.

Ácidos	pK_a
<p><u>Ácido 3,5-dihidroxibenzoico</u></p> 	<p>3,90^a 9,03^a 10,30^a</p>
<p><u>Ácido ftálico</u></p> 	<p>2,78^a 5,08^a</p>
<p><u>4-Hidroxibenzaldeído</u></p> 	<p>7,41^b</p>
<p><u>DL-alanil-DL-alanina</u></p> 	<p>3,05^c 8,16^c</p>

^a Arend, 2001; ^b Martell e Smith, 1977a; ^c Martell e Smith, 1977b.

4.2.4.1. Programa BEST7

O programa BEST7 determina a estabilidade e/ou as constantes de protonação assim como a exata concentração dos ligantes em estudo. Estas constantes têm sido utilizadas como parâmetro para verificar a tendência de complexação de um determinado ligante por um íon metálico em solução. Para este programa os dados de entrada são os resultados das curvas de titulação experimental (Martell e Motekaitis, 1992). Em geral, os dados necessários para o BEST7 são os valores de pH em função do volume de base ou

ácido adicionado, o número de mmols de todos os reagentes envolvidos na titulação (ligante, metal, ácido, base), o volume inicial da solução, e o grupo de constantes relativas a todo o equilíbrio presente no sistema em estudo. A quantidade aproximada de grupos carboxílicos e fenólicos, em mmol, é previamente determinada pelo método de Gran Modificado (Seymour *et al.*, 1977). As constantes de equilíbrio desconhecidas são estimadas pela comparação com determinados valores que foram obtidos em sistemas semelhantes. O programa, então, estabiliza o balanço de massa para cada espécie presente em solução e resolve as equações para as concentrações de íon hidrogênio, comparando o resultado com os valores medidos. Para otimizar as constantes de equilíbrio, valores conhecidos são fixados, enquanto a diferença entre o valor medido e o valor calculado são minimizadas pelo método mínimo quadrado.

A investigação quantitativa de misturas de moléculas modelo com propriedades químicas semelhantes àquelas das SH é necessária para avaliar o sucesso e limitação do programa possibilitando, assim a utilização deste no cálculo dos mmoles referente aos grupos funcionais presentes em cada substância bem como os valores de seus pK_{as} (Sierra *et al.*, 2001; Arend, 2001; Fernandes *et al.*, aceito).

4.2.4.2. Equação de Henderson-Hasselbalch Modificada – EHHM

A EHHM envolve o cálculo do desenvolvimento de carga pelos compostos orgânicos a cada ponto da titulação, assumindo que a amostra de SH é uma mistura de ácidos monoproticos, baseando-se na equação da neutralidade e considerando as concentrações de diluição corrigidas de todas as espécies em solução (Ritchie e Perdue, 2003).

As curvas da representação de carga orgânica calculada total (Q_{TOT}) *versus* pH são obtidas de acordo com a EHHM abaixo, onde Q_1 e Q_2 são as concentrações dos grupos carboxílicos e fenólicos, respectivamente; K_1 e K_2 são as constantes de protonação dos grupos carboxílicos e fenólicos, respectivamente; e n_1 e n_2 são constantes empíricas.

$$Q_{TOT} = \left(\frac{Q_1}{1 + (K_1 [H^+])^{1/n_1}} \right) + \left(\frac{Q_2}{1 + (K_2 [H^+])^{1/n_2}} \right)$$

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Análise Química de Grupos Funcionais

Os valores de acidez das SH estudadas, medidos pelo método de Schnitzer e Gupta (1965), são apresentados na **Tabela 9**. Apesar da natureza heterogênea do material, os valores dos desvios padrão são relativamente baixos, atestando a reprodutibilidade do método. Os resultados de acidez para os AF foram mais reprodutíveis do que para os AH, isso pode ser devido ao fato de que os primeiros foram homogeneizados por meio da resina de adsorção-dessorção XAD-8, na etapa de extração e purificação. Os AH, por outro lado, sofreram menos modificações durante os procedimentos de extração e purificação, retendo mais sinais de “impurezas” do material de origem. Curiosamente, porém, para os AH os valores de AC não variaram muito, ficando os valores entre 3,072 a 5,665 meq g⁻¹. Para os AF, a faixa de valores é maior: varia de 3,734 a 7,160 meq g⁻¹. No caso dos dados de AT, estas tendências são invertidas, para os AH a faixa de valores é maior do que para os AF.

Comparando amostras provenientes de sedimentos do mesmo ambiente, os AF, em geral, apresentaram mais grupos ácidos do que os AH, a única exceção sendo para os dados de AT da amostra PLN 7. Os valores de AT para as amostras estudadas são, em geral, maiores do que aqueles usualmente encontrados na literatura para SH de ambientes distintos, calculados pelo mesmo método aqui empregado (Schnitzer e Gupta, 1965; Kendorff e Schnitzer, 1979; Rashid, 1985; Masini *et al.*, 1998; Ritchie e Perdue, 2003). Ritchie e Perdue (2003) compilaram dados referentes à acidez de centenas de amostras de SH medidas pelo método de Schnitzer e Gupta (1965), e mostraram que ambos, os valores de AC e de AFL situam-se entre 1 a 10 meq g⁻¹ em todas as determinações. Os valores de AC para as amostras aqui estudadas variam de 3,734 a 7,160 meq g⁻¹ para os AF e de 3,072 a 5,665 meq g⁻¹ para os AH, sendo considerados, portanto, valores médios. Os valores de AFL, por outro lado, ficaram na faixa de 7,721 a 16,119 meq g⁻¹ para AF e de 7,337 a 20,336 meq g⁻¹ para os AH sendo, na maioria dos casos, bem mais altos do que os valores mostrados na literatura (Ritchie e Perdue, 2003). Os valores de AT relativamente altos parecem, portanto, ser uma consequência do alto valor de AFL.

Tabela 9. Quantidade de grupos funcionais^a das SH estudadas medidas pelo método de Schnitzer e Gupta (1965).

Amostra ^b	AC ^c (meq g ⁻¹)	AFL ^c (meq g ⁻¹)	AT ^c (meq g ⁻¹)
ÁCIDOS FÚLVICOS			
MVI	4,632 ± 0,221	13,201 ± 0,791	17,833 ± 0,763
UBM	3,734 ± 0,042	15,290 ± 0,502	19,024 ± 0,501
PLN 4	4,705 ± 0,083	12,800 ± 0,514	17,505 ± 0,502
PLN 7	7,160 ± 0,013	7,721 ± 0,205	14,881 ± 0,204
RME 1A ^d	5,133 ± 0,204	11,369 ± 0,542	16,502 ± 0,505
RME 2A ^e	5,562 ± 0,025	13,112 ± 0,292	18,674 ± 0,291
ASP D ^h	6,214 ± 0,041	16,119 ± 0,291	22,333 ± 0,291
ÁCIDOS HÚMICOS			
MVI	3,681 ± 0,044	11,250 ± 0,492	14,931 ± 0,491
UBM	3,174 ± 0,023	12,831 ± 0,501	16,005 ± 0,502
PLN 4	3,212 ± 0,061	12,292 ± 0,503	15,504 ± 0,505
PLN 7	3,773 ± 0,073	14,729 ± 0,505	18,502 ± 0,504
RME G1 ^f	3,072 ± 0,405	8,131 ± 0,505	11,203 ± 0,304
RME 1A ^d	3,701 ± 0,064	9,632 ± 0,292	13,333 ± 0,291
RME G2 ^e	3,164 ± 0,402	7,337 ± 0,645	10,501 ± 0,502
RME G7 ^g	3,522 ± 0,161	14,480 ± 0,523	18,002 ± 0,503
RME 2A ^g	3,742 ± 0,183	12,762 ± 0,534	16,504 ± 0,503
ASP D ^h	4,764 ± 0,185	13,241 ± 0,533	18,005 ± 0,503
ASP F ⁱ	5,665 ± 0,054	20,336 ± 0,504	26,001 ± 0,504

^a Desvio padrão são relativos a três medidas; ^b abreviações: MVI = Ilha do Mar Virado; UBM = Praia de Ubatimirim; PLN = Lagoa do Peri; RME = Manguezal de Ratores; ASP = Turfeira do Arroio do Silva; ^c AC = acidez carboxílica, AFL = acidez fenólica, AT = acidez total; ^d próximo do mar; ^e sob a coluna d'água, na desembocadura do Rio Ratores; ^f dentro da baía, sob a coluna d'água; ^g longe do mar; ^h decomposta; ⁱ fibrosa.

As amostras aqui estudadas provêm de ambientes de alta produtividade, com elevada taxa de sedimentação e, estes altos valores de acidez poderiam, numa primeira interpretação, ser atribuídos ao baixo grau de humificação do material. De fato, por meio

da análise das propriedades elementares e espectrais (Fernandes, 2003; Giovanela *et al.*, 2004; Sierra *et al.*, 2005) observa-se que essas amostras apresentam sinais significativos do seu material de origem. Entretanto, comparando amostras de ambientes distintos, os dados de acidez não seguem nenhum padrão observável. Em geral a biomassa planctônica é de natureza alifática e as SH dela originadas deveriam apresentar os menores valores de AFL quando comparadas com amostras terrestres (derivadas de lignina). Contrariamente ao esperado, as amostras terrestres (RME 2A e G7) apresentaram mais grupos carboxílicos do que as amostras aquáticas, marinhas e de lagoa, sendo que as últimas (UBM, PLN 4 e 7) apresentaram maior quantidade de grupos fenólicos. As amostras de turfa também apresentaram altos valores de AC e AFL. Para os AH, por exemplo, aquele com o maior valor de AFL foi uma amostra da Lagoa do Peri (PLN 7), sendo que esta amostra não apresenta sinais de fenóis no espectro de CP/MAS-RMN ^{13}C (Sierra *et al.*, 2005).

Considerando as informações obtidas e a reprodutibilidade dos dados de acidez, acredita-se que estas discrepâncias possam estar correlacionadas com limitações metodológicas. Os valores de acidez obtidos pelo método de Schnitzer e Gupta (1965) têm sido freqüentemente desacreditados principalmente devido à suspeita da interferência de outros grupos além dos carboxílicos e fenólicos nas medidas de acidez (Holtzclaw e Sposito, 1979; Ritchie e Perdue, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, 2006). Fernandes (2003), recentemente, testou a reprodutibilidade e precisão deste método com misturas de ácidos benzenocarboxílicos ambos na presença e na ausência de peptídeos. Desta investigação conclui-se que: (i) para a mistura de ácidos na ausência de peptídeos, certos compostos fenólicos substituídos com altos valores de pK_a , são quantificados parcialmente; (ii) na presença de sítios básicos competitivos como os grupos amida, o acetato de cálcio por ser uma base fraca consegue desprotonar somente parcialmente os grupos carboxílicos. Estes prótons carboxílicos “ignorados” são detectados via reação com o hidróxido de bário sendo, conseqüentemente, considerados nos cálculos dos valores de AFL; (iii) além disso, sob as severas condições da reação com o hidróxido de bário, a hidrólise de grupos amida consome grupos hidroxila extra, alterando os valores de AT. Como a AFL é calculada pela diferença entre AT e AC estas hidroxilas extras podem também ser consideradas na AFL (Fernandes, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, 2006). Baseando-se nestes dois últimos efeitos pode-se supor que SH com elevadas quantidades de aminoácidos em sua estrutura poderiam apresentar alta AFL, sempre que o método de Schnitzer e Gupta (1965) for empregado. Os altos valores de nitrogênio, devido

à contribuição planctônica na sua formação, assim como a presença de grupos amida nas amostras aquáticas aqui estudadas, poderiam neste caso, estar na origem dos elevados valores de AFL aqui encontrados para estas amostras.

Para estimar a extensão de tais interferências, foi determinada, usando o método de Schnitzer e Gupta (1965), a acidez de cinco amostras padrão da IHSS com quantidades de aminoácidos conhecidos (IHSS *home page*, 2006). Estes dados são mostrados na **Tabela 10**. Os valores de AFL encontrados para estas amostras são, novamente, muito altos oscilando entre 11,351 meq g⁻¹ para o AH de *Elliot Soil* a 21,120 meq g⁻¹ para o AF de *Pahokee Peat*. No entanto, ao contrário do esperado, os dados de AFL não se correlacionaram com a composição de aminoácidos das amostras. Ao contrário, o AH de *Elliot Soil*, por exemplo, apresentou a AFL mais baixa e contém a composição de aminoácidos mais alta. Estes resultados indicam então que os grupos amida não são os principais fatores interferentes nas medidas de AFL de SH pelas titulações indiretas. A hidrólise de grupos ésteres, por exemplo, tem também sido considerada como origem de erro nas determinações de acidez de SH (Bowles *et al.*, 1989; Leenher *et al.*, 1995) e a possibilidades dos dois efeitos ocorrerem simultaneamente não pode ser desconsiderada.

A quantificação, por titulação direta, de grupos funcionais do mesmo conjunto de amostras da IHSS aqui estudadas foi feita por Ritchie e Perdue (2003) e, na **Tabela 10** os dados obtidos com os dois métodos são comparados. Os valores de AFL e AT medidos por titulação direta são inferiores do que aqueles medidos por titulação indireta. Como discutido acima, não é possível saber se a titulação indireta está incluindo outros grupos além dos fenólicos propriamente ditos ou se a titulação direta subestima a quantidade fenólica nas medidas de acidez. Por meio destes dados, fica claro, de qualquer modo, que os dois métodos estão detectando grupos diferentes. A eventual influência dos grupos amida ou ésteres na faixa de pHs alcalinos, no caso do método de Schnitzer e Gupta (1965), poderia, por exemplo, ser minimizada pelas condições experimentais de Ritchie e Perdue (2003), ou seja, titulações rápidas com valores finais de pH em torno de 10,5-10,7. Os valores de AC determinados por titulação direta foram, em geral, maiores do que aqueles obtidos pelo método indireto. Como citado anteriormente, em experimentos com compostos modelo usando o método de titulação indireta, Fernandes (2003) observou que,

na presença de sítios básicos competitivos (como os grupos amida), o íon acetato não desprotona todos os prótons carboxílicos, reduzindo os valores de AC.

Tabela 10. Quantidade de grupos funcionais^a (meq g⁻¹) das amostras da IHSS medidas pelo método de Schnitzer e Gupta (1965) e composição de aminoácidos (mol g⁻¹).

Amostra	AC ^b	AFL ^b	AT ^b	AMA ^c
ÁCIDOS FÚLVICOS				
<i>Suwannee River</i> (1S101F)	5,152 ± 0,054 6,29 ^d	14,989 ± 0,065 0,77 ^d	20,141 ± 0,043 7,06 ^d	24
<i>Pahokee Peat</i> (1S103F)	5,933 ± 0,084 7,17 ^d	21,120 ± 0,514 0,38 ^d	27,053 ± 0,501 7,55 ^d	166
ÁCIDOS HÚMICOS				
<i>Elliot Soil</i> (1S102H)	3,903 ± 0,052 5,17 ^d	11,351 ± 0,251 0,49 ^d	15,254 ± 0,252 5,66 ^d	373
<i>Pahokee Peat</i> (1S103H)	4,462 ± 0,013 5,43 ^d	16,790 ± 0,271 0,53 ^d	21,252 ± 0,253 5,93 ^d	777
<i>Leonardite</i> (1S104H)	3,325 ± 0,024 5,22 ^d	19,928 ± 0,292 0,77 ^d	23,253 ± 0,254 5,99 ^d	11

^a Desvio padrão relativo à 3 medidas; ^b abreviações tem o mesmo significado que na Tabela 9; ^c AMA = aminoácidos; ^d dados obtidos por Ritchie e Perdue (2003).

Estes dados, entretanto, devem ser interpretados com cautela, ou seja, os valores de acidez obtidos por qualquer método de titulação não devem ser considerados

definitivos ou absolutos, uma vez que diferentes métodos poderão resultar em diferentes valores de acidez para as mesmas amostras. No caso da titulação potenciométrica direta, por exemplo, estes valores são dependentes ainda da escolha do modelo matemático aplicado aos dados experimentais, assim como das condições experimentais (titulações rápidas ou lentas, alta ou baixa concentração de SH, entre outras). Tendo isto em mente, um experimento foi idealizado de modo a testar a validade dos valores de acidez de SH determinados, por titulação potenciométrica, sendo tratados, porém, por dois diferentes modelos: programa BEST7 e EHHM. Os resultados obtidos com os dois métodos foram comparados entre si e com os resultados apresentados por Ritchie e Perdue (2003). Estes dados serão apresentados e discutidos a seguir.

4.3.2. Titulação Potenciométrica das Amostras da IHSS

A **Tabela 11** apresenta a acidez das SH da IHSS calculadas usando o programa BEST7 e a EHHM. As curvas de titulação, obtidas pelos dois modelos, relativas às amostras de AF e AH do *Pahokee Peat* são mostradas nas **Figuras 36a** e **36b**. Independente do modelo usado, dois diferentes sítios ligantes de prótons foram evidenciados, sendo o primeiro atribuído ao grupo carboxílico e o segundo ao grupo fenólico. Destes dados, é possível observar claramente que a escolha do modelo matemático influencia nas determinações de acidez das SH. Tanto para os AF como para os AH, os valores de AC medidos pelo programa BEST7 foram, em geral, menores do que aqueles obtidos com a EHHM. Para os AF, a AFL obtida por meio dos dois métodos foi comparável, mas para os AH os valores de AFL gerados pelo programa BEST7 foram muito maiores do que aqueles obtidos pela EHHM.

Apesar das diferenças significativas nos valores de acidez, ambos os métodos produziram ajustes de curvas de titulação compatíveis com os pontos experimentais (**Figuras 36a** e **36b**). Nas titulações de AF e AH o consumo de base na faixa de pH ácido é, em geral, atribuído à neutralização dos grupos carboxílicos, enquanto na faixa de pH básico o titulante é consumido para neutralizar os grupos fenólicos. Desta forma, dois pontos de inflexão distintos seriam esperados para curvas típicas de titulação de SH. Para os resultados apresentados, de fato, quando os dados experimentais foram tratados com o

programa BEST7 dois pontos de inflexão foram observados nas curvas de titulação do AH (**Figura 36a**). Com a EHHM somente um ponto de inflexão foi observado para ambas as curvas de AF e AH (**Figura 36b**). Este tipo de comportamento é usual em estudos relativos às propriedades potenciométricas de SH (Perdue *et al.*, 1980; Davis e Mott, 1981; Santos *et al.*, 1999) e tem sido atribuído à sobreposição da ampla faixa de valores de pK_a associados aos grupos ácidos.

Tabela 11. Acidez^a, em meq g⁻¹, das amostras da IHSS calculadas com o programa BEST7 e EHHM (Ritchie e Perdue, 2003).

Amostra	Método	AC ^b	AFL ^b	AT ^b
ÁCIDOS FÚLVICOS				
<i>Suwannee River</i> (1S101F)	BEST7	2,542 ± 0,301	1,240 ± 0,103	3,782 ± 0,314
	EHHM	6,064 ± 0,265	1,889 ± 0,705	7,953 ± 0,745
<i>Pahokee Peat</i> (1S103F)	BEST7	2,691 ± 0,304	1,221 ± 0,322	3,912 ± 0,445
	EHHM	5,892 ± 0,503	1,652 ± 0,372	7,544 ± 0,621
ÁCIDOS HÚMICOS				
<i>Elliot Soil</i> (1S102H)	BEST7	4,594 ± 0,322	10,240 ± 0,514	14,834 ± 0,603
	EHHM	11,081 ± 0,291	1,923 ± 0,444	13,004 ± 0,533
<i>Pahokee Peat</i> (1S103H)	BEST7	4,885 ± 0,253	12,020 ± 0,564	16,905 ± 0,505
	EHHM	13,502 ± 0,322	2,499 ± 0,504	16,001 ± 0,591
<i>Leonardite</i> (1S104H)	BEST7	4,185 ± 0,391	11,508 ± 0,522	15,693 ± 0,354
	EHHM	11,191 ± 0,454	1,612 ± 0,625	12,803 ± 0,754

^a Desvio padrão relativo à 3 medidas; ^b abreviações tem o mesmo significado que na Tabela 9.

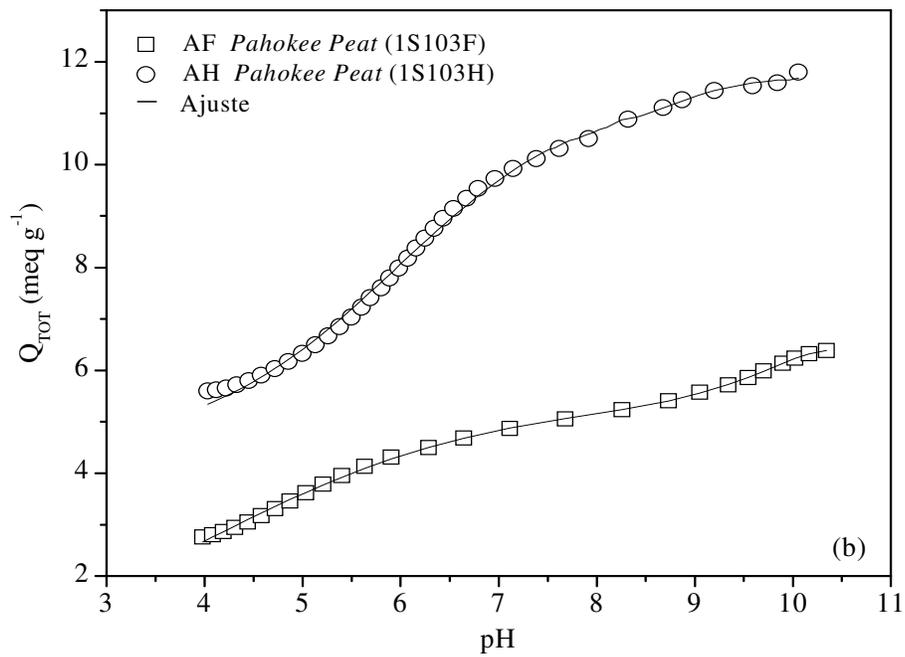
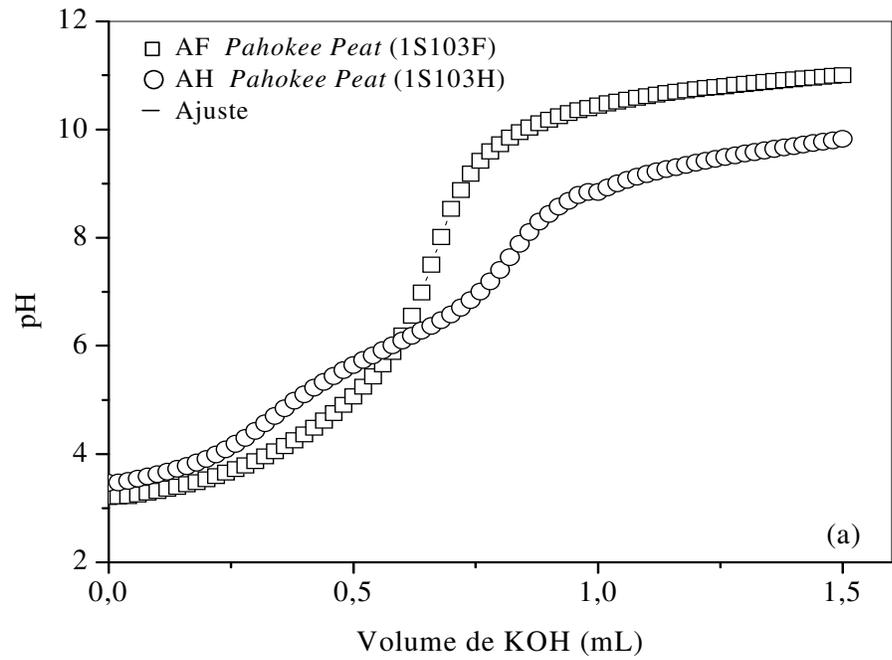


Figura 36. Curvas de titulação das amostras de AF e AH do *Pahokee Peat* usando: (a) o programa BEST7 e (b) a EHHM.

Destes resultados duas questões são levantadas: *como ambos os modelos se ajustam bem aos dados de titulação experimental, mas resultam em diferentes valores de acidez e qual dos dois métodos resulta em reais valores de acidez?* A escolha de qualquer modelo para fazer o ajuste dos pontos experimentais das curvas de titulação das SH, implica em suposições e premissas que podem ter diferentes efeitos nos resultados finais. Dada a ocorrência, bastante citada, da sobreposição da ampla faixa de valores de pK_a e a dependência do modelo aplicado para tratar os dados experimentais, alguns grupos carboxílicos podem ser considerados como fenólicos, ou vice-versa. Um ácido carboxílico com um $pK_a = 5,0$ (comum para ácidos alifáticos monopróticos), por exemplo, deveria ter um ponto de equivalência a $pH = 8,9$. Em titulações de SH, usando um ponto de equivalência igual a este para carboxilas pode resultar em maiores valores de AC devido à provável contribuição de grupos fenólicos neste pH (Bowles *et al.*, 1989). Por esta razão, um valor de pK_a menor do que aquele observado no ponto de equivalência de neutralizações típicas de ácidos carboxílicos é algumas vezes selecionado nas titulações de SH. Além disso, grupos ácidos com valores intermediários de pK_a , como os grupos amida, podem também contribuir para eventuais erros nos cálculos (Martell e Smith, 1977a; Fernandes, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, 2006).

Cada modelo matemático aplicado à curva de titulação das SH tem suas peculiaridades. Para a EHHM, a escolha dos valores de K influencia a forma das curvas de titulação. Na **Figura 37** pode ser facilmente observado que para quantidades idênticas e fixadas de grupos carboxílicos e fenólicos ($Q_1 = Q_2 = 6 \text{ meq g}^{-1}$) diferentes valores de constante de protonação resultam em curvas de titulação completamente diferentes. O programa BEST7, por outro lado, foi programado para 7 componentes e 121 pontos experimentais e proporciona uma completa distribuição para todos os pontos de titulação. Ele foi também projetado para a determinação de qualquer número de constantes de protonação ou de constantes de complexação provenientes dos dados de titulação potenciométrica. A função utilizada é a soma ao quadrado da diferença entre o valor de pH calculado do observado. Devido a natureza genérica da equação do balanço de massa, o programa BEST7 pode manipular sistemas mais complexos do que a EHHM, tais como aqueles contendo diversos ligantes e, quando for o caso, diversos íons metálicos. No caso da aplicação do programa BEST7 para calcular a acidez de SH, como neste estudo, valores aproximados de grupos carboxílicos e fenólicos (mmol) são previamente determinados pelo método de Gran Modificado (Seymour *et al.*, 1977).

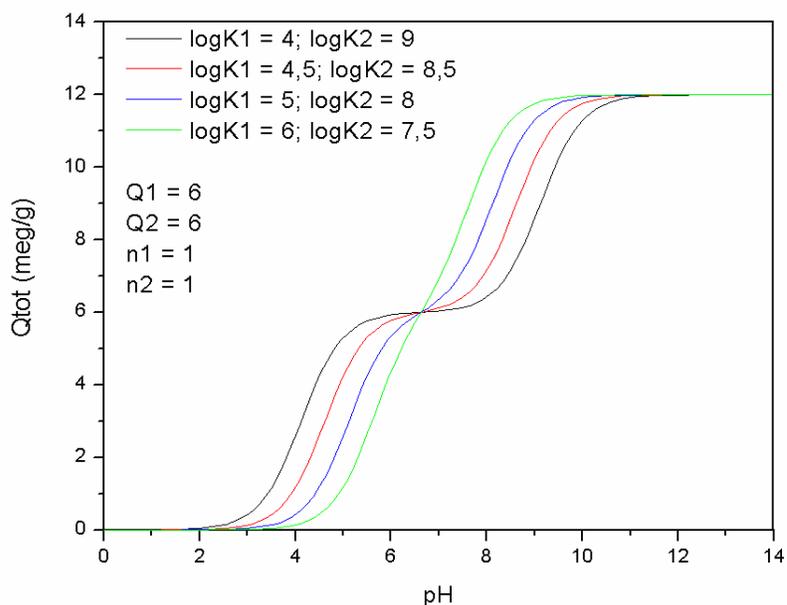


Figura 37. Curva de titulação teórica empregando a EHHM.

Levando em consideração todas as discrepâncias acima citadas e as dúvidas surgidas com os resultados de acidez das amostras padrão da IHSS, soluções com propriedades ácido-base conhecidas foram estudadas. Os dados de acidez destas amostras serão mostrados e discutidos na seção a seguir.

4.3.2.1. Titulação Potenciométrica dos Compostos Modelos

Soluções contendo ácido 3,5-dihidroxibenzoico, ácido ftálico, 4-hidroxibenzaldeído e DL-alanil-DL-alanina individualmente, assim como uma mistura de ácido ftálico e ácido dihidroxibenzoico foram investigadas. As curvas de titulação experimental destas soluções foram tratadas e analisadas pelo programa BEST7 e pela EHHM da mesma forma que as SH da IHSS (**Figuras 38a e 38b**). Os resultados de acidez estão mostrados na **Tabela 12** juntamente com os valores de acidez obtidos com o método de titulação indireta de Schnitzer e Gupta (1965). A **Tabela 13** apresenta os valores das constantes de desprotonação dos compostos modelos determinados pelo programa BEST7 e pela EHHM. Considerando somente os dados de titulação direta (BEST7 e EHHM), com

exceção do peptídeo, os valores experimentais obtidos estão de acordo com o valor teórico, independente do modelo matemático aplicado (**Tabela 12**). Ou seja, os dois tratamentos matemáticos produziram dados aceitáveis para os compostos modelos. Para o ácido 3,5-dihidroxibenzóico, individualmente ou na mistura com o ácido ftálico, a AFL determinada pela EHHM foi ligeiramente menor do que aquela obtida pelo programa BEST7. Para o 4-hidroxibenzaldeído, por outro lado, a EHHM produziu maior valor de AFL do que para o programa BEST7. Apesar do grupo fenólico deste composto conter um baixo valor de pK_a (**Tabela 13**), ele foi corretamente incluído por ambos os modelos matemáticos. As constantes de desprotonação desta amostra foram também características de grupos carboxílicos e fenólicos (**Tabela 13**). Como a EHHM não considera a desprotonação acima de pH 10, o valor de pK_a mais alto do ácido 3,5-dihidroxibenzóico não foi detectado com este método. Assim como para as SH, os ajustes dos dados experimentais de titulação gerados por ambos os modelos descrevem bem os dados experimentais inclusive para a mistura dos dois ácidos (**Figuras 38a e 38b**).

Os dados de acidez dos compostos modelo obtidos pelo método de titulação indireto mostraram ainda mais inconsistências do que para o programa BEST7 e a EHHM. As limitações do método de titulação indireta para detectar grupos fenólicos altamente básicos têm sido discutidas em diversos trabalhos (Holtzclaw e Sposito, 1979; Perdue, 1985; Sierra *et al.*, 2001; Fernandes, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, 2006). Como a AFL é calculada pela diferença entre a AT (a qual é determinada usando o método de hidróxido de bário) e a AC (a qual é medida usando o método do acetato de cálcio), conseqüentemente, obtém-se valores de acidez menores do que o esperado sempre que grupos fenólicos com altos valores de pK_a estão presentes.

Tabela 12. Acidez^a, em meq g⁻¹, dos compostos modelos calculada usando o programa BEST7, a EHHM (Ritchie e Perdue, 2003) e o método de titulação indireto de Schnitzer e Gupta, 1965.

Método	AC ^b	AFL ^b	AT ^b
MISTURA DE ÁCIDOS			
<u>Ftálico e 3,5-Dihidroxibenzóico</u>			
BEST7	9,422 ± 0,351	6,351 ± 0,434	15,773 ± 0,552
EHHM	9,165 ± 0,292	5,716 ± 0,804	14,881 ± 0,853
Indireto	9,052 ± 0,265	3,249 ± 0,431	12,301 ± 0,503
Teórico^c	9,38	6,25	15,63
COMPOSTOS INDIVIDUAIS			
<u>Ácido Ftálico</u>			
BEST7	12,553 ± 0,465	-	12,553 ± 0,465
EHHM	12,151 ± 0,472	-	12,151 ± 0,472
Indireto	10,922 ± 0,465	-	10,922 ± 0,465
Teórico^c	12,04	-	12,04
<u>Ácido 3,5-Dihidroxibenzóico</u>			
BEST7	6,322 ± 0,084	12,659 ± 0,223	18,981 ± 0,232
EHHM	5,754 ± 0,242	12,191 ± 0,891	17,945 ± 0,922
Indireto	6,373 ± 0,033	5,932 ± 0,504	12,305 ± 0,501
Teórico^c	6,49	12,98	19,48
<u>4-Hidroxibenzaldeído</u>			
BEST7	-	8,943 ± 0,285	8,943 ± 0,285
EHHM	-	9,214 ± 0,493	9,214 ± 0,493
Indireto	-	8,353 ± 0,402	8,353 ± 0,402
Teórico^c	-	8,19	8,19
<u>DL-alanil-DL-alanina</u>			
BEST7	2,045 ± 0,251	“6,536 ± 0,161” ^d	8,581 ± 0,305
EHHM	2,623 ± 0,202	“4,138 ± 0,225” ^d	6,761 ± 0,102
Indireto	3,242 ± 0,253	“11,741 ± 0,354” ^d	14,983 ± 0,291
Teórico^c	6,24	“6,24”^d	12,48

^a Desvio padrão relativo à 3 medidas; ^b abreviações tem o mesmo significado que na Tabela 9; ^c considerando a desprotonação total; ^d acidez relativa aos grupos amida.

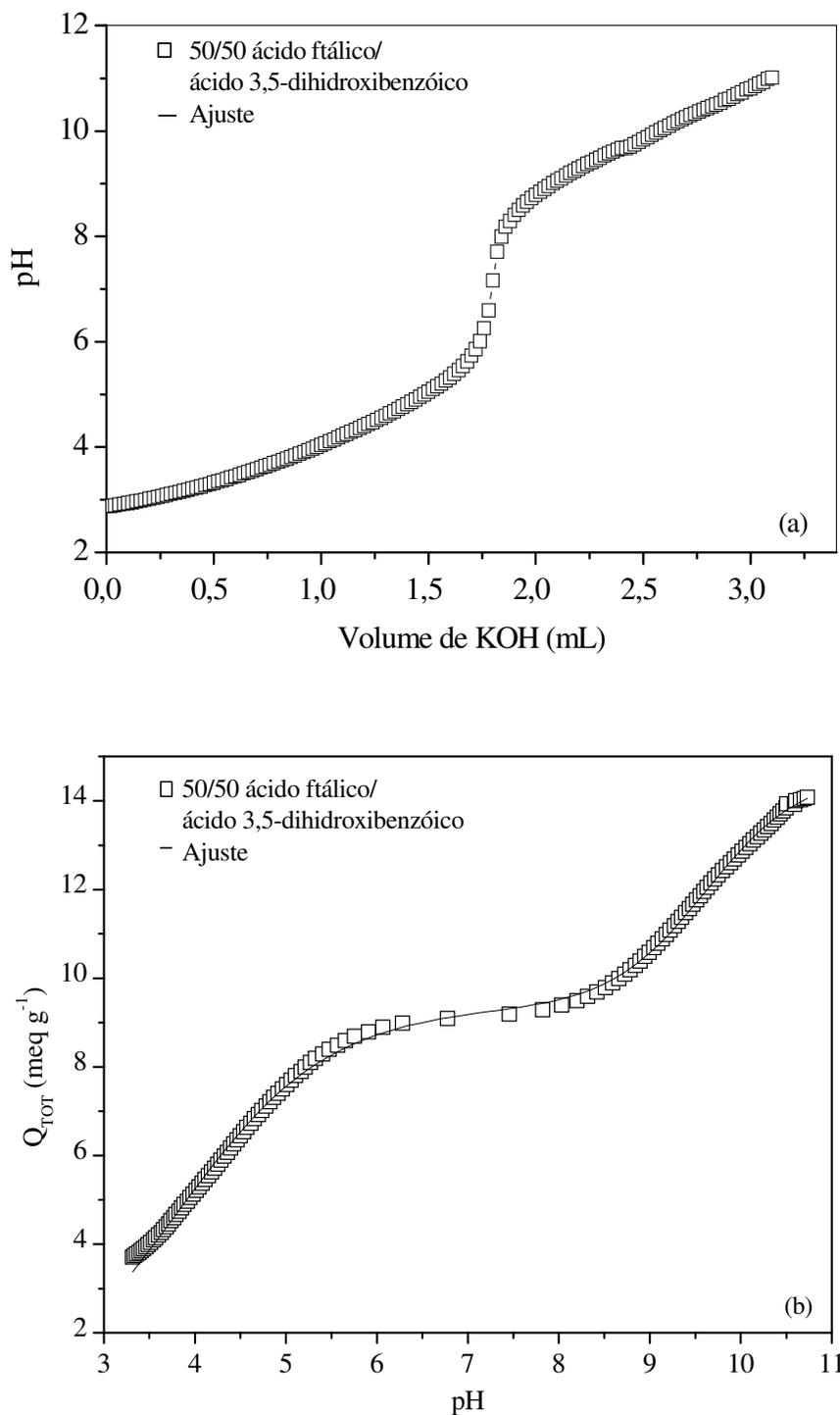


Figura 38. Curvas de titulação da mistura de ácido ftálico e ácido 3,5-dihidroxibenzoico usando: (a) o programa BEST7 e (b) a EHHM.

Tabela 13. Valores^a de pK_a relativos a desprotonação do compostos modelo calculados usando o programa BEST7 e a EHHM (Ritchie e Perdue, 2003).

Método	pK _{a1}	pK _{a2}	pK _{a3}
COMPOSTOS INDIVIDUAIS			
<u>Ácido Ftálico</u>			
BEST7	2,841 ± 0,149	4,991 ± 0,432	-
EHHM	2,150 ± 0,273	4,772 ± 0,321	-
<u>Ácido 3,5-Dihidroxibenzóico</u>			
BEST7	3,782 ± 0,256	9,759 ± 0,209	10,354 ± 0,285
EHHM	3,491 ± 0,073	9,64 ± 0,065	nd ^b
<u>4-Hidroxibenzaldeído</u>			
BEST7	-	7,588 ± 0,281	-
EHHM	-	7,511 ± 0,092	-
<u>DL-alanil-DL-alanina</u>			
BEST7	2,956 ± 0,191	8,467 ± 0,201	-
EHHM	nd ^b	8,342 ± 0,061	-

^aDesvio padrão relativo à 3 medidas; ^b não detectado.

Para a DL-alanil-DL-alanina, um comportamento particular foi observado. Primeiramente, os dois modelos revelaram baixa AC em comparação com o valor teórico. Uma possível razão para esta baixa AC é que os dados de titulação são manipulados a partir de um pH 3 (BEST7) ou de um pH 3,5 (EHHM). Sendo assim, devido ao baixo valor de pK_a do grupo carboxílico do peptídeo (**Tabela 13**), nesta faixa de pH as carboxilas já poderiam estar parcialmente desprotonadas e desta forma, não serão completamente quantificadas nos cálculos de acidez. Além disso, com os dois métodos, uma AFL artificial (“AFL”) é medida para o peptídeo. De fato, considerando a estrutura química do peptídeo, somente valores de AC seriam esperados. No entanto, o grupo amina é também uma fonte de acidez que, devido ao seu valor de pK_{a2} (**Tabela 13**) aparece como grupos fenólicos.

Considerando a acidez dos grupos amina como “AFL”, o valor determinado pelo programa BEST7 está de acordo com o valor teórico estimado (**Tabela 12**). A baixa AC e alta AFL deste peptídeo detectada com o método de titulação indireto foram mostradas e discutidas por Sierra e colaboradores (2004). No trabalho citado, também foi demonstrado que a hidrólise dos grupos amida influencia nas determinações de acidez de SH quando titulações indiretas são empregadas.

A **Figura 39** mostra as curvas de titulação para o ácido 3,5-dihidroxibenzóico e para o peptídeo DL-alanil-DL-alanina. Comparando estas duas curvas é possível observar que acima de pH 7, uma “AFL” é observada para o peptídeo. Em compostos como as SH, portanto, um percentual de grupos amina pode também ter sido associado aos valores de AFL (Fernandes, 2003; Sierra *et al.*, 2004; Fernandes *et al.*, aceito). Outra interessante questão é que, devido ao balanço de carga, valores negativos de Q_{TOT} são observados para o peptídeo, como definido pela equação abaixo:

$$\sum_i [Q_{TOT}] = [K^+] + [H^+] - [Cl^-] - [OH^-]$$

onde $[K^+]$ e $[Cl^-]$ são as concentrações do KOH e KCl adicionados, e $[Org_i^-]$ é a concentração da carga orgânica aniônica da amostra. Desta equação, é evidente que espécies aniônicas (ácidos carboxílicos) originam valores de Q_{TOT} positivo enquanto que espécies catiônicas (grupos amina) devem gerar valores de Q_{TOT} negativo. O aspecto da curva de titulação para o peptídeo está, então, de acordo com a existência de um ponto isoelétrico ($pI = 5,60$; valores de pK_a de 3,05 e 8,16 para o peptídeo na **Tabela 8**). Sendo a carga total na solução aproximadamente zero, isto é, Q_{TOT} aproxima-se de zero desde que o número de espécies aniônicas seja igual ao número de espécies catiônicas. Esta observação pode também ter implicações na análise dos dados de SH, considerando que a presença de sítios ligantes prótons carregados positivamente em baixa faixa de pH poderia diminuir os valores de Q_{TOT} , com uma conseqüente diminuição da detecção da acidez.

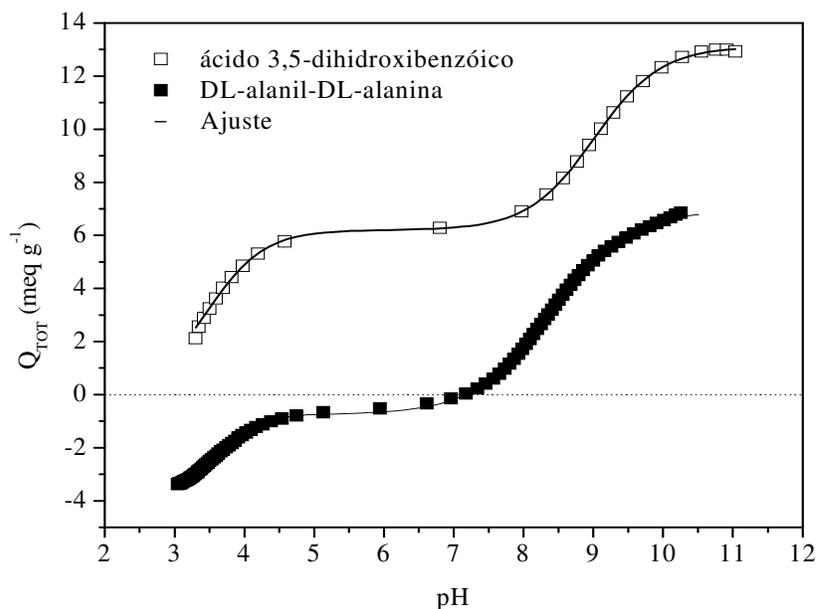


Figura 39. Curvas de titulação para o ácido 3,5-dihidroxibenzóico e para o peptídeo DL-alanil-DL-alanina usando a EHHM.

Como ambos os modelos (programa BEST7 e EHHM) descrevem satisfatoriamente o comportamento ácido para os compostos modelo (exceto para o peptídeo) os resultados apresentados na **Tabela 11** são, como discutidos anteriormente, uma consequência dos parâmetros matemáticos aplicados nos diferentes métodos e das interações químicas entre os grupos funcionais nas titulações potenciométricas das SH. Além disso, outras reações além das ácido-base são esperadas ocorrer durante os experimentos. Reações secundárias laterais originando acidez (ou consumindo hidroxilas), especialmente na faixa de pHs alcalino, por exemplo, têm sido freqüentemente detectadas em titulações potenciométricas de SH (Paxéus e Wedborg, 1985; Bowles *et al.*, 1989; Santos *et al.*, 1999). Estas reações não são instantâneas e têm sido indicadas como responsáveis pela variação dos valores de pH durante as titulações (Santos *et al.*, 1999). Deste modo, além das origens de incertezas correspondentes aos estudos potenciométricos de SH acima citadas, existe também aquelas associadas as diferentes condições experimentais usadas para realizar as titulações (Paxéus e Wedborg, 1985; Gregor e Powel, 1987; Bowles *et al.*, 1989; Marshall *et al.*, 1995). Para minimizar estas reações paralelas, titulações rápidas poderiam, em princípio, ser empregadas. Entretanto, para encontrar a

real acidez das SH, isto é, para atingir o equilíbrio de todas as reações ácido-base, tempos de equilíbrio mais longos seria a escolha apropriada. Para analisar estes aspectos foram comparados os dados obtidos nesse estudo (titulações lentas) com aqueles (titulações rápidas) publicados por Ritchie e Perdue (2003) para o mesmo conjunto de AF e AH. Todos os dados de titulação foram tratados com a EHHM e são apresentados na **Tabela 14**, juntamente com aqueles obtidos pelo método de titulação indireta.

Considerando os resultados da **Tabela 14**, pode-se observar que para os AH, os valores de AC, AFL e, conseqüentemente, AT, são maiores quando a titulação lenta é adotada. Para as amostras de AF as diferenças entre as titulações rápida e lenta são menos evidentes, com a titulação lenta apresentando menor valor de AC e maior valor de AFL. Apesar desta tendência inversa, os valores de AT para titulações lentas e rápidas dos AF são praticamente iguais. Devido a este perfil e, também porque as titulações das amostras de AF foram relativamente rápidas (pH estabilizado rapidamente depois de cada adição de titulante) somente os dados dos AH serão discutidos. Para estas amostras as titulações levaram mais tempo para que todos os grupos funcionais fossem desprotonados, devido à maior variação dos valores de pH. Esta variação de pH é uma conseqüência das reações secundárias laterais, como a hidrólise dos peptídeos e ésteres, que consomem hidroxila extra, sendo conseqüentemente incluída nos valores de AT (Bowles *et al.*, 1989; Sierra *et al.*, 2004). Este efeito não é muito notado nas titulações de AF devido a estes compostos terem uma composição química menos diversificada. Os resultados apresentados na **Tabela 14** mostram nitidamente a influência destas reações nos resultados finais: dados de titulação lenta são sempre maiores do que aqueles obtidos com a titulação rápida. Nenhum dos dados de acidez obtidos pela titulação direta (lenta ou rápida) é comparável com aqueles obtidos pela titulação indireta, os quais apresentam os maiores valores de AT e AFL.

Por fim, se os dados de acidez determinados com o programa BEST7 (titulação lenta, **Tabela 11**) fossem incluídos na **Tabela 14**, teríamos quatro diferentes valores de acidez para cada amostra, com as discrepâncias mais acentuadas nos dados de AFL. Tais informações, mais uma vez, relatam a importância do significado ambiental dos valores de acidez das SH, principalmente para os AH. Sendo assim, fica claro que estes valores, apesar de sua considerável reprodutibilidade, podem ter apenas um significado operacional. Em estudos ambientais relativos à acidez de SH, os dados obtidos devem

sempre ser interpretados considerando: (i) método químico (direto ou indireto); (ii) o procedimento experimental (titulação lenta ou rápida) e; (iii) as premissas do modelo matemático aplicado aos resultados de titulação experimentais.

Tabela 14. Acidez^a, em meq g⁻¹, das amostras da IHSS usando diferentes procedimentos. Os dados de titulação lenta e rápida foram tratados pela EHHM (Ritchie e Perdue, 2003). Os dados de titulação indireta foram medidos pelo método de Schnitzer e Gupta (1965).

Amostra	Titulação	AC ^b	AFL ^b	AT ^b
ÁCIDOS FÚLVICOS				
<i>Suwannee River</i> (1S101F)	Lenta	6,054 ± 0,265	1,889 ± 0,705	7,953 ± 0,745
	Rápida	6,29 ^c	0,77 ^c	7,06 ^c
	Indireta	5,142 ± 0,054	14,989 ± 0,065	20,141 ± 0,043
<i>Pahokee Peat</i> (1S103F)	Lenta	5,892 ± 0,503	1,652 ± 0,372	7,544 ± 0,621
	Rápida	7,17 ^c	0,38 ^c	7,55 ^c
	Indireta	5,933 ± 0,084	21,120 ± 0,514	27,053 ± 0,501
ÁCIDOS HÚMICOS				
<i>Elliot Soil</i> (1S102H)	Lenta	11,081 ± 0,291	1,923 ± 0,444	13,004 ± 0,533
	Rápida	5,17 ^c	0,49 ^c	5,66 ^c
	Indireta	3,903 ± 0,052	11,351 ± 0,251	15,254 ± 0,252
<i>Pahokee Peat</i> (1S103H)	Lenta	13,502 ± 0,322	2,499 ± 0,504	16,001 ± 0,591
	Rápida	5,43 ^c	0,53 ^c	5,93 ^c
	Indireta	4,462 ± 0,013	16,790 ± 0,271	21,252 ± 0,253
<i>Leonardite</i> (1S104H)	Lenta	11,191 ± 0,454	1,612 ± 0,625	12,803 ± 0,754
	Rápida	5,22 ^c	0,77 ^c	5,99 ^c
	Indireta	3,325 ± 0,024	19,928 ± 0,292	23,253 ± 0,254

^a Desvio padrão relativo à 3 medidas; ^b abreviações tem o mesmo significado que na Tabela 9; ^c dados obtidos por Ritchie e Perdue (2003).

4.4. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS AO ESTUDO DE QUANTIFICAÇÃO DE GRUPOS ÁCIDOS DAS SH

A acidez de amostras de SH provenientes de diferentes ambientes foi determinada usando o método de titulação indireta de Schnitzer e Gupta (1965). Os resultados de acidez não mostraram a tendência esperada e as discrepâncias foram atribuídas a peculiaridades da metodologia, que parece incluir outras funções, tais como os grupos amida, na determinação da AFL. Para esclarecer esta questão, amostras de SH padrão da IHSS foram analisadas pelo mesmo método de titulação. Estes dados foram comparados com os dados de acidez determinados por Ritchie e Perdue (2003), para as mesmas amostras, por meio de titulação direta potenciométrica. Outra vez os resultados não foram convergentes e um experimento foi idealizado de modo a testar a validade das medidas de acidez de SH determinados por diferentes métodos e aplicando diferentes modelos matemáticos.

Os resultados de titulação potenciométrica das amostras da IHSS foram ajustados pelo programa BEST7 e pela EHHM. Os valores de acidez obtidos usando os dois diferentes tratamentos matemáticos para analisar as curvas de titulação revelaram uma considerável dependência do modelo aplicado. Para os mesmos dados experimentais de titulação, a EHHM resultou em uma alta AC e uma baixa AFL, sendo o resultado praticamente o oposto quando o programa BEST7 foi empregado. Os resultados mostraram-se igualmente dependentes das condições experimentais, com as titulações lentas produzindo maiores valores de acidez. Aplicados a compostos simples como ácidos benzenocarboxílicos e um aldeído, por outro lado, os dois modelos matemáticos produziram bons resultados.

Apesar de todos os métodos utilizados serem bastante reprodutíveis, e apresentarem baixos valores de desvio padrão, os valores de acidez encontrados devem ter um significado operacional e não absoluto. Nas determinações de grupos funcionais ácidos de SH os dados obtidos devem sempre ser interpretados com cautela, e somente devem ser comparados quando as amostras tenham sido tratadas exclusivamente da mesma maneira. Desta forma, reforça-se, mais uma vez, a importância da padronização das metodologias estudadas para a determinação de acidez das SH.

5.1. ADSORÇÃO

A adsorção é um processo de concentração de uma espécie química que ocorre numa região interfacial que separa duas fases, formada por um dos sistemas: líquido-líquido, gás-líquido, gás-sólido ou líquido-sólido (Hiemenz, 1987; Atkins, 1994; Shaw, 1994). O processo ocorre com a redução da energia livre superficial, com a produção ou gasto de uma quantidade de calor. Em sistemas líquido-sólido a adsorção é o processo de transferência de uma ou mais espécies da fase líquida para a fase sólida (Stumm e Morgan, 1996). A substância adsorvida é denominada adsorvato e o material que adsorve, é o adsorvente ou suporte (Atkins, 1994). As moléculas e os átomos podem aderir à superfície de um adsorvente de duas formas distintas. Se as interações entre o adsorvente são forças do tipo van der Waals, a adsorção é física, ou fisissorção e, o calor de adsorção é pequeno – da mesma ordem de grandeza dos calores de condensação. Essa energia não é suficiente para levar ao rompimento de ligações, e as moléculas mantêm sua identidade (Atkins, 1994). A adsorção física é reversível, no entanto a dessorção é dificultada quando o adsorvente tem muitos poros ou capilares (Humeres *et al.*, 1998). Na adsorção química ou quimissorção as interações são mais fortes e ocorrem quebras de ligações químicas. A energia envolvida é muito maior que na adsorção física e ocorre a formação de um composto químico de superfície ou complexação de adsorção. Os calores de adsorção envolvidos são da ordem de grandeza dos calores de reação (Atkins, 1994).

5.1.1. Espectroscopia de Ultravioleta e Visível – UV-Vis

A espectroscopia de UV-Vis é, muitas vezes, usada para calcular a concentração das soluções durante o processo de adsorção. Essa técnica se baseia no fato de muitas moléculas absorverem luz ultravioleta ou visível (Skoog, 2002). A absorvância de uma solução é diretamente proporcional ao comprimento do caminho ótico e à concentração das espécies que absorvem. A equação fundamental da espectroscopia de UV-Vis que mostra essa relação é denominada lei de Beer e está apresentada abaixo:

$$A = \epsilon b c$$

onde A é a absorvância; ε é a absorvidade molar em $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; b o caminho ótico em centímetros e c a concentração em mol L^{-1} . A absorção de radiação UV ou Vis corresponde à excitação de elétrons mais externos. Nas transições envolvendo elétrons π , σ e η , a absorção de radiação UV e Vis por moléculas orgânicas está restrita a certos grupos funcionais, denominados cromóforos que contêm elétrons de valência de baixa energia de excitação (Skoog, 2002).

5.1.2. Extração em Fase Sólida – SPE

A extração em fase sólida (SPE, *solid phase extraction*) é uma das ferramentas mais poderosas e mais empregadas para a extração e/ou pré-concentração de analitos presentes em matrizes complexas (Hennion, 1999; Queiroz *et al.*, 2001 e 2006). A SPE emprega adsorventes recheados em cartuchos, nas formas de barril ou seringa, e os mecanismos de retenção são idênticos àqueles envolvidos em cromatografia líquida em coluna. Um cartucho é formado por um tubo de polipropileno contendo cerca de 50 a 500 mg de adsorvente, com 40-60 μm de tamanho de partícula, fixado no tubo por meio de dois filtros. Em geral, os procedimentos de SPE contêm cinco etapas: *i*) ativação do adsorvente para deixar os sítios ativos disponíveis; *ii*) condicionamento do adsorvente com solvente adequado para ajustar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra; *iii*) introdução da amostra, quando ocorre a retenção do analito e às vezes de alguns interferentes; *iv*) limpeza da coluna para retirar os interferentes menos retidos que o analito; *v*) eluição e coleta do analito (Lingeman e Hoekstra-Oussoren, 1997).

Atualmente um número grande de adsorventes está disponível comercialmente. Em geral, os materiais de recheio, empregados para SPE, são similares aos usados em cromatografia líquida. Assim, carvão ativado, alumina, sílica gel, silicato de magnésio, fases quimicamente ligadas e polímeros, têm sido empregados. Dependendo do solvente de condicionamento e de eluição, os grupos mais frequentemente usados como adsorventes à base de sílica quimicamente ligada podem ser divididos em três categorias: *i*) fase reversa: quando o adsorvente é menos polar que o solvente de eluição; *ii*) fase normal: quando o solvente é menos polar que o adsorvente e *iii*) troca iônica (Lingeman e Hoekstra-

Oussoren, 1997). Para aumentar a seletividade da extração os adsorventes podem ser combinados das seguintes maneiras:

- ❖ Dentro de um mesmo cartucho de extração, usando as chamadas fases mistas com vários grupos funcionais de características diferentes ligados ao mesmo suporte;

- ❖ Fazendo sucessivas extrações com cartuchos de diferentes recheios, passando o material eluído do primeiro cartucho para o segundo no modo “*on-line*” ou “*off-line*”;

- ❖ Recheando o mesmo cartucho com diferentes adsorventes, em camadas, resultando em uma coluna de extração tipo sanduíche. Os recentes desenvolvimentos em SPE têm sido direcionados para a síntese de adsorventes mais seletivos e para novas configurações cromatográficas.

5.1.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE

A CLAE se desenvolveu muito nos últimos anos, recebendo o nome de cromatografia líquida porque a sua fase móvel é um solvente. Os componentes de um cromatógrafo líquido são: bomba, coluna cromatográfica, detector e o registrador. É um método utilizado para separação de espécies iônicas ou macromoléculas e compostos termolábeis. A fase móvel da CLAE deve ser um solvente que respeite algumas características impostas por esse método analítico. A principal característica é que a fase móvel dissolva a amostra sem qualquer interação química entre ambas. Esta fase deve ter alto grau de pureza ou ser de fácil purificação, para que se possa fazer análises de alta sensibilidade, pois as impurezas podem interferir na detecção do analito por UV. A fase móvel deve ser compatível com o detector empregado e, também possuir polaridade adequada para permitir uma separação conveniente dos componentes da amostra. Embora existam vários solventes, três deles são mais utilizados: água, metanol e acetonitrila. Como fase estacionária utiliza-se sólidos ou semi-rígidos, cujas partículas porosas esféricas ou irregulares apresentam diferentes diâmetros (Skoog, 2002; Peres, 2002).

A coluna cromatográfica é feita de um material inerte que resiste a todas as pressões em que ela vai ser usada. As colunas geralmente utilizadas são: octadecil (C18, RP18, ODS), octil (C8, RP8), CN (cianopropil) e NH₂ (amina). Quanto aos detectores, não existe um que apresente todas as propriedades para que ele seja ideal para a CLAE. Não são versáteis, ou universais, mas existem detectores que apresentam ampla faixa de aplicações. Os detectores mais usados na CLAE são os fotométricos, baseados na absorvância no UV-Vis. Os detectores de fluorescência, utilizados como método de detecção específica, são sensíveis para substâncias que fluorescem. Também são utilizados detectores por índice de refração, os quais acompanham continuamente a diferença no índice de refração entre a fase móvel pura e o efluente que sai da coluna contendo os componentes da amostra. A resposta deste detector é moderada, geralmente de ordem micrograma (Skoog, 2002; Peres, 2002). Neste trabalho foi utilizado um cromatógrafo líquido equipado com um detector de absorção no UV-Vis.

5.2. CONTAMINANTES UTILIZADOS NOS ESTUDOS DE ADSORÇÃO

5.2.1. Azul de Metileno – AM

Atualmente, a indústria têxtil desempenha um papel importante na economia de muitos países. Embora as diferenças tecnológicas entre as pequenas e grandes indústrias sejam bastante significativas, todas têm em comum a particularidade de utilizar grandes quantidades de água. Este fato, associado ao baixo aproveitamento dos insumos (corantes, detergentes, engomantes, amaciantes), faz com que a indústria têxtil seja responsável pela geração de grandes volumes de resíduos, com elevada carga orgânica e forte coloração (Kunz *et al.*, 2002). Quando não tratados adequadamente, e lançados em águas naturais, os efluentes provenientes do processo de tingimento de fibras têxteis podem modificar o ecossistema, diminuindo a transparência da água e a penetração da radiação solar, o que pode modificar a atividade fotossintética e o regime de solubilidade dos gases (Souza e Peralta-Zamora, 2005).

O AM (**Figura 40**) é um corante catiônico, muito utilizado como traçador de águas contaminadas (Potgieter, 1991). Embora não possa ser considerado perigoso, o AM provoca efeitos indesejáveis se inalado ou ingerido, por exemplo, náusea, vômito, diarreia e gastrite (Gürses *et al.*, 2004; Almeida, 2005). Doses elevadas (acima de 0,50 mg/L – limite de descarte ao meio ambiente) provocam dor no peito, dor de cabeça forte, sudorese excessiva e confusão mental (Ghosh e Bhattacharyya, 2002; CONAMA, 2005).

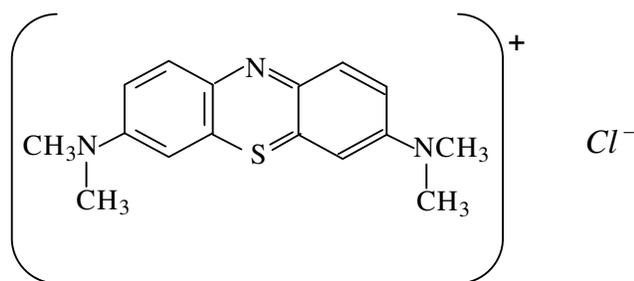


Figura 40. Fórmula estrutural do AM.

5.2.2. 17 β -Estradiol e 17 α -Etinilestradiol

Um problema que tem sido recentemente levantado nos estudos ambientais é a presença cada vez mais marcante e a ação de substâncias com potencial estrogênico. Estes compostos são comumente chamados de disruptores endócrinos (EDCs, *endocrine disrupting compounds*) e são conhecidos pelos efeitos biológicos que exercem sobre o meio ambiente (LIU *et al.*, 2004). Um dos mais potentes EDCs é o hormônio 17 β -estradiol (**Figura 41**), que vem sendo lançado ao meio ambiente devido a sua freqüente utilização como um aditivo de alimentos para gado, por exemplo, sendo excretados principalmente por meio da urina. Criações industriais de animais, como bois e suínos bem como os efluentes das estações de tratamento dos esgotos domésticos são as principais fontes de 17 β -estradiol para o ambiente – solo e meio aquático. O hormônio sintético 17 α -etinilestradiol (**Figura 42**) também é considerado um EDC de grande importância devido a sua utilização em pílulas anticoncepcionais, sendo assim muito liberado nas urinas femininas.

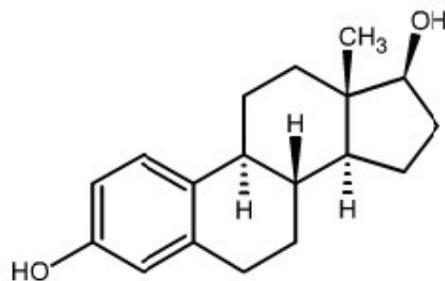


Figura 41. Fórmula estrutural do hormônio 17 β -estradiol.

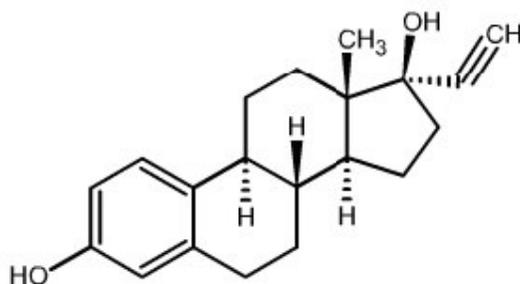


Figura 42. Fórmula estrutural do hormônio 17 α -etinilestradiol.

Os EDCs são liberados direta ou indiretamente ao meio aquático, alterando assim a função hormonal e o estado fisiológico dos animais aquáticos e do homem (mesmo em concentrações da ordem de ng L^{-1}), tais como, desenvolvimento de câncer de próstata, testículos, seios e diminuição da quantidade e qualidade de espermatozoides no homem assim como contribuição para o hermafroditismo e malformações nos animais aquáticos (LIU *et al*, 2004). De um modo geral os estrógenos sintéticos são muito menos ativos do que os naturais, no entanto estes incrementam a estrogenicidade de outros compostos químicos. Atualmente, pouco se conhece sobre a conduta dos EDCs no ambiente natural. Neste trabalho, experimentos de adsorção dos hormônios 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol de soluções aquosas pela turfa foram realizados.

5.3. PARTE EXPERIMENTAL

5.3.1. Amostragem

Para a realização dos experimentos de adsorção do AM e dos hormônios 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol de soluções aquosas uma amostra de turfa (TD) foi utilizada. Esta amostra, como citado na *seção 3.2* do *Capítulo 3* desta tese, contém um grau de decomposição bastante alto (H7), atribuindo-se a um estado de decomposição de 70% do material analisado (Von Post, 1924). Um valor de 70% no teor de decomposição representa um poder de sorção intermediário, segundo o Relatório do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT, 1979), podendo a amostra ser usada como adsorvente de soluções aquosas contaminadas por diferentes poluentes.

5.3.2. Reagentes e Solventes

Os reagentes e solventes utilizados foram todos de grau analítico. O ácido clorídrico e o corante AM foram adquiridos da MERCK; o cloreto de cálcio da FLUKA-GARANTIL; o solvente acetonitrila da LAB SCAN. O metanol e o hormônio 17 β -estradiol foram adquiridos da RIEDEL-DE-HAËN. O hormônio 17 α -etinilestradiol foi adquirido da SIGMA.

A água utilizada foi a destilada e a Milli-Q ($\rho = 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

5.4. EXPERIMENTOS DE ADSORÇÃO

5.4.1. Adsorção do azul de metileno – AM

Os testes de capacidade de adsorção do corante AM foram feitos em batelada (**Figura 43**) com base em soluções de corante nas concentrações iniciais de 200, 400, 600,

700, 800, 900, 1000, 1200, 1400 e 1500 mg L⁻¹. Para cada solução estoque foi feita uma diluição seqüencial (1:5) de modo a obter uma curva de calibração. Os experimentos foram realizados nas temperaturas de 35, 45 e 60°C e valores de pH de aproximadamente 4,667. Anteriormente os testes de adsorção a amostra TD foi imersa durante 15 minutos em solução de HCl 6,034 mol L⁻¹ de forma a remover os componentes minerais fracamente ligados e liberar os grupos funcionais, aumentando assim seu potencial de adsorção (Fernandes *et al.*, 2004). Volumes de 50 mL de solução de corante, com concentração inicial conhecida, foram deixados em contato com 0,1 g de turfa tratada com HCl, sob agitação mecânica. Os experimentos foram acompanhados por coletas periódicas de alíquotas de solução por um período de, no máximo, 96 h. Estas alíquotas foram diluídas em valores pré-determinados de modo a serem analisadas no espectrofotômetro de UV-Vis (PERKIN-ELMER Modelo 550S). Após a diluição, as soluções foram centrifugadas por 10 min a 2.000 rpm. O sobrenadante foi recolhido com uma pipeta e analisado por espectrofotometria UV-Vis. Os valores das absorbâncias das soluções foram tomados em um número de onda (λ) de 664 nm.

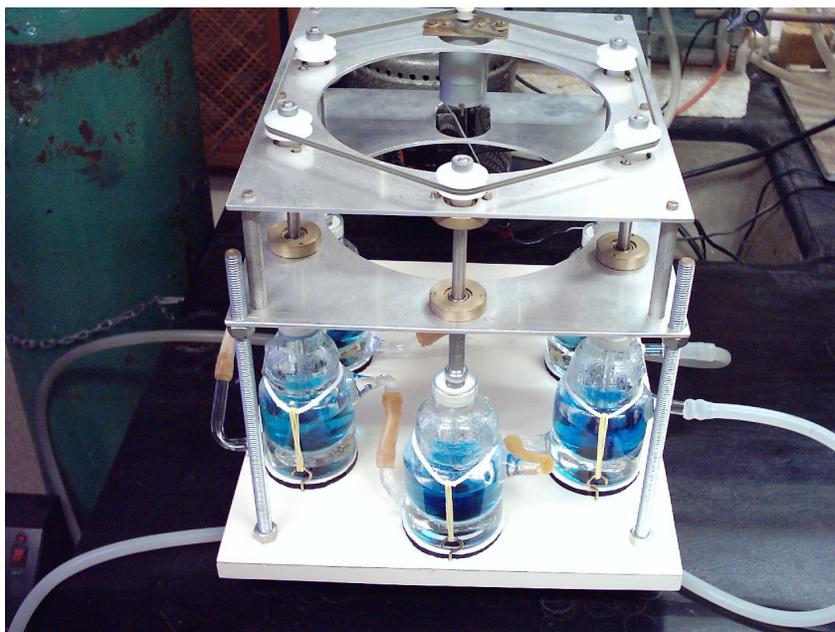


Figura 43. Agitador mecânico de cinco eixos (Almeida, 2005).

5.4.2. Adsorção do 17 β -estradiol e do 17 α -etinilestradiol

Os testes de capacidade de adsorção dos hormônios 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol foram feitos individualmente com base em solução de hormônio na concentração inicial de 0,103 mg L⁻¹. Os experimentos foram realizados na temperatura de cerca de 25°C e com valores de pH de aproximadamente 4,667. A força iônica foi mantida constante com CaCl₂ 0,012 mol L⁻¹. Volumes de 210 mL de soluções de hormônio, com concentração inicial conhecida, foram deixados em contato com 50, 75, 100, 150 e 200 mg de amostra TD, sob agitação magnética. Para cada ponto experimental fez-se um experimento separadamente, assim para cada determinado tempo de contato preparavam-se novos experimentos de adsorção para todas as massas de turfa utilizadas. Os experimentos foram acompanhados por coletas periódicas por períodos de no máximo 36 horas. Após a coleta das soluções, estas foram filtradas e concentradas 50 vezes pela SPE em cartucho envi-18 (C18) da SUPELCO por meio do seguinte procedimento:

1. Condiciona-se o cartucho de extração, passando-se 4 mL de metanol sob uma vazão de 3 mL min⁻¹;
2. Equilibra-se o cartucho pela passagem de 4 mL de água Milli-Q sob uma vazão de 3 mL min⁻¹;
3. Seca-se o cartucho pela passagem de ar, sob uma vazão de 3 mL min⁻¹;
4. A amostra percola pelo cartucho, com o auxílio do vácuo, sob uma vazão de 3 mL min⁻¹;
5. Lava-se o cartucho com 2 mL de água Milli-Q, sob uma vazão de 3 mL min⁻¹;
6. Descarta-se o eluato e seca-se o leito sorvente pela passagem de ar, sob uma vazão de 3 mL min⁻¹;
7. Elui-se o analito com 4 mL de acetonitrila, sob uma vazão de 3 mL min⁻¹;
8. Seca-se o cartucho pela passagem de ar, sob uma vazão de 3 mL min⁻¹.

Após a SPE, os analitos foram analisados em um cromatógrafo líquido da JASCO modelo 980 equipado com uma coluna de C18 (PHENOMENEX) e um detector de absorção no UV-Vis. Anteriormente as análises, curvas de calibração foram realizadas. A pressão do cromatógrafo líquido utilizada foi de 68-70 kg cm⁻². O número de onda

empregado na detecção dos hormônios foi de 280 nm. Injetou-se um volume de amostra de 50 μL , sob um fluxo de 0,7 mL min^{-1} . A fase móvel usada foi solução de acetonitrila/água 65/35. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 5 minutos.

5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.5.1. Adsorção do azul de metileno – AM

A adsorção do corante AM de soluções aquosas pela amostra TD foi realizada a três diferentes temperaturas (35, 45 e 60°C), usando diferentes tempos de adsorção e concentração inicial de corante. As **Figuras 44, 45 e 46** mostram a variação da concentração de equilíbrio (C_e) do corante AM com o tempo, nas temperaturas de 35, 45 e 60°C, respectivamente, para as diferentes concentrações. Em geral, a quantidade de massa de AM adsorvida no equilíbrio (q_e) aumenta com a concentração inicial de corante (**Tabela 15**). Um tempo de adsorção de aproximadamente 4,5 horas foi suficiente para atingir o equilíbrio para as três temperaturas estudadas, em todas as concentrações iniciais de AM, com percentual de remoção de corante excedendo a 90% para as soluções mais diluídas (200-400 mg L^{-1}). Este pequeno intervalo de tempo em conjunto com uma alta taxa de remoção de corante indica uma grande afinidade da turfa com o AM, indicando um provável processo de adsorção química, que pode ser resultado das trocas catiônicas entre os íons H, encontrados nos grupos – COOH da turfa, com os grupos catiônicos do corante. Em outro experimento usando o barro branco (alumínio-silicato) como material adsorvente e usando as mesmas condições experimentais (concentrações e temperaturas) empregadas neste estudo, por exemplo, um tempo de contato de aproximadamente 48 horas foi necessário para se atingir o equilíbrio do sistema (Almeida, 2005; Almeida *et al.*, 2004). Naquele caso a adsorção do AM pelo barro branco demonstrou ser de natureza física. Este resultado deve-se ao fato que a turfa é um material orgânico e contém em sua estrutura grupos funcionais capazes de realizar a troca catiônica, enquanto o barro branco é um

material inorgânico e não contém este tipo de sítios ativos em sua estrutura, levando, conseqüentemente, mais tempo para atingir o equilíbrio na adsorção com o corante AM.

A porcentagem de remoção de AM pela amostra de turfa diminui em concentrações mais elevadas (**Tabela 15**). Para as três temperaturas estudadas, a remoção do corante diminui de aproximadamente 99% para cerca de 40% com uma variação da concentração inicial de AM de 200 a 1500 mg L⁻¹. Apesar disso, a quantidade de massa de AM adsorvida por grama de turfa aumenta em todos os casos, chegando a valores de ~90 a ~300 mg g⁻¹ de turfa, com um aumento da concentração inicial de corante de 200 a 1500 mg L⁻¹, atestando a eficácia do processo de adsorção.

Um aumento na temperatura produz um efeito ligeiramente positivo com relação à quantidade de massa de AM adsorvida na faixa de concentração inicial de 200-900 mg L⁻¹ (**Tabela 15**). Depois disso, a tendência não é muito clara, com um efeito negativo sendo observado em alguns casos. A natureza endotérmica da reação pode ser devida ao fato que a maiores temperaturas, um aumento do volume livre do adsorvente ocorre devido ao aumento do movimento do soluto (Ho e McKay, 2003). Além disso, este efeito pode também ser causado pela dissolução das espécies adsorvidas, modificando o tamanho dos poros do adsorvente, e aumentando a razão da difusão intrapartícula (Knocke e Hemphill, 1981). Para as concentrações mais elevadas (1000-1500 mg L⁻¹) este efeito positivo não é verificado, o que pode ser resultado do aumento na tendência das moléculas do AM escapar da fase sólida para a fase líquida com o aumento extremo da temperatura na solução (Panday *et al.*, 1984).

Tabela 15. Quantidade de massa de AM adsorvida e sua respectiva porcentagem de remoção, no equilíbrio, pela amostra de turfa.

	Concentração Inicial de AM em mg L ⁻¹ (C ₀)									
	200	400	600	700	800	900	1000	1200	1400	1500
T ^a	Quantidade de Massa de AM Adsorvida pela Turfa em mg g ⁻¹ (q _e)									
35°C	84,748	174,431	181,107	182,714	181,726	159,040	218,733	316,667	324,024	303,583
45°C	92,749	189,323	177,131	179,023	183,289	196,856	202,474	212,952	285,708	284,666
60°C	92,393	189,555	188,481	218,156	226,826	232,931	210,548	286,817	325,592	320,071
T ^a	Porcentagem de Remoção de AM pela Turfa (%)									
35°C	98,402	85,889	54,992	50,076	41,463	34,192	38,500	49,662	45,665	40,842
45°C	99,646	90,330	62,162	51,876	44,275	43,244	40,071	36,264	38,731	36,443
60°C	99,265	90,441	74,445	67,084	59,754	52,727	45,123	48,843	44,138	41,976

^aTemperatura.

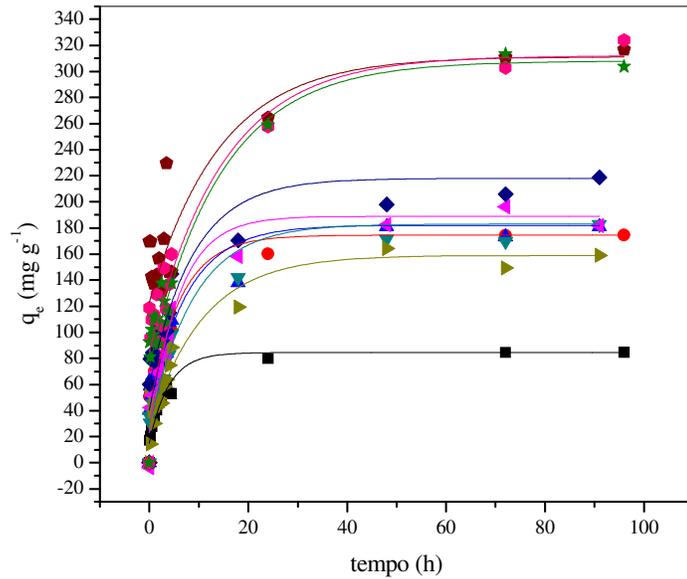


Figura 44. Remoção progressiva do AM de soluções aquosas pela turfa, para diferentes concentrações iniciais de AM, a 35°C. Legenda: ■ 200; ● 400; ▲ 600; ▼ 700; ◆ 800; ▲ 900; ◆ 1000; ■ 1200; ● 1400; * 1500 mg L⁻¹.

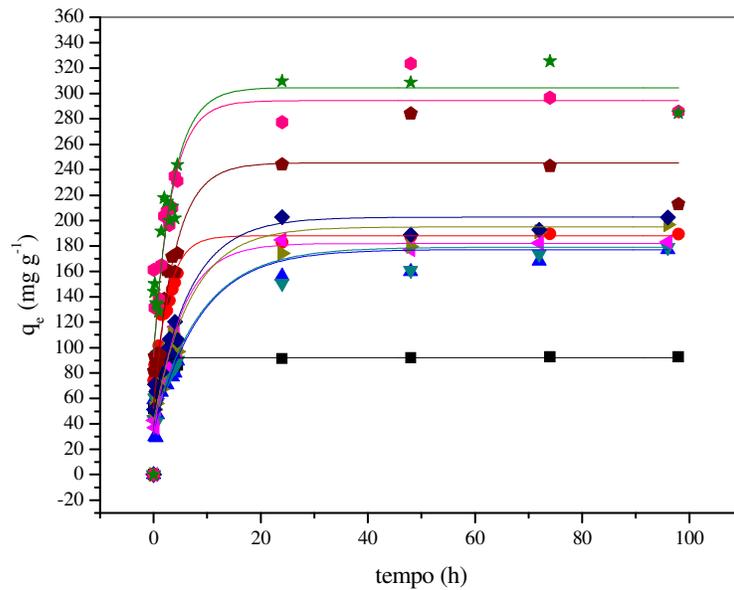


Figura 45. Remoção progressiva do AM de soluções aquosas pela turfa, a diferentes concentrações iniciais, a 45°C. Os símbolos têm mesmo significado que na **Figura 44**.

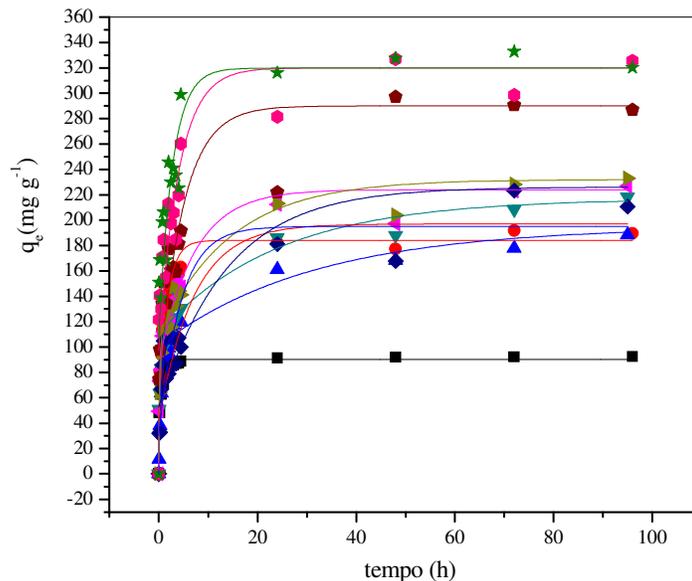


Figura 46. Remoção progressiva do AM de soluções aquosas pela turfa, a diferentes concentrações iniciais, a 60°C. Os símbolos têm mesmo significado que na **Figura 44**.

Para todas as temperaturas estudadas, um rápido aumento na quantidade de massa de AM adsorvida é observado com um aumento na concentração inicial de 0 a 400 mg L⁻¹ (**Figura 47**). Entre 400 e cerca de 1000 mg L⁻¹ a quantidade de massa adsorvida permanece praticamente constante. Para a temperatura de 35°C, acima desta faixa de concentração, outro aumento ocorre, resultando em um segundo platô em maiores concentrações. Para os experimentos de adsorção nas temperaturas de 45°C e 60°C, este segundo platô não é bem definido, mas os resultados são comparáveis (**Figura 47**). Estas são características típicas de processos onde ocorre a saturação de mais de uma camada. Para as concentrações mais diluídas (200-400 mg L⁻¹) a maior parte do corante em solução é transferido para a camada superficial da TD, devido à grande disponibilidade dos sítios reativos na amostra. Como consequência, a quantidade de massa de AM adsorvida aumenta com a concentração inicial enquanto a concentração no equilíbrio permanece praticamente constante e próxima de zero. Para a faixa de concentração inicial de 400-1000 mg L⁻¹ nenhum sinal extra de adsorção é observado, indicando a saturação da camada superficial da TD (**Figura 47**). Para valores de concentração inicial de AM maiores do que 1000 mg L⁻¹ um novo processo de adsorção, com a saturação da segunda camada adsorvedora, parece ocorrer. Perfis como

estes não podem ser descritos pelas equações das isotermas de Langmuir e Freundlich, as quais assumem que, uma vez que uma molécula adsorvida ocupe seu respectivo sítio reativo, nenhuma adsorção posterior deve ocorrer (Langmuir, 1918; Allen *et al.*, 1988). Além disso, os gráficos de C_e/q_e versus C_e e $\ln q_e$ versus $\ln C_e$, os quais são usados nos cálculos de Langmuir (1918) e Freundlich (1906), não foram lineares para os dados de adsorção apresentados e por isso não foram mostrados. Resultados similares foram encontrados por Allen e colaboradores (1988) analisando isotermas da adsorção de um corante básico, como o AM, com uma amostra de turfa. Suas isotermas também não se ajustaram às equações de Langmuir e Freundlich e tais perfis foram atribuídos à criação de novas superfícies de adsorção pela expansão das partículas adsorventes devido à pressão das moléculas adsorvidas. Segundo Allen e colaboradores (1988), as moléculas do corante migram por meio da solução para a superfície externa de onde se movem para dentro da partícula da turfa por um processo de difusão, sendo então adsorvidas em sítios reativos da superfície interna. Desta forma, as moléculas do corante podem ser ligadas aos sítios anteriormente impedidos. Uma interpretação similar pode ser feita para os dados de adsorção do AM pela turfa aqui apresentados: quando a concentração do AM em solução é suficientemente alta (acima de 1000 mg L^{-1}), o processo de difusão intrapartícula deve iniciar-se. Considerando que a amostra de turfa em questão contém grupos funcionais carregados negativamente, o corante básico AM estudado poderia ser adsorvido por meio de interações eletrostáticas, troca iônica e reações químicas. Para 45°C e 60°C , as isotermas mostram que não existe um limite bem definido entre o processo de ocupação da primeira e das camadas seguintes, provavelmente devido à ocorrência simultânea entre a saturação e difusão intrapartícula.

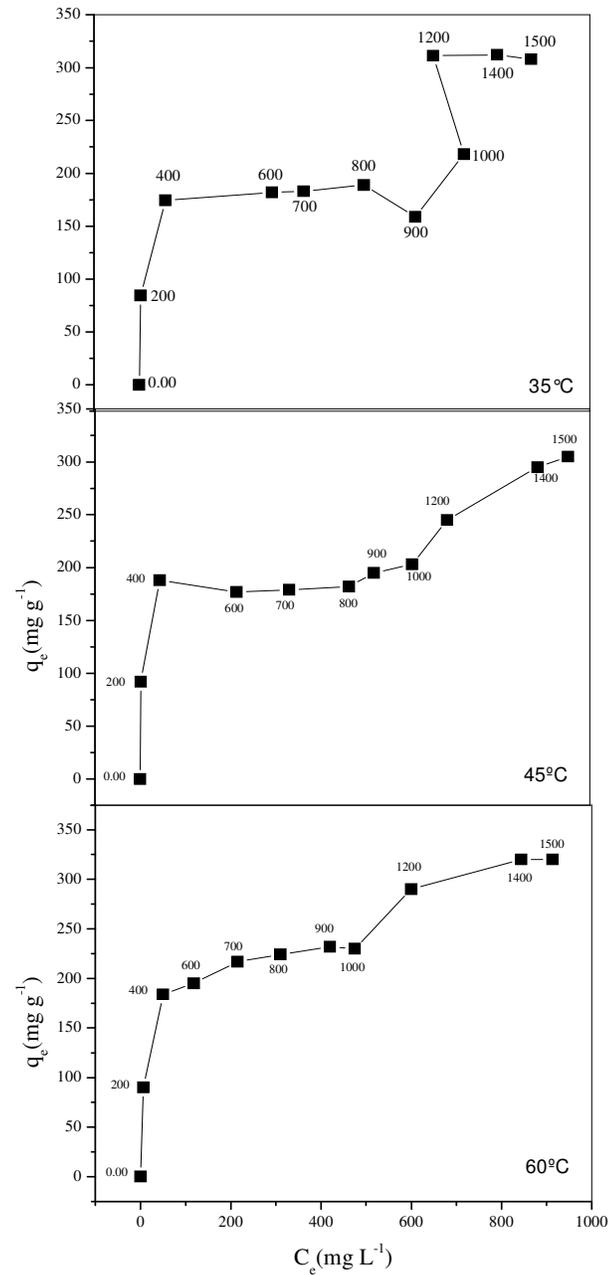


Figura 47. Isotermas de adsorção do AM pela turfa a 35, 45 e 60°C.

A cinética da adsorção para a temperatura de 35 °C foi avaliada por meio das equações de pseudo-primeira-ordem (Lagergren, 1898), pseudo-segunda-ordem e difusão intrapartícula (Weber e Morris, 1963) abaixo apresentadas:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (\text{pseudo-primeira-ordem})$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (\text{pseudo-segunda-ordem})$$

$$q_t = k_i t^{1/2} + C \quad (\text{difusão intrapartícula})$$

Considerando os coeficientes de correlação destas equações, uma tendência cinética de adsorção de: pseudo-segunda-ordem (0,99) > difusão intrapartícula (0,96) > pseudo-primeira-ordem (0,89), foi encontrada. Uma adsorção de pseudo-segunda-ordem indica que o processo é dependente da quantidade de AM e dos sítios reativos na turfa. Além disso, o gráfico da difusão intrapartícula (**Figura 48**) mostra claramente um processo de adsorção de dois estágios, com o primeiro estágio apresentando uma constante de velocidade maior do que o segundo. Esta informação confirma as suposições previamente citadas, ou seja, que a adsorção do AM pela turfa é consequência de dois processos. Os resultados sugerem que o AM é adsorvido pela superfície externa da turfa, em um processo rápido. Quando a adsorção da camada externa da turfa atinge a saturação, as moléculas do corante movem-se pelos poros para o interior das partículas e são adsorvidas pela superfície interna da turfa. Desta forma, o processo de adsorção parece ser controlado por dois mecanismos: pseudo-segunda-ordem e difusão intrapartícula.

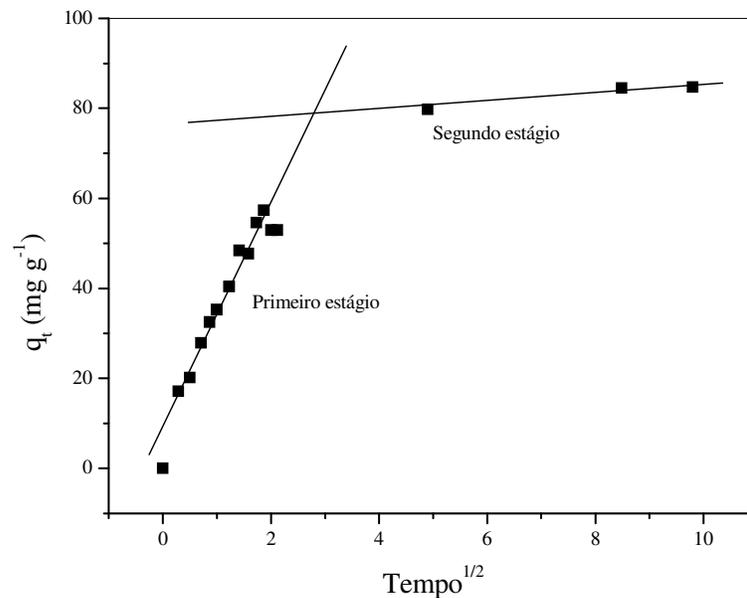


Figura 48. Cinética de difusão intrapartícula da adsorção do AM pela turfa a 35°C.

5.5.2. Adsorção do 17 β -estradiol e do 17 α -etinilestradiol

As Figuras 49 a 52 mostram a variação da porcentagem de remoção dos dois hormônios estudados com o tempo, para diferentes massas de turfa (50, 75, 100, 150 e 200 mg) e em concentração inicial de hormônio de cerca de 0,10 mg L⁻¹. Em todos os experimentos a concentração inicial de hormônio foi mantida constante. Este valor foi escolhido, pois está dentro da faixa limite de concentração encontrada no meio ambiente e, também, para que após a adsorção, os compostos pudessem ser ainda detectados pela CLAE. Em todas as curvas observa-se o aumento da remoção do hormônio com o tempo de contato, chegando a valores relativamente altos de porcentagem de remoção. Em todos os experimentos um aumento de remoção mais significativo é observado nas primeiras horas. Com o passar do tempo e para massas maiores de turfa ocorre uma turvação na solução devido à dissolução da MO na amostra. Esta solução absorve na mesma faixa de números de onda que os hormônios estudados. Desta forma, os experimentos foram mantidos até determinados tempos de contato de tal forma que a quantidade de MO dissolvida em solução não interferisse na quantificação dos hormônios pela CLAE.

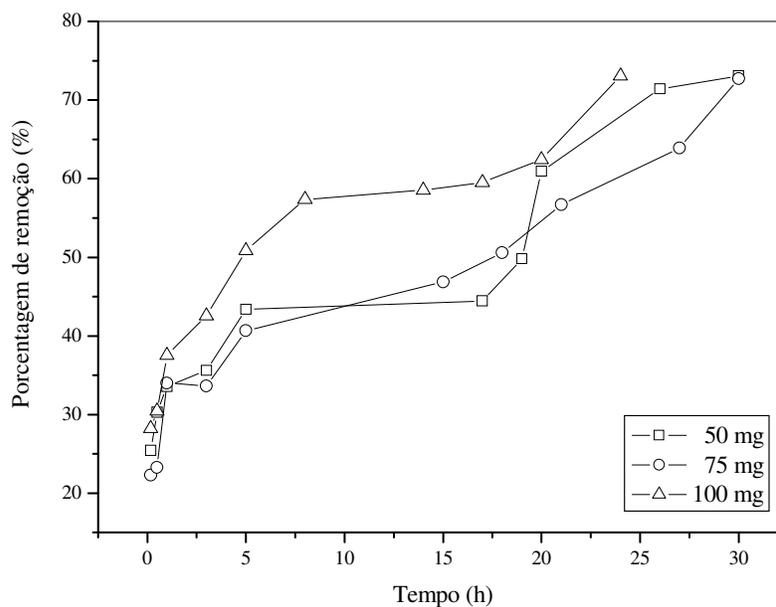


Figura 49. Variação da porcentagem de remoção do 17 β -estradiol para amostras de turfa de 50, 75 e 100 mg.

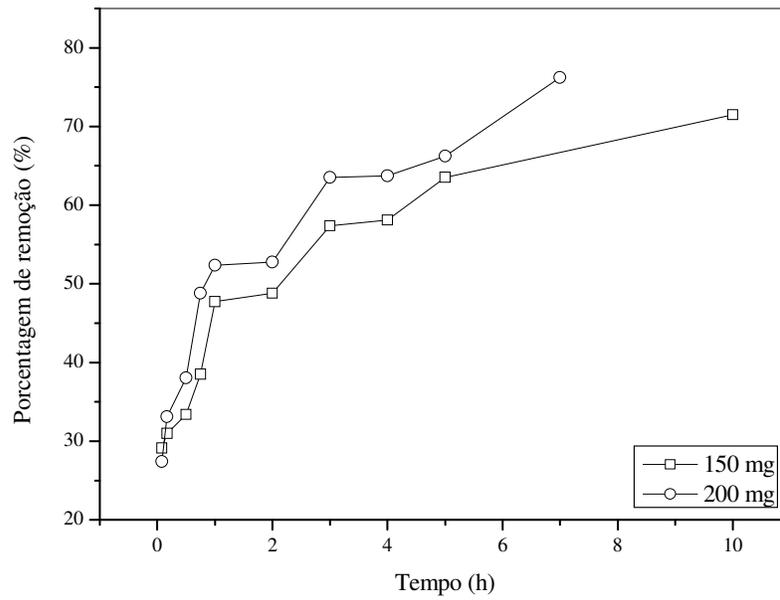


Figura 50. Variação da porcentagem de remoção do 17β-estradiol para amostras de turfa de 150 e 200 mg.

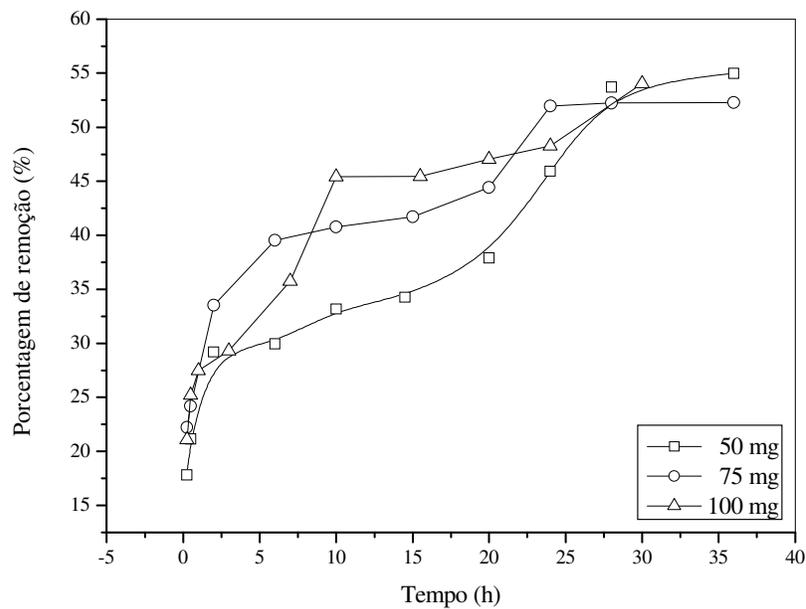


Figura 51. Variação da porcentagem de remoção do 17α-etinilestradiol para amostras de turfa de 50, 75 e 100 mg.

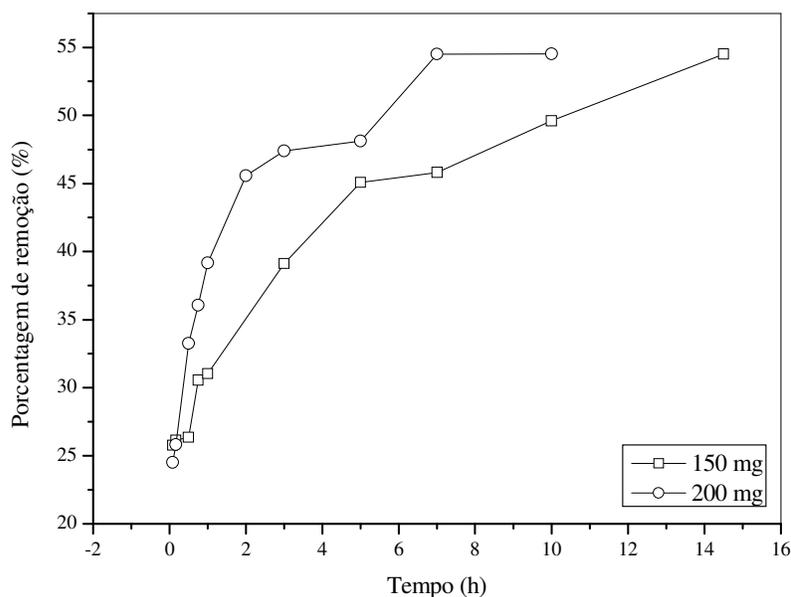


Figura 52. Variação da porcentagem de remoção do 17α -etinilestradiol para amostras de turfa de 150 e 200 mg.

Para todas as massas de turfa utilizadas o percentual de remoção chegou a valores de 76% para o 17β -estradiol e de 54% para o 17α -etinilestradiol (**Tabela 16**), já descontando os valores relativos a porcentagem de recuperação dos hormônios na SPE. Entretanto, o aumento da massa de turfa resultou numa redução do tempo de adsorção. Assim, quanto maior a massa de turfa mais rápida a remoção de hormônio em solução. Em todos os experimentos, a porcentagem de adsorção foi menor para o 17α -etinilestradiol do que para o 17β -estradiol. Esta diferença deve estar ligada às particularidades estruturais de cada hormônio (**Figuras 42 e 43**). O 17α -etinilestradiol possui características mais apolares do que o 17β -estradiol devido a presença do grupo etinil em sua estrutura, podendo desta forma ter menos afinidade pela turfa. Além disso, pelo mesmo motivo, nos teste de recuperação dos hormônios nos cartuchos de C18 na SPE, o primeiro mostrou menores porcentagens de recuperação (77%) do que o segundo (95%).

A concentração de hormônio em solução após a adsorção permaneceu praticamente constante para todos os casos, indicando que o limite de remoção já foi atingido no experimento de menor massa de turfa, sendo o fator limitante o tempo de

exposição e as energias de interações entre a turfa, hormônios e solvente. Quando a solução torna-se diluída, a estabilização do soluto vai aumentando, sendo a consequência deste resultado a dificuldade de remover os últimos traços do soluto na solução (Atkins, 1994). Novos experimentos de adsorção deveriam ser realizados de modo a avaliar estas questões, usando, por exemplo: menores massas de turfa, diferentes concentrações de hormônios, diferentes temperaturas. Apesar dos problemas citados, os resultados obtidos mostraram que o grau de adsorção da turfa em relação aos hormônios estudados abre perspectivas para a sua utilização na remoção destes contaminantes em efluentes.

Tabela 16. Resultados relativos à remoção dos hormônios de soluções aquosas pela de turfa.

Parâmetros de Adsorção	Massa de Turfa (mg)				
	50	75	100	150	200
17β-ESTRADIOL					
Tempo (h)	30	30	24	10	7
Porcentagem de Remoção (%)	73,053	72,718	73,215	71,508	76,225
Quantidade de Massa Adsorvida (mg g ⁻¹)	0,329	0,218	0,165	0,107	0,086
Concentração Após Adsorção (mg L ¹)	0,022	0,022	0,022	0,023	0,018
17α-ETINILESTRADIOL					
Tempo (h)	36	36	30	14	10
Porcentagem de Remoção (%)	54,978	52,279	54,056	54,510	54,542
Quantidade de Massa Adsorvida (mg g ⁻¹)	0,323	0,205	0,159	0,107	0,080
Concentração Após Adsorção (mg L ¹)	0,023	0,027	0,024	0,024	0,024

5.6. CONSIDERAÇÕES RELATIVAS AO ESTUDO DE ADSORÇÃO DE DIFERENTES CONTAMINANTES PELA TURFA

A amostra de turfa aplicada nos experimentos de adsorção do AM de soluções aquosas apresentou-se altamente efetiva, com porcentagens de remoção excedendo a 90% em alguns casos. A porcentagem de adsorção foi maior para as concentrações mais diluídas, mas, mesmo assim, a quantidade efetiva de massa de AM adsorvida no equilíbrio aumentou com o aumento da concentração e temperatura. A análise das isotermas e dos parâmetros cinéticos mostrou que o processo de remoção do AM pela turfa é controlado por adsorção de pseudo-segunda-ordem e difusão intrapartícula.

A turfa mostrou-se potencialmente interessante no tratamento de soluções contendo hormônios, chegando a valores de remoção de até 76% para o 17β -estradiol e de 54% para o 17α -etinilestradiol. Para as soluções contendo maiores massas de turfa, o tempo de contato para atingir os mesmos valores de porcentagem de remoção foi menor do que para as soluções de menores massas. Entretanto, no final dos experimentos, os percentuais de remoção foram praticamente idênticos. Aparentemente, o limite de remoção foi atingido na primeira amostra. De maneira geral, a turfa empregada nos estudos de remoção de corante e hormônios mostrou-se eficiente, demonstrando a potencialidade deste material para a recuperação de efluentes contaminados com estes compostos.

6.1. CONCLUSÃO

❖ No que diz respeito a caracterização química e espectral, a MO (solos e turfas) apresentou uma maior composição de estruturas com uma grande incidência de C alquílicos substituídos por O, como os polissacarídeos, quando comparadas com suas respectivas SH. De um modo geral, apesar das alterações estruturais após a extração e purificação das SH, as razões atômicas assim como a IV e CP/MAS-RMN ^{13}C podem ser usadas para caracterizar e diferenciar amostras de MO como SH;

❖ Os resultados de acidez, determinados pelo método de titulação indireto, das amostras de SH de ambientes distintos (estuarinos, marinhos, água doce, terrestres, turfas) não mostraram a tendência esperada, gerando dúvidas quanto à validade da metodologia usualmente empregada neste tipo de estudo. Do mesmo modo, a quantificação dos grupos ácidos das SH da IHSS, usando o programa BEST7 e EHHM para tratar os dados de titulação potenciométrica, revelou uma considerável dependência do modelo aplicado e das condições experimentais. Para as substâncias simples (ácido 3,5-dihidroxibenzóico, ácido 2,4-dihidroxibenzóico e ácido ftálico, 4-hidroxibenzaldeído e DL-alanil-DL-alanina), por outro lado, ambos os métodos produziram resultados compatíveis com o valor teórico. Destes estudos concluiu-se que os valores de acidez de SH obtidos por qualquer método de titulação não devem ser considerados definitivos ou absolutos e devem ser interpretados com cautela;

❖ A amostra de turfa mostrou-se efetiva na adsorção do AM e de hormônios (17β -estradiol e 17α -etinilestradiol) em meio aquoso. Estes experimentos demonstram a potencialidade da turfa na recuperação de ambientes contaminados com poluentes similares a estes.

PRODUÇÃO COMPLEMENTAR

❖ **Artigos**

- 2007 Fernandes, A. N.; Esteves, V. I.; Sierra, M. M. D. **Characterization of peat, soil and humic substances by carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy.** (Em Preparo).
- 2007 Fernandes, A. N.; Esteves, V. I.; Sierra, M. M. D. **Sorption of 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol onto peat.** (Em Preparo).
- 2007 Fernandes, A. N.; Almeida, C. A.; Debacher, N. A.; Sierra, M. M. D. **Thermodynamic parameters of adsorption of methylene blue by peat.** (Em Preparo).
- 2006 Fernandes, A. N.; Almeida, C. A. P.; Menezes, C. T. B.; Debacher, N. A.; Sierra, M. M. D. **Removal of methylene blue from aqueous solution by peat.** Journal of Hazardous Materials, No Prelo.
- 2006 Fernandes, A. N.; Giacomelli, C.; Vaz, D. O.; Giovanela, M.; Szpoganicz, B.; Sierra, M. D. **Influence of mathematical model and experimental procedure on humic substances acidity determinations by potentiometric titration.** International Journal of Environmental Analytical Chemistry, aceito.
- 2006 Sierra, M. M. D.; Fernandes, A. N.; Giovanela, M.; Soriano Sierra, E. J. **Acidity of humic substances from aquatical and terrestrial environments.** Journal of Coastal Research, SI v. 39, p. 1062-1065.
- 2004 Sierra, M. M. D.; Fernandes, A. N.; Szpoganicz, B. **Influence of amide linkages on acidity determinations of humic substances. Testing with model-mixtures.** Talanta, v. 62, p. 687-693.

❖ Congressos

• *Trabalho completo apresentado em congressos e encontros*

- 2005 Fernandes, A. N.; Almeida, C. A. P.; Menezes, C. T. B.; Debacher, N. A.; Sierra, M. M. D. **Remoção do azul de metileno de soluções aquosas utilizando turfa como adsorvente.** XXI Encontro Nacional de Tratamento de Minério e Metalurgia Extrativa, Florianópolis – SC. p. 641-648.
- 2004 Fernandes, A. N.; Menezes, C. T. B.; Leal Filho, L. S.; Sierra, M. M. D. **Estudos de aplicação da turfa para a remoção de metais de efluentes contaminados.** XX Encontro Nacional de Tratamento de Minério e Metalurgia Extrativa, Florianópolis – SC. p. 523-530.

• *Trabalho expandido apresentado em congressos e encontros*

- 2006 Szpoganicz, B.; Silva, M. R.; Gomes, A. P. N.; Fernandes, A. N.; Sierra, M. M. D. **Speciation of acid and basic groups of a humic acid (Aldrich).** XIII International Meeting of IHSS, Kalsruhe – Germany.
- 2005 Szpoganicz, B.; Silva, M. R.; Gomes, A. P. N.; Fernandes, A. N.; Sierra, M. M. D. **Especiação dos grupos ácidos e básicos do ácido húmico (Aldrich).** VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Rio de Janeiro – RJ. p. 70-72.
- 2005 Giovanela, M.; Fernandes, A. N.; Tormen, L.; Sierra, M. M. D. **3D-Fluorescence spectroscopic analysis of HPLC fractionated estuarine fulvic and humic acids.** VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Rio de Janeiro – RJ. p. 155-157.
- 2005 Tormen, L.; Fernandes, A. N.; Giovanela, M.; Rauen, T. G.; Sierra, M. M. D. **Estudo das interações entre ácidos húmicos e pireno em meio**

- aquoso.** VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Rio de Janeiro – RJ. p. 263-265.
- 2004 Fernandes, A. N.; Giacomelli, C.; Vaz, D. O.; Giovanela, M.; Sierra, M. M. D.; Szpoganicz, B. **Employment of two different models to fit potentiometric data of humic substances.** XII International Meeting of IHSS, São Pedro – SP. p. 284-286.
- 2004 Vaz, D. O.; Fernandes, A. N.; Sierra, M. M. D.; Szpoganicz, B. **Reference Suwannee river fulvic acid interactions with copper (II) ions.** XII International Meeting of IHSS, São Pedro – SP. p. 303-305.
- 2003 Fernandes, A. N.; Giovanela, M.; Sierra, M. M. D. **Comparação de diferentes metodologias na determinação da acidez de substâncias húmicas.** V Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas, Curitiba – PR.
- *Trabalho resumido apresentado em congressos e encontros*
- 2005 Fernandes, A. N.; Giacomelli, C.; Giovanela, M.; Szpoganicz, B.; Sierra, M. M. D. **Utilização do programa BEST7 e da equação modificada de Henderson-Hasselbalch na determinação da acidez de substâncias húmicas.** XIII Encontro de Química da Região Sul, Florianópolis – SC. AB-010.
- 2005 Fernandes, A. N.; Bortoluzzi, J. H.; Giovanela, M.; Carasek, E.; Sierra, M. M. D. **Aplicação da SPME e GC-MS na identificação de “building blocks” de ácidos fúlvicos de diferentes ambientes.** XIII Encontro de Química da Região Sul, Florianópolis – SC. QA-011.
- 2005 Tormen, L.; Fernandes, A. N.; Rauen, T. G.; Sierra, M. M. D. **Avaliação da influência de ácidos húmicos na disponibilidade de pireno em meio aquoso.** XIII Encontro de Química da Região Sul, Florianópolis – SC. QA-084.

- 2005 Fernandes, A. N.; Giacomelli, C.; Vaz, D. O.; Szpoganicz, B.; Sierra, M. M. D. **Influência do modelo matemático na determinação da acidez de substâncias húmicas por titulação potenciométrica.** 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas – MG. AB-022.
- 2005 Giovanela, M.; Fernandes, A. N.; Parlanti, E.; Sierra, M. M. D. **Análise por espectroscopia de fluorescência tridimensional de ácidos fúlvicos e húmicos estuarinos fracionados por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa.** 13º Encontro Nacional de Química Analítica e 1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, Niterói – RJ. AB-025.
- 2005 Fernandes, A. N.; Bortoluzzi, J. H.; Giovanela, M.; Carasek, E.; Sierra, M. M. D. **Utilização de SPME na identificação de compostos presentes em soluções aquosas de ácidos fúlvicos.** 13º Encontro Nacional de Química Analítica e 1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, Niterói – RJ. AB-159.
- 2004 Fernandes, A. N.; Almeida, C. A. P.; Menezes, C. T. B.; Sierra, M. M. D.; Debacher, N. A. **Estudos dos parâmetros cinéticos e de equilíbrio da adsorção do azul de metileno em turfa.** XII Encontro de Química da Região Sul, Guarapuava – PR. AB-054.
- 2004 Sierra, M. M. D.; Fernandes, A. N.; Bortoluzzi, J. H.; Tormen, L.; Carasek, E. **Identificação de compostos orgânicos associados a solos, sedimentos e turfas por meio de micro-extração em fase sólida associada à cromatografia gasosa e espectrometria de massa.** 10º Congresso Latino Americano de Cromatografia e Técnicas Afins, Campos de Jordão – SP. p. 125.
- 2004 Silva, R. G.; Bortoluzzi, J. H.; Fernandes, A. N.; Soriano Sierra, E. J.; Sierra, M. M. D. **Aplicação da micro-extração em fase sólida (SPME) para caracterizar a matéria orgânica associada a solos, sedimentos marinhos e estuarinos.** XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Salvador – BA. AB-097.

- 2004 Fernandes, A. N.; Almeida, C. A. P.; Menezes, C. T. B.; Sierra, M. M. D.; Debacher, N. A. **Utilização da turfa para a remoção de corantes em efluentes.** XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Salvador – BA. AB-128.
- 2004 Fernandes, A. N.; Bortoluzzi, J. H.; Menezes, C. T. B.; Sierra, M. M. D.; Carasek, E. **Utilização da micro-extração em fase sólida (SPME) para caracterizar a matéria orgânica associada a turfas.** XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Salvador – BA. AB-197.
- 2004 Fernandes, A. N.; Souza, E. P.; Menezes, C. T. B.; Sierra, M. M. D. **Caracterização da matéria orgânica associada a turfas utilizando as espectroscopias no UV-Visível e de fluorescência.** XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Salvador – BA. AB-199.
- 2004 Fernandes, A. N.; Giovanela, M.; Soriano Sierra, E. J.; Sierra, M. M. D. **Acidity data on humic substances from distinct environments: methodology considerations.** 8th International Coastal Symposium, Itajaí – SC. p. 080.
- 2003 Fernandes, A. N.; Menezes, C. T. B.; Sierra, M. M. D. **Extração e caracterização de substâncias húmicas de turfa.** 2º Simpósio Brasileiro de Engenharia Ambiental, Itajaí- SC. p. 3067.
- 2003 Silva, R. G.; Fernandes, A. N.; Rauen, T. G.; Sierra, M. M. D.; Soriano Sierra, E. J. **Características de fluorescência da matéria orgânica associada a sedimentos de diferentes ecossistemas.** 2º Simpósio Brasileiro de Engenharia Ambiental, Itajaí- SC. p. 3127.
- 2003 Silva, R. G.; Fernandes, A. N.; Rauen, T. G.; Sierra, M. M. D.; Soriano Sierra, E. J. **Características de fluorescência da matéria orgânica associada a sedimentos marinhos.** 3ª Semana de Ensino, Pesquisa e Extensão, Florianópolis – SC.

- 2003 Fernandes, A. N.; Sierra, M. M. D.; Szpoganicz, B. **Influência dos grupo amida na determinação da acidez de substâncias húmicas aquáticas.** 26^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas – MG. QA-134.
- 2003 Fernandes, A. N.; Giovanela, M.; Sierra, M. M. D. **Determinação da acidez de ácidos húmicos de diferentes ambientes.** 26^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas – MG. AB-067.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIKEN, G. R. A critical evaluation of the use of macroporous resins for the isolation of aquatic humic substances. In: FRIMMEL, F. H.; CHRISTMAN, R. F. **Humic substances and their role in the environment**. (Eds). New York: John Wiley & Sons Limited, 1988. p. 15-28.

AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MACCARTHY, P. **Humic substances in soil, sediment, and water**. New York: John Wiley & Sons, 1985.

ALLEN, S. J.; MCKAY, G.; KHADER, K. H. H. Multi-component sorption isotherms of basic dyes onto peat. **Environmental Pollution**, v. 52, p. 39-53, 1988.

ALMEIDA, C. A. P. **Caracterização do barro branco e avaliação de sua capacidade como adsorvente de corantes usando o azul de metileno como modelo**. 2005. 158 p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2005.

ALMEIDA, C. A. P.; MACHADO, C.; DEBACHER, N. A. Adsorption of methylene blue as a model for the use of Barro Branco as an alternative adsorbent for color removal, **Program of Colloid Polymer Science**, v. 128, p. 278-282, 2004.

AREND, K. **Determinação de grupos funcionais e estudo das características de complexação de compostos húmicos sedimentares por métodos químicos e potenciométricos**. 2001. 66 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

ATKINS, P. W. **Physical chemistry**. 5^a edition. New York: Oxford University Press, 1994.

BARROS, M. C. P.; PAULA, J. R.; REZENDE, M. O. O. Caracterização físico-química do ácido húmico de solo da ilha da Cananéia e de sua interação com Fe(III), Cu(II) e Cd(II). **Química Nova**, v. 17, p. 376-380, 1994.

BARTON, D. H. R.; SCHNITZER, M. A new experimental approach to the humic acid problem. **Nature**, v. 198, p. 217, 1963.

BORGES, F.; GUIMARÃES, C.; LIMA, J. L. F. C.; PINTO, I.; REIS, S. Potentiometric studies on the complexation of copper(II) by phenolic acids as discrete ligand models of humic substances. **Talanta**, v. 66, p. 670-673, 2005.

BOWLES, E. C.; ANTWEILER, E. C.; MacCARTHY, P. Acid-base titrations and hydrolysis of fulvic acid from Suwannee River, GA: Interaction, properties, and proposed structures. In: AVERETT, R. C., et al. **Humic substances in the Suwannee River**. (Eds). USGS Open File Report, 1989. p. 209-229.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. **Introdução à Engenharia Ambiental**. 1. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2002. p. 305.

BROWN, P. A.; GILL, S. A.; ALLEN, S. J. Metal removal from wastewater using peat. **Water Research**, v. 34, p. 3907-3916, 2000.

CAMPANELLA, L.; TOMASSETTI, M.; PICCOLO, A. Thermogravimetric and IR analysis of different extracts of humic substances. **Thermochimica Acta**, v. 170, p. 67-80, 1990.

CANELLAS, L. P.; GURIDI, F.; SANTOS, G. A.; RUMJANEK, V. M.; BRAZ-FILHO, R. Aumento da resolução de espectros de RMN ¹³C de ácidos húmicos em solução através do tratamento prévio com KCl 0,03 mol L⁻¹. **Química Nova**, v. 24, p. 131-132, 2001.

CATÁLOGO SUPELCO. **Cromatografia: produtos para análise e purificação**, 2003/2004. p. 450.

CHEN, Y., AVIAD, T. Effects of humic substances on plant growth. Humic substances in soil and crop sciences. **Selected readings - American Society of Agronomy and Soil Science Society of America**, 1990. p. 161-186.

CHEN, J.; GU, B.; LEBOEUF, E. J.; PAN, H.; DAI, S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, v. 48, p. 59-68, 2002.

CHEN, J.; LEBOEUF, E. J.; DAI, S.; GU, B. Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, v. 50, p. 639-647, 2003.

CHIN, Y. P.; TRAINA, S. J.; SWANK, C. R.; BACKHUS, D. Abundance and properties of dissolved organic matter in pore water of a freshwater wetland. **Oceanography**, v. 43, p. 1287-1296, 1998.

COCOZZA, C.; D'ORAZIO, V.; MIANO, T. M.; SHOTYK, W. Characterization of solid and aqueous phases of a peat bog profile using molecular fluorescence spectroscopy, ESR and FT-IR, and comparison with physical properties. **Organic Geochemistry**, v. 34, p. 49-60, 2003.

COLLINS, C. H.; COLLINS, K. E.; ACKERHALT, R. E. Cation exchange separation of ^{51}Cr -labeled species in aqueous Cr(VI)-Cr(III) solution. **Journal of Radioanalytical Chemistry**, v. 8, p. 263-267, 1971.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.**

COOK, R. L.; LANGFORD, C. H. Structural characterization of a fulvic acid and a humic acid using solid-state Ramp-CP-MS ^{13}C nuclear magnetic resonance. **Environmental Science and Technology**, v.32, p. 719-725, 1998.

COUILLARD, D. The use of peat in wastewater treatment. **Water Research**, v. 28, p. 1261-1274, 1994.

COZZOLINO, A.; CONTE, P.; PICCOLO, A. Conformational changes of humic substances induced by some hydroxy-, keto-, and sulfonic acids. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 563-571, 2001.

DAVIS, H.; MOTT, C. J. B. Titrations of fulvic acid fractions I: Interactions influencing the dissociation-reprotonation equilibria. **Journal of Soil Science**, v. 32, p. 379-38, 1981.

DICK, D. P.; DICK, Y. P.; SILVA, L.; F., ESSIG, C.; ZORTEA, R. B. Caracterização de produtos de decomposição de lodos orgânicos em diferentes tempos e meios de digestão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, p. 1-8, 1997.

DIGNAC, M. F.; KNICKER, H.; KÖGEL-KNABER, I. Effect of N content and soil texture on the decomposition organic matter in forest soils as revealed by solid-state CPMAS NMR spectroscopy. **Organic Geochemistry**, v. 33, p. 1715-1726, 2002.

ESTEVES, V. I. **Extração e caracterização de substâncias húmicas de diferentes ambientes aquáticos**. 1995. p. 257. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de Aveiro, Aveiro, 1995.

ESTEVES, V. I.; DUARTE, A. C. Thermogravimetric properties of aquatic humic substances. **Marine Chemistry**, v. 63, p. 225-233, 1999.

EVANGELOU, V. P.; MARSI, M.; CHAPPELL, M. A. Potentiometric-spectroscopic evaluation of metal-ion complexes by humic substances extracted from corn tissue. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 58, p. 2159-2175, 2002.

FERNANDES, A. N. **Determinação da acidez de substâncias húmicas de diferentes ambientes. Avaliação da metodologia empregada**. 2003. p. 64. Dissertação (Mestrado em Físico-Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

FERNANDES, A. N.; GIACOMELLI, C.; VAZ, D. O. V.; GIOVANELA, M.; SZPOGANICZ, B.; SIERRA, M. M. D. Influence of procedure and mathematical model on humic substances acidity determinations by potentiometric titration. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, Aceito.

FERNANDES, A. N.; GIOVANELA, M.; SORIANO-SIERRA, E. J.; SIERRA, M. M. D. Acidity data on humic substances from distinct environments: methodology considerations. **Journal of Coastal Research**, v. 39, p. 1062-1065, 2006.

FERNANDES, A. N.; ALMEIDA, C. A. P.; MENEZES, C. T. B.; DEBACHER, N. A.; SIERRA, M. M. D. Remoção do azul de metileno de soluções aquosas utilizando turfa como adsorvente. In: **Anais do XXI Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa**. Natal, 2005. p. 641-648.

FERNANDES, A. N.; MENEZES, C. T. B.; LEAL FILHO, L. S.; SIERRA, M. M. D. Estudos de aplicação da turfa para a remoção de metais de efluentes contaminados. In: **Anais do XX Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa**. Florianópolis, 2004. p. 523-530.

FERNANDES, A. N.; ALMEIDA, C. A. P.; MENEZES, C. T. B.; DEBACHER, N. A.; SIERRA, M. M. D. Removal of methylene blue from aqueous solution. **Journal of Hazardous Materials**, No Prelo.

FRANCHI, J. G. **Aplicação de turfa na recuperação de solos degradados pela mineração de areia**. 2000. p. 119. Dissertação (Mestre em Engenharia Ambiental) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

FREUNDLICH, H. M. F. Over the adsorption in solution. **Journal of Physical Chemistry**, v. 57, p. 385-470, 1906.

FUCHSMAN, C. H. **Peat – Industrial Chemistry and Technology**. London: Academic Press, 1980.

GHOSH, D.; BHATTACHARYYA, K. G. Adsorption of methylene blue on kaolinite. **Applied Clay Science**, v. 20, p. 295-300, 2002.

GIOVANELA, M. **Caracterização química e morfológica de substâncias húmicas de ambientes aquáticos**. 2003. p. 140. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

GIOVANELA, M.; SIERRA, M. M. D.; SIERRA, E. J. S.; SOLDI, M., S.; PARLANTI, E. Elemental compositions, FT-IR spectra and thermal behavior of sedimentary fulvic and humic acids from aquatic and terrestrial environments. **Geochemical Journal**, v. 38, p. 255-264, 2004.

GOH, K. M.; STEVENSON, F. J. Comparison of infrared spectra of synthetic and natural humic and fulvic acid. **Soil Science**, v. 112, p. 392-400, 1971.

GONÇALVES, C. N.; DALMOLIN, R. S. D.; DICK, D. P.; KNICKER, H.; KLAMT, E.; KÖGEL-KNABNER, I. The effect of 10% HF treatment on the resolution of CPMAS ¹³C NMR spectra and on the quality of organic matter in Ferralsols. **Geoderma**, v. 116, p. 373-392, 2003.

GREGOR, J. E.; POWEL, H. K. J. Effects of extraction procedures on fulvic acid properties. **The Science of the Total Environment**, v. 62, p. 2-12, 1987.

GÜRSSES, A.; KARACA, S.; DOGAR, C.; BAYRAK, R.; AÇIKYILDIZ, M.; YALÇIN, M. Determination of adsorptive properties of clay/water system: methylene blue sorption. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 269, p. 310-314, 2004.

HATAKEYAMA, H. Thermal analysis. In: LIN, S. Y., DENCE, C. W. (Eds.). **Methods in lignin chemistry**. New York, USA, 1992.

HENNION, M. C. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 856, p.3-54, 1999.

HIEMENZ, P. C. **Principles of colloid and surface chemistry**. New York: Dekker, 1987.

HOLTZCLAW, K. M.; SPOSITO, G. Analytical properties of soluble, metal-complexing fractions in sludge-soil mixtures: IV. Determinations of carboxyl groups in fulvic acid. **Soil Science American Journal**, v. 43, p. 318-323, 1979.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Sorption of dyes and copper ions onto biosorbents. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 1047-1061, 2003.

HUFFMAN, E. W. D.; STUBER, H. A. Analytical methodology for elemental analysis in humic substances. In: AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MCCARTHY, P. (Eds.). **Humic substances in soil, sediment, and water. Geochemistry, isolation, and characterization**, Wiley, New York, USA, 1985. p. 433-455.

HUMERES, E.; DEBACHER, N. A.; GONZÁLEZ, G. **Química dos colóides: princípios básicos & aplicações**. Florianópolis: Departamento de Química – UFSC, 1998. p. 110.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Estudo das possibilidades de aproveitamento de turfa no estado de São Paulo**. São Paulo: Relatório 12.761, 1979.

INTERNET. <http://www.peatsociety.fi> Home-page da International Humic Substances Society. Capturado em 10 de outubro, 2006.

_____ <http://www.ihss.gatech.edu> Home-page da International Humic Substances Society. Capturado em 27 de novembro, 2006.

IOSELIS, P.; RUBINSZTAIN, Y.; IKAN, R.; AIZENSHTAI, Z.; FRENKEL, M. Thermal characterization of natural and synthetic humic substances. **Organic Geochemistry**, v. 8, p. 95-101, 1985.

JANOS, P. Separation methods in the chemistry of humic substances. **Journal of Chromatography A**, v. 983, p. 1-18, 2003.

JONES, K. D.; HUANG, W. Evaluation of toxicity of the pesticides, chlorpyrifos and arsenic, in the presence of compost humic substances in aqueous systems. **Journal of Hazardous Materials B**, v. 103, p. 93-105, 2003.

KANGO, R. A.; QUINN, J. G. A combined reverse-phase and purge and trap chromatographic method to study the interaction of volatile organic compounds with dissolved humic acid in aqueous solutions. **Environmental Science and Technology**, v. 26, p. 163-165, 1992.

KAWAHIGASHI, M.; FUJITAKE, N.; TAKAHASHI, T. Structural information obtained from spectral analysis (UV-Vis, IR, ¹H-NMR) of particle size fractions in two humic acids. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 42, p. 355-360, 1996.

KERNDORFF, H.; SCHNITZER, M. Humic and fulvic acids as indicators of soil and water pollution. **Water, Air, Soil Polluted**, v. 12, p. 319-329, 1979.

KILLOPS, S. D.; KILLOPS, V. J. **An Introduction Organic Geochemistry**. New York: John Willey and Sons, 1993. p. 95-106.

KNOCKE, W. R.; HEMPHILL, L. H. Mercury (II) sorption by waste rubber. **Water Research**, v. 15, p. 275-282, 1981.

KONOVA, M. M. **Soil organic matter, its nature, its role in soil formation and soil fertility**. Oxford: Pergamon Press, 1966. p. 124-151.

KORDEL, W.; DASSENAKIS, M.; LINTELMANN, J.; PADBERG, S. The importance of natural organic matter for environmental processes in waters and soils. **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, p. 1571-1600, 1997.

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, p. 78-82, 2002.

LAGERGREN, S. K. Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe. **Kung. Sven. Vetenskapsakad. Handl**, v. 24, p. 1-39, 1898.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases in a plane surfaces of glass, mica and platinum. **Journal of American Chemical Society**, v. 40, p. 1361-1403, 1918.

LEENHEER, J. A.; WERSHAW, R. L.; REDDY, M. M. Strong-acid, carboxyl-group structures in fulvic acid from the Suwannee River, Georgia. 1. Minor structures. **Environmental Science and Technology**, v. 29, p. 393-398, 1995.

LEINWEBER, P.; SCHULTEN, R.; HORTE, C. Differential thermal analysis, thermogravimetry and in-source pyrolysis-mass spectrometry studies on the formation of soil organic matter. **Thermochimica Acta**, v. 200, p.151-167, 1992.

LIANG, B. C.; GREGORICH, E. G.; SCHNITZER, M.; SCHULTEN, H. R. Characterization of water extracts of two manures and their adsorption on soil. **Soil Science of Society America Journal**, v. 60, p. 1758-1763, 1996.

LINGEMAN, H.; HOEKSTRA-OUSSOREN, S. J. F. Particle-loaded membranes for sample concentration and/or clean-up in bioanalysis. **Journal of Chromatography B**, v. 689, p. 221-237, 1997.

LIU, R.; ZHOU, J. L.; WILDING, A. Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and esterooids in water by solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1022, p. 179-189, 2004.

LOBARTINI, J. C.; TAN, K. H.; REMA, J. A.; GINGLE, A. R.; PAPE, C.; HIMMELSBACH, D. S. The geochemical nature and agricultural importance of commercial humic matter. **Science of the Total Environment**, v. 113, p. 1-15, 1992.

LOBARTINI, J. C.; TAN, K. H. Differences in humic acids characteristics as determined by carbon-13 nuclear magnetic resonance, scanning electron microscopy, and infrared analysis. **Soil Science of America Journal**, v. 52, p. 125-130, 1988.

LORENZ, K.; PRESTON, C. M.; KANDELER, E. Soil organic matter in urban soils: Estimation of elemental carbon by thermal oxidation and characterization of organic matter by solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. **Geoderma**, v. 130, p. 312-323, 2006.

MALCOLM, R. L. Applications of solid-state ¹³C NMR spectroscopy to geochemical studies of humic substances. In: HAYES, M. H. B.; MACCARTHY, P.; MALCOLM, R. L.; SWIFT, R. S. (Eds.). **Humic substances II: in search of structure**. New York: John Wiley & Sons, 1989. p.309-372.

MANAHAN, S. E. Interactions of hazardous-waste chemical with humic substances. In: SUFFET, I. H.; MacCARTHY, P. (Eds.). **Aquatic humic substances: influence on fate**

and treatment of pollutants. Washington, D. C. American Chemical Society, 1989. p. 83-92.

MARSHALL, S. J.; YOUNG, S. D.; GREGSON, K. Humic acid-proton equilibria: a comparison of two models and assessment of titration error. **European Journal of Soil Science**, v. 46, p. 471-480, 1995.

MARTELL, A. E. **The design and synthesis of chelating agents.** New York: Elsevier, 1981.

MARTELL, A. E.; MOTEKAITIS, R. J. **Determination and use of stability constants.** New York: VCH Publishers, 1992.

MARTELL, A. E.; SMITH, R. M. **Critical stability constants. Volume 3: other ligands.** New York and London: Plenum Press, 1977a.

MARTELL, A. E.; SMITH, R. M. **Critical stability constants. Volume 1: amino acids.** New York and London: Plenum Press, 1977b.

MASINI, J. C.; ABATE, G.; LIMA, E. C.; HAHN, L.C.; NAKAMURA, M. S.; LICHTIG, J.; NAGATOMY, H. R. Comparison of methodologies for determination of carboxylic and phenolic groups in humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 364, p. 223-233, 1998.

MATHAVAN, G. N.; VIRARAGHAVAN, T. Use of peat in the treatment of oily waters. **Water Air Soil Pollutant**, v. 45, p. 17-26, 1989.

MCKAY, G.; ALLEN, S. J. Surface mass transfer processes using peat as an adsorbent for dyestuffs. **Canadian Journal of Chemistry Engineering**, v. 58, p. 521-526, 1980.

MCLELLAN, J. K.; ROCK, C. A. The application of peat in environmental pollution control: a review. **International Peat Journal**, v. 1, p. 1-14, 1986.

MEYERS, P. A.; ISHIWATARI, R. Lacustrine organic geochemistry – an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. **Organic Geochemistry**, v. 26, p. 867-900, 1993.

MILNE, C. J.; KINNIBURGH, D. G.; TIPPING, E. Generic NICA-Donnan model parameters for proton binding by humic substances. **Environmental Science and Technology**, v. 35, p. 2049-2059, 2001.

PANDAY, K. K.; PRASAD, G.; SINGH, V. N. Removal of Cr(VI) from aqueous solution by adsorption on fly ash Wollastonite. **Journal of Chemistry Technology Biotechnology**, v. 34, p. 367-374, 1984.

PAXÉUS, N.; WEDBORG, M. Acid-base properties of aquatic fulvic acid **Analytica Chimica Acta**, v. 169, p. 87-98, 1985.

PERDUE, E. M. Acidic functional groups of humic substances. In: AIKEN, G. R., *et al.* (Eds.). **Humic substances in soil, sediment and, water: geochemistry, isolation, and characterization**. New York. John Wiley and Sons, 1985. p. 493-526.

PERDUE, E. M.; REUTER, J. H.; GHOSAL, M. The operational nature of acidic functional groups analyses and its impact on mathematical descriptions of acid-base equilibria in humic substances. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 44, p. 1841-1851, 1980.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, v. 64, p. 227-229, 2002.

PETERSEN, R. C. Effects of ecosystem changes (eg, acid status) on formation and biotransformation of organic acids. In: PERDUE, E. M.; GJESSING, E. T. (Eds.). **Organic acids in aquatic ecosystems**. Springer, 1990. p. 151- 66.

POTGIETER, J. H. Adsorption of methylene blue on activated carbon. **Journal of Chemical Education**, v. 68, 349-350, 1991.

PRADO, A. G. S.; MIRANDA, B. S.; JACINTHO, G. V. M. Interaction of índigo carmine dye with sílica modified with humic acids at solid/liquid interface. **Surface Science**, v. 542, p. 276-282, 2003.

PRESTON, C. M. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. **Soil Science**, v. 161, p. 144-166, 1996.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, p. 68-76, 2001.

QUEIROZ, S. C. N.; MELO, L. F. C.; JARDIM, I. C. S. F. Novos sorventes baseados em poli(metiloctilsiloxano) sobre sílica para uso em extração em fase sólida. **Química Nova**, v. 29, p. 637-640, 2006.

RASHID, M. A. **Geochemistry of marine humic compounds**. New York: Springer-Verlag, 1985. p. 67-90.

RICE, J. A.; MaCCARTHY, P. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. **Organic Geochemistry**, v. 17, p. 635-648, 1991.

RITCHIE, J. D.; PERDUE, E. M. Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 67, p. 85-96, 2003.

ROSA, H. A.; ROCHA, J. C.; FURLAN, M. Substâncias húmicas de turfa: estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. **Química Nova**, v. 23, p. 472-476, 2000.

ROUBEUF, V.; MOUNIER, S.; BENAÏM, J. Y. Solid phase extraction applied to natural waters: efficiency and selectivity. **Organic Geochemistry**, v. 31, p. 127-131, 2000.

SAAR, R. A.; WEBWER, J. H. Fulvic acid: modifier of metal-ion chemistry. **Environmental Science and Technology**, v. 16, p. 866-872, 1982.

SANTOS, E. B. H.; ESTEVES, V. I.; RODRIGUES, J. P. C.; DUARTE, A. C. Humic substances proton-binding equilibria: assessment of errors and limitations of potentiometric data. **Analytica Chimica Acta**, v. 392, p. 333-341, 1999.

SANTOS, G. A.; CAMARGO, F. A. O. **Fundamentos da matéria orgânica: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 69-90.

SCHINDLER, D. W.; CURTIS, P. J.; PARKER, B.R.; STANTON, M. P. Consequences of climate warming and lake acidification for UV-B penetration in North American boreal lakes. **Nature**, v. 379, p. 705-708, 1996.

SCHNITZER, M. Humic substances: chemistry and reactions. In: SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. (Eds.). **Soil organic matter**. Amsterdam: Elsevier Publishing Co., 1978. p. 1-64.

SCHNITZER, M.; GUPTA, U. C. Determination of soil organic matter. **Soil Science**, v. 29, p. 74-277, 1965.

SCHNITZER, M.; HOFFMAN, I. N. Pyrolysis of soil organic matter. **Soil Science Society of America Proceedings**, v. 28, p. 520-525, 1964.

SCHNITZER, M.; HOFFMAN, I. N. Thermogravimetry of solid humic compounds. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.29, p.859-870, 1965.

SCHNITZER, M.; KHAN, S. U. **Humic substances in the environment**. New York: Marcel Dekker, 1972. p. 1-55.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. A state of the art structural concept for humic substances. **Naturwissenschaften**, v. 80, p. 29-30, 1993.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. Chemical model structures for soil organic matter and soils. **Soil Science**, v. 162, p. 115-130, 1997.

SEIN, L. T.; VARNUM, J. M.; JANSEN, S. A. Conformational modeling of a new building block of humic acid: approaches to the lowest energy conformer. **Environmental Science & Technology**, v. 33, p. 546-552, 1999.

SEYMOR, M. D.; CLAYTON, J. W.; FERNANDO, Q. Determination of pK_a values of acid components in atmospheric condensates by linearization of segmented titration curves. **Analytica Chimica Acta**, v. 49, p. 1429-1432, 1977.

SHAW, D. J. **Introduction to colloid and surface chemistry**. 4th edition, London: Butterworth-Heinemann, 1994.

SIERRA, M. M. D.; AREND, K.; FERNANDES, A. N.; GIOVANELA, M.; SZPOGANICZ, B. Application of potentiometry to characterize acid and basic sites in humic substances. Testing the BEST7 program with a weak-acid mixture. **Analytica Chimica Acta**, v. 445, p. 89-98, 2001.

SIERRA, M. M. D.; FERNANDES, A. N.; SZPOGANICZ, B. Influence of amide linkages on acidity determinations of humic substances. Testing with model-mixtures. **Talanta**, v. 62, p.687-693, 2004.

SIERRA, M. M. D.; GIOVANELA, M.; PARLANTI, E. I.; ESTEVES, V. I.; DUARTE, A. C.; FRANSOZO, A.; SORIANO-SIERRA, E. J. Structural description of humic substances from subtropical coastal environments using elemental analysis, FT-IR and ¹³C-solid NMR data. **Journal of Coastal Research**, v. 42, p. 370-382, 2005.

SKJEMSTAD, R. J.; CLARKE, P.; TAYLOR, J. A.; OADES, J. M.; NEWMAN, R. H. The removal of magnetic materials from surface soils. A solid state ^{13}C CP/MAS NMR study. **Australian Journal Soil Research**, v. 32, p. 1215-1229, 1994.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Análise Instrumental**. 5^a edição, Porto Alegre: Bookman, 2002.

SMERNIK, R. J., Solid-state ^{13}C NMR spectroscopic studies of soil organic matter at two magnetic field strengths. **Geoderma**, v.125, p. 249-271, 2005.

SOUZA, C. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P. Degradação de corante reativos pelo sistema ferro metálico / peróxido de hidrogênio. **Química Nova**, v. 28, p. 226-228, 2005.

STEELINK, C. Implications of elemental characteristics of humic substances. In: AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MacCARTHY, P. **Humic substances in soil, sediments and water**. (Eds). New York: Wiley Interscience, 1985. p. 457-476.

STEINBERG, C. E. W.; HAITZER, M.; BRQGGEMANN, R.; PERMINOVA, I. V.; YASHCHENKO, N. Y.; PETROSYAN, V. S. Towards a quantitative structure activity relationship (QSAR) of dissolved humic substances as detoxifying agents in freshwaters. **International Reviews in Hydrobiology**, v. 85, p. 253-266, 2000.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry: genesis, composition, and reactions**. New York: John Willey and Sons, 1994.

STUERMER, D. H.; PETERS, K. E.; KAPLAN, I. R. Source indicators of humic substances and protokerogen: state isotope rations, elemental composition and electron-spin resonance spectra. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 42, 1978. p. 989-997.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. **Aquatic chemistry – chemical equilibrium and rates in natural waters**. 3rd edition, New York: John Wiley & Sans, 1996.

SUFFET, I. H.; MACCARTHY, P. **Aquatic humic substances: Influence on fate and treatment of pollutants**. Advances in Chemistry, Series 219. American Chemical Society, 1989.

SUN, Q.; YANG, L. The adsoption of basic dyes from aqueous solution on modified peat-resin particle. **Water Research**, v. 37, p. 1535-1544, 2003.

TAM, S. C.; SPOSITO, G.; SENNESI, N. Spectroscopic and chemical evidence of variability across a pine litter layer. **Soil Science Society of America Journal**, v. 55, p. 1320-1325, 1991.

THURMAN, E. M.; AIKEN, G. R.; EWALD, M.; FISHER, W. R.; FÖRSTENER, U.; HACK, A. H. Isolation of soil aquatic humic substances. In: CHRISTMAN, F. H. F.; CHRISTMAN, R. F. (Eds.). **Humic substances and their role in environment**. Berlin: John Wiley & Sons Limited, 1988, p. 31-43.

THURMAN, E. M.; MALCOLM, R. L. Preparative isolation of aquatic humic substances. **Environmental Science and Technology**, v. 15, p. 463-466, 1981.

TIPPING, E. Humic ion-binding Model VI: An improved description of the interactions of protons and metals ions with humic substances. **Aquatic Geochemistry**, v. 4, p. 3-48, 1998.

TOLLER, G.; FLAIM, G. M. A filtering unit for the removal of pesticide residues from aqueous solutions. **Water Research**, v. 22, p. 657-661, 1988.

TRAINA, S. J.; NOVAK, J.; SMECK, N. E. An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. **Journal of Environmental Quality**, v. 19, p. 151-153, 1990.

VER, L. M. B.; MACKENZIE, F. T.; LERMAN, A. Biogeochemical responses of the carbon cycle to natural and human perturbations: past, present and future. **American Journal of Science**, v. 299, p. 762-801, 1999.

VON POST, L. **Committee Soil Science**, p. 287-304, 1924.

WEBER, W. J.; MORRIS, J. C. Kinetics of adsorption on carbon from solution. **Journal of Sanitary Engineering Division American Society Civil Engineering**, v. 89, p. 31-60, 1963.

WOOD, S. A. The role of humic substances in the transport and fixation of metals of economic interest (Au, Pt, Pd, U, V). **Ore Geology Reviews**, v. 11, p. 1-31, 1996.

ZHOU, P.; YAN, H.; GU, B. Competitive complexation of metals ions with humic substances. **Chemosphere**, v. 58, p. 1327-1337, 2005.