



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**Centro de Ciências Físicas e Matemáticas – CFM**  
**Departamento de Química**

Extração, Caracterização de Substâncias Húmicas  
e Avaliação da Capacidade em Agregar Pireno em Meio  
Aquoso

Luciano Tormen

Orientadora

Dra. M<sup>a</sup> Marta de S. Sierra

Florianópolis, Novembro de 2005.

Luciano Tormen

Extração, Caracterização de Substâncias Húmicas  
e Avaliação da Capacidade em Agregar Pireno em Meio  
Aquoso

Trabalho de Conclusão de Curso de Química Bacharelado, elaborado durante o semestre 2005-2. Apresentado pela disciplina QMC 5510 – Estágio Supervisionado, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química.

**Coordenador de Estágio:** Prof.<sup>a</sup> Dra. Iolanda da Cruz Vieira

**Orientador(a) do Estágio:** Prof.<sup>a</sup> Dra. M<sup>ª</sup> Marta de S. Sierra

Florianópolis / SC  
Semestre 2005 – 2.

“A velhice acalma muitas coisas, mas o amor incipiente é sensível a tudo”

Públio Ovídio Nasão

“Enquanto o amor novo anda sem destino, deve juntar suas forças pelo uso; se o alimentas bem, tornar-se-á firme com o tempo. O touro que temes, tinhas o costume de acariciá-lo quando novilho; a árvore sob a qual agora te deitas foi uma varinha; o rio nasce pequeno, mas adquire volume correndo, e, por onde vai, recebe muitas águas”

Públio Ovídio Nasão

“Nem mesmo o brilho do sol, a radiação que sustenta o dia, pode dispersar o terror que reside na cabeça das pessoas. Apenas a compreensão das várias manifestações naturais e seus mecanismos internos tem o poder de derrotar esse medo. Nada pode ser criado pelo poder divino a partir do nada. As pessoas vivem aterrorizadas porque não compreendem as causas por trás das coisas que acontecem na terra e no céu, atribuindo-as cegamente aos caprichos de algum Deus”

Lucrécio, 96 – 55 A.C.

“A coragem intelectual de quem busca o conhecimento é o antídoto contra a cegueira causada pela repressão e pelo medo.”

Pensamento dos Gregos durante o governo de Péricles, 461 – 429 A.C.

## **AGRADECIMENTOS**

- Agradeço em primeiro lugar a família, pelo apoio e dedicação.
- A minha irmã Sílvia, que por estar mais perto de mim, pode me ouvir nos momentos de dificuldade.
- Aos amigos Douglas, Sandro e Nonino pelos momentos de alegria em que passamos juntos.
- Ao grande amigo Izoldir, deu muito trabalho no dia do trote, mas durante o curso pude aproveitar de sua experiência e aprender muito.
- Aos colegas de classe.
- A minha namorada Andresa. Ufa, não foi fácil achar essa (que me suportasse)! Pelo amor, carinho e paciência em me ouvir.
- Aos colegas do laboratório 214 e 216, em especial a Andréia, Carlos, Eduardo, Thalita e Fabrício por tudo o que me ensinaram.
- Aos excelentes professores que tive: Augusto Ceccato e César Zucco da QMC e Eleutério Conceição e Paulo César D'Anjello da FSC.
- A professora Tereza Cristina pelo apoio e confiança nos primeiros passos no departamento de Química.
- A professora Marta pelo apoio, confiança, dedicação e os ensinamentos transmitidos, os quais tornaram possível a conclusão deste. Não deve ser fácil suportar um orientando tão inquieto!
- A banca examinadora, em especial o professor Eduardo pelo esforço e dedicação em manter a qualidade da disciplina físico-Química experimental II.
- Ao departamento de química.
- A Universidade Federal de Santa Catarina pelas oportunidades que me proporcionou.
- E a natureza, que desperta nossa curiosidade e embriaga nossas almas com sua magnífica beleza.

## ÍNDICE GERAL

|            |   |    |
|------------|---|----|
| <b>1</b>   | Introdução .....  | 1  |
| <b>1.1</b> | Formação da MO .....  | 1  |
| <b>1.2</b> | Classificação, Origem e Características Estruturais e Químicas das SH ..... | 3  |
| <b>1.3</b> | Importância das Substâncias Húmicas na Mobilidade de Poluentes .....        | 7  |
| <b>1.4</b> | Método da SF na Determinação de Constantes de Equilíbrio .....              | 8  |
| <b>2</b>   | Objetivos .....   | 12 |
| <b>3</b>   | Materiais e Métodos .....   | 13 |
| <b>3.1</b> | Reagentes .....   | 13 |
| <b>3.2</b> | Equipamentos .....  | 13 |
| <b>3.3</b> | Amostragem .....  | 16 |
| <b>3.4</b> | Ativação da Resina Amberlite 200 .....                                      | 16 |
| <b>3.5</b> | Ativação da Resina Supelite XAD 8 .....                                     | 16 |
| <b>3.6</b> | Método de Extração das SH .....   | 17 |
| <b>3.7</b> | Determinação das Constantes de Associação SH – Pireno .....                 | 18 |
| <b>3.8</b> | Extração de Pireno de Solução de SH .....                                   | 18 |
| <b>4</b>   | Resultados e Discussão .....  | 20 |
| <b>4.1</b> | Análise Elementar .....   | 20 |
| <b>4.2</b> | Espectroscopia de Infravermelho .....                                       | 21 |
| <b>4.3</b> | Constantes de Associação SH – Pireno .....                                  | 23 |
| <b>4.4</b> | Extração de Pireno de Solução de SH .....                                   | 26 |
| <b>5</b>   | Conclusão .....   | 28 |
| <b>6</b>   | Referências Bibliográficas .....  | 29 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Esquema geral do ciclo do carbono .....   | 2  |
| <b>Figura 2.</b> Esquema simplificado da reação de <i>Maillard</i> .....   | 3  |
| <b>Figura 3.</b> Esquema simplificado do processo de humificação .....   | 4  |
| <b>Figura 4.</b> Estrutura proposta para a molécula de AH .....  | 5  |
| <b>Figura 5.</b> Estrutura química parcial proposta para AF.....   | 5  |
| <b>Figura 6.</b> Modelos estruturais de Building Blocks .....  | 6  |
| <b>Figura 7.</b> Diagrama parcial de energia de um sistema fotoluminescente .....                                | 9  |
| <b>Figura 8.</b> Estrutura química do pireno .....   | 10 |
| <b>Figura 9.</b> Geometria da célula para medidas de fluorescência .....   | 11 |
| <b>Figura 10.</b> Fluxograma do processo de extração das SH .....  | 15 |
| <b>Figura 11.</b> Ilustração do aparato utilizado na remoção de pireno livre em<br>solução de AH .....           | 17 |
| <b>Figura 12.</b> Espectros de infravermelho de AF e AH .....  | 20 |
| <b>Figura 13.</b> Supressão fluorescência de pireno em presença de AH solo .....                                 | 21 |
| <b>Figura 14.</b> Gráfico de Stern – Volmer para AH para AH solo .....   | 23 |
| <b>Figura 15.</b> Variação dos valores I e III do pireno com a concentração de AH<br>de solo .....               | 24 |
| <b>Figura 16.</b> Espectros de fluorescência do pireno recuperado a partir de soluções<br>contendo AH solo ..... | 25 |

## **ÍNDICE DE TABELAS**

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1.</b> Composição elementar de AH e AF de solos .....                  | 6  |
| <b>Tabela 2.</b> Abundância de grupos funcionais oxigenados em AH e AF.....      | 7  |
| <b>Tabela 3.</b> Análise elementar das amostras de AF e AH e suas relações ..... | 18 |
| <b>Tabela 4.</b> Interação de pireno - AH solo .....                             | 22 |
| <b>Tabela 5.</b> Constantes de associação entre pireno e SH .....                | 23 |
| <b>Tabela 6.</b> Extração de pireno de soluções de SH .....                      | 26 |

## **LISTA DE ABRAVIATURAS E SÍMBOLOS**

|                   |   |
|-------------------|---|
| MO                | Matéria Orgânica  |
| MOD               | Matéria Orgânica Dissolvida                               |
| SH                | Substâncias Húmicas                                       |
| AH                | Àcido Húmico  |
| AF                | Àcido Fúlvico   |
| HPA               | Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos                   |
| I                 | Primeira Banda de Emissão do Pireno                       |
| III               | Terceira Banda de Emissão do Pireno                       |
| SF                | Supressão de Fluorescência                                |
| EFI               | EFI Efeito de Filtro Interno                              |
| $I_0$             | Feixe de Radiação na Excitação                            |
| S                 | Largura do Feixe de Excitação                             |
| g                 | Distância da Parede da Célula ao Feixe de Radiação        |
| d                 | Caminho Ótico   |
| $F_{obs}$         | Fluorescência Observada                                   |
| $F_{corr}$        | Fluorescência Corrigida                                   |
| $A_{ex}$          | Absorção no Comprimento de Onda de Excitação              |
| $A_{em}$          | Absorção no Comprimento de Onda de Emissão                |
| PF                | PF Poluentes Fluorescentes                                |
| PI - SH           | Pireno Associado às SH                                    |
| $K_b$             | Constante de Stern – Volmer                               |
| $C_{PI}$          | Concentração Total de Pireno                              |
| $F_0$             | Intensidade de Fluorescência na Ausência de SH            |
| F                 | Intensidade de Fluorescência na Presença de SH            |
| IHSS              | International Humic Substances Society                    |
| HCl               | Ácido Clorídrico  |
| HF                | Ácido Fluorídrico   |
| NaOH              | Hidróxido de Sódio  |
| AgNO <sub>3</sub> | Nitrato de Prata  |
| $CR_{EFI}$        | Fator de Correção Aplicado à $F_{obs}$ Devido ao EFI      |
| CO                | Carbono Orgânico  |
| $K_{co}$          | Constante de Stern – Volmer Normalizada ao Conteúdo de CO |



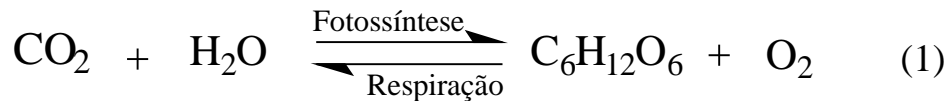
## **RESUMO**

As substâncias húmicas (SH), por representarem a maior parte da matéria orgânica dissolvida, são as principais responsáveis na regulação dos processos de degradação e disponibilidade de poluentes orgânicos hidrofóbicos aos ecossistemas. Neste trabalho, SH de diferentes ambientes foram extraídas e caracterizadas por análise elementar e espectroscópica, e através da técnica de supressão de fluorescência, foi determinada sua capacidade de agregar pireno em meio aquoso. Os resultados mostram que as SH têm características bem definidas com a origem da MO e chegam a agregar mais de 80 % do pireno.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Formação da Matéria Orgânica

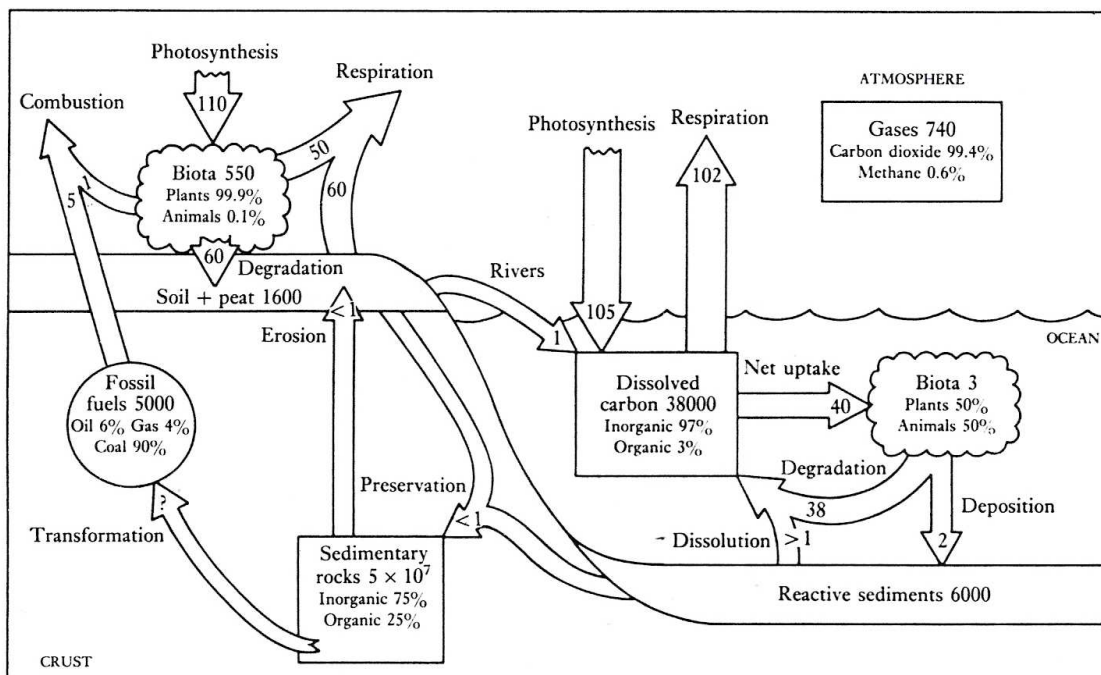
Na História geológica da terra, até dois bilhões de anos atrás a atmosfera terrestre era predominantemente constituída de dióxido de carbono, caracterizando-se num ambiente redutor. Com o surgimento dos primeiros seres fotossintetizantes, que utilizam a energia solar para a conversão da água e dióxido de carbono em carboidratos e oxigênio (equação 1), a Terra transformou-se no único planeta do sistema solar com atmosfera oxidante.



Os principais organismos fotossintetizantes são as plantas superiores, fitoplâncton e cianobactérias. Os principais produtores de matéria orgânica (MO) são em ordem: fitoplâncton, bactérias, plantas superiores e zooplâncton (Killops & Killops, 1993).

A energia solar, estocada nos tecidos orgânicos dos organismos é transferida ao longo da cadeia alimentar, sendo que parte desta é excretada como MO.

Estes fenômenos estão incorporados no que chamamos de ciclo do carbono, onde a entrada e saída de carbono de seus reservatórios estão num amplo equilíbrio, Figura 1.



**Figura 1.** Esquema geral do ciclo do carbono.

As transformações ocorridas nos rejeitos da produção primária influenciam fortemente, principalmente durante a diagênese, a forma da MO preservada nos sedimentos, onde diferentes classes de compostos são degradadas a diferentes taxas e somente alguns compostos permanecem numa forma reconhecível (Killops & Killops, 1993). Dependendo das condições físico-químicas e da natureza da população microbiana, alguns compostos orgânicos, tais como carboidratos, açúcares e alguns aminoácidos são facilmente mineralizados ou utilizados por outros microrganismos, enquanto que fenóis, polifenóis e compostos aromáticos são resistentes à degradação (Rashid, 1985).

Após as mais variadas reações a MO pode apresentar-se, dissolvida (MOD) ou particulada insolúvel sendo classificada em duas categorias de acordo com o tamanho molecular (Duffy & Vanloon, 2000):

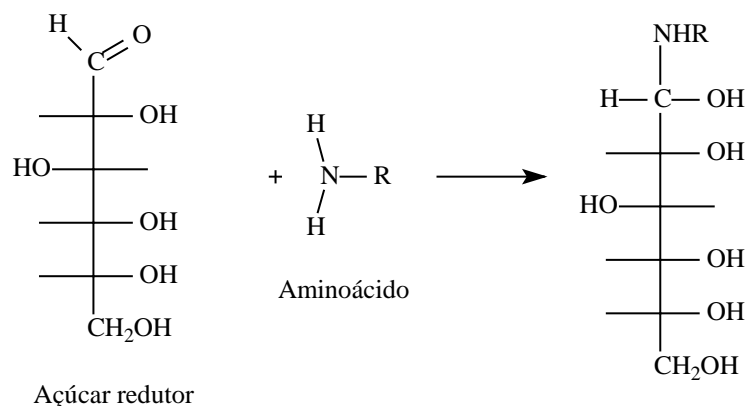
- Moléculas pequenas discretas como monossacarídeos ou ácidos orgânicos de baixa massa molar. Estas moléculas têm estruturas e propriedades individuais.
- Macromoléculas, as quais são classificadas em termos de propriedades estruturais e reatividade, entre as quais estão as substâncias húmicas (SH).

## 1.2 Classificação, Origem e Características Estruturais e Químicas das SH

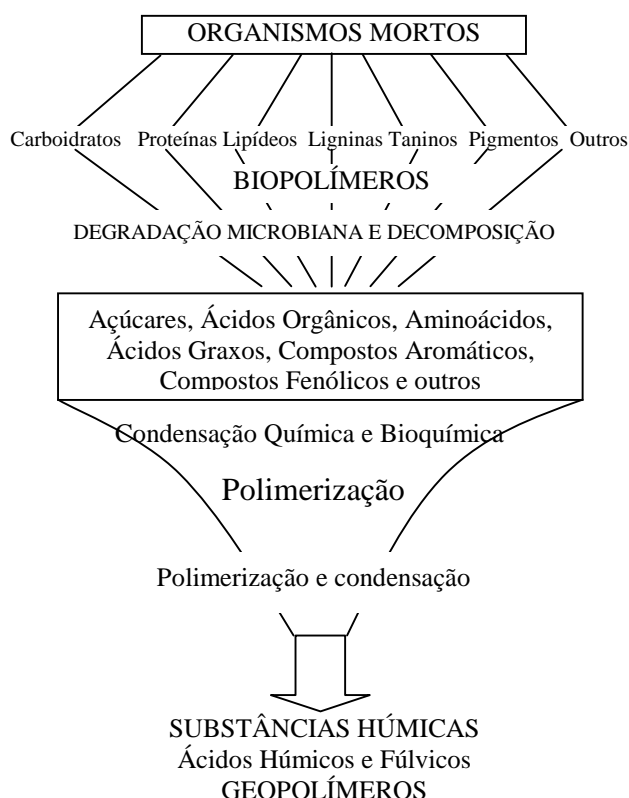
O termo SH descreve três grupos de substâncias, sendo estas definidas pelo fracionamento do material húmico, tradicionalmente realizado pela dissolução com base, a qual dissolve os ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF), permanecendo um resíduo insolúvel de humina. A acidificação do extrato alcalino precipita os AH, permanecendo os AF em solução (Killops & Killops, 1993).

As SH são resultantes de processos químicos e bioquímicos dos produtos do decaimento, degradação e transformação microbiana de constituintes celulares, representando 50 à 80 % da MO nas águas, sedimentos, solos, turfas e outros ecossistemas. Elas são substâncias amorfas, ácidas, heterogêneas, hidrofílicas, polidispersas, poliméricas de elevada massa molar e de elevada complexidade estrutural, tendo uma série de compostos aromáticos e alifáticos integrados à sua identidade (Rashid, 1985).

Com relação à sua origem são considerados dois processos. O primeiro destes sugere que as SH são formadas por “processos degradativos”, onde são consideradas as transformações biológicas de moléculas orgânicas por microrganismos tais como ligninas, polissacarídeos, proteínas, cútinas, melaninas e siberinas. A segunda hipótese, “processos sintéticos”, considera que macromoléculas orgânicas são inicialmente degradadas a pequenas moléculas, as quais são repolimerizadas para formar as SH pela reação “Dourada” (Figura 2) introduzida por Maillard (Hayes, 1991). Uma proposta do processo de humificação é dada na Figura 3.



**Figura 2.** Esquema simplificado da reação da Maillard (Hayes, 1991).



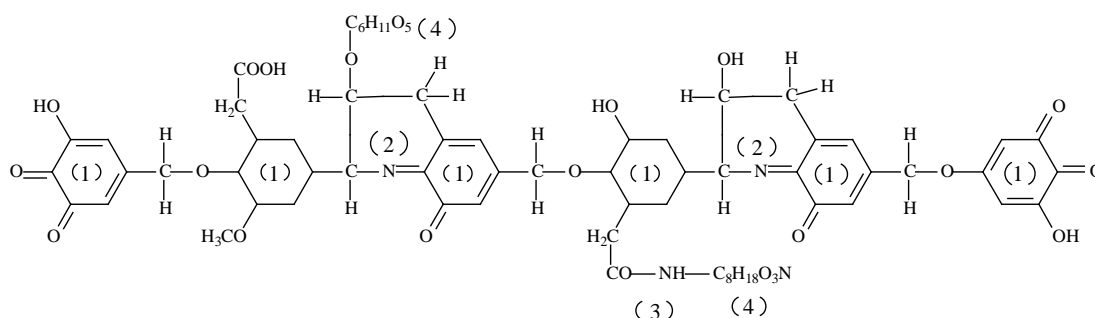
**Figura 3.** Esquema simplificado do processo de humificação (Rashid, 1985).

A natureza química e as características das SH variam com a origem do material biológico, e as propriedades físico-químicas do meio em que são formadas. Sob condições anóxicas as taxas de decomposição e mineralização da MO são mais baixas do que em ambientes oxigenados, assim os produtos finais formados sob condições aeróbicas e anaeróbicas apresentam diferentes propriedades estruturais e químicas.

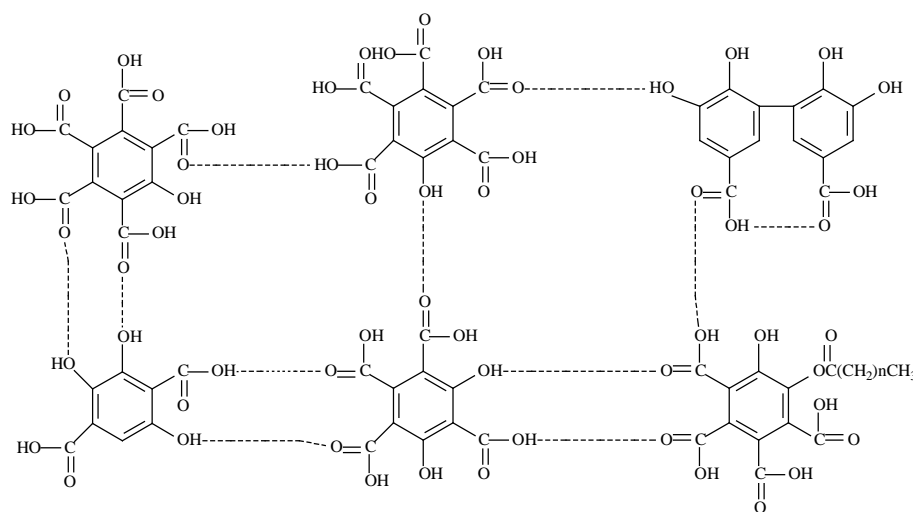
É reconhecido que estas estruturas são constituídas de cernes aromáticos ligados a cadeias alifáticas e que a relativa proporção de compostos aromáticos e alifáticos varia de acordo com a origem da biomassa. Devido à larga ocorrência de ligninas, taninos e outros polifenóis em plantas terrestres, as SH terrestres são ricas em compostos com cernes aromáticos e fenólicos (Rashid, 1985). As SH de aquáticas são em geral mais alifáticas e nitrogenadas que SH de ambientes terrestres, devido a presença de algas e bactérias que contém elevadas quantidades de lipídeos e proteínas (Killops & Killops, 1993).

Considerando que aminoácidos, carboidratos, lipídeos, mono aromáticos, poliaromáticos, fenóis, polifenóis, ácidos benzeno carboxílicos, ácidos carboxílicos alifáticos, ácidos graxos e alcanos dão origem às SH, temos que a

composição destas representa a combinação de todas estas entidades em diferentes configurações e combinações. Como resultado, temos estruturas tridimensionais diversas, de diferentes massas molares, dependendo do grau de humificação. As fórmulas apresentadas na literatura (Figuras 4 e 5) são consideradas apenas como tentativas (Rashid, 1985).

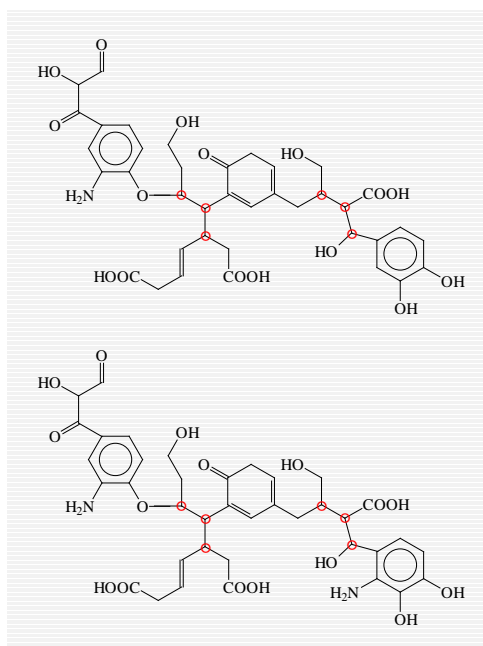


**Figura 4.** Estrutura da molécula de AH proposta por Kononova (1966): 1- anel aromático derivado de Di e Tri – hidroxifenól; 2- nitrogênio em formas cíclicas; 3 - resíduos de aminoácidos; 4- resíduos de carboidratos.



**Figura 5.** Estrutura química parcial de AF proposta por Schnitzer (1978).

Estudos mais recentes, por outro lado, tem levado à acreditar que as SH contrariamente aos modelos macromoleculares até então propostos, podem consistir de agregados de moléculas menores, apresentando uma espécie de “fórmula unitária média universal” (Sein *et al.*, 1999). Assim as SH seriam formadas por associações de moléculas relativamente pequenas, denominadas “building blocks”, unidas por interações supramoleculares Figura 6.



**Figura 6.** Modelos estruturais de “building blocks” (Sein *et al.*, 1999).

Os AH aparentemente têm massa molar maior, são mais ricos em C e mais pobres em oxigênio se comparados aos AF. Isso ocorre devido ao processo de desfuncionalização durante a diagênese o que leva a formação de uma estrutura mais aromática e apolar (Rashid, 1985). As diferenças nas composições elementares de AF e AH podem ser observadas na Tabela 1.

**TABELA 1.** COMPOSIÇÃO ELEMENTAR DE AH E AF DE SOLOS, (SCHNITZER, 1978).

| SH | C (%)       | H (%)     | N (%)     | O (%)       | S (%)     |
|----|-------------|-----------|-----------|-------------|-----------|
| AH | 53,6 – 58,7 | 3,2 – 6,2 | 0,8 – 5,5 | 32,8 – 38,3 | 0,1 – 1,5 |
| AF | 40,7 – 50,6 | 3,8 – 7,0 | 0,9 – 3,3 | 39,7 – 49,8 | 0,1 – 3,6 |

Cerca de 25 % de AH e 50 à 60 % das moléculas de AF de solo são constituídas de grupos funcionais, sendo que os principais grupos funcionais são oxigenados e ácidos. Estes grupos dão características tamponantes a solos e sedimentos, além de controlar as propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas das SH. A predominância de um grupo em relação a outro é geralmente determinada pela aeração da MO durante a diagênese e do grau de humificação do sedimento (Rashid, 1985). Na Tabela 2 são dadas as quantidades aproximadas dos principais grupos funcionais oxigenados de SH de solos.

**TABELA 2.** ABUNDÂNCIA DE GRUPOS FUNCIONAIS OXIGENADOS (MMOL/L) EM AH E AF DE SOLOS, (SCHNITZER, 1978).

| <b>Grupos</b>       | <b>AH</b> | <b>AF</b>  |
|---------------------|-----------|------------|
| <b>Carboxil</b>     | 1,5 – 5,7 | 5,2 – 11,2 |
| <b>Fenól</b>        | 2,1 – 5,7 | 0,3 – 5,7  |
| <b>Álcool</b>       | 0,2 – 4,9 | 2,6 – 9,5  |
| <b>Ceto</b>         | 0,1 – 5,6 | 0,3 – 3,1  |
| <b>Metóxi</b>       | 0,3 – 0,8 | 0,3 -1,2   |
| <b>Acidez total</b> | 5,6 – 8,9 | 6,4 – 14,2 |

### **1.3 Importância das Substâncias Húmicas na Mobilidade de Poluentes**

O destino de poluentes em solos e águas envolve diversos fatores, os quais influenciam simultaneamente na degradação química, fotoquímica e biológica, transporte e acumulação.

Diversos estudos mostram que as SH desempenham um papel importante na atenuação dos efeitos nocivos de poluentes em ambientes naturais. Skogerboe *et al.* (1981) observaram que SH são capazes de promover a redução de certas espécies químicas, sendo que os AF são agentes redutores mais eficientes que os AH. SH em elevadas concentrações chegam a diminuir até 100% da toxicidade do arsênio e do inseticida chlorpyrifos (Jones *et al.*, 2003), são capazes de aumentar a solubilidade de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) (Gschwend *et al.*, 1992) e de pesticidas, diminuindo sua disponibilidade ao ambiente (Carter *et al.*, 1982).

Entre os modos de interação estão a adsorção, partição, catálise, hidrólise, dealquilação, sendo que o modo de interação depende do tamanho, forma, configuração, estrutura molecular, funções químicas, solubilidade, polaridade, polarizabilidade e distribuição de carga tanto do poluente quanto das SH (Rashid, 1985). A adsorção é o mais importante dos modos de interação de poluentes e SH, entretanto a maior questão é a reversibilidade do processo, sendo que resíduos tóxicos podem ser liberados com o tempo. Os outros modos de interação com poluentes formam intermediários ou produtos de degradação com toxicidade, mobilidade e persistência diferentes daqueles na ausência das SH (Senesi, 1992).

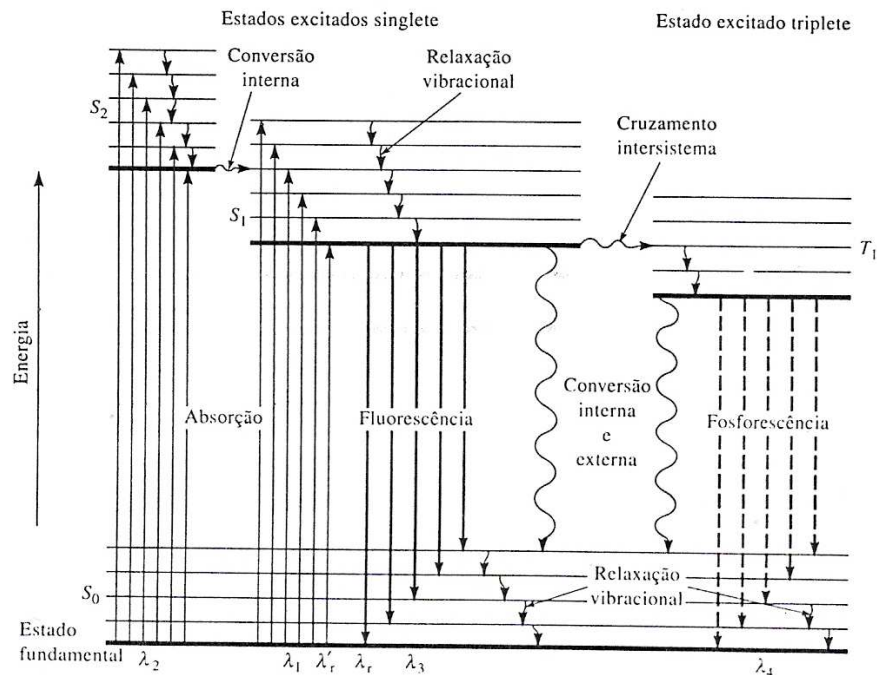


Muitos estudos também evidenciam o fenômeno de partição como um importante modo de interação entre SH e poluentes hidrofóbicos. Em ecossistemas aquáticos, a MOD a qual é constituída de estruturas anfífilas parece interagir com minerais ou compostos apolares de maneira análoga aos surfactantes (Wershaw, 1993). Estudando a interação de SH com sondas moleculares, Wandruszka (1998), por exemplo, propôs que SH em presença de compostos apolares podem auto organizar-se formando pseudomicelas com cavidades hidrofóbicas. Em AH, com maior quantidade de cadeias alifáticas o efeito é mais evidente devido à flexibilidade das estruturas. Com o intuito de verificar a formação de micelas em SH, Rauen *et al.* (2002) observaram que a tensão superficial de soluções de AH tem perfil semelhante às soluções de surfactantes e apresentam concentração micelar crítica na faixa de 1000 à 1200 mg L<sup>-1</sup>, a pH 7. Sierra *et al.*, (2005) realizou estudos de tensão superficial e fluorescência em soluções aquosas de SH assistida por uma sonda molecular (pireno), verificando a tendência das SH em organizar-se formando micro ambientes hidrofóbicos.

#### **1.4 Método da Supressão de Fluorescência na Determinação de Constantes de Equilíbrio**

Quando moléculas são excitadas por radiação eletromagnética, a absorção de radiação promove a passagem dos elétrons a níveis superiores de energia permanecendo em estados singletes ou tripletes com elétrons emparelhados ou desemparelhados respectivamente. Durante o retorno ao estado fundamental, parte da energia absorvida é reemitida, sendo este fenômeno conhecido como luminescência. Se a energia for reemitida a partir do primeiro estado singlete excitado, o fenômeno corresponde à fluorescência, Figura 7.

Uma molécula excitada pode voltar ao seu estado fundamental pela combinação de várias etapas mecánísticas. Se a etapa mais favorável não for radiante, não há fotoluminescência ou esta é pouco intensa. Entre os processos de desativação do estado excitado está a conversão externa ou supressão (Figura 7). A desativação de um estado eletrônico por conversão externa ou supressão de fluorescência (SF) pode envolver a interação e transferência de energia entre a molécula excitada e o solvente e outros solutos (Skoog *et al.*, 2002).

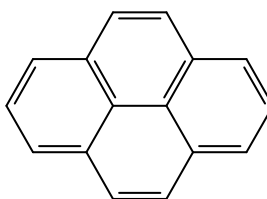


**Figura 7.** Diagrama parcial de energia de um sistema fotoluminescente.

Existem três diferentes tipos de processos de SF que podem ocorrer: estático, dinâmico e aparente. Na supressão estática, um complexo não fluorescente é formado entre o fluoróforo e o supressor. Na supressão dinâmica o supressor deve se difundir até o fluoróforo enquanto este estiver excitado e desativá-lo à um estado não radiante. A supressão aparente não é um processo de supressão como um todo, mas é devido à atenuação da radiação de excitação e/ou absorção da radiação emitida por um excesso de concentração do fluoróforo ou pela presença de outras espécies que absorvam em solução. Este fenômeno é freqüentemente chamado de “Efeito de Filtro Interno” (EFI) (Lakowicz, 1983).

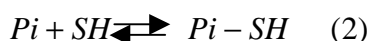
As SH são capazes de suprimir (ou atenuar) a fluorescência de alguns compostos, notadamente HPA, em solução aquosa. Este efeito tem sido usado na determinação das constantes de associação entre poluentes fluorescentes e SH (Gauthier *et al.*, 1986). A SF é um método simples e por não depender da separação do poluente livre e ligado é a técnica mais popular na determinação de constantes de equilíbrio entre poluentes e SH. No restante dos métodos, onde é necessária a separação do poluente livre do ligado, pode ocorrer o rompimento do equilíbrio e levar a variações da constante de ligação (Gauthier, 1986).

A sonda fluorescente mais comumente utilizada nestes estudos é o pireno (Figura 8), por este apresentar características Físico–Químicas semelhantes a outros poluentes orgânicos apolares. Uma das propriedades do pireno, é que este apresenta 5 bandas de emissão, possuindo elevada intensidade de emissão mesmo a baixas concentrações. A banda I (373 nm) mostra um aumento significativo de intensidade com o aumento da polaridade do solvente comparado com a banda III (382 nm), sendo que a razão das intensidades de emissão das bandas I e III serve como uma medida quantitativa da polaridade do solvente (Dong *et al.*, 1982).



**Figura 8.** Estrutura química do pireno.

A técnica da SF por SH é baseada na observação de que a intensidade de fluorescência é proporcionalmente decrescida com a adição de SH. A associação pireno (Pi)/SH pode ser representada pelas equações a seguir, as quais são simples derivações da equação de Stern – Volmer resultantes da supressão estática.



$$K_b = \frac{[Pi - SH]}{[Pi] * [SH]} \quad (3)$$

Onde Pi-SH é o pireno associado a SH e  $K_b$  é a constante de associação. O balanço de massa sobre o pireno é descrito pela equação 4, onde  $C_{Pi}$  é a concentração total de pireno.

$$C_{Pi} = [Pi] + [Pi - SH] \quad (4)$$

Combinando as equações 3 e 4 temos a equação 5.

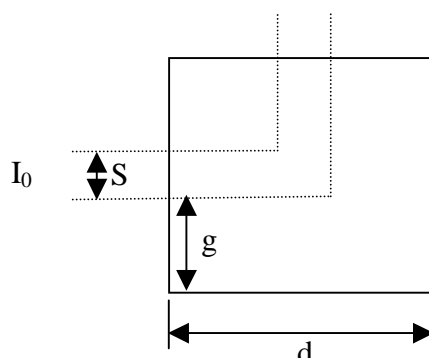
$$\frac{C_{Pi}}{[Pi]} = 1 + K_b [SH] \quad (5)$$

Assumindo que a intensidade de fluorescência é proporcional a concentração de pireno livre na solução, temos:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_b[SH] \quad (6)$$

Onde  $F_0$  e  $F$  são as intensidades de fluorescência do pireno na ausência e presença de SH, respectivamente e  $K_b$  é a constante de Stern – Volmer, que é dada pelo coeficiente angular de um plote de  $F_0 / F$  versus concentração de SH (Gauthier *et al.*, 1986).

Em elevadas concentrações AF e AH absorvem uma significativa quantidade da radiação de excitação e emissão em uma larga faixa de frequências, portanto é necessário realizar a correção do EFI com base na geometria da célula, (Figura 9) e características da solução, como descrito por Parker, 1968 na equação 7.



**Figura 9.** Geometria da célula para medidas de fluorescência.

Os parâmetros da célula de fluorescência, que aplicados à equação 7 tornam possível a correção do EFI são:  $I_0$ , feixe de radiação na excitação;  $S$ , largura do feixe de excitação;  $g$ , distância da parede da célula ao feixe de radiação;  $d$ , caminho ótico.

$$\frac{F_{cor}}{F_{obs}} = \frac{2,3dA_{ex}}{1 - 10^{-dA_{ex}}} * 10^{gA_{em}} * \frac{2,3SA_{em}}{1 - 10^{-SA_{em}}} \quad (7)$$

$F_{obs}$  e  $F_{corr}$  são as intensidades de fluorescência observada e corrigida respectivamente,  $A_{ex}$  e  $A_{em}$  medidas no espectrofotômetro UV-Vis são as absorvâncias por centímetro nos comprimentos de onda de excitação e emissão respectivamente (Parker, 1968).

## **2 OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho foi extrair SH de estuário, solo e turfa, avaliar suas características químicas e espectrais por meio de análise elementar e infravermelho respectivamente, determinar as constantes de associação das SH com pireno por meio da técnica de SF, de forma a correlacionar os resultados com a origem do material.

## **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **3.1 Reagentes**

Os reagentes de grau P.A., acetonitrila, etanol, éter etílico, metanol, HF, NaOH e AgNO<sub>3</sub> foram adquiridos da Carlo Erba Reagenti, Nitrogênio 9.6 adquirido da Write Martins, pireno P.A. da Sigma Aldrich e as resinas Amberlite IRA<sup>®</sup> 200 e Supelite<sup>™</sup> XAD 8 foram adquiridas da Supelco Park.

### **3.2 Equipamentos**

A matéria orgânica foi fracionada numa centrífuga Excelsa Baby modelo 206 / 2.

As soluções foram evaporadas em um rotaevaporador Fisaton modelo 802 e liofilizadas num liofilizador Edwards.

Os espectros de infravermelho dos AF e AH foram determinados em pastilha de KBr, entre 4000 e 400 cm<sup>-1</sup> e registrados em um espectrofotômetro FT Perkin Elmer modelo 16 PC.

A análise elementar dos AF e AH foi realizada em um Analisador Elementar Perkin Elmer modelo 2400 – Analyzer.

Para a obtenção dos espectros fluorescência e verificar a SF do pireno por AH foi utilizado um espectrofluorímetro Hitachi 4500.

Para a determinação das constantes de equilíbrio foram utilizados um espectrofotômetro UV-VIS HP modelo 8452A e um espectrofluorímetro Perkin Elmer modelo LS 5B.

Na determinação da capacidade das SH agregar pireno foi utilizado um espectrofluorímetro Perkin Elmer modelo LS 5B.

### **3.3 Amostragem**

A amostra de sedimento de estuário foi coletada no manguezal do Rio Ratonés, localizado ao norte da Ilha de Santa Catarina. A amostra de turfa decomposta foi coletada na turfeira Arroio do Silva localizada no Balneário Arroio do Silva no sul do Estado de Santa Catarina. O sedimento de Solo foi coletado no Horto Florestal da Universidade Federal de Santa Catarina localizado na Ilha de Santa Catarina.

As amostras de sedimento foram preparadas no Laboratório de Hidrogeoquímica do Núcleo de Estudos do Mar (NEMAR), as quais passaram pelos seguintes processos: lavagem para a retirada de sais solúveis, secagem em estufa à temperatura inferior a  $60^{\circ}\text{C}$ , tamização, pulverização e homogeneização e separação granulométrica.

### **3.4 Ativação da Resina Amberlite 200**

A resina Amberlite 200 é uma resina macroreticular 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).

Para a conversão da resina na forma ácida foi utilizado procedimento descrito por (Collins *et al.*, 1971). A resina foi mantida sob agitação em solução de HCl  $2 \text{ mol L}^{-1}$  durante 1 hora, o ácido é removido e a resina é limpa com água destilada até teste de cloretos com  $\text{AgNO}_3$  ser negativo.

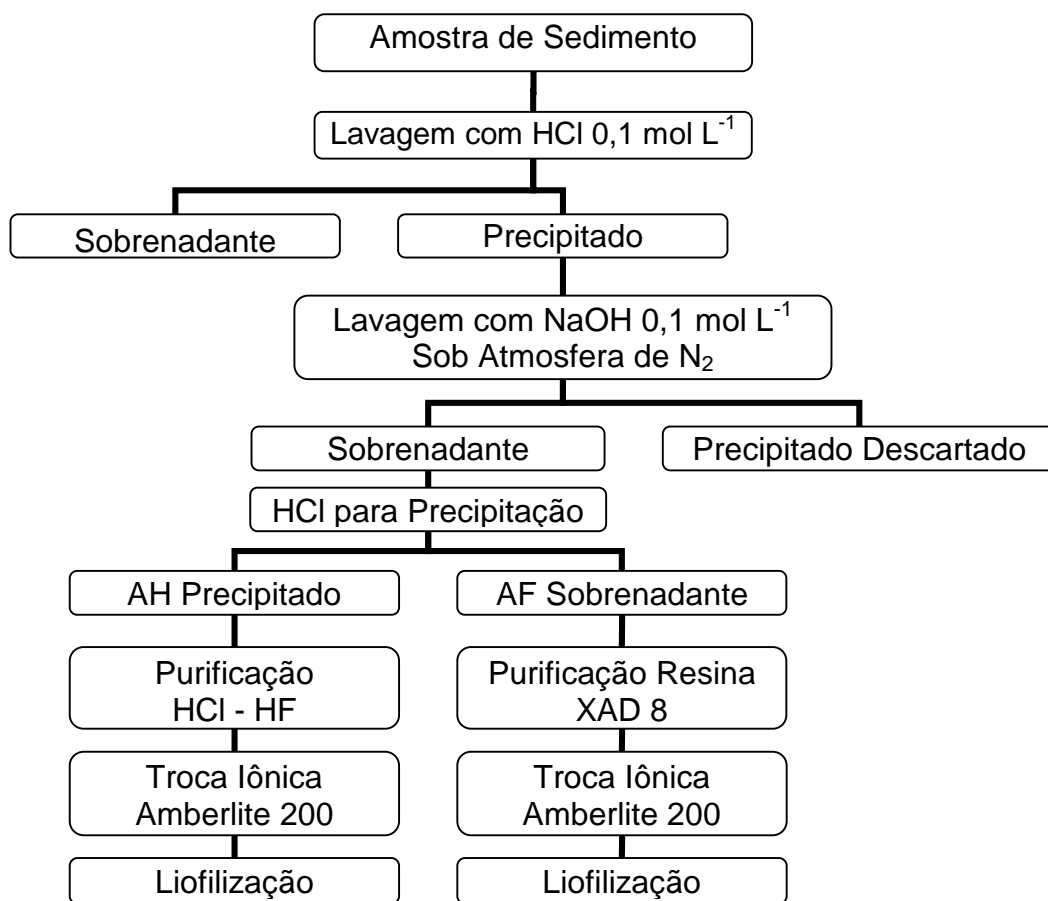
### **3.5 Ativação da Resina Supelite XAD 8**

A resina Supelite XAD 8 é uma resina hidrofóbica, macroporosa ( $0,25 \mu\text{m}$ ) contendo um éster de metil metacrilato a qual concentra a MOD. Esta resina é indicada pela International Humic Substances Society (IHSS) para a extração de SH de sedimentos e águas. A resina foi tratada segundo o método desenvolvido por (Thurman & Malcom, 1981), descrito como a seguir:

A resina foi lavada com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> 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, com metanol, éter etílico, acetonitrila e metanol, num extrator Soxhlet e posteriormente lavada com água destilada para eliminar o metanol remanescente.

### 3.6 Método de Extração das SH

As SH foram extraídas segundo o protocolo proposto pela IHSS, o qual é resumido na Figura 10.



**Figura 10.** Fluxograma do processo de extração das SH.



### **3.7 Determinação das Constantes de Associação SH - Pireno**

Foi preparada uma solução estoque de pireno ( $10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>) em cicloexano e dos AF e AH na concentração de 2,0 g L<sup>-1</sup>. A partir das soluções estoque foram preparadas 25 mL de solução de SH em pireno, sendo as concentrações de SH de 0 a 30 mg L<sup>-1</sup> e pireno  $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, sendo o pH ajustado a faixa de 6 – 7. O cicloexano foi evaporado sob fluxo de nitrogênio antes de ser adicionado as SH e água.

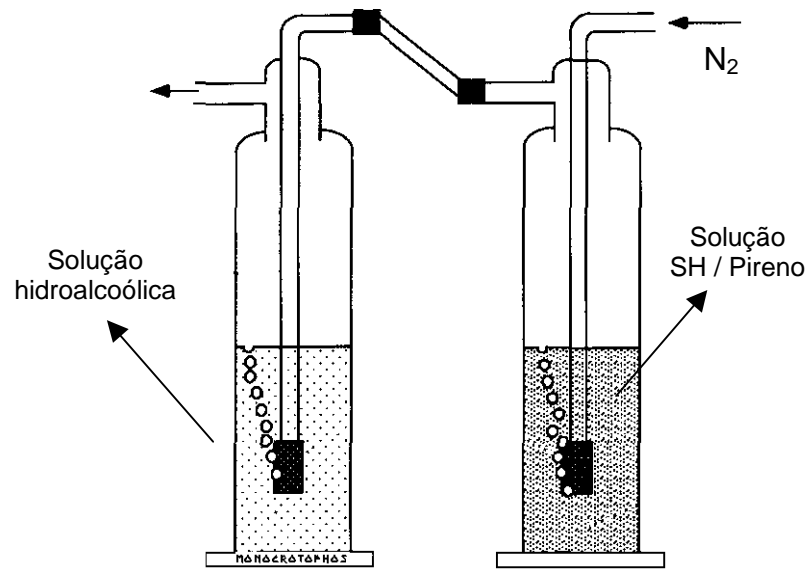
As soluções foram mantidas sob agitação durante 2 horas, antes de serem registrados os espectros UV-VIS e fluorescência.

Os espectros de fluorescência para a verificação da SF foram realizados usando fenda de entrada e saída 2,5 nm, velocidade de leitura 250 nm min<sup>-1</sup> de 350 é 450 nm.

Os espectros de fluorescência para a determinação constantes de associação foram determinadas com usando fenda de entrada e saída 5 nm, velocidade de leitura 30 nm min<sup>-1</sup>. Os parâmetros necessários, descritos na figura 6 são: S - 0,12 cm; g - 0,39 cm; d - 1 cm (MacDonald *et al.*, 1997).

### **3.8 Extração de Pireno de Solução de SH**

Foram preparadas 100 mL soluções de SH nas concentrações de 10, 30 e 50 mg L<sup>-1</sup> com pH ajustado à faixa de 6 – 7. Em um dos frascos do aparato utilizado no experimento (Figura 11) foi adicionado volume adequado da solução estoque de pireno de modo obter um volume final de 100 mL na concentração de  $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. O cicloexano foi evaporado, então foi adicionada a solução de SH mantida sob agitação durante 24 horas, ao abrigo da luz. No outro frasco do aparato foi adicionado 100 mL de solução hidroalcoólica 2:1. As duas partes do equipamento foram conectadas então foi borbulhado nitrogênio num fluxo de 5 L min<sup>-1</sup> durante 2 horas. Ao final do experimento o pireno captado no trap foi quantificado por fluorescência.



**Figura 11.** Ilustração do aparato utilizado na remoção de pireno livre em solução de AH.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise Elementar

As SH são compostas predominantemente de C, H, N, O, P e S. sendo que o C e O são os mais abundantes elementos, seguido de H e N. O conteúdo de S e pode variar desde traços até algumas unidades por cento enquanto que o de P é muito baixo (Rashid, 1985).

A Tabela 3 mostra a composição elementar de AF e AH extraídos de sedimentos (sem considerar as cinzas). Os AH têm maior conteúdo de carbono, hidrogênio e nitrogênio que AF. Essa tendência é esperada, considerando-se que os AF são a porção solúvel em qualquer pH, sendo mais ricos em grupos funcionais oxigenados.

**TABELA 3.** ANÁLISE ELEMENTAR DAS AMOSTRAS DE AF E AH E SUAS RELAÇÕES.

| <b>Amostras</b> | <b>C (%)</b> | <b>H (%)</b> | <b>N (%)</b> | <b>Cinzas (%)</b> | <b>C/H</b> | <b>C/N</b> |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|------------|------------|
| AH Solo         | 43,92        | 5,08         | 3,22         | 3,51              | 8,65       | 13,64      |
| AH Estuário     | 45,80        | 5,23         | 4,16         | 5,50              | 8,75       | 11,01      |
| AH turfa        | 48,19        | 4,20         | 1,90         | 1,12              | 11,47      | 25,36      |
| AF Solo         | 36,02        | 3,94         | 1,33         | 17,28             | 9,14       | 27,08      |
| AF Estuário     | 41,61        | 4,42         | 1,80         | *Nd               | 9,41       | 23,12      |
| AF turfa        | 44,51        | 4,02         | 1,15         | 1,68              | 11,07      | 38,70      |

\* Não determinado

As diferenças na composição entre os AH ou AF ocorrem devido às diferentes origens da matéria orgânica, grau de humificação e condições ambientais. As amostras de AH e AF de turfa apresentaram os maiores conteúdos de carbono e menores de nitrogênio, o que se deve ao fato de este material ser mais humificado do que as amostras de solo e estuário. No processo de humificação a MO é desfuncionalizada ao longo do tempo. O elevado conteúdo de nitrogênio de SH de estuário se deve a este ambiente ser banhado por águas marinhas. Como dito anteriormente, os organismos marinhos (algas) têm elevado conteúdo de lipídeos e proteínas (Killops & Killops, 1993).

As relações entre as quantidades dos vários elementos podem ser usadas na determinação da origem da MO, grau de humificação, grau de condensação, transformações diagenéticas e condições ambientais.

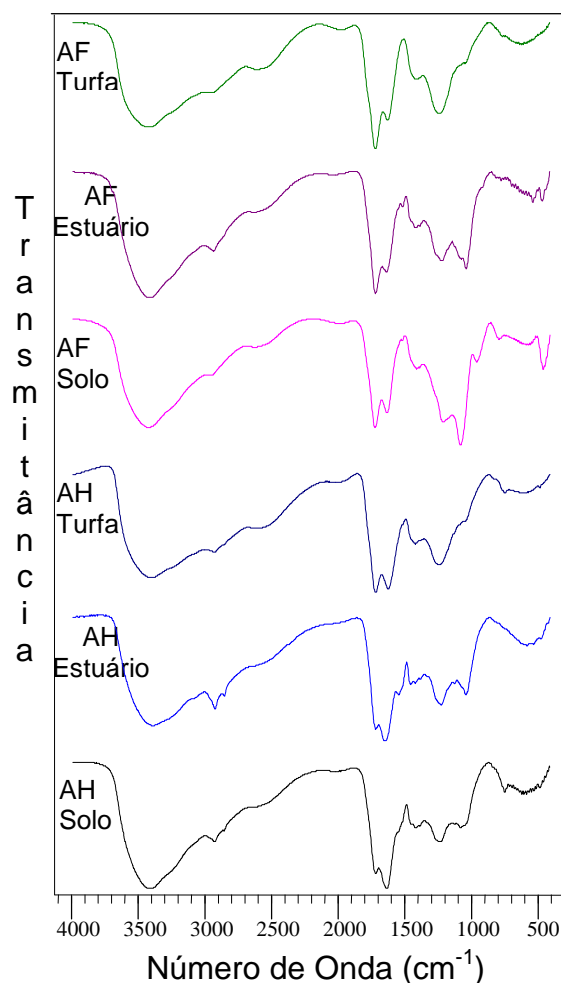
Geralmente SH de originadas em ambiente anaeróbios ou pouco aerados, tais como sedimentos marinhos, têm valores menores para relação C/H. Este fato se deve à MO ser mais alifática e relativamente rica em hidrogênio. (Rashid, 1985). SH de origem marinha têm maior conteúdo de N, conseqüentemente a relação C/N é mais baixa do que aquela de SH de ambientes terrestres. Por outro lado, compostos contendo nitrogênio são poluentes típicos de ecossistemas sujeitos a atividade antropogênica. Existem indicações de que SH podem adsorver amônia, uréia e outros compostos de baixa massa molar para formar complexos estáveis e resistentes a estágios posteriores de decomposição e degradação (Stepanov, 1969). Uma outra interpretação dos conteúdos de nitrogênio e da relação C/N é que a constante circulação de MO num estuário, faz com que o material sedimentar seja renovado constantemente. Assim a MO da superfície dos sedimentos estuarinos pode não estar completamente humificada, o que significa que podem restar em suas estruturas químicas, fragmentos importantes do material que lhe deu origem, tais como grupamentos funcionais de moléculas orgânicas contendo nitrogênio (Sierra *et al.*, 1998).

#### **4.2 Espectroscopia de Infravermelho**

A Figura 12 mostra os espectros de infravermelho das amostras de AF e AH. Os grupos funcionais sensíveis à radiação de infravermelho, hidroxilas fenólicas e alcoólicas, carboxilas e carbonilas tanto aromáticas quanto alifáticas, C-H alifático e amidas podem ser encontradas em SH, independentemente de sua origem. Entretanto os conteúdos relativos destes grupos podem variar de uma amostra a outra e ser dependente do procedimento de extração (Sierra *et al.*, 2004).

Os espectros de infravermelho de SH exibem predominantemente a presença de grupos funcionais oxigenados na região de 3400 à 3300  $\text{cm}^{-1}$ . Em 2940 e 2850  $\text{cm}^{-1}$  existem dois picos referentes a estiramentos característicos de grupos metileno (-CH<sub>2</sub>-) de hidrocarbonetos alifáticos e cíclicos (Silverstein, *et al.*, 1974). Estes estiramentos são mais evidentes em AH do que em AF, reflexo de uma

presença mais marcante de cadeias alifáticas (Sierra *et al.*, 2004). Neste estudo, estas bandas são bem distintas e visíveis em AH de estuário e de solo.



**Figura 12.** Espectros de infravermelho de AF e AH.

De 1600 e 1720  $\text{cm}^{-1}$  existem diferenças sistemáticas entre AF e AH. A primeira é que o estiramento em torno de 1720  $\text{cm}^{-1}$  característico de C=O de ácidos é mais forte em AF do que em AH, diferença esperada uma vez que os AF têm maior solubilidade devido a elevado conteúdo de grupos carboxila. A segunda diferença é o estiramento em torno de 1640  $\text{cm}^{-1}$ , que para AH em geral é localizado em maiores frequências (Sierra *et al.*, 2004). Os grupos responsáveis por este estiramento são: C-C aromático, C=O de amida e N-H. Em geral podem ser deslocados de 1650 a 1600  $\text{cm}^{-1}$ , por conjugação (Morrison & Boyd, 1974).

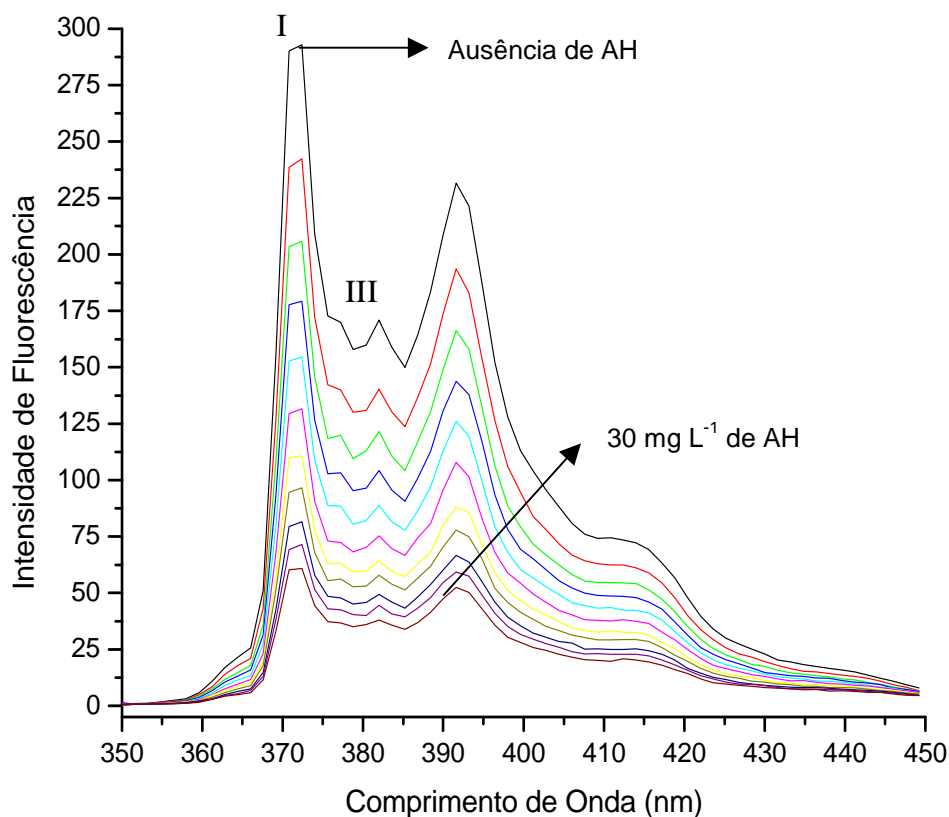
Na região de 1220  $\text{cm}^{-1}$  são identificados estiramentos tanto em AH quanto AF, característicos de estiramento C-O e deformação OH de grupos ácidos. Em torno de 1080  $\text{cm}^{-1}$  é caracterizado estiramento C-O de polissacarídeos, sendo estes mais evidentes em AF (Sierra *et al.*, 2004). O estiramento característico de

polissacarídeos não é visualizado em SH de turfa devido este material ser bastante modificado pela diagênese sendo os polissacarídeos substâncias facilmente mineralizadas.

#### 4.3 Constantes de Associação SH - Pireno

A Figura 13 mostra uma relação típica entre a intensidade de fluorescência do pireno e a concentração de SH. O espectro de maior intensidade corresponde à solução de pireno na ausência de SH, à medida que a concentração de SH é aumentada a intensidade dos espectros diminui em consequência dos fenômenos de supressão de fluorescência.

A SF do pireno pode estar associada aos três diferentes fenômenos: I) a formação de um agregado não fluorescente; II) a desativação do estado excitado do pireno pelas SH e III) a absorção de radiação de excitação e emissão pelas SH.



**Figura 13.** SF de pireno ( $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>) em presença de AH solo (0 à 30 mg L<sup>-1</sup>).

A Tabela 4 mostra os dados relativos à supressão de fluorescência do pireno ( $F_{obs}$ ) em presença de AH de solo e os dados relativos à absorção das soluções nos comprimentos de onda de excitação ( $Abs_{ex}$ ) e emissão ( $Abs_{em}$ ) do pireno.

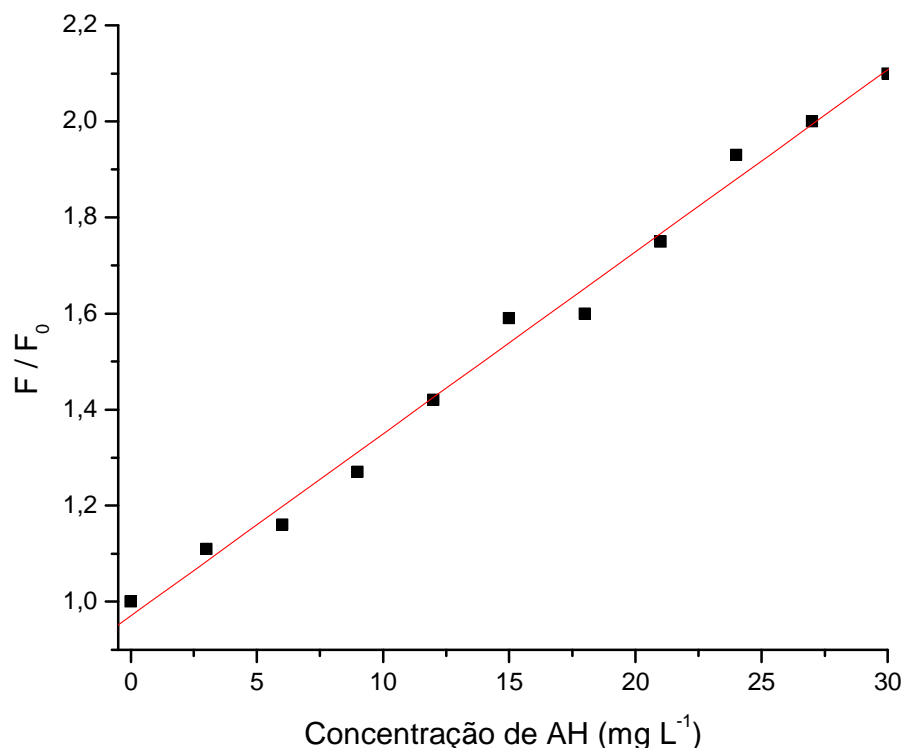
Além da SF propriamente dita, observa-se um aumento na absorvância da solução com o aumento da concentração de AH. Esse efeito faz com que seja necessária uma correção cada vez maior do feito de filtro interno à  $F_{obs}$  a fim de determinar qual a real intensidade de fluorescência do pireno no meio ( $F_{corr}$ ).

**TABELA 4.** INTERAÇÃO DE PIRENO E AH SOLO.

| [AH] (mg L <sup>-1</sup> ) | $Abs_{ex}$ | $Abs_{em}$ | $F_{obs}$ | $F_{corr}$ | $CR_{EFI}$ | $F_0 / F$ | % SF |
|----------------------------|------------|------------|-----------|------------|------------|-----------|------|
| 0                          | 0,005      | -0,001     | 0,324     | 0,325      | 1,00       | 1,00      | 0,0  |
| 3                          | 0,039      | 0,021      | 0,275     | 0,293      | 1,07       | 1,11      | 9,8  |
| 6                          | 0,073      | 0,042      | 0,247     | 0,280      | 1,13       | 1,16      | 13,8 |
| 9                          | 0,104      | 0,062      | 0,214     | 0,256      | 1,20       | 1,27      | 21,2 |
| 12                         | 0,138      | 0,083      | 0,180     | 0,228      | 1,27       | 1,42      | 29,8 |
| 15                         | 0,174      | 0,107      | 0,151     | 0,204      | 1,35       | 1,59      | 37,2 |
| 18                         | 0,207      | 0,128      | 0,142     | 0,203      | 1,43       | 1,60      | 37,5 |
| 21                         | 0,238      | 0,148      | 0,123     | 0,186      | 1,51       | 1,75      | 42,8 |
| 24                         | 0,272      | 0,169      | 0,105     | 0,168      | 1,60       | 1,93      | 48,3 |
| 27                         | 0,306      | 0,191      | 0,096     | 0,163      | 1,69       | 2,00      | 49,8 |
| 30                         | 0,341      | 0,213      | 0,086     | 0,155      | 1,80       | 2,10      | 52,3 |

$Abs_{ex}$  e  $Abs_{em}$  são as absorvâncias nos comprimentos de onda de excitação (334 nm) e emissão (373 nm),  $CR_{EFI}$  é o fator de correção aplicado a  $F_{obs}$ .

A linearização de  $F_{corr}$  dada pela equação de Stern – Volmer é mostrada na Figura 14 e na Tabela 5 são dadas as constantes de Stern – Volmer ( $K_b$ ) para cada amostra estudada.  $K_{co}$  representa o valor da constante  $K_b$  normalizada ao conteúdo de CO.



**Figura 14.** Gráfico de Stern – Volmer para AH solo.

**TABELA 5.** CONSTANTES DE ASSOCIAÇÃO ENTRE PIRENO E SH.

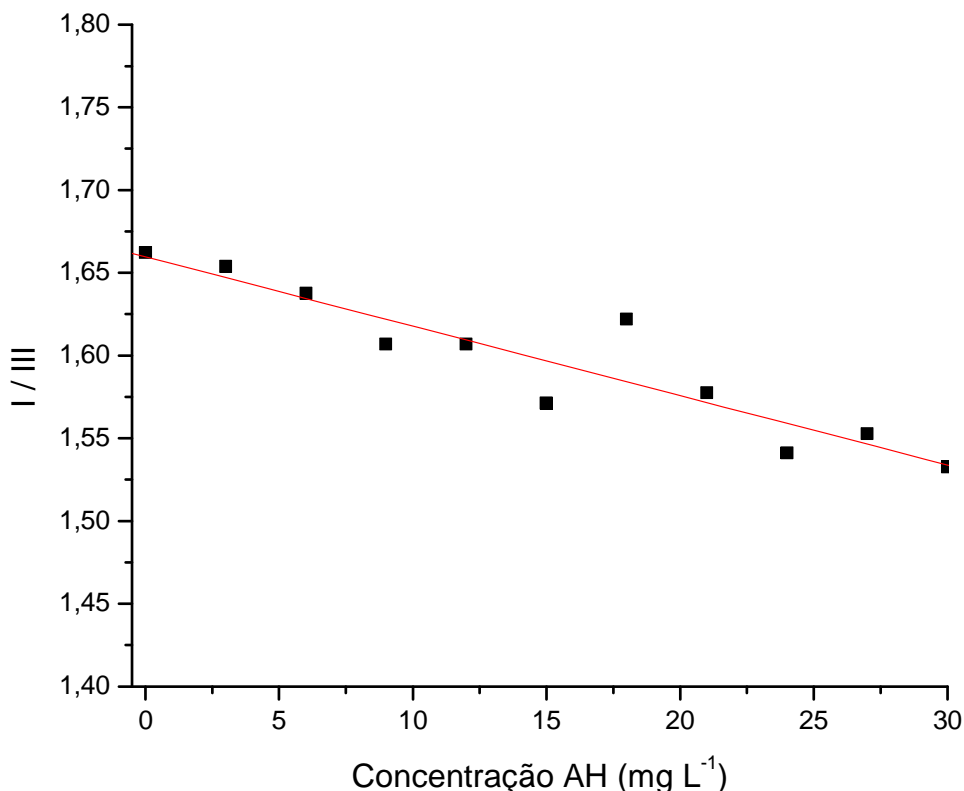
| Amostra            | $K_b$ (L mg <sup>-1</sup> ) | $K_b$ (10 <sup>-4</sup> mL g <sup>-1</sup> ) | $K_{co}$ (10 <sup>-4</sup> mL g <sup>-1</sup> ) |
|--------------------|-----------------------------|--|---|
| <b>AH solo</b>     | 0,0927 ± 0,0094             | 9,27 ± 0,94                                  | 21,11 ± 2,14                                    |
| <b>AH estuário</b> | 0,2252 ± 0,0009             | 22,52 ± 0,09                                 | 49,17 ± 0,20                                    |
| <b>AH turfa</b>    | 0,3065 ± 0,0092             | 30,65 ± 0,92                                 | 63,60 ± 1,91                                    |
| <b>AF solo</b>     | 0,0477 ± 0,0034             | 4,77 ± 0,34                                  | 13,24 ± 0,94                                    |
| <b>AF estuário</b> | 0,0351 ± 0,0022             | 3,51 ± 0,22                                  | 8,44 ± 0,53                                     |
| <b>AF turfa</b>    | 0,0647 ± 0,0030             | 6,47 ± 0,30                                  | 14,54 ± 0,67                                    |

Os valores das constantes são maiores para os AH do que para os AF. Estes dados correlacionam-se bem com o conteúdo de CO (Tabela 3) e grau de insaturação das amostras, que são maiores nos primeiros. Entre os AH e AF a amostra de turfa apresentou maior valor da constante devido a maior conteúdo de CO e aromaticidade em relação às amostras de estuário e solo.

Simultaneamente à diminuição da intensidade de fluorescência, observou-se o comportamento das bandas vibrônicas I e III do pireno (Figura 15), sendo verificado um leve declínio nos valores da relação entre as bandas com a



concentração de SH. Este decréscimo indica que ao aumentar a concentração de AH, o pireno percebe um ambiente mais hidrofóbico.

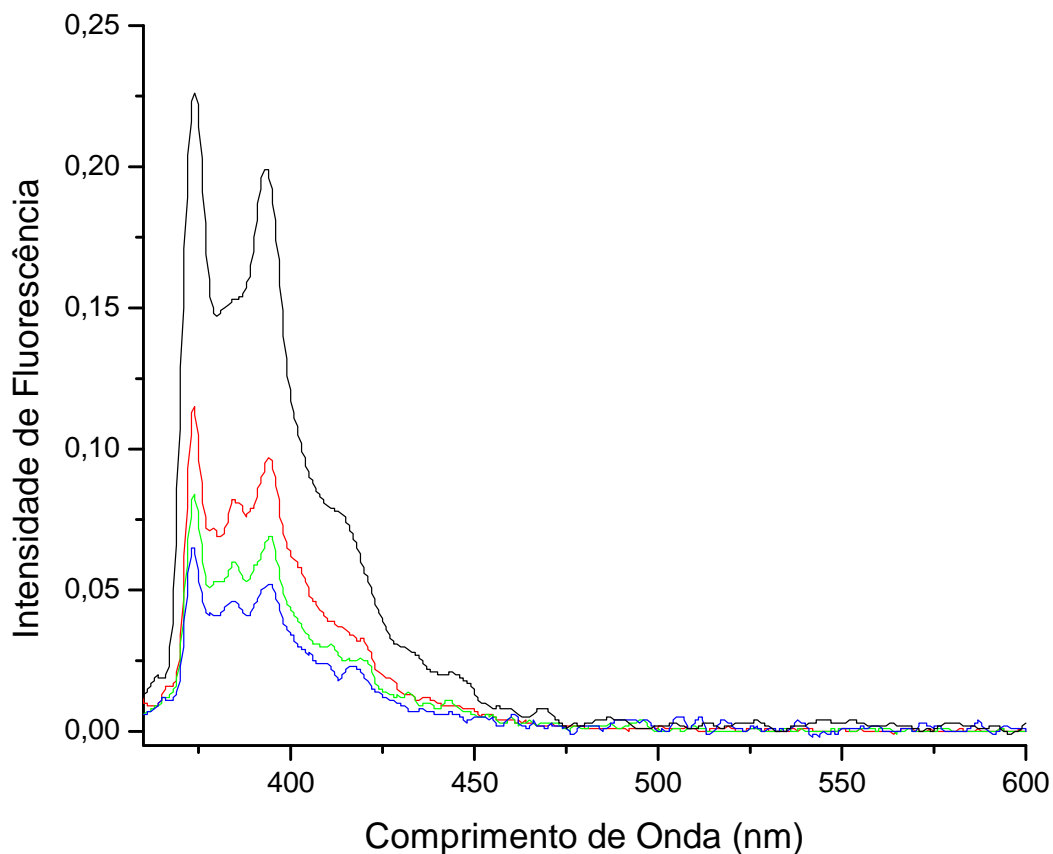


**Figura 15.** Variação da relação de intensidade das bandas I e III do pireno com a concentração de AH de solo.

A observação acima está de acordo com estudos de diversos pesquisadores os quais afirmam que em presença de poluentes apolares as SH podem organizar-se formando microambientes hidrofóbicos, Sierra *et al.*, (2005). O efeito nas bandas foi observado tanto em AH quanto em AF.

#### **4.4 Extração de Pireno de Solução de SH**

Objetivando relacionar os valores de  $K_{co}$  com a capacidade de SH de capturar pireno em meio aquoso foi realizada a extração de pireno de soluções de SH. O pireno, captado num trap, sem o contato com o supressor, foi avaliado por fluorescência, Figura 16. Este procedimento não foi realizado para todas as amostras devido o gasto de nitrogênio ser elevado.



**Figura 16.** Os espectros de fluorescência do pireno recuperado a partir de soluções contendo AH solo em: - ausência de AH, - AH 10 mg L<sup>-1</sup>, - AH 30 mg L<sup>-1</sup> e - AH 50 mg L<sup>-1</sup>.

Os resultados para as amostras estudadas são dados na Tabela 6. A quantidade de pireno livre no meio é inversamente proporcional à quantidade de AH na solução, exceto para o AF de estuário. No geral, o efeito segue a tendência AH turfa > AH solo > AH estuário > AF turfa.

**TABELA 6.** EXTRAÇÃO DE PIRENO DE SOLUÇÕES DE SH.

| <b>Amostra</b> | <b>[SH] mg L<sup>-1</sup></b> | <b>% Pireno livre</b> |
|----------------|-------------------------------|-----------------------|
| AH Solo        | 10                            | 50,9                  |
|                | 30                            | 37,2                  |
|                | 50                            | 28,9                  |
| AH Estuário    | 10                            | 64,7                  |
|                | 30                            | 40,7                  |
|                | 50                            | 28,7                  |
| AH Turfa       | 10                            | 48,7                  |
|                | 30                            | 29,6                  |
|                | 50                            | 17,3                  |
| AF Estuário    | 10                            | 52,7                  |
|                | 30                            | 54,9                  |
|                | 50                            | 57,1                  |
| AF Turfa       | 10                            | 81,0                  |
|                | 30                            | 55,3                  |
|                | 50                            | 43,8                  |

Conforme o esperado, os AH retêm mais pireno que os AF, o que concorda com os valores de  $K_{oc}$ . A não concordância entre as constantes e as porcentagens de pireno livre, em alguns casos também podem ser associadas às limitações do método de extração. Exemplo: volatilização do etanol do trap.

Para AF de estuário observa-se que a quantidade de pireno livre é praticamente independente da concentração de AF, isso nos leva a crer que a supressão de fluorescência ocorre por outros mecanismos além da supressão estática. Através da análise elementar e espectroscópica pode-se afirmar que o AF de estuário é um material mais alifático e saturado do que as outras amostras. Estas características levam à uma menor tendência em formar agregados e cavidades hidrofóbicas. Já para o AF de turfa foi possível observar uma tendência semelhante aos AH, isto se deve a seu maior grau de insaturação em relação aos AF de solo e estuário. Os AH de solo e estuário apresentaram comportamento semelhante sendo que AH turfa foi o que apresentou melhor desempenho na agregação do pireno.

Os resultados gerais levam a crer que a supressão de fluorescência é predominantemente estática devido à inclusão do pireno nas cavidades hidrofóbicas das SH.

Mesmo em concentrações baixas, as SH mostraram-se eficientes na captura de pireno, chegando a agregar até 80 % do HPA, como no caso do AH de turfa. Este efeito confirma o papel das SH no destino de poluentes e na sua disponibilidade aos organismos nos ambientes naturais.

## 5 CONCLUSÃO

A análise elementar e as razões atômicas das amostras mostram que estas têm características revelam a fonte da MO. Fica evidente a influência marinha nas SH de estuário, devido a MO de origem ter um conteúdo maior de N. Os baixos valores de C/H para SH de solo e estuário revelam que estes sedimentos são pouco aerados e que há uma deposição contínua de MO, constituindo um material geoquimicamente recente e pouco humificado. A turfa por apresentar SH com relações atômicas elevadas mostra característica de um material mais antigo com maior grau de humificação.

O estudo espectroscópico mostra que as SH são ricas em grupos funcionais oxigenados. As SH de estuário e solo por serem provenientes de materiais mais recentes, apresentam absorção mais evidente na região de 2940 e 2850  $\text{cm}^{-1}$ , característico de grupos metileno alifáticos. É possível pelas intensidades das absorções na região de 1720 e 1600  $\text{cm}^{-1}$  diferenciar as SH com maior conteúdo de grupos nitrogenados. Através dos espectros é possível diferenciar AH de AF e justificar as diferenças de solubilidade.

As constantes de equilíbrio pireno/SH mostraram-se proporcionais ao conteúdo de CO das amostras. Os AH são capazes de seqüestrar o pireno em meio aquoso reduzindo sua disponibilidade no ambiente sendo que para as amostras estudadas este efeito não tem uma relação direta com  $K_{\text{CO}}$ . Estudos com mais amostras são necessários para confirmar (ou não) esta observação.

A diminuição dos valores da razão das intensidades de fluorescência das bandas I e III do pireno como função da concentração de AH, indica que a atenuação da fluorescência deve ser conseqüência da captura do composto apolar em micro ambientes hidrofóbicos existentes nas SH em meio aquoso, sendo estes relacionados com o grau de insaturação e condensação da amostra.

Os resultados mostram que a supressão de fluorescência do pireno se deve ao EFI pela absorção de radiação pelas SH e a supressão estática devido a agregação do pireno pelas SH formando um agregado não fluorescente.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carter, C. W.; Suffet, I. H. ***Binding of DDT to Dissolved Humic Materials***. Environmental Science Technology, 735 – 740, 1982.
- Catálogo Supelco. ***Cromatografia: Produtos para Análise e Purificação***. 450, 2003/2004.
- Chin, Y.; Gschwend, P. M. ***Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons to Marine Porewater Organic Colloids***. Environmental Science Technology, 1621 – 1626, 1992.
- Collins, C. H.; Collins, K. E.; Ackerhalt, R. E. ***Cation Exchange Separation of <sup>51</sup>Cr – Labeled Species in Aqueous Cr (VI) – Cr (III) Solution***. J. Radioanal. Chem., 263 – 267, 1971.
- Dong, D. C.; Winnik, M. A.; ***The Py Scale of Solvent Polarities. Solvent Effects on the Vibronic Fine Structure of Pyrene Fluorescence and Empirical Correlations With Et and Y Values***. Photochem. Photobiol., 17 – 21, 1982.
- Duffy, S. J.; Vanloon, G. W. ***Environmental Chemistry: A Global Perspective***. New York, Oxford University Press, 2000.
- Gauthier, T. D.; Shane, E. C.; Guerin, W. F.; Seitz, W. R.; Grant, C. ***Fluorescence Quenching Method For Determining Equilibrium Constants for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Binding to Dissolved Humic Materials***. Environmental Science Technology, 1162 – 1166, 1986.
- Hayes, M. H. B. ***Concepts of the Origins, Composition, and Structures of Humic Substances***. In: Wilson, W. S. Advances in Soil Organic Matter Research: The Impact on Agriculture & the Environment. The Royal Society of Chemistry, 1 – 3, 1991.
- 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, 93 – 105, 2003.
- Killops, S. D.; Killops, V. J. ***An Introduction to Organic Geochemistry***. John Wiley & Sons, New York, 93 – 98, 1993.
- Kononova, M. M. ***Soil Organic Matter***. Pergamon Press, New York, 544, 1966.

- Lakowicz, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. Plenum Press, New York, 258 – 297, 1983.
- MacDonald, B. C.; Lvin, S. J.; Patterson, H. **Correction of Fluorescence Inner Filter Effects and the Partitioning of Pyrene to Dissolver Organic Carbon**. Anal. Chim. Acta, 155 – 162, 1997.
- Morrison, R. T.; Boyd, R. N. **Organic Chemistry**. Allyn and Bacon, Inc, Boston, 776 – 778, 1974.
- Parker, C. A. **Photoluminescence of Solutions**. Elsevier, New York, 220 – 232, 1968.
- Rashid, M. A. **Geochemistry of Marine Humic Compounds**. Springer – Verlag, New York, 35 – 107, 1985.
- Rauen, T. G; Debacher, N. A.; Sierra, M. M. D.; Soriano – Sierra, E. J. **Tensoatividade de Ácidos Húmicos de Procedências Distintas**. Química Nova, 909 – 913, 2002.
- Senesi, N. **Binding Mechanisms of Pesticides to Soil Humic Substances**. The Science of the Total Environment, 63 – 76, 1992.
- Schnitzer, M. **Humic Substances: Chemistry and Reactions**. Soil Organic Matter, 1 – 64, 1978.
- Sein, L. T; Varnum, J. M.; Jansen, S. A. **Conformational Modeling of a New Building Block of Humic Acid: Approaches to the Lowest Energy**. Environmental Science Technology, 546-552, 1999.
- Sierra, M. M. D.; Giovanela, M.; Parlanti, E.; Esteves, V. I.; Duarde, A. C.; Fransozo, A.; Soriano – Sierra, E. J. **Structural Description of Humic Substances from Subtropical Coastal Environments Using Elemental Analysis, FT-IR and <sup>13</sup>C – Solid State NMR Data**. Journal of Coastal Research, 219 – 230, 2004.
- Sierra, M. M. D.; Rauen, T, G.; Tormen, L.; Debacher, N. A.; Soriano – Sierra, E. J. **Evidence from Surface tension and Fluorescence Data of a Pyrene – Assisted Micelle – Like Assemblage of Humic Substances**. Water Research, 3811 – 3818, 2005.
- Sierra, M. M. D.; Giovanela, M.; Vieira, S. M. **Composição Elementar e Propriedades Espectroscópicas de Compostos Húmicos do Manguezal de Itacorubí, Ilha de Santa Catarina**. In: Soriano-Sierra, E. J.; Sierra de

Ledo, B. J. Ecologia e Gerenciamento do Manguezal do Itacorubí. Florianópolis, 79 – 102, 1998.

- Silverstein, R. M. ***Spectrometric Identification of Organic Compounds*** ***Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos***. John Wiley & Sons, New York, 73 – 116, 1974.
- Skogerboe, R. K.; Wilson, S. A. ***Reduction of Ionic Species by Fulvic Acid***. Anal. Chem., 228 – 232, 1981.
- Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A. ***Princípios de Análise Instrumental***. 5ª Edição, Porto Alegre, 322 – 341, 2002.
- Thurman, E. M.; Malcolm, R. L. ***Preparative Isolation of Aquatic Humic Substances***. Environmental Science Technology, 463 – 466, 1981.
- Wandruszka, R. V. ***The Micellar Model of Humic Acid: Evidence from Pyrene Fluorescence Measurements***. Soil Science, 921 – 930, 1998.
- Wershaw, R. L. ***Model for Húmus in Soils and Sediments***. Environmental Science Technology, 814 – 817, 1993.