



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Amanda Maria Tadini

Substâncias Húmicas Aquáticas: Caracterização e Interação com íons Crômio e
Proposta de um Indicador de Matéria Orgânica Lábil

Bolsista FAPESP

São José do Rio Preto

2013

Amanda Maria Tadini

Substâncias Húmicas Aquáticas: Caracterização e Interação com Íons Crômio e
Proposta de um Indicador de Matéria Orgânica Lável

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Química, área de Química Ambiental junto ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, campus de São José do Rio Preto.

Orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Márcia Cristina Bisinoti

Co-orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Lidia Maria de Almeida Plicas

São José do Rio Preto

2013

Tadini, Amanda Maria

Substâncias Húmicas Aquáticas: caracterização e interação com íons crômio e proposta de um Indicador de Matéria Orgânica Lábil / Amanda Maria Tadini. - São José do Rio Preto: [s.n.], 2013.

121 f. : il. ; 30 cm.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Márcia Cristina Bisinoti

Co-orientador (a): Prof^a. Dr^a. Lidia Maria de Almeida Plicas

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas.

1. Química ambiental 2. Substâncias Húmicas Aquáticas. 3. Caracterização. 4. Labilidade 5. Capacidade de complexação. I. Bisinoti, Márcia Cristina. II. Plicas, Lidia Maria de Almeida. III. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

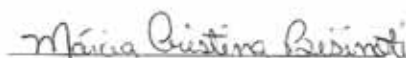
CDU – 54:574

Amanda Maria Tadini

Substâncias Húmicas Aquáticas: Caracterização e Interação com Íons Crômio e
Proposta de um Indicador de Matéria Orgânica Lável

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Química, área de Química Ambiental junto ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", campus de São José do Rio Preto.

Banca Examinadora



Prof.ª. Dr.ª. Márcia Cristina Bisinoti

Professor Assistente Doutor

UNESP – São José do Rio Preto

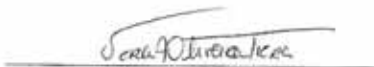
Orientador



Prof.ª. Dr.ª. Luciane Pimenta Cruz Romão

Professor Associado II

Universidade Federal de Sergipe – Sergipe



Prof.ª. Dr.ª. Vera Aparecida de Oliveira Tiera

Professor Assistente Doutor

UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto

10 de maio de 2013

Dedico

*Aos meus Pais, Walter e Maria que me
incentivaram e apoiaram em todos
os momentos da minha vida.*

*Ao meu irmão Waltinho
pelo apoio e carinho.*

Agradecimento

À Deus, por iluminar e abençoar meu caminho.

A Professora Dra. Márcia Cristina Bisinoti, pela orientação desde a iniciação científica, que muito me auxiliou e incentivou a crescer na carreira acadêmica, pelos ensinamentos aprendidos, pela atenção, dedicação e principalmente pela amizade durante esses anos.

A Professora Dra. Lídia Maria de Almeida Plicas, pela co-orientação que muito me auxiliou nos tratamentos dos dados cinéticos e pela amizade.

Ao Professor Dr. Altair Benedito Moreira pelo incentivo e amizade.

Ao Professor Dr. Alessandro Piccolo, da Università di Napoli Federico II – Portici, Napoli, Itália que me proporcionou dois meses de estágio em seu laboratório (Supramolecular Humic), que me fizeram crescer muito profissionalmente.

Ao Dr. Riccardo Spaccini da Università di Napoli Federico II que ajudou e auxiliou nas análises de Infravermelho com Transformada de Fourier e off-line TMAH-thermochemolysis-GC-MS.

A Dra. Barbara Fontaine da Università di Napoli Federico II que auxiliou nas análises de Ressonância Magnética Nuclear.

Às Professoras Dra. Vera Aparecida de Oliveira Tiera e Dra. Idêa Aparecida Pastre Fertoni pelas valiosas sugestões dadas no exame de qualificação.

Ao Professor Dr. Maurício Boscolo da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas por ter cedido o equipamento para a análise de Infravermelho com Transformada de Fourier.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro e pelas bolsas concedidas (2010/13879-2 e 2012/06403-7), imprescindível para realização desse projeto.

A minha família, em especial aos meus pais Maria e Walter por todo amor e dedicação dados a mim.

Aos amigos do Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais (LECA): Ana Lúcia, Bruna, Bruno, Camila, Fábio, Fernanda, Flavia, Glaucia, Hortênsia, Isabela, Jéssica, Kamilla, Laís, Mariele, Nayrê, Renata, Vinicius, Vitor, entre outros que passaram durante esses anos.

Aos meus alunos de Iniciação: Fernanda, Isabela e Vinicius meu muito obrigado pelo aprendizado que vocês me proporcionaram e pela amizade.

A Isabela e ao Vinicius pela ajuda nas análises da cinética do rio Preto, durante o meu estágio no Laboratório “Supramolecular Humic Systems in the Environment” - Università di Napoli Federico II – Portici, Napolis, Itália.

As minhas amigas e amigos, que sempre me fizeram esquecer um pouco das preocupações do dia-a-dia com nossos bate-papos e pela amizade.

Aos professores do Departamento de Química e Ciências Ambientais (DQCA) pelos ensinamentos concedidos e conselhos valiosos.

À amiga do DQCA, Rita Beatriz (secretária) pelo apoio, pelas conversas agradáveis e conselhos.

Aos colegas do DQCA: Daniela (técnica), Claudinei (técnico) e Eliane (técnica) pela disposição em ajudar e pelo apoio.

*Enfim a todos que de alguma forma contribuíram para meu desenvolvimento acadêmico, **muitíssimo obrigado!***

“Para cultivar a sabedoria, é preciso força interior. Sem crescimento interno, é difícil conquistar a autoconfiança e a coragem necessárias. Sem elas, nossa vida se complica. O impossível torna-se possível com a força de vontade (Dalai Lama)”.

RESUMO

Este trabalho teve como principal objetivo avaliar a capacidade de complexação (CC) das Substâncias Húmicas Aquáticas (SHA) extraídas do rio Preto com a espécie de cromo trivalente e hexavalente e avaliar o emprego da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio como um indicador da labilidade e/ou recalcitrância da Matéria Orgânica Natural (MON). Para isto, amostras de água superficial do rio Preto foram coletadas no período de seca e de chuva, seguidas da extração de SHA empregando o método sugerido pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS). As SHA foram fracionadas em diferentes tamanhos moleculares (<10, 10-30, 30-50, 50-100 e >100 kDa) e caracterizadas pela Espectrofotometria UV/Vis, Espectrofotometria na região do Infravermelho, Espectroscopia de Fluorescência Molecular, Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear e a Pirólise off-line com o Hidróxido de Tetrametilamônio empregando a Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa. Os estudos de capacidade de complexação com as espécies de cromo trivalente e hexavalente foram realizados empregando o Sistema de Ultrafiltração com Fluxo Tangencial (SUFT) e as espécies de Cromo hexavalente e trivalente foram quantificadas empregando-se as técnicas de Espectrofotometria da difenilcarbazida e de Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização por Forno de Grafite, respectivamente. Os resultados das capacidades de complexação mostraram que as SHA e suas frações apresentaram baixa capacidade de complexação com as espécies de cromo trivalente e hexavalente o qual variaram em função da sazonalidade, quando comparado a outros trabalhos descritos na literatura, e as maiores CC para as espécies de cromo trivalente e hexavalente foram observados para as frações <10, 10 – 30 kDa, >100 e 30 – 50 kDa para ambos períodos, os quais podem estar associados à maior presença de grupos aromáticos na sua estrutura visto que essas mesmas frações foram a que apresentaram maiores grau de aromaticidade. Já os resultados da caracterização mostraram que as SHA do rio Preto para ambos os períodos amostrados (Seca e Chuva), possuem na sua estrutura grupamentos aromáticos, carboxílicos, carbonílicos, ácidos graxos de metil ésteres, derivados de polissacarídeos, biopolímeros alifáticos derivados de plantas, hidrocarbonetos de cadeia longa e ramificada com grupos metileno e carbono aquilas, resultados estes que foram evidenciados nos espectros de UV-Vis, Infravermelho com Transformada de Fourier, Ressonância Magnética Nuclear e Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio empregando GC-MS, e uma maior presença de ácido húmico na sua estrutura o qual foi evidenciado por Espectroscopia de Fluorescência Molecular. Para os estudos de labilidade da matéria orgânica, amostras de água superficial do rio Preto foram coletadas mensalmente, completando um ciclo hidrológico, e seguida de estudo da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na presença e ausência de luz. Estudos cinéticos também foram realizados empregando ácido húmico e ácido ascórbico, como modelos de Matéria Orgânica Recalcitrante e lábil, respectivamente. Os resultados obtidos para o estudo cinético da MON do rio Preto, variou em função da sazonalidade, ressaltando que os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) de consumo de peróxido de hidrogênio para amostras de água variaram de 3 a 30 horas na presença e ausência de luz, valor este até 3 vezes inferior ao encontrado para o grupo controle. Os menores $t_{1/2}$ foram observados para os meses de maior pluviosidade indicando a presença de MO lábil nesse corpo aquático. Já os resultados empregando diferentes modelos para referir a labilidade da MO, permitiram inferir que o ácido húmico e o ácido ascórbico sugerem ser viáveis como indicadores de Matéria Orgânica Recalcitrante e lábil, respectivamente.

Palavras-chave: Substâncias Húmicas Aquáticas, labilidade, capacidade de complexação, cromo, Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio empregando GC-MS.

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the complexation capacity (CC) of humic substances (AHS) extracted from the Preto river with the species trivalent and hexavalent chromium and evaluate the use of the kinetic consumption of hydrogen peroxide as an indicator of lability and / or recalcitrance of Natural Organic Matter (NOM). For this, surface water samples were collected from the Preto river in two distinct periods: the dry season and the rainy season, followed by extraction AHS employing the method suggested by the International Humic Substances Society (IHSS). The AHS were fractionated into different molecular sizes (<10, 10-30, 30-50, 50-100 and >100 kDa) and characterized using UV/Vis spectrophotometry, Fourier Transform Infrared, Molecular Fluorescence Spectroscopy, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Off-line TMAH-Thermochemolysis-GC-MS. The complexing capacity for AHS with the species of hexavalent and trivalent chromium was determined using a Tangential Flow Ultrafiltration System (TFUS) and levels of hexavalent and total chromium were determined using diphenylcarbazide Spectrophotometry method and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry, respectively. The results of the complexing capacity showed that the AHS and its fractions showed low complexing species with trivalent chromium and hexavalent which vary due to seasonality when compared to other works in the literature, and the greatest CC for species trivalent and hexavalent chromium were observed for fractions <10, 10-30 kDa, > 100 and 30-50 kDa for both periods, which may be associated with increased presence of aromatic groups in its structure as these same fractions were that showed greater degree of aromaticity. Already characterization results showed that the AHS Preto river for both sampling periods (dry and rainy), have aromatic groups in its structure, carboxylic, carbonyl, fatty acids methyl esters, polysaccharide derivatives, aliphatic biopolymers derived from plants, long chain hydrocarbons and branched groups methylene and alkyl carbon, that these results were evidenced in the UV-Vis Spectra, Fourier Transform Infrared, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and off-line TMAH-thermochemolysis-GC-MS, and a greater presence of humic acid in its structure which was evidenced by Molecular Fluorescence Spectroscopy. For studies of labile organic matter in surface water samples were collected monthly Preto river, complementing a hydrological cycle, and then study the kinetics of consumption of hydrogen peroxide in the presence and absence of light. Kinetic studies were also conducted using humic acid and ascorbic acid as models recalcitrant organic matter and labile, respectively. The results for the kinetic study of NOM of Preto river, were affected by seasonality, noting that the values of half-life ($t_{1/2}$) of consumption of hydrogen peroxide to water samples ranged from 3 to 30 hours in the presence and absence of light, a value up to 3 times lower than that found for the control group. The smaller $t_{1/2}$ was observed for the months of higher rainfall indicating the presence of labile OM in this water body. Already the results using different models to refer to the lability of OM, allowed inferring that the humic acid and ascorbic acid appear to be viable as an indicator of labile and recalcitrant organic matter, respectively.

Keywords: Aquatic Humic Substances, lability, Complexing capacity, Chromium, Off-line TMAH-Thermochemolysis-GC-MS.

SUMÁRIO

Capítulo 1: Introdução	22
Capítulo 2: Revisão Bibliográfica	25
2.1 SUBSTÂNCIAS HÚMICAS.....	26
2.1.1 Origem, Formação e Estrutura das Substâncias Húmicas Aquáticas.....	26
2.2 CAPACIDADE DE COMPLEXAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS	28
2.3 CARACTERIZAÇÃO DAS SHA	30
2.3.1 Espectrofotometria de UV/Vis.....	31
2.3.2 Espectrofotometria na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier ..	32
2.3.3 Espectroscopia de Fluorescência Molecular	33
2.3.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	34
2.3.5 Pirólise off-line utilizando o Hidróxido de Tetrametilamônio aplicando a Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa (off-line TMAH-Thermochemolysis-GC-MS).....	35
2.3.6 Análise Elementar	37
2.4 MATÉRIA ORGÂNICA NATURAL (MON): LÁBIL E RECALCITRANTE.....	38
2.4.1 Principais Reações da MON	38
2.4.2 Proposta de um Indicador de Labilidade de MON.....	39
2.4.3 Abordagem das Leis da Cinética	40
Capítulo 3: Objetivos	42
3.1 OBJETIVO GERAL	43
3.1.1 Objetivo Específico.....	43
Parte I: Caracterização e Estudos de Capacidade de Complexação das SHA	44
Capítulo 4: Parte Experimental	45
4.1 AMOSTRAGEM DA ÁGUA SUPERFICIAL PARA EXTRAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS.....	46
4.1.1 Ponto de Coleta	46
4.1.2 Procedimento de Coleta	46
4.1.3 Parâmetros Determinados nas Amostras de Água Superficial.....	47
4.2 EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS	47
4.3 INTERAÇÃO DAS SHA E DE SUAS FRAÇÕES COM AS ESPÉCIES DE CRÔMIO EMPREGANDO O SISTEMA DE ULTRAFILTRAÇÃO COM FLUXO TANGENCIAL.....	48
4.3.1 Tempo de Complexação.....	49
4.3.2 Determinação da Capacidade de Complexação com os Íons Crômio Trivalente e Hexavalente.....	49
4.3.3 Decomposição e Quantificação das Espécies de Crômio	50

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS	52
4.4.1 Espectrofotometria de UV/Vis	52
4.4.2 Espectroscopia de Fluorescência Molecular	52
4.4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier.....	52
4.4.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	53
4.4.5 Pirólise off-line utilizando o Hidróxido de Tetrametilamônio aplicando a Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa.....	53
4.4.6 Análise Elementar	53
Capítulo 5: Resultados e Discussão	54
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS	55
5.2 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE COMPLEXAÇÃO DAS SHA COM ESPÉCIES DE ÍONS CRÔMIO	67
5.3 DETERMINAÇÃO DA CONSTANTE DE TROCA COM OS ÍONS Cr (III) e Cr (VI).....	69
Parte II: Proposta de um indicador de Matéria Orgânica Lábil (MOL).....	71
Capítulo 6: Parte Experimental	72
6.1 CINÉTICA DE CONSUMO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	73
6.1.1 Coleta das Amostras de Água Superficial do Rio Preto	73
6.1.2 Quantificação de Peróxido de Hidrogênio	73
6.1.3 Cinética de Consumo do H ₂ O ₂ nas Amostras de Água do Rio Preto em Função da Sazonalidade	74
6.1.4 Proposta de um Indicador de Matéria Orgânica Lábil e Recalcitrante	75
6.1.5 Cálculo para Determinação da Ordem de Reação.....	76
Capítulo 7: Resultados e Discussão	77
7.1 CINÉTICA DE CONSUMO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	78
7.1.1 Adaptação do Método Empregado.....	78
7.1.2 Cinética do Consumo de Peróxido de Hidrogênio em Amostra de Água do Rio Preto em Função da Sazonalidade.....	78
7.2 PROPOSTA DE UM INDICADOR DE MATÉRIA ORGÂNICA LÁBIL E RECALCITRANTE.....	86
7.2.1 Matéria Orgânica Recalcitrante: Ácido húmico.....	86
7.2.2 Matéria Orgânica Lábil: Ácido ascórbico	87
Capítulo 8: Conclusão	89
Capítulo 9: Referências Bibliográficas.....	91
Capítulo 10: Anexos	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Modelo tridimensional proposto por Schulten e Schnitzer (1997) para os ácidos húmicos (Adaptado de FAUSTINO, 2007).....	27
Figura 2: Esquema da estrutura das Substâncias Húmicas segundo a teoria supramolecular de Piccolo (2001) (Adaptado de SIMPSON et al. 2002).	27
Figura 3: Espectro típico de RMN de ^{13}C de amostra de ácido húmico (Adaptado de ZÚÑIGA, 2006).	34
Figura 4: Mapa esquemático contendo a localização do ponto de coleta da amostra de água do rio Preto representado pela estrela amarela (adaptado de GOOGLE MAP).	46
Figura 5: Tratamento da Resina XAD 7 com: (a) Ácido Clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (b) Hidróxido de Sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; (c) Solução de Metanol.....	47
Figura 6: (a) Procedimento de eluição das Substâncias Húmicas Aquáticas; (b) Foto ilustrativa das Substâncias Húmicas Aquáticas obtida no final da eluição.	48
Figura 7: Esquema do sistema utilizado para o fracionamento das Substâncias Húmicas Aquáticas (adaptado de PANTANO et al. 2012).	48
Figura 8: Sistema de Ultrafiltração em fluxo Tangencial (SUFT) utilizado para determinação da capacidade de complexação das frações SHA com os íons Cr (III) e Cr (VI).	50
Figura 9: Grau de Aromaticidade das SHA do rio Preto obtido por Espectrofotometria de UV/Vis, sendo que F1: $< 10 \text{ kDa}$; F2: $10 - 30 \text{ kDa}$; F3: $30 - 50 \text{ kDa}$; F4: $50 - 100 \text{ kDa}$; F5: $> 100 \text{ kDa}$ e SHA: Substância Húmica Aquática sem fracionamento (Grau de Aromaticidade = $52,509 - 6,780 \cdot E_2/E_3$, retirado de PEURAVUORI; PIHLAJA, 1997).	55
Figura 10: Espectro tridimensional obtido no Espectrofluorímetro de Luminescência na modalidade MEE das SHA do rio Preto: (a) período de seca e (c) período de chuva e Espectro 3D da amostra de Substâncias Húmicas Aquáticas do rio Preto: (b) período de seca e (d) período de chuva.....	58
Figura 11: Espectro de Infravermelho com Transformada de Fourier das amostras de Substâncias Húmicas Aquáticas referente aos períodos: (a) seca e (b) chuva.	59
Figura 12: Espectros de Ressonância Magnética Nuclear das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do Rio Preto, os quais se referem (a) período de seca e (b) período de chuva.	60
Figura 13: Cromatograma obtido no GC/MS para a amostra de SHA do Rio Preto referente ao período de seca, onde (a) com os picos, (b) com os principais compostos.	62
Figura 14: Cromatograma obtido no GC/MS para a amostra de SHA do Rio Preto referente ao período de chuva, onde (a) com os picos, (b) com os principais compostos.....	65
Figura 15: Capacidade de Complexação das frações Substâncias Húmicas Aquáticas com o íon Cr (III): (a) $<10 \text{ kDa}$ e (b) $10 - 30 \text{ kDa}$ empregando o Sistema de Ultrafiltração com fluxo	

Tangencial, referente ao período de chuva (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L ⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07).....	68
Figura 16: (a) Experimentos em microcosmo na presença de luz, (b) Experimentos em microcosmo mantido na ausência de luz, para a cinética de consumo do Peróxido de Hidrogênio e (c) Visão de todo o estudo cinético na presença e ausência de luz.	75
Figura 17: Curva analítica típica utilizada na quantificação de peróxido de hidrogênio.....	78
Figura 18: Cinética do consumo de peróxido de hidrogênio para uma concentração inicial de 0,24 mg L ⁻¹ de H ₂ O ₂ (grupo controle): (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz.	79
Figura 19: Aplicação das leis da Cinética para amostra controle (água deionizada com 0,24 mg L ⁻¹ peróxido de hidrogênio) mantida na presença de luz: (a) ordem zero, (b) primeira ordem e (c) segunda ordem.	79
Figura 20: Cinética do consumo de peróxido de hidrogênio do grupo controle de ordem zero (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz.	80
Figura 21: Cinética do consumo de peróxido de hidrogênio com uma concentração inicial de 0,24 mg L ⁻¹ de H ₂ O ₂ para amostra de água do rio Preto: (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz, ambas referentes ao mês de outubro de 2011.	81
Figura 22: Aplicação das leis da Cinética para amostra de água do rio Preto mantida na presença de luz: (a) ordem zero, (b) primeira ordem e (c) segunda ordem.....	82
Figura 23: Cinética de primeira ordem para amostra de água do rio Preto para o experimento mantido no: (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz, referente ao mês de outubro de 2011.....	82
Figura 24: Gráfico de correlação dos tempos de meia-vida para os experimentos em microcosmos na presença e ausência de luz em função da pluviosidade.....	84
Figura 25: Espectro de Fluorescência Molecular da amostra de água do rio Preto de outubro de 2012, sendo que: (a) cinética na presença de luz e (b) cinética na ausência de luz (Início da Cinética corresponde ao tempo zero e Final da cinética corresponde ao tempo em 15.840 minutos).....	85
Figura 26: Espectro de varredura da amostra de água do rio Preto de outubro de 2012 em diferentes tempos durante a cinética, sendo que (a) Presença de luz e (b) Ausência de luz (Início da Cinética corresponde ao tempo zero e Final da cinética corresponde ao tempo em 15.840 minutos).....	86
Figura 27: Experimento com diferentes concentrações de ácido húmico (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz (Condições: pH das amostras variaram entre 9 a 10 e Temperatura entre 24 - 25 °C).	86
Figura 28: Cinética de consumo de peróxido de hidrogênio com diferentes concentrações de ácido ascórbico (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz (Condições: pH das amostras variaram entre 6 - 7, e Temperatura entre 24 - 25 °C).....	88

Figura 29: Espectro de varredura das frações de SHA de diferentes tamanhos moleculares e SHA do rio Preto, sendo que (a) refere-se ao período de Seca e (b) ao período de chuva..... 107

Figura 30: Estudo do tempo de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanhos moleculares referente ao período de seca com cromo trivalente (Cr (III)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,19)..... 108

Figura 31: Estudo da Capacidade de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanhos moleculares referente ao período de seca com cromo trivalente (Cr (III)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,19)..... 109

Figura 32: Estudo do Tempo de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanhos moleculares referente ao período de seca com cromo hexavalente (Cr (VI)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,19)..... 110

Figura 33: Estudo da Capacidade de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de seca com cromo hexavalente (Cr (VI)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,19)..... 111

Figura 34: Estudo do Tempo de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de chuva com cromo trivalente (Cr (III)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07)..... 112

Figura 35: Estudo da Capacidade de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de chuva com cromo trivalente (Cr (III)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07)..... 113

Figura 36: Estudo do Tempo de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de chuva com cromo hexavalente (Cr (VI)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30

kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07)..... 114

Figura 37: Estudo do Capacidade de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de chuva com crômio hexavalente (Cr (VI)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07)..... 115

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Características espectroscópicas na região do UV-Vis para SHA.	56
Tabela 2: Porcentagem relativa dos grupos presentes nas estruturas das SHA do Rio Preto para os períodos de seca e chuva.	61
Tabela 3: Principais compostos obtidos por GC-MS das SHA do Rio Preto referente ao período de seca.	63
Tabela 4: Principais compostos obtidos por GC-MS das SHA do Rio Preto referente ao período de chuva.	66
Tabela 5: Valores do Limite de Detecção (LD), Limite de Quantificação (LQ) e Concentração Característica (Cc) para os métodos utilizados.	67
Tabela 6: Capacidade de Complexação das frações de SHA extraída do rio Preto com os íons Cr (III) e Cr (VI).	69
Tabela 7: Valores da constante de troca das SHA e das frações de diferentes tamanhos moleculares com as espécies de crômio.	70
Tabela 8: Leis cinéticas e determinação dos tempos de meia-vida.	76
Tabela 9: Valores dos tempos de meia – vida das amostras de água coletadas no rio Preto referente ao período de Outubro de 2011 a Outubro de 2012.	83
Tabela 10: Valores dos tempos de meia-vida da amostra de ácido húmico, mantidas na presença e ausência de luz.	87
Tabela 11: Valores dos tempos de meia-vida da amostra de ácido ascórbico (AA), mantidas na presença e ausência de luz.	88
Tabela 12: Parâmetros físico-químicos da amostra de água superficial coletadas do rio Preto para a extração das SHA no período de Março de 2011 a Janeiro de 2012.	105
Tabela 13: Parâmetros físico-químicos da amostra de água superficial coletadas do rio Preto para os estudos cinéticos durante um ciclo hidrológico (Outubro de 2011 a Outubro de 2012).	106
Tabela 14: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Outubro de 2011.	116
Tabela 15: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Outubro de 2011.	116
Tabela 16: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Novembro de 2011.	117
Tabela 17: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Novembro de 2011.	117

Tabela 18: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Dezembro de 2011.	118
Tabela 19: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Dezembro de 2011.	118
Tabela 20: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Janeiro de 2012.	119
Tabela 21: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Janeiro de 2012.	119
Tabela 22: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Fevereiro de 2012.	120
Tabela 23: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Fevereiro de 2012.	120
Tabela 24: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Março de 2012.	121
Tabela 25: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Março de 2012.	121
Tabela 26: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Abril de 2012.	122
Tabela 27: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Abril de 2012.	122
Tabela 28: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Maio de 2012.	123
Tabela 29: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Maio de 2012.	123
Tabela 30: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Junho de 2012.	124
Tabela 31: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Junho de 2012.	124
Tabela 32: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Julho de 2012.	125
Tabela 33: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Julho de 2012.	125
Tabela 34: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Agosto de 2012.	126
Tabela 35: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Agosto de 2012.	126

Tabela 36: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Setembro de 2012.....	127
Tabela 37: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Setembro de 2012.....	127
Tabela 38: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Outubro de 2012.....	128
Tabela 39: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Outubro de 2012.....	128

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Aplicação da lei das massas para as Substâncias Húmicas Aquáticas.....	50
Equação 2: Determinação da constante de troca.....	50
Equação 3: Reação do crômio hexavalente com a difenilcarbazida em meio ácido.....	51
Equação 4: Determinação do Limite de Detecção.....	51
Equação 5: Determinação da Concentração Característica.....	51
Equação 6: Determinação da aromaticidade empregando RMN.....	61

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Ácido Ascórbico	LD – Limite de Detecção
ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas	LQ – Limite de Quantificação
AF – Ácido Fúlvico	MEE - Matriz Excitação-Emissão
AH – Ácido Húmico	MO – Matéria Orgânica
C/H – Razão Carbono/Hidrogênio	MOD – Matéria Orgânica Dissolvida
C/N – Razão Carbono/Nitrogênio	MOL – Matéria Orgânica Lábil
C/O – Razão Carbono/Oxigênio	MON – Matéria Orgânica Natural
CAQI – Central de Análises Químicas Instrumentais	MOR – Matéria Orgânica Recalcitrante
CC – Capacidade de Complexação	NIST – Instituto Nacional de Padronização e Tecnologia
Cc – Concentração Característica	NRB – Norma Brasileira
CHN – Carbono/Hidrogênio/Oxigênio	•OH – Radicais Hidroxila
COD – Carbono Orgânico Dissolvido	O/C – Razão Oxigênio/Carbono
CONAB – Conselho Nacional de Abastecimento	Off-line TMAH-Thermochemolysis-GC-MS - Pirólise off-line utilizando o Hidróxido de Tetrametilamonio empregando a Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectromômetro de Massa
COT - Carbono Orgânico Total	POD – Enzima Peroxidase
Cr⁺³ – Crômio Trivalente	RMN – Ressonância Magnética Nuclear
Cr⁺⁶ – Crômio Hexavalente	S – Sensibilidade
DPD – N,N-dietil-p-feniletlenodiamina	SD – Desvio Padrão
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária	SH – Substâncias Húmicas
FAME – Ácidos Graxos de Metil Ésteres	SHA – Substâncias Húmicas Aquáticas
FM - Fluorescência Molecular	SUFT - Sistemas de Ultrafiltração com Fluxo Tangencial
FTIR - Espectrofotometria na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier	t_{1/2} – Tempo de Meia-Vida
GFAAS - Espectrofotômetro de Absorção Atômica com Atomização por Forno de Grafite	TMAAc - Acetato de Tetrametilamonio
H/C – Razão Hidrogênio/Carbono	TMAH - Hidróxido de Tetrametilamônio
[H₂O₂] – Concentração de Peróxido de Hidrogênio	USEPA – Agência Proteção Ambiental dos Estados Unidos
IHSS - Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas	UV/Vis – Ultravioleta Visível
INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia	
ktroca – Constante de Troca	

Capítulo 1: Introdução



Rio Preto - São José do Rio Preto

A principal via de formação das Substâncias Húmicas (SH) ocorre por meio da decomposição e transformação de biomoléculas alóctone e autóctone de resíduos vegetais e animais presentes no ambiente (ROCHA et al. 2004; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011), assim o tipo de uso e ocupação do solo, a sazonalidade, o clima, entre outros fatores, influenciam na formação das SH, não apenas na sua composição, mas também o tipo de processo que a originou e o grau de humificação. Conseqüentemente fazendo com que esta apresente estrutura diferente (CHENG, 1977; MCKNIGHT et al. 1985; SARGENTINI et al. 2001; ALBERTS; TAKÁCS, 2004; FILELLA et al. 2005; ESTEVES et al. 2009). Várias são as técnicas disponíveis para a caracterização de Substâncias Húmicas Aquáticas (SHA) tais como a espectrofotometria UV/Vis, Fluorescência Molecular, Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear, Ressonância Paramagnética Eletrônica, Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio empregando a GC-MS dentre outras (MARTIN-NETO et al. 1994; COBLE, 1996; PEURAVUORI; PIHLAJA, 1997; PEURAVUORI et al., 2002; SANCHES et al., 2007; VIEYRA et al., 2009; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011).

Vários estudos abordam a capacidade de complexação de SHA com metais, especialmente com o cobre (ASTER et al. 1996; ARAÚJO et al. 2002; GOVEIA et al. 2010). No entanto, são poucos os que abordam a capacidade de complexação das SHA com as espécies de crômio. Estudos têm demonstrado que a SHA podem reduzir o crômio hexavalente em pH abaixo de 4,0, e este processo depende da concentração da SH e da temperatura do meio (LU et al. 1997; NAKAYASU et al. 1999; ROMÃO et al. 2002). Nota-se que a complexação das SHA com crômio hexavalente foi observada em alguns estudos (FUKUSHIMA et al. 1995; VAN DEN BERGH et al. 2001; SANTOS et al. 2004; MELO et al. 2012), o que pode ser corroborada com base na teoria supramolecular (PICCOLO, 2001; MAZZEI; PICCOLO, 2012), a qual sugere que interações não covalentes podem ser desenvolvidas entre SH e compostos aniônicos, tais como o glifosato. Estudos realizados por Melo (2010) com as SHA extraídas do rio Preto (Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande) empregando a técnica de fluorescência molecular concluiu que há uma baixa interação destas com as espécies de crômio (valores de constante de estabilidade condicional de $2,6 \times 10^{-2}$ para SHA-Cr (VI) e $2,0 \times 10^{-2}$ para SHA-Cr (III)) quando comparado aos descritos na literatura, que pode estar associados ao baixo grau de humificação das SHA do rio Preto. Melo et al. (2012) estudaram o efeito da radiação solar na capacidade de complexação das Substâncias Húmicas

Aquáticas do Rio Preto e concluíram que a radiação solar torna o metal mais disponível para ser transportado para o ambiente devido à diminuição da capacidade de complexação em até 72% em comparação com o grupo contendo Substâncias Húmicas sem exposição à radiação solar.

Um segundo aspecto de extrema importância quanto ao papel da matéria orgânica no ambiente aquático é a distinção entre a fração da Matéria Orgânica (MO) capaz de proporcionar as maiores reações. Alguns estudos (BURBA et al. 1994; BISINOTI, 2005; TONIETTO, 2006; ROSA et al. 2007) têm demonstrado que há uma fração de matéria orgânica denominada lábil (MOL), ou seja, ainda não oxidada e que é capaz de complexar e interagir com metais ou outros compostos presentes no ambiente aquático. A fração oxidada da matéria orgânica considerada pouco reativa é denominada Matéria Orgânica Recalcitrante (MOR), tendo pouco interesse ambiental. Estudos da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio em amostras de águas coletadas, durante um ciclo hidrológico, em rios da Bacia Hidrográfica do rio Negro mostraram que o tempo de meia-vida de consumo de peróxido de hidrogênio em amostras coletadas no período chuvoso foram menores que para aquelas coletadas no período de seca, lançando a hipótese de que seria possível distinguir a fração lábil da recalcitrante em função do tempo de meia-vida da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio (JARDIM et al. 2010). Frente a estas constatações, estudos que abordem a interação das SHA com espécies metálicas do rio Preto pertencente à Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande, uma região de crescente expansão agrícola com destaque para o cultivo da cana-de-açúcar (CONAB 2012), bem como propor um indicador de labilidade MOL, torna-se de grande valia.

Capítulo 2: Revisão Bibliográfica



Rio Preto - São José do Rio Preto

2.1 SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

2.1.1 Origem, Formação e Estrutura das Substâncias Húmicas Aquáticas

A Matéria Orgânica Natural (MON) presente em lagos, rios, solos e sedimentos é resultado de vários estágios de degradação química e microbiológica de resíduos vegetais e animais (RYAN, 2000; ROMÃO, 2003; ROCHA et al. 2004; FILELLA et al. 2005; OLIVEIRA, 2007; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011). Nos compartimentos ambientais aproximadamente 20% da Matéria Orgânica Natural consiste de compostos orgânicos com estrutura definida, tais como aminoácidos, carboidratos, proteínas e ácidos orgânicos. Os 80% restantes correspondem a um grupo de estrutura química complexa e indefinida, contendo uma grande variedade de subestruturas alifáticas e aromáticas, ricas em grupos funcionais oxigenados, tais como carbonilas, carboxilas, hidroxilas, fenólicas, sendo denominado de matéria orgânica refratária (MOR). Essa matéria orgânica é resistente à degradação permanecendo inalterada por longo tempo no ambiente (BUFFLE, 1990; ABATE, 1998; ROCHA; ROSA, 2003; FILELLA et al. 2005).

A MON é um importante componente responsável por vários processos químicos e biológicos em águas naturais, podendo ser de origem aquagênica, resultantes da excreção e decomposição de plâncton e bactérias presentes em corpos aquáticos ou de origem pedogênica, formada pela decomposição de plantas e microorganismos terrestres, incluindo material lixiviado do solo. Os principais componentes da Matéria Orgânica Natural são as Substâncias Húmicas (SH), as quais correspondem até 75% da matéria orgânica dos solos e 50% do carbono orgânico em águas superficiais (ROCHA; ROSA, 2003; ROCHA et al., 2004; FILELLA et al., 2005; SLOBODA et al., 2009).

O ambiente, estações do ano, clima, tipo de solo, entre outros, influenciam na formação das Substâncias Húmicas, não apenas na sua composição, mas também no tipo de processo que ocorreu na sua formação e humificação (MCKNIGHT et al. 1985; SARGENTINI et al. 2001; BATLEY et al. 2004; FILELLA et al. 2005; SARGENTINI et al. 2007; ESTEVES et al. 2009). Mudanças na composição do solo e no ciclo da água, causados por fontes antrópicas ou naturais, podem interferir na quantidade e natureza química da Matéria Orgânica Natural presente nesses ecossistemas, conseqüentemente alterando a estrutura das SH (CHENG, 1977; ALBERTS; TAKÁCS, 2004; AZEVEDO; NOZAKI, 2008).

Há algumas propostas sobre as estruturas das Substâncias Húmicas na literatura (FLAIG, 1960; KONONOVA, 1966; STEVENSON, 1994; SCHULTEN; SCHNITZER, 1997). Schulten e Schnitzer (1997) propuseram um modelo tridimensional para Substâncias Húmicas (Figura 1), pois segundo os autores as SH apresentam em suas estruturas espaços vazios de diferentes tamanhos, os quais poderiam alojar compostos orgânicos, tais como carboidratos, lipídeos, pesticidas, metais.

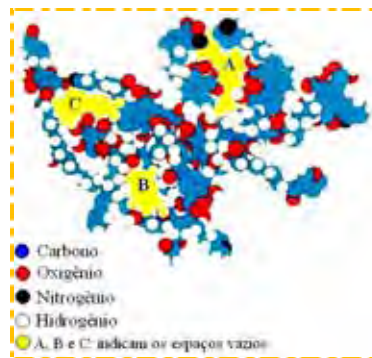


Figura 1: Modelo tridimensional proposto por Schulten e Schnitzer (1997) para os ácidos húmicos (Adaptado de FAUSTINO, 2007).

Mais recentemente Piccolo (2001) propôs que as Substâncias Húmicas são formadas por um aglomerado de moléculas heterogêneas de diferentes origens que se auto organizam em conformações supramoleculares, as quais se unem por diferentes interações intermoleculares, tais como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (PICCOLO, 2001; PICCOLO et al. 2001; PICCOLO et al. 2002) conforme apresentado na Figura 2.

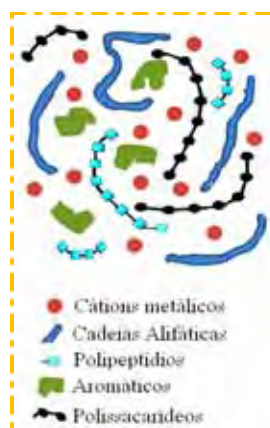


Figura 2: Esquema da estrutura das Substâncias Húmicas segundo a teoria supramolecular de Piccolo (2001) (Adaptado de SIMPSON et al. 2002).

2.2 CAPACIDADE DE COMPLEXAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

As Substâncias Húmicas Aquáticas possuem grande importância ambiental, uma vez que estas podem interagir com íons metálicos no ambiente, resultando em reações de complexação e/ou redução, sendo estas conhecidas por influenciar a disponibilidade dos metais (ROMÃO; ROCHA, 2005; TONIETTO, 2006) e em muitos casos torná-los menos tóxicos para a biota (SANTOS et al. 2004; ROMÃO; ROCHA, 2005), por exemplo, as SHA podem reduzir o cromo hexavalente para a forma trivalente alterando a toxicidade desses íons no meio aquático (ROMÃO et al. 2002). As espécies de cromo hexavalente, tais como $\text{Cr}_2\text{O}_4^{2-}$ e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$, são consideradas segundo a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (1987) tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos, enquanto que o cromo trivalente é um micronutriente essencial para a manutenção do metabolismo dos lipídios, glicose e proteínas (WEI et al. 2005; YANG; LEE, 2006; LI et al. 2009). O íon Cr (VI) quando presente em ambientes aquáticos pode reagir rapidamente devido algumas características físico-químicas tais como elevado potencial redox, elevada solubilidade pela água e alto efeito oxidante. Estas características são responsáveis pela capacidade do cromo hexavalente de penetrar nas membranas biológicas causando danos ao organismo (SPERLING, 2005; LI et al. 2009).

As SHA podem influenciar no transporte, acúmulo e concentração de íons metálicos, bem como de compostos orgânicos antropogênicos, como por exemplo, pesticidas e herbicidas (JUNIOR et al. 2001), na cadeia alimentar planctônica, por meio da alteração da turbidez e da interação com nutrientes, modificando a produção primária; como fonte de carbono para a cadeia alimentar e, também, na alteração da zona fótica (FILELLA et al. 2005; WU et al. 2007; AZEVEDO; NOZAKI, 2008). A toxicidade dos íons metálicos no ambiente aquático dependerá do estado de oxidação que os mesmos se encontram, bem como se na forma livre ou complexados a grupos funcionais orgânicos, pertencentes às Substâncias Húmicas Aquáticas (KAREUS et al. 2001; WEI et al. 2005). O destino do metal cromo em ambientes naturais é controlada pelo pH e potencial redox do meio, concentração, tipo e concentração de íons de fundo, e à presença de compostos orgânicos (YANG; LEE, 2006) como as SHA, as quais podem atuar como sumidouro o qual é responsável pela remoção de metais tóxicos em ambientes aquáticos, isto devido à grande riqueza de sua estrutura.

Segundo Stackhouse e Benson (1988) os ácidos húmicos influenciam na toxicidade e biodisponibilidade do íon Cr (III) em ambiente de água doce na presença da *Daphnia pulex*. Os autores concluíram que a influência do ácido húmico sobre os efeitos biológicos do metal cromo depende do estado de oxidação, do comportamento temporal, e da concentração do

ácido Santos e colaboradores (2007) estudaram a capacidade de complexação das Substâncias Húmicas extraídas de turfa com metais potencialmente tóxicos, como: Al (III), Pb (II), Cd (II), Cr (VI). Segundo os autores as SH demonstraram alta afinidade por esses metais, especialmente o Al (III). Os autores empregaram as SH também com um agente desintoxicante de espécies metálicas, e os resultados mostraram que as SH poderia ser empregada em casos de envenenamento por Pb (II) ou Al (III), pois as SH atua como um agente desintoxicante, permitindo a remoção desse metais no organismo.

Realizando uma busca nas bases de dados (Scopus, Science Direct e Web of Science) com as palavras-chaves: “Capacity of complexation”, “Chromium”, “Substance Humic Aquatic” não foi possível encontrar estudos que abordaram a capacidade de complexação das frações de Substâncias Húmicas Aquáticas com os íons Cr (III) e Cr (VI). O único estudo encontrado com o íon Cr (III) foi realizado por Van den Bergh e colaboradores (2001). Neste estudo determinou-se a capacidade de complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraída de rios na Alemanha com diversos metais, dentre eles o crômio trivalente, cujos valores encontrados por esses autores variaram de 0,04 a 0,92 mmol de Cr (III) g⁻¹ de Carbono. E o único estudo encontrado com o íon Cr (VI) foi realizado por Santos e colaboradores (2007), cujos autores determinaram a capacidade de complexação das substâncias húmica extraídas de amostras de turfa do rio Mogi, Ribeirão Preto - SP com metais potencialmente tóxicos, dentre eles o Cr (VI) e o valor obtido nesse trabalho foi de 4,63 +/- 0,06 mmol de Cr (VI) g⁻¹ de Carbono.

Para a análise do complexo SHA-Metal é importante considerar alguns fatores como o teor de grupos funcionais, a capacidade de complexação, o tamanho molecular da SHA e as estabilidades termodinâmicas e cinéticas do complexo formado. Deste modo, a avaliação da capacidade de complexação das SHA pode ser realizada de duas maneiras; sendo uma empregando Fluorescência Molecular (PEURAVUORI et al. 2002; SODRÉ, 2005; SODRÉ; GRASSI, 2007; AZEVEDO; NOZAKI, 2008) por meio da supressão da intensidade do sinal de fluorescência quando adicionado o metal para complexar com as Substâncias Húmicas, bem como empregando o Sistema de Ultrafiltração com Fluxo Tangencial (SUFT) (ROCHA et al. 2003; ROMÃO, 2003; ROCHA et al. 2004).

O SUFT têm sido empregado como uma ferramenta a qual proporciona o fracionamento das SHA em diferentes tamanhos moleculares (BURBA et al. 1995; ASTER et al. 1996; SHKINEV et al. 1996; ROCHA et al. 2000; BURBA et al. 2001; ARAÚJO et al.

2002; FRANCIOSO et al. 2002; DUARTE et al. 2003; KHALAF et al. 2003; SANCHES et al. 2007; PANTANO et al. 2012), uma vez que estes influenciam diretamente na capacidade de complexação, sendo que quanto maior o tamanho molecular da SHA maior o número de sítios ligantes (ROCHA; ROSA, 2003; ROCHA et al. 2004; CAMPOS; VIERA, 2009). O Sistema de Ultrafiltração com Fluxo Tangencial também pode ser empregado em estudos de capacidade de complexação das SHA com metais, pois permite separar o metal livre daquele ligado à SHA (ROCHA; ROSA, 2003; ROCHA et al. 2004). Ao ser titulado o íon metálico a SHA ocorre primeiramente à saturação dos sítios ligantes mais fortes e depois dos mais fracos, essa diferença é observada por meio de uma mudança na inclinação da curva de titulação, deste modo o valor da capacidade de complexação é determinado pela intersecção das duas secções lineares dessa curva de titulação em função da quantidade de carbono presente na solução inicial, conforme o modelo de Scatchard (EINAX; KUNZE, 1996; ROMÃO et al., 2003).

Assim, a determinação da capacidade de complexação das SHA é um importante parâmetro a ser verificado, pois permite compreender e verificar a disponibilidade dos metais presente no corpo aquático, ou seja, se estes íons metálicos estão livres para interagir com a biota e/ou totalmente complexados as SH. Vale ressaltar que foram empregadas as espécies de crômio trivalente e hexavalente para este trabalho, e que apesar de a espécie crômio hexavalente apresentar-se na forma aniônica, será empregado o termo “Cr (VI)” representando as espécies $\text{Cr}_2\text{O}_4^{-2}$ e $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$.

2.3 CARACTERIZAÇÃO DAS SHA

A caracterização das SHA permite distinguir grupos funcionais responsáveis pela capacidade de complexação exercida por estas. Para isto, vários pesquisadores têm empregando as técnicas analíticas, tais como Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Análise Elemental, Espectrofotometria UV/Vis, Espectrofotometria na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Fluorescência Molecular (FM) e Off-line TMAH-Thermochemolysis-GC-MS (MARTIN-NETO et al. 1996; ROSA et al. 2000; PEURAVUORI et al. 2002; SANCHES et al. 2007; VIEYRA et al. 2009; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011).

2.3.1 Espectrofotometria de UV/Vis

A Espectrofotometria UV/Vis é uma técnica baseada na medição da absorção de luz por um composto molecular em função do comprimento de onda, a qual permite identificar transições eletrônicas de elétrons π de duplas ligações conjugadas, como por exemplo, os presentes nas Substâncias Húmicas. A absorção da energia é medida, quando há condução da passagem dos elétrons do estado fundamental de energia para o orbital de maior energia em um estado excitado, e os grupos de elétrons que contém esses orbitais são denominados cromóforos. No entanto, como as SH possuem uma estrutura complexa, essa técnica não possibilita caracterizar apenas um cromóforo, mas a sobreposição de absorbâncias de vários grupos funcionais (STEVENSON, 1982).

Essa técnica tem sido bem documentada na literatura para caracterizar e avaliar o grau de aromaticidade das SH (CHRISTL et al. 2000; ROSA et al. 2000; MCDONALD et al. 2004; LI LI ZHAO et al. 2004; FUENTES et al. 2006; SAAB; MARTIN-NETO, 2006; ZARA et al. 2007; VIEYRA et al. 2009) sendo empregadas as razões entre as absorbâncias. Dentre estas destaca-se a razão E_4/E_6 (465 e 665 nm), utilizada para avaliar o grau de polimerização e a presença de estruturas alifáticas e aromáticas nas Substâncias Húmicas (PEURAVUORI; PIHLAJA, 1997; FILELLA et al. 2005), em que valores acima de 5,0 indicam à maior quantidade de estruturas alifáticas (AZEVEDO; NOZAKI, 2008). A razão E_4/E_6 é influenciada pelo tamanho molecular das Substâncias Húmicas, pH do meio, quantidade de oxigênio e carbono, bem como sua origem e idade (CHEN et al. 1977, STEVENSON, 1982). Outras razões tais como, E_2/E_3 (250/365 nm), E_2/E_4 (270/407 nm) permitem avaliar o grau de humificação e a presença de lignina na estrutura das SH (ROCHA; ROSA, 2003).

Estudos realizados por Peuravuori e Pihlaja (1997) comprovaram que a razão E_4/E_6 é maior em ácidos fúlvicos (AF) do que em ácidos húmicos (AH). Os autores observaram que a razão E_{465}/E_{665} para AH é menor que 5,0 enquanto que para o AF as razões encontravam-se entre 6,0 e 8,5 e os mesmos autores concluíram que estes valores estão associados ao tamanho ou massa molecular, bem como ao grau de condensação de aromáticos e à acidez total da amostra.

2.3.2 Espectrofotometria na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

A caracterização por Espectrofotometria na região do Infravermelho com Transformada de Fourier, apesar de ser uma técnica qualitativa, fornece informações apreciáveis a respeito dos principais grupos funcionais tais como: carboxílicos, carbonilas, fenólicos, alcoóis, nitrogenados, componentes alifáticos e aromáticos presentes na estrutura das SH por meio dos movimentos vibracionais e rotacionais desses grupos (ZÚÑIGA, 2006; SPACCINI; PICCOLO, 2009; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011).

Na avaliação dos espectros observam-se diversas bandas de absorção as quais são empregadas para confirmar a presença dos grupos funcionais presentes nas Substâncias Húmicas, sendo que as principais são: comprimento de onda de $3500 - 3300 \text{ cm}^{-1}$ atribuem-se a estiramentos de hidroxilas de grupos COOH, alcoóis ou fenóis e estiramentos N-H; de $3100 - 3030 \text{ cm}^{-1}$ confirmam a presença de estiramentos C-H de anéis aromáticos; $2940 - 2840 \text{ cm}^{-1}$ atribuem-se a estiramento C-H de grupos metil e etil de carbonos alifáticos; $1725 - 1710 \text{ cm}^{-1}$ confirmam a presença de estiramento C=O de grupos carboxílicos, cetonas alifáticas, aldeídos e ésteres; $1660 - 1630 \text{ cm}^{-1}$ atribuem-se a estiramento C=O de amida, quinonas e de ligações de hidrogênio de C=O de cetonas conjugadas e estiramento C=C em anéis aromáticos; $1620 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ atribuem-se a estiramento C=C de anéis aromáticos e estiramento COO de cetonas conjugadas; $1545 - 1505 \text{ cm}^{-1}$ verificam-se a presença de deformações de N-H e estiramento C=N pertencentes à amida e estiramento C=C em anéis aromáticos; $1470 - 1380 \text{ cm}^{-1}$ confirmam a presença de deformações C-H de grupos metilenos e etilenos de carbonos alifáticos, estiramento COO⁻, deformação O-H e estiramento C-O em OH fenólico e estiramento COO⁻; $1260 - 1225 \text{ cm}^{-1}$ atribuem-se a deformação O-H de grupos COOH e estiramento C-O de grupos COOH de fenóis, ácoois e éteres aromáticos; $1080 - 1040 \text{ cm}^{-1}$ atribuem-se a estiramento C-O de álcoois alifáticos, de grupos C-O-C de éteres e C-O de polissacarídeos e $830 - 750 \text{ cm}^{-1}$ confirmam a presença de deformação C-H de anéis aromáticos e estiramentos de cadeia alifáticas (FILELLA et al. 2005; PERTUSATTI, 2007; SPACCINI; PICCOLO, 2009; GIOVANELA et al. 2010; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011).

Rodríguez e Núñez (2011) caracterizaram ácidos húmicos e fúlvicos empregando diversas técnicas dentre essas, a Espectrofotometria na região do Infravermelho. Segundo esses autores os Ácidos Fúlvicos apresentam maior quantidade de grupamentos carboxílicos

quando comparados aos ácidos húmicos que apresentou maior presença de grupamentos aromáticos, corroborando com outros estudos descritos na literatura (CHEN et al. 2002; ABBT-BRAUN et al. 2004; GIOVANELA et al. 2010). Araújo e colaboradores (2002) caracterizaram as SHA extraídas do rio Itapanhaú, Bertioga, São Paulo e de suas frações de diferentes tamanhos moleculares e observaram bandas características de SHA no intervalo de 3400 a 1100 cm^{-1} e concluíram que as bandas de absorção indicaram grandes similaridades entre os grupos funcionais presentes nas diferentes frações de SHA. Deste modo, a aplicação da Espectrofotometria na região do Infravermelho fornece informações importantes sobre sua natureza e a forma de disposição dos principais grupos funcionais presentes na estrutura das SH.

2.3.3 Espectroscopia de Fluorescência Molecular

A caracterização das SH por Espectroscopia de Fluorescência Molecular, também denominada de Fluorescência Molecular, pode fornecer critérios para diferenciar e classificar suas origens (FILELLA et al. 2005). Na técnica de Fluorescência Molecular são consideradas algumas intensidades de sinal de fluorescência correspondendo a determinados compostos tais como: (i) modalidade Sincronizado, 270 a 310 nm referente à presença de proteínas, como triptofano e tirosina; (ii) modalidade Emissão, 270 a 310 nm aminoácidos aromáticos ou ácidos voláteis com estruturas alifáticas com ligações conjugadas; 310 a 370 nm presença de grupos com dois anéis aromáticos; de 370 a 400 nm referente a presença de Ácidos Fúlvicos; 470 nm a presença de Ácidos Húmicos, e 478 nm referem-se a compostos policíclicos aromáticos com sete ou mais anéis e a presença de lignina (PEURAVUORI et al. 2002; SODRÉ, 2005; SODRÉ; GRASSI, 2007; AZEVEDO; NOZAKI, 2008).

Na modalidade matriz emissão-excitação obtém-se um espectro tridimensional permitindo identificar mais de um sinal de fluorescência. Estudos realizados por Azevedo e Nozaki (2008) com as Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas da Lagoa dos Patos – MG permitiram atribuir os comprimentos de ondas de $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 315/440 à presença de ácidos fúlvicos e picos de intensidade para os comprimentos de onda $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 270/400, $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 310/470 e $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 440/505 atribuindo a presença de ácidos húmicos. Em outros estudos descritos na literatura (COBLE, 1996; ROCHA et al. 2004; SIERRA et al. 2005; MELO, 2010) a intensidade máxima de fluorescência em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 350/450 nm foi atribuída a presença de ácidos húmicos na estruturas das Substâncias Húmicas.

2.3.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

A Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear do isótopo ^{13}C Carbono tem sido empregada com uma ferramenta capaz de fornecer informação estrutural das características conformacionais dos núcleos de carbono presentes na amostra, permitindo estimar a quantidade relativa e os tipos de carbono, alifático e aromático, bem como a presença de grupos fenólicos e carboxílicos na estrutura das SH. Essas informações podem ser obtidas a partir da integração dos picos nas regiões específicas dos espectros de carbono 13, deste modo como mencionado permitindo avaliar a origem e possível estrutura molecular (MARTINETO et al. 1996; ZÚÑIGA, 2006; FAUSTINO, 2007; OLIVEIRA, 2007; ESTEVES et al. 2009; MAZZEI et al. 2010; MAZZEI; PICCOLO, 2012).

Na Figura 3 é possível verificar um espectro característico contendo os principais grupos presentes nas Substâncias Húmicas, sendo os picos representados associados à presença de carbonos alquilas (0 – 45 ppm); carbonos ligados a grupos metóxidos e nitrogenados (45 – 60 ppm); carbono ligado a oxigênio e grupo alquil (60 – 110 ppm); carbono ligado a grupos aromáticos (110 – 160 ppm) e carbono ligado a grupos carboxílicos e carbonílicos (160 – 200 ppm) (STEVENSON, 1994; GONZÁLEZ-VILA et al. 2001; FRANCIOSO et al. 2002; SPACCINI; PICCOLO, 2008; ESTEVES et al. 2009; SPACCINI; PICCOLO, 2009).

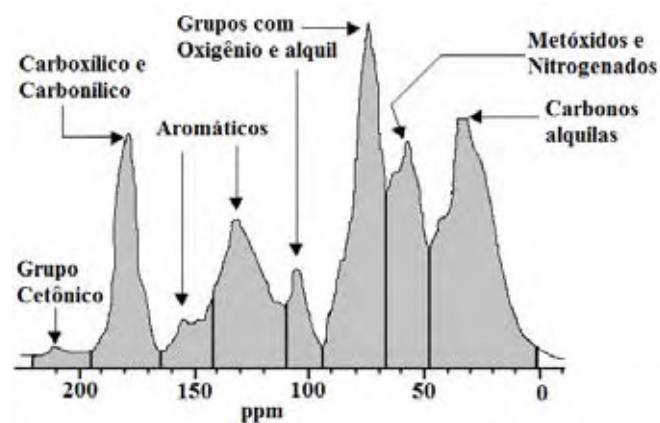


Figura 3: Espectro típico de RMN de ^{13}C de amostra de ácido húmico (Adaptado de ZÚÑIGA, 2006).

Segundo Novotny (2002) a região alifática de 50 a 110 ppm presente nos espectros da Matéria Orgânica de Solos é denominada uma região lábil devido a contribuição de carboidratos de celulose, proteínas e ligninas, e a região de 145 a 160 ppm e 112 a 124 ppm

atribui-se a grupos aromáticos que podem ser considerados grupos lábeis presentes no material da lignina, no entanto sinais atribuídos a C-H alifáticos 0 a 50 ppm, 124 e 145 ppm pode ser atribuído a C aromático que sofreu modificação e está relacionado a estruturas recalcitrantes. Desde modo, o RMN de ^{13}C tem sido empregado para investigar a funcionalidade das SH, tanto qualitativa como quantitativamente e para distinguir entre diferentes núcleos de carbono presentes na sua estrutura.

2.3.5 Pirólise off-line utilizando o Hidróxido de Tetrametilamônio aplicando a Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa (off-line TMAH-Thermochemolysis-GC-MS)

A pirólise analítica têm-se estabelecido como um método para o pré-tratamento da amostra para caracterização da estrutura química de materiais complexos e intratáveis, dentre estes têm-se destacado o uso no emprego da caracterização da estrutura molecular das Substâncias Húmicas (CHALLINOR, 2001; JARDE et al. 2003; DURAND et al. 2005; SPACCINI; PICCOLO, 2007; SPACCINI; PICCOLO, 2009; SHADKAMI; HELLEUR, 2010; OHRA-AHO et al. 2012).

A Pirólise off-line, também conhecida como Termoquinólise, é caracterizada por meio de reações de degradação química de compostos e macromoléculas submetidos a aquecimento na presença de reagentes químicos, dentre os quais o hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e o acetato de Tetrametilamônio (TMAA_C). Quando se faz emprego do TMAH, o processo é denominado metilação pirolítica, donde os produtos formados são derivados de compostos alquilas com grupos funcionais ácidos, e este processo ocorre com a elevação da temperatura (ASPERGER et al. 2001; CHALLINOR, 2001; FRAZIER et al. 2003; JARDE et al. 2003; SPACCINI; PICCOLO, 2009; SHADKAMI; HELLEUR, 2010). Os produtos formados nesse processo podem ser caracterizados empregando um Cromatógrafo à Gás acoplada a um Espectrômetro de Massas (GONZÁLEZ-VILA et al. 2001; SPACCINI; PICCOLO 2009; SHADKAMI; HELLEUR, 2010).

Nessa técnica ocorre a quebra e metilação dos grupos ester e éter presente na amostra, aumentando assim a estabilidade termodinâmica e detecção cromatográfica, fornecendo assim, informações essenciais tais como os principais grupos metóxidos presentes na sua estrutura os quais possuem ligações C-O de ésteres, ligações de aminas, dentre outras como ligação β O-4 de lignina; ácidos metilados, alcoóis, fenólicos e outros monômeros

(SPACCINI; PICCOLO, 2007; SPACCINI; PICCOLO, 2009). Deste modo, esta técnica é capaz de fornecer uma possível elucidação da composição e da estrutura das Substâncias Húmicas (PULCHAN et al. 2003; NEBBIOSO; PICCOLO, 2011).

González e colaboradores (2001) empregaram a pirólise off-line em amostras de ácidos húmicos e fúlvicos extraídos do lago Hohloh – Alemanha, e os resultados obtidos mostraram que a maioria das características dos produtos de pirólise encontrados foram derivados do ciclopentano e dos furanos, os quais foram identificados como produtos pirólíticos de polissacarídios ligados e derivados de lignina os quais, segundo esses autores estão associados a natureza alóctone. Os autores concluíram que esses componentes são tipicamente encontrados nas estruturas das Substâncias Húmicas Aquáticas.

Spaccini e Piccolo (2007) empregaram a Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio utilizando o GC-MS e o RMN de ^{13}C para caracterizar a compostagem, para 60, 90 e 150 dias, da biomassa de compostos orgânicos. Segundo esses autores a Termoquinólise desses compostos tanto “frescos” e “maduros” apresentaram grande quantidade de derivados de lignina na sua estrutura e que a maior parte da transformação molecular ocorreu nos primeiros 60 dias após o processo de compostagem. Os espectros de RMN e os cromatogramas sugeriram que o processo de maturação foi caracterizado por uma diminuição da quantidade de compostos alquil, sendo que estes foram os principais compostos observados no final do processo, os quais incluíram também material lignocelulósico e porções hidrofóbicas de grupos alquil. Os autores concluíram que a técnica de off-line Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio empregando GC-MS é um método rápido e eficaz para se obter uma avaliação qualitativa e quantitativa de compostos orgânicos complexos. Os mesmo autores (SPACCINI; PICCOLO, 2009) realizaram a Pirólise off-line de ácidos húmicos e observaram a presença de polissacarídios, grupos alquil, compostos cíclicos e aromáticos, os quais foram evidenciados também no espectro de infravermelho, deste modo os autores concluíram que a Pirólise off-line permite a identificação de compostos lipídicos e compostos tipicamente de biomarcadores de plantas, representando assim, uma ferramenta valiosa capaz de detectar a origem do material humificado.

2.3.6 Análise Elementar

A análise elementar fornece importantes informações a respeito das porcentagens de carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio e enxofre que compõem a estrutura das SH (Sanches et al., 2007). A análise de CHN permite avaliar o grau de condensação dos anéis aromáticos presentes nas SH por meio das razões H/C, deste modo altos valores dessa razão remetem a maior quantidade de grupos alifáticos presentes na sua estrutura conseqüentemente menor será o estágio de humificação desse composto (LANDGRAF et al. 1999; JUNIOR et al. 2001; CONTE et al. 2007; SANCHES et al. 2007; GIOVANELA et al. 2010).

As razões C/N e O/C tem sido empregado como fonte de informações a respeito da quantidade de oxigênio e nitrogênio incorporado no material húmico, ou seja, em geral amostras contendo material mais humificado apresentaram maiores valores de O/C e C/N (SLOBODA, 2007). Amostras com maiores valores de H/C ou menores valores de C/H indicaram maior quantidade de grupos alifáticos, o que caracteriza um material menos humificado. No entanto materiais que apresentam razões H/C e O/C de 1,0 e 0,5 respectivamente, possuem na sua estrutura maior presença de ácidos húmicos, porém materiais com valores de razões de H/C e O/C de 1,4 e 0,7 respectivamente, demonstram maior presença de ácidos flúvicos na sua estrutura (LANDGRAF et al. 1999; JUNIOR et al. 2001; CONTE et al. 2007; SANCHES et al. 2007; SLOBODA, 2007; FONTANA, 2009; GIOVANELA et al. 2010). Além disso, as razões H/C e C/N fornecem informação sobre a estrutura e formas moleculares das SH, ou seja, a quantidade de hidrogênio presente na estrutura das SH está relacionada com o aumento no número de carbonos alifáticos (CH₂), e conseqüentemente uma diminuição de carbonos aromáticos (C=C) presentes na estrutura das SH (SARGENTINI et al. 2001; ALLARD, 2006; ZHANG et al. 2011).

Vale ressaltar que a análise elementar fornece informações a respeito das classes e origens dos diferentes materiais húmicos, a fim de estimar o conteúdo dos grupos funcionais, tais como carbono, oxigênio, hidrogênio, nitrogênio e enxofre presente nas SH, sendo esses grupos responsáveis pela sua interação com compostos orgânicos e inorgânicos, por exemplo, os íons metálicos (SARGENTINI et al. 2001; ALLARD, 2006; ZHANG et al. 2011).

2.4 MATÉRIA ORGÂNICA NATURAL (MON): LÁBIL E RECALCITRANTE

2.4.1 Principais Reações da MON

Nos ambientes aquáticos a Matéria Orgânica Natural pode ser denominada como Matéria Orgânica Lável ou Recalcitrante. Define-se como Matéria Orgânica Recalcitrante a matéria orgânica resistente à degradação, ou seja, que possui a capacidade de permanecer inalterada por longo tempo no ambiente, tendendo a se depositar em função do processo de degradação fotoquímica (BUFFLE, 1990; MILLER; MORGAN, 1997; ABATE, 1998; ROCHA; ROSA, 2003). Já a Matéria Orgânica Lábil representa a matéria orgânica recém aportada no meio ambiente, que possui em sua estrutura moléculas de baixa massa molecular, as quais podem ser degradadas pela atividade microbológica ou fotodegradada pela radiação Ultra-Violeta (MILLER; MORGAN, 1997). Por outro lado, alguns autores definem a fração lábil e recalcitrante em função da origem, sendo que a MO de origem autóctone que é decorrente da degradação de plantas aquáticas, constituída de compostos orgânicos simples refere-se a MOL, já a MO proveniente de fontes alóctones, que já passou por um processo de degradação prévio antes de ser aportada no ambiente aquático defini-se como a MOR (LINDELL et al. 1995; CUNHA-SANTINO; BIANCHINI, 2009).

A MON exerce um papel fundamental no ambiente aquático, seja na sua interação com a biota e com o próprio ambiente, sendo que para a biota, a MON influencia no fornecimento de energia, ou carbono orgânico para bactérias e algas e na formação de complexos orgânicos com elementos traços, interferindo na sua disponibilidade, toxicidade, além da absorção de luz (PÔMPEO, 1999; GARG et al. 2011). A MON pode atuar tanto como reguladora de espécies que poderiam não ser benéficas no ambiente aquático, em função das suas formas livres, quanto também pode atuar na formação de espécies mais tóxicas ao ambiente (VANLOON; DUFFY, 2005).

Em águas naturais, na presença de um ambiente rico em oxigênio e transferência de elétrons é possível à formação de peróxido de hidrogênio, o qual exercerá um importante papel, como fonte de espécies reativas (OH^\bullet e HO_2^\bullet) podendo participar de processos de oxidação-redução (MATTOS et al. 2003). A matéria orgânica dissolvida presente em rios e oceanos possui a habilidade de absorver energia da radiação solar que incide sobre a superfície aquática, por meio dos grupos cromóforos existentes neste material, o qual produz espécies oxidantes, como por exemplo, o radical hidroxila e o peróxido de hidrogênio que por sua vez, podem exercer importante papel no destino de compostos orgânicos e nas reações

redox neste ambiente, incluindo a transformação de Matéria Orgânica Lábil (MOL) em Matéria Orgânica Recalcitrante (MOR) (O'SULLIVAN et al. 2005; GARG et al. 2011), conforme a reação 1:



Outra via de formação de peróxido de hidrogênio é a presença do par redox $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, que pode ser foto gerado no ambiente, podendo ocorrer o processo conhecido como reação Foto-Fenton (FREINBICHLER et al. 2011), conforme as reações 2 e 3:



Deste modo, ocorre a formação de radicais hidroxila (OH^\bullet), que são oxidantes fortes e de grande reatividade, os quais podem oxidar a matéria orgânica presente nos corpos aquáticos, bem como afetar a dinâmica de diversos poluentes, dentre os íons metálicos (SOUTHWORTH; VOELKER, 2003).

2.4.2 Proposta de um Indicador de Labilidade de MON

Estudos demonstraram que a incidência da radiação solar sobre a Matéria Orgânica Dissolvida (MOD), promove a degradação de moléculas a pequenos foto-produtos, tais como monóxido de carbono, carbono inorgânico dissolvido (CID), formaldeído, ácido acético, acetaldeído, acetona, ácido cítrico entre outros, dependendo da origem da matéria orgânica (LINDELL et al. 1995; MILLER; MORAN, 1997; MORAN; ZEEP, 1997).

A extração e caracterização das SH e da MO, bem como a quantificação de estoque de Carbono Orgânico Total (COT) têm sido empregado como uma forma de caracterizar a matéria orgânica. Em nenhuma destas alternativas é possível distinguir a denominada fração orgânica lábil da recalcitrante, ou seja, que fração está que é responsável pelos processos químicos que ocorrem no ambiente aquático, os quais destacam-se as reações da MO frente ao peróxido de hidrogênio.

Miller e colaboradores (1995) estudaram a contribuição da fotodegradação da MOD na formação de compostos lábeis e sua influência no aumento do crescimento de bactérias. Esses autores encontraram uma taxa 3 vezes maior para a degradação da MOD no processo combinado entre fotodegradação e degradação microbológica em relação ao experimento sem influência da radiação ultravioleta. Deste modo esse autores concluíram que a

luminosidade exerce um papel importante na degradação da MO, assim revelando-se um fator que deve ser considerado em estudos de labilidade.

Estudos iniciais realizados por Jardim et al. (2010) apontaram a hipótese de que a transformação da denominada Matéria Orgânica Lábil em Matéria Orgânica Recalcitrante pode ser mediada via processo fotoquímico no ambiente aquático. Neste processo o peróxido de hidrogênio fotogerado no ambiente aquático tem o poder de oxidar a MOL tornando-a recalcitrante (MILLER; MORGAN, 1997; MATTOS et al. 2003). Com base no apontado, Bisinoti (2005) demonstrou que o emprego da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio parece ser uma interessante alternativa para inferir a presença de MOL em estudos com amostras de águas de rios oriundas da Bacia do Rio Negro na Amazônia.

Vários pesquisadores têm buscado avaliar o papel da Matéria Orgânica Natural (MON) nos processos químicos regulatórios no ambiente (GRASSI, 1994; LIAO; GUROL, 1995; FADINI, 1999; RONTANI, 2001; BISINOTI, 2005). Desta maneira, lança-se à hipótese neste trabalho de que a cinética de consumo de peróxido de hidrogênio poderia ser empregada como um indicador da presença de MOL no ambiente, o qual irá auxiliar no entendimento da dinâmica de poluentes nos ambientes aquáticos. Assim empregou-se o ácido húmico comercial e o ácido ascórbico como modelo de Matéria Orgânica Recalcitrante e Lábil, respectivamente, em função da complexidade de suas estruturas.

2.4.3 Abordagem das Leis da Cinética

A cinética química é o estudo das velocidades e mecanismos das reações químicas. Na cinética química o importante é o estudo das etapas intermediárias do processo, ou seja, permite verificar o detalhe das alterações que os átomos e moléculas irão sofrer durante as reações (ATKINS; JONES, 2006; LEVINE, 2008). Assim, aplicam-se as leis cinéticas, em que permite estimar a ordem de uma reação, e fornecer o tempo de meia-vida dessa reação por meio de análise de parâmetros matemáticos dentre estes, destaca-se o coeficiente de correlação linear entre o tempo e a concentração do reagente (LEVINE, 2008) o qual é dependente da temperatura e pressão do meio em que ocorre a cinética.

A ordem de uma reação de cinética é verificada por meio da linearização gráfica. Para isto, a cinética de ordem zero deve-se construir um gráfico da concentração de peróxido de hidrogênio em função do tempo. A partir desta expressão gráfica determina-se o tempo de meia-vida, tempo necessário para que a concentração inicial de peróxido de hidrogênio caia a

metade, em que o coeficiente angular da equação de reta será o valor de (k), obtendo-se assim a equação $t_{1/2} = [H_2O_2]_{inicial} / 2 \cdot k$. Para a cinética de primeira ordem o gráfico é representado por $\ln ([H_2O_2] / [H_2O_2]_{inicial})$ em função do tempo. O tempo de meia-vida neste caso é calculado pela equação $t_{1/2} = \ln 2 / k$. Já para a cinética de segunda ordem o gráfico é representado por $1/[H_2O_2]$ em função do tempo, e o tempo de meia-vida é calculado pela equação $t_{1/2} = 1/k[H_2O_2]_{inicial}$ (AVERY, 1997; MOORE, 2000; LEVINE, 2008).

Capítulo 3: Objetivos



Rio Preto - São José do Rio Preto

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar a capacidade de complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto com as espécies de crômio bem como caracterizá-las empregando as seguintes técnicas: a Espectrofotometria UV/Vis, Espectrofotometria na região do Infravermelho com Transformada de Fourier, Espectroscopia de Fluorescência Molecular, Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear e a Pirólise off-line utilizando o Hidróxido de Tetrametilamônio aplicando a Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa. E também, avaliar o emprego da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio como um indicador da labilidade e/ou recalcitrância da Matéria Orgânica Natural presente no rio Preto.

3.1.1 Objetivo Específico

a) Adaptar método para extração da Substância Húmica Aquática do Rio Preto utilizando resina macroporosa XAD-7, da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS);

b) Fracionar as SHA utilizando o sistema de ultrafiltração com fluxo tangencial equipado com membranas de polietersulfona com tamanhos de 10, 30, 50 e 100 kDa;

c) Adaptar o método para quantificação de Cr (III) e Cr (VI) empregando o espectrofotômetro de absorção atômica com atomização por forno de grafite e o com atomização por chama, bem como o método espectrofotométrico.

d) Estudar a capacidade de complexação das SHA fracionadas com os íons Cr (III) e Cr (VI) empregando a o sistema de ultrafiltração com fluxo tangencial com membrana de polietersulfona de 1 kDa.

e) Caracterizar as SHA empregando as técnicas: a Espectrofotometria UV/Vis, Espectrofotometria na região do Infravermelho com Transformada de Fourier, Espectroscopia de Fluorescência Molecular, Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear e a Pirólise off-line utilizando o Hidróxido de Tetrametilamônio aplicando a Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa.

f) Realizar estudos em microcosmos para avaliar a possibilidade de emprego da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio como indicador da labilidade e/ou recalcitrância da MON no ambiente aquático. Para isto serão testadas diversas fontes de matéria orgânica.

*Parte I: Caracterização e
Estudos de Capacidade de
Complexação das SHA*

Capítulo 4: Parte Experimental



Rio Preto - São José do Rio Preto

4.1 AMOSTRAGEM DA ÁGUA SUPERFICIAL PARA EXTRAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS

4.1.1 Ponto de Coleta

O local de estudo foi o rio Preto ($S20^{\circ}48'40.94''W49^{\circ}21'13.62''$) localizado na região noroeste do estado de São Paulo, situado na cidade de São José do Rio Preto, conforme observado na Figura 4. O rio Preto está inserido na Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande, no qual consistiu-se de um corpo aquático predominantemente agrícola e urbano, com sua utilização para diversos fins, incluindo o abastecimento público da cidade de São José do Rio Preto. A área de estudo destaca-se por ter um clima tropical com temperaturas médias de 25 °C e estações do ano bem definidas. As amostras de água do rio Preto foram coletadas durante o período de seca (pluviosidade variando de 0,8 mm a 267,3 mm) e de chuva (pluviosidade variando de 99,1 mm a 285,2 mm) e direcionadas ao laboratório para as análises e extração das SHA, conforme sugerido pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) (THURMAN et al. 1981).

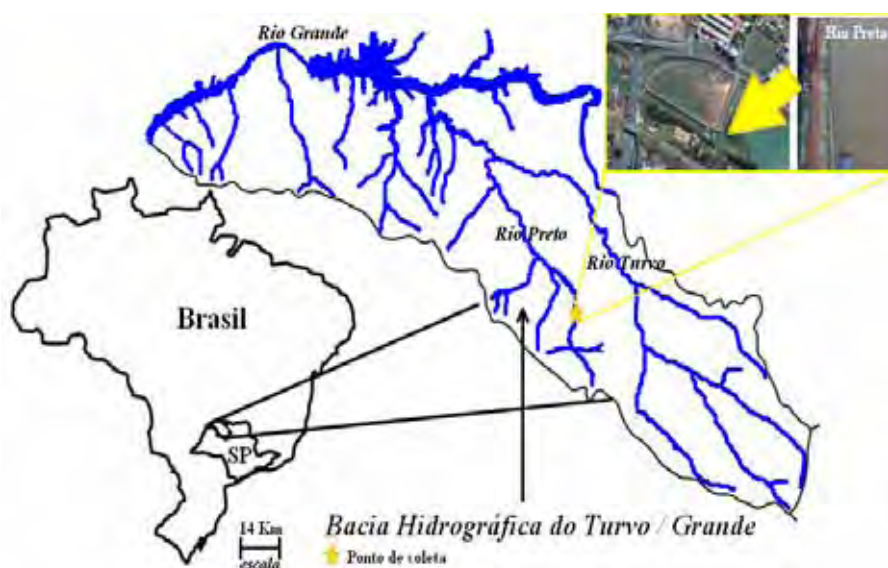


Figura 4: Mapa esquemático contendo a localização do ponto de coleta da amostra de água do rio Preto representado pela estrela amarela (adaptado de GOOGLE MAP).

4.1.2 Procedimento de Coleta

Os procedimentos de coleta das amostras de água superficial para extração das SHA seguiram as recomendações da NBR 9898 (ABNT, 1987) e do método 1669 (UESPA, 1996).

As amostras de água do rio Preto foram coletadas em galões de 50 L previamente limpos, lavados várias vezes com a água do próprio corpo aquático e preenchidos com as amostras de água, totalizando cerca de 1000 L de amostra de água coletada do rio Preto. Em seguida, as amostras foram levadas ao laboratório, filtradas em papel de filtro de 0,2 mm para a remoção do material particulado e sólido em suspensão, e posteriormente acidificadas com HCl 6,0 mol L⁻¹ até um pH próximo a 2,5 para a extração das SHA. Para a análise do Carbono Orgânico Dissolvido (COD) as amostras foram coletadas em frascos de vidro âmbar e armazenadas na geladeira até o momento da análise.

4.1.3 Parâmetros Determinados nas Amostras de Água Superficial

Os parâmetros temperatura, pH, condutividade elétrica, turbidez e oxigênio dissolvido foram quantificados em campo com auxílio de medidores portáteis (Hanna, HI991300 e Hanna, HI9146-04) previamente calibrados no laboratório. A quantificação de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) foi feita empregando-se um Analisador de Carbono Orgânico Total (Shimadzu, TOC-VCSN). Os resultados estão apresentados na Tabela 12 (Anexo 1).

4.2 EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS

A ativação da resina polimérica seguiu as recomendações descritas por Thurman e Malcon (1981), a qual foi purificada usando soluções de ácido clorídrico 0,1 mol/L, hidróxido de sódio 0,1 mol/L e metanol, mantendo um intervalo de 24 horas entre as soluções respectivamente, conforme exemplificado na Figura 5.

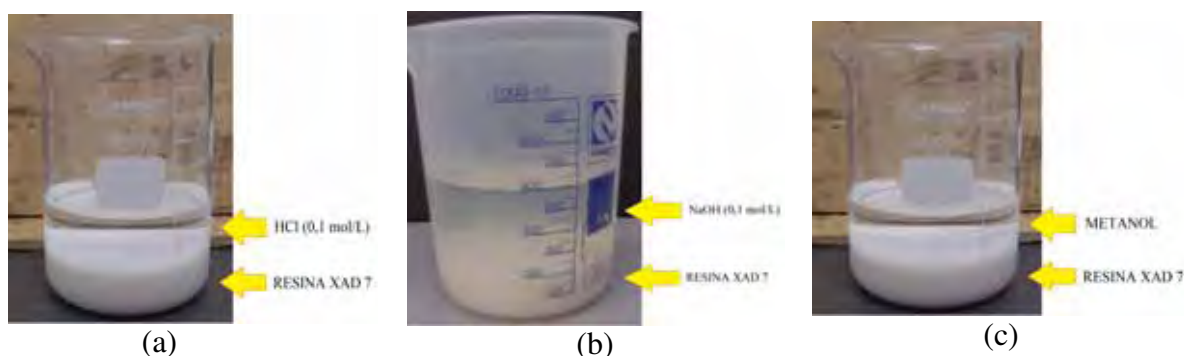


Figura 5: Tratamento da Resina XAD 7 com: (a) Ácido Clorídrico 0,1 mol L⁻¹; (b) Hidróxido de Sódio 0,1 mol L⁻¹; (c) Solução de Metanol.

O método utilizado para extração foi o sugerido pela Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS) empregando-se a resina polimérica para retenção dos ácidos húmicos e fúlvicos (THURMAN; MALCON, 1981), que podem ser visualizados na Figura 6.



Figura 6: (a) Procedimento de eluição das Substâncias Húmicas Aquáticas; (b) Foto ilustrativa das Substâncias Húmicas Aquáticas obtida no final da eluição.

O fracionamento das Substâncias Húmicas Aquáticas foi realizado seguindo o método proposto por Burba e colaboradores (2001), adaptado por Pantano et al. 2012, o qual utilizou quatro Sistemas de Ultrafiltração com Fluxo Tangencial (SUFT). Para isto 200,0 mL de amostra de SHA foi bombeada para o SUFT com o auxílio de uma bomba peristáltica passando através de uma série de quatro filtros equipados com diferentes tamanhos de membranas que variam de 10 a 100 kDa, donde essas frações de Substâncias Húmicas com diferentes tamanhos moleculares (<10, 10-30, 30-50, 50-100 e >100 kDa) foram coletadas individualmente, conforme ilustrado na Figura 7.

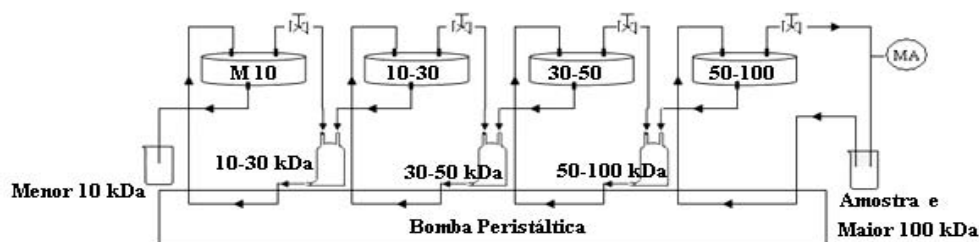


Figura 7: Esquema do sistema utilizado para o fracionamento das Substâncias Húmicas Aquáticas (adaptado de PANTANO et al. 2012).

4.3 INTERAÇÃO DAS SHA E DE SUAS FRAÇÕES COM AS ESPÉCIES DE CRÔMIO EMPREGANDO O SISTEMA DE ULTRAFILTRAÇÃO COM FLUXO TANGENCIAL

Para o estudo da interação das SHA sem o fracionamento e das frações de diferentes tamanhos moleculares (<10, 10-30, 30-50, 50-100 e >100 kDa) foi determinado empregando o Sistema de Ultrafiltração com Fluxo Tangencial (SUFT). Este foi equipado com uma

membrana de *polyethersulfone* de 1,0 kDa, o que permite a passagem apenas do metal livre e de complexos de SHA-metal menor que 1,0 kDa (BURBA et al. 2001).

4.3.1 Tempo de Complexação

O estudo do tempo de complexação das SHA sem fracionamento foi determinado utilizando-se um volume de 100,0 mL de uma solução de 1,0 mg/L de COD e mantidas sob agitação magnética. A essa solução foi adicionado uma solução de 0,05 mg/L de cromo trivalente. Em intervalos de 5 em 5 minutos, amostras foram recolhidas e submetidas à quantificação do cromo para a determinação do tempo de equilíbrio entre as SHA e o metal cromo. A primeira alíquota retirada era referente à SHA sem ausência do metal. Cabe ressaltar que os experimentos foram realizados para as frações de diferentes tamanhos moleculares e empregando as soluções padrões de cromo trivalente e hexavalente (ROMÃO, 2003; ZÚÑIGA, 2006; OLIVEIRA, 2007) obtendo diferentes tempos de equilíbrios os quais variaram entre 10 e 50 minutos.

4.3.2 Determinação da Capacidade de Complexação com os Íons Cromo Trivalente e Hexavalente

O estudo da capacidade de complexação (CC) das SHA sem fracionamento e das frações de diferentes tamanhos moleculares (<10, 10-30, 30-50, 50-100 e >100 kDa) foi determinado empregando o Sistema de Ultrafiltração com Fluxo Tangencial (Figura 8) conforme o método descrito por Burba e colaboradores (2001). Em intervalos de tempos determinados experimentalmente interrompeu-se o fluxo do SUFT com o auxílio de um *equipos*, e coletou-se 2,0 mL da amostra que foram armazenadas em *ependorff* de 2,0 mL e mantidas na geladeira a 4 °C, sendo então submetidas a quantificação das espécies de cromo. Após cada coleta era adicionada a amostra contida no béquer diferentes concentrações da solução de padrão de cromo trivalente (Cr (III)) ou hexavalente, Cr (VI), (Cr₂O₇⁻²), as quais variaram de 9,9 µg L⁻¹ a 7,8 mg L⁻¹.

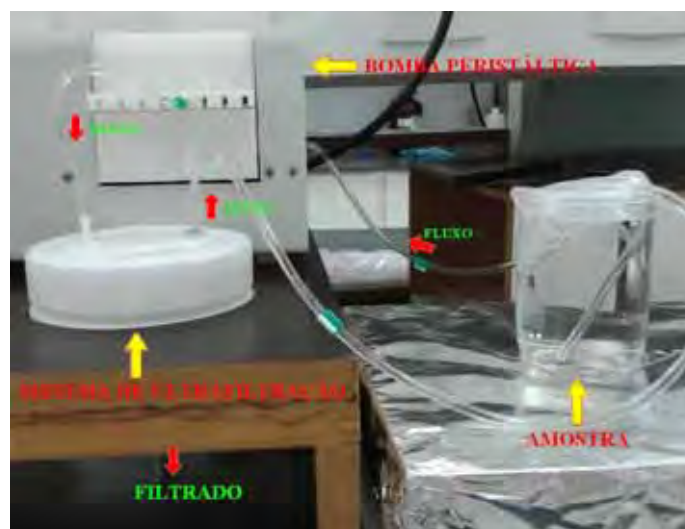
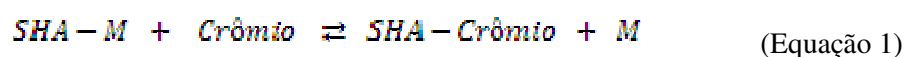


Figura 8: Sistema de Ultrafiltração em fluxo Tangencial (SUFT) utilizado para determinação da capacidade de complexação das frações SHA com os íons Cr (III) e Cr (VI).

Sabendo-se que no estado de equilíbrio a lei das massas é obedecida, como apresentado na Equação 1, foi possível determinar a constante de troca entre as Substâncias Húmicas Aquáticas e as espécies de cromo, como mostrado na Equação 2 (ROCHA; ROSA, 2003):



$$K \text{ troca} = \frac{[SHA - Crômio] \times [M]}{[SHA - M] \times [Crômio]} \quad (\text{Equação 2})$$

(M: refere-se às espécies de Cr (III) e de Cr (VI))

4.3.3 Decomposição e Quantificação das Espécies de Cromo

Para a quantificação de cromo total nas amostras de SHA fez-se necessário submeter um processo de decomposição seguindo o método adaptado da USEPA (1994) e JUNIOR e colaboradores (2001). A quantificação de cromo total nas diversas amostras seguiu as recomendações do método 3500-Cr B (CLESCERL et al. 1998) empregando o Espectrofotômetro de Absorção Atômica com atomização por Forno de Grafite (GFAAS) com corretor Zeeman (Varian, AA280Z). As condições instrumentais empregadas para a quantificação foram adaptadas daquelas sugeridas pelo fabricante e por Pereira e

colaboradores (2004). O volume de amostra injetado foi de 8µL e o modificador químico empregado foi o universal que consiste em uma solução contendo 1500,0 mg L⁻¹ de Pd e 1000,0 mg L⁻¹ de Mg(NO₃)₂ (WELZ et al. 1988; USEPA, 1994). O Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais tem participado de Ensaio de Proficiência oferecidos pela EMBRAPA e INMETRO para quantificação de metais em tecido vegetal e amostra certificada de água (SRM 1640a - Trace Elements in Natural Water, NIST). Os resultados do z de score obtidos são considerados satisfatórios ($|z| \geq 3$ insatisfatório; $2 < |z| < 3$ questionável; $|z| \leq 2$ satisfatório).

Para a quantificação de crômio hexavalente foi empregado o método 3500 D (CLESCERL et al. 1998). O crômio hexavalente foi determinado colorimetricamente por meio da reação com a difenilcarbazida em meio ácido, a qual produz um composto de coloração violeta-avermelhada (VERCOUTERE; COMELIS, 1995; SPERLING, 2005), conforme apresentado na Equação 3.



A determinação do Limite de Detecção (LD) para a quantificação do crômio total foi calculado, de acordo com Butcher e Sneddon (1998), conforme apresentado nas Equações 4 e 5. O LD foi calculado a partir do desvio padrão da absorbância de dez brancos analíticos e considerando a concentração característica do método, a qual representa a concentração do elemento que apresenta uma absorbância de 0,0044.

$$LD = \frac{3 \times SD}{s} \tag{Equação 4}$$

$$Cc = \frac{0,0044}{s} \tag{Equação 5}$$

Onde: LD: limite de detecção;

SD: desvio padrão da absorbância da leitura de dez brancos;

Cc: concentração característica;

s: sensibilidade.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS

4.4.1 Espectrofotometria de UV/Vis

Por medidas de espectrofotometria de UV/Vis (Thermo Scientific Evolution 300) foram obtidos espectros de varreduras nos comprimentos de onda de 200 a 700 nm da amostra de SHA (10 mg L⁻¹ de COD) e de suas respectivas frações de diferentes tamanhos moleculares. A aromaticidade das Substâncias Húmicas foi avaliada por meio da correlação E₄/E₆ (absorbâncias em 465 nm e 665 nm), correlação E₂/E₃ (absorbâncias em 254 nm e 365 nm) e correlação E₂/E₄ (absorbâncias em 270 nm e 407 nm) (PEURAVUORI; PIHLAJA, 1997; ROCHA; ROSA 2003). Os espectros de varredura estão apresentados na Figura 30, Anexo 3. A absorbância no ultravioleta específico (SUVA₂₅₄) é definida como a absorbância da amostra de água a um dado comprimento de onda (254 nm) normalizada com a concentração correspondente do Carbono Orgânico Dissolvido, foi obtida seguindo as recomendações de Weishaar e colaboradores (2003).

4.4.2 Espectroscopia de Fluorescência Molecular

Pela técnica de Espectroscopia de Fluorescência Molecular foram obtidos espectros em três modos: modo emissão, modo sincronizado e modo matriz excitação-emissão (MEE) da amostra de SHA empregando um Espectrofluorímetro da Varian, modelo Cary Eclipse. No modo emissão realizou-se a varredura de 350 a 650 nm com um comprimento de onda de excitação fixo em 332 nm. No modo sincronizado foram obtidos espectros de 300 a 600 nm empregando um $\Delta\lambda$ 18 nm (adaptado de PEURAVUORI et al. 2002). No modo MEE (espectro tridimensional) foram utilizados os comprimentos de onda de 350-600 nm emissão e 300-450 nm excitação (adaptado de AZEVEDO; NOZAKI, 2008; MELO, 2010). Todos os espectros foram obtidos com abertura de fenda de 10 nm.

4.4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

A Caracterização por Espectroscopia na região do Infravermelho foi feita misturando-se 1,0 mg da amostra de SHA para os períodos de seca e chuva em 3,0 mg de KBr, obtendo-se a proporção 1:3 (amostra/KBr). Os espectros foram obtidos de 4000 a 450 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹ e 8 varreduras, em um equipamento PE Spectrum-One, equipado com

acessório de reflectância difusa da PerkinElmer. Esse procedimento foi realizado em triplicata.

Cabe ressaltar que as análises de Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear e Pirólise off-line utilizando o Hidróxido de Tetrametilamônio empregando GC/MS foram realizadas sob a supervisão dos Dr. Alessandro Piccolo, Dr. Riccardo Spaccini e Dr^a. Barbara Fontaine no Laboratório “Supramolecular Humic Systems in the Environment” - Università di Napoli Federico II – Portici, Napolis, Itália.

4.4.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

A Caracterização por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear foi realizada empregando um Bruker AV-300 da PerkinElmer, equipado com uma sonda de 5 mm de largura. Os espectros de RMN foram obtidos aplicando uma frequência de 13.000 Hz de velocidade de rotação do motor, 1 s de tempo de reciclagem, 1 s de tempo de contato, 20 minutos de tempo de aquisição e 22.727 varreduras para análise do Carbono 13. Esse procedimento foi realizado em triplicata.

4.4.5 Pirólise off-line utilizando o Hidróxido de Tetrametilamônio aplicando a Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massa

O processo pirolítico consistiu da pesagem de 100,0 mg da amostra de SHA em uma cubeta de quartzo, seguida da adição de 200,0 µL de tetrametilamônio 25% (v/v) em metanol seguindo as recomendações descrita por Spaccini e Piccolo (2007). Em seguida as amostras foram analisadas utilizando um Cromatografo Gasoso acoplada ao Espectrômetro de Massa (GC-MS) da PerkinElmer modelo Auto System XL. Esse procedimento foi realizado em duplicata.

4.4.6 Análise Elementar

A análise elementar das Substâncias Húmicas Aquáticas foi realizada pela Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química da Universidade Federal de São Carlos, com o auxílio de um analisador elementar CE Instruments, modelo EA 1110.

Capítulo 5: Resultados e Discussão



Rio Preto - São José do Rio Preto

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS

A Figura 9 mostra o grau de aromaticidade das amostras de SHA do rio Preto para o período de seca e chuva obtido por Espectrofotometria de UV/Vis. Pode-se observar que a F2 (Fração de 10-30 kDa) apresentou maior grau de aromaticidade para ambos os períodos amostrados, e que as SHA do rio Preto e suas frações de diferentes tamanhos moleculares possuem alto grau de aromaticidade quando comparado a outros trabalhos descritos na literatura (SUMMER et al. 1987; PEURAVUORI; PIHLAJA, 1997; PEURAVUORI et al. 2005; LI LI ZHAO et al. 2004; MCDONALD et al. 2004; GIOVANELA et al. 2010).

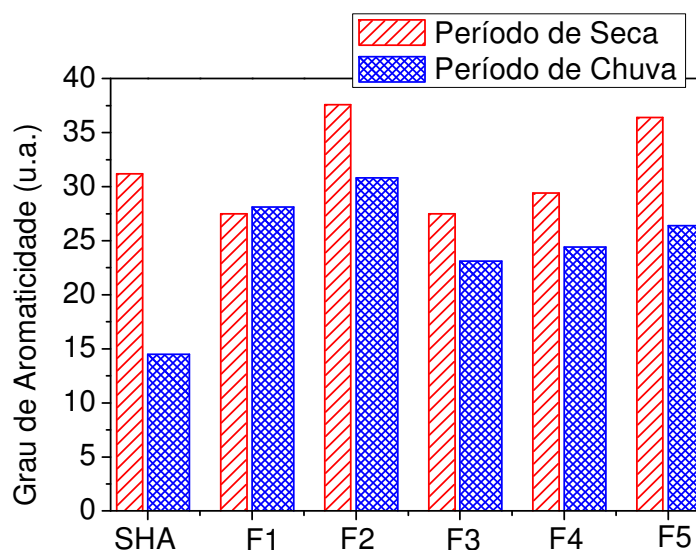


Figura 9: Grau de Aromaticidade das SHA do rio Preto obtido por Espectrofotometria de UV/Vis, sendo que F1: < 10 kDa; F2: 10 – 30 kDa; F3: 30 – 50 kDa; F4: 50 – 100 kDa; F5: > 100 kDa e SHA: Substância Húmica Aquática sem fracionamento (Grau de Aromaticidade = 52,509 - 6,780. E_2/E_3 , retirado de PEURAVUORI; PIHLAJA, 1997).

Destaca-se que o grau de aromaticidade das frações (Figura 9) variou em função da sazonalidade, permitindo estabelecer a seguinte ordem decrescente de Aromaticidade: F2 > F5 > SHA > F4 > F1 ~ F3 para o período de seca e F2 > F1 > F5 > F4 > F3 > SHA para o período de chuva, podendo inferir que a sazonalidade influenciou na composição dos grupos presentes na estrutura das SHA do rio Preto e de suas frações.

Utilizando os espectros de varredura no UV/Vis das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto sem o fracionamento e de suas respectivas frações de diferentes tamanhos moleculares (<10, 10-30, 30-50, 50-100 e >100 kDa) para os períodos de seca e chuva (conforme apresentados na Figura 29 no Anexo 3), pode-se verificar o grau de

humificação e a presença de lignina na estrutura das SHA e de suas frações por meio das razões E_2/E_3 (250/365 nm) e E_2/E_4 (270/407 nm) (SANTOS et al. 2008), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Características espectroscópicas na região do UV-Vis para SHA.

Amostras	Razões				SUVA (254 nm)	
	E_2/E_3		E_2/E_4		Seca	Chuva
	Seca	Chuva	Seca	Chuva		
SHA	3,1	5,6	3,9	5,8	7,2	5,1
<10 kDa	3,7	3,6	4,6	4,0	28,4	5,0
10 – 30 kDa	2,2	3,2	2,3	3,3	14,3	7,3
30 – 50 kDa	3,7	4,3	4,8	4,5	61,0	4,8
50 -100 kDa	3,4	4,2	4,4	4,1	69,3	5,1
>100 kDa	2,4	3,9	2,7	3,9	24,1	5,1

Pode-se observar que a razão E_2/E_4 inferem a presença de anéis aromáticos e uma maior participação de plantas terrestres, indicando uma possível presença de estruturas de ligninas nas SHA do rio Preto. Vale ressaltar que estudos descritos na literatura reportam que valores de $SUVA_{254}$ maior que 4 reportam maior o grau de humificação, conseqüentemente maior o número de grupos aromáticos presente na estrutura das SHA (WEISHAAR et al. 2003; ABBT-BRAUN et al. 2004; SAADI et al. 2006; GIOVANELA et al. 2010, PÉDROT et al. 2010) pode-se verificar que as frações 10-30, 50-100 e >100 kDa foram as que apresentaram os maiores valores de $SUVA_{254}$ indicando um maior grau de humificação e corroborando aos maiores valores obtido do grau de aromaticidade (Figura 9), sendo esses mais intensos para o período de seca. As frações 30 – 50, 50 – 100 kDa e as SHA sem fracionamento foram as que apresentaram os maiores valores da razão E_2/E_3 para o período de chuva, conseqüentemente menores foram os grau de aromaticidade demonstrado que há maior presença de estruturas alifáticas em decorrência do baixo grau de humificação para essas frações, conforme mostrado na Tabela 1 (SLOBODA, 2007).

Os valores obtidos da análise elementar das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto sem o fracionamento para o período de seca foram de 7,30 % de Carbono; 0,18%

de Nitrogênio; 1,60 % de Hidrogênio e 0,0 % de enxofre e para o período de chuva foram de 6,34% de Carbono; 0,22% de Nitrogênio; 1,53% de Hidrogênio e 0,0% de enxofre, valores estes inferiores aos descritos na literatura (SENESI et al. 1989; PEURAVUORI et al. 2002; ABBT-BRAUN et al. 2004; MCINTYRE et al. 2005; CAVOSKI et al. 2009; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011). Senesi e colaboradores (1989) demonstraram que os AF extraídos de rios dos Estados Unidos apresentaram maior teor de carbono quando comparados aos AF extraídos de solos da mesma região.

A relação C/H permite inferir a saturação da estrutura das SHA, sendo assim quanto menor for o valor da razão C/H maior será a quantidade de estruturas aromáticas, conseqüentemente maior será o grau de aromaticidade (ABBT-BRAUN et al. 2004). O valor da razão C/H para SHA para o período de seca e chuva foram de 4,57 e 4,14, respectivamente, indicando uma maior quantidade de estruturas aromáticas e conseqüentemente maior o grau de aromaticidade corroborando com os dados obtidos da razão E₂/E₃ das amostras de SHA para o mesmo período amostrado (Tabela 1). Desde modo as Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto sem o fracionamento referente ao período de seca possuíram o maior grau de aromaticidade quando comparados a outros estudos descritos na literatura.

A caracterização das SHA pode ser realizada utilizando-se a Espectroscopia de Fluorescência Molecular na modalidade Matriz Excitação-Emissão (MEE), a qual pode fornecer critérios para diferenciar e classificar as origens das SH (FILELLA et al. 2005; AZEVEDO; NOKAZI, 2008). Estudos realizados de MEE de ácidos húmico e fúlvico de referência adquiridos da IHSS (Suwannee River) apresentaram picos de intensidade máxima de fluorescência em: $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 320/450 nm e em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 255/455 nm ao quais foram associados a presença de ácidos fúlvicos e em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 330/470 nm e em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 260/485 nm aos de ácidos húmicos (SIERRA et al. 2005). Comportamento semelhante foi observado por Azevedo e Nozaki (2008) empregando Substâncias Húmicas aquáticas extraídas da Lagoa dos Patos – MG, os quais observaram picos de intensidade de fluorescência em $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 315/440, $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 270/400, $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 310/470 e $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 440/505; sendo o primeiro atribuído ao ácido fúlvico e os demais a presença de ácidos húmicos.

Conforme pode-ser observado no espectro tridimensional das SHA do rio Preto referente ao período de seca (Figura 10 a e b) e de chuva (Figura 10 c e d), a intensidade máxima de fluorescência ocorreu para $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ 350/450 nm, o qual pode ser atribuído a maior

presença de ácidos húmicos na sua estrutura (COBLE, 1996; ROCHA et al. 2004; MELO, 2010), sendo este mais intenso no período de seca, o que sugere que a Matéria Orgânica Natural está sendo alterada por processos fotoquímicos.

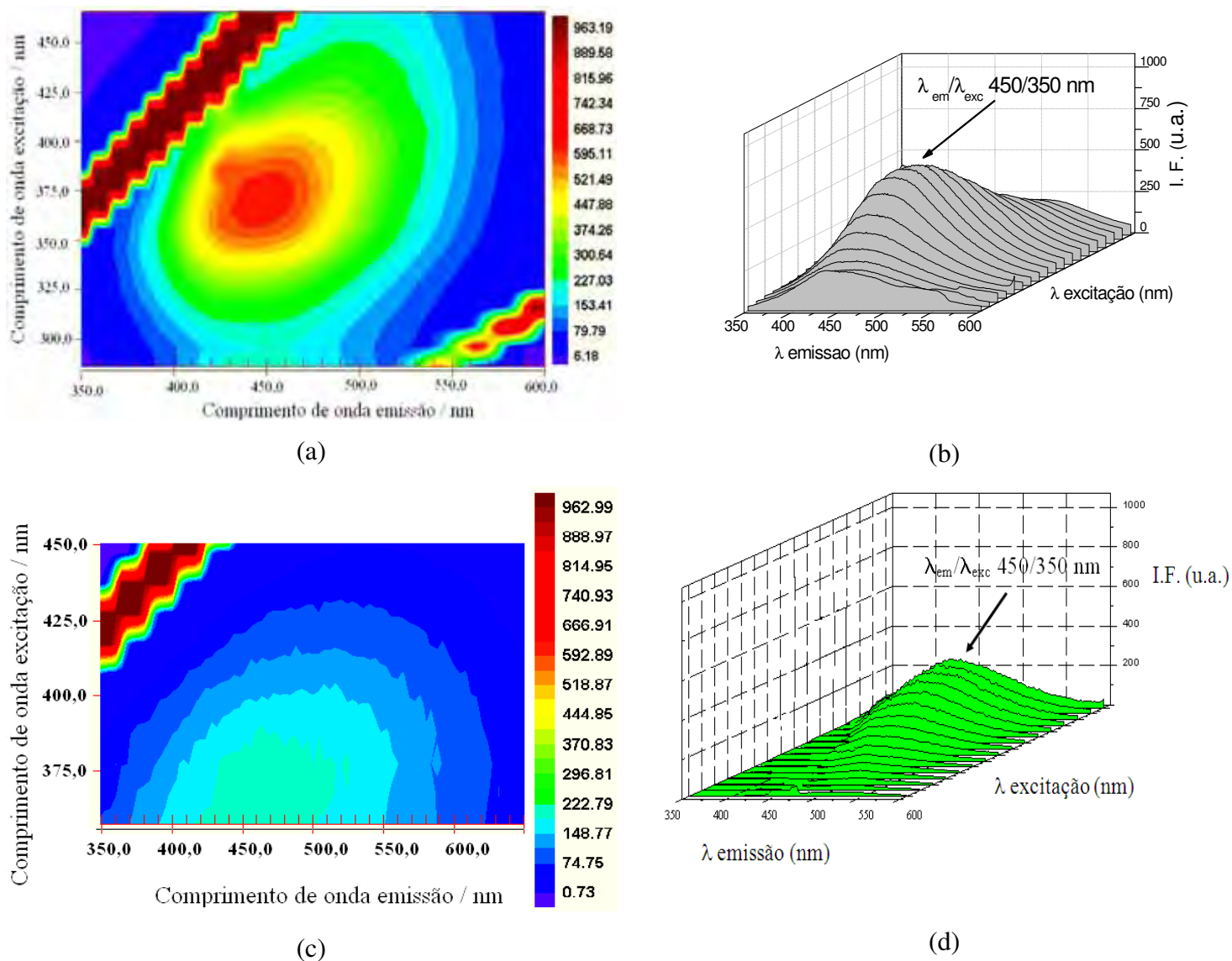


Figura 10: Espectro tridimensional obtido no Espectrofluorímetro de Luminescência na modalidade MEE das SHA do rio Preto: (a) período de seca e (c) período de chuva e Espectro 3D da amostra de Substâncias Húmicas Aquáticas do rio Preto: (b) período de seca e (d) período de chuva.

A Figura 11 (a e b) apresenta os espectros na região do Infravermelho para as Substâncias Húmicas Aquáticas extraída do rio Preto referente ao período de seca e de chuva. Pode ser verificada uma banda próxima a 2.973 cm^{-1} a qual pode ser atribuída ao estiramento

OH de grupos alcoóis e/ou fenólicos e/ou ácidos carboxílicos, uma banda na região de 2.925 cm^{-1} pode ser atribuído a presença de estiramentos C-H de grupos metilas e metilenos alifáticos, uma banda na região de 1.696 cm^{-1} pode ser conferida a vibrações de carbonilas de grupos carboxilatos e/ou cetonas (HAVERS et al. 1998; ARAÚJO et al. 2002; ROCHA; ROSA, 2003; GIOVANELA et al. 2010; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011), uma banda na região de 1.552 cm^{-1} está associada a presença de amins tipo II (N-H). Bandas na região de 1.460 a 1.370 cm^{-1} podem ser conferida a presença de ligações de C-H de CH_3 e deformações de ligação de CH_2 e CH_3 . Regiões de 1.220 a 1.260 cm^{-1} atribuem-se a presença de grupos oxigenados tais como ácidos carboxílicos, fenóis, aromáticos e éteres não saturados e bandas nas regiões de 1.030 a 1.095 cm^{-1} associadas à presença de alcoóis e éteres alifáticos (ROCHA; ROSA, 2003; OLIVEIRA, 2007; PERTUSATTI, 2007; SANCHES et al. 2007; GIOVANELA et al. 2010; RODRÍGUEZ; NÚÑEZ, 2011) presentes nas estruturas das SHA extraída do Rio Preto para ambos os períodos amostrados.

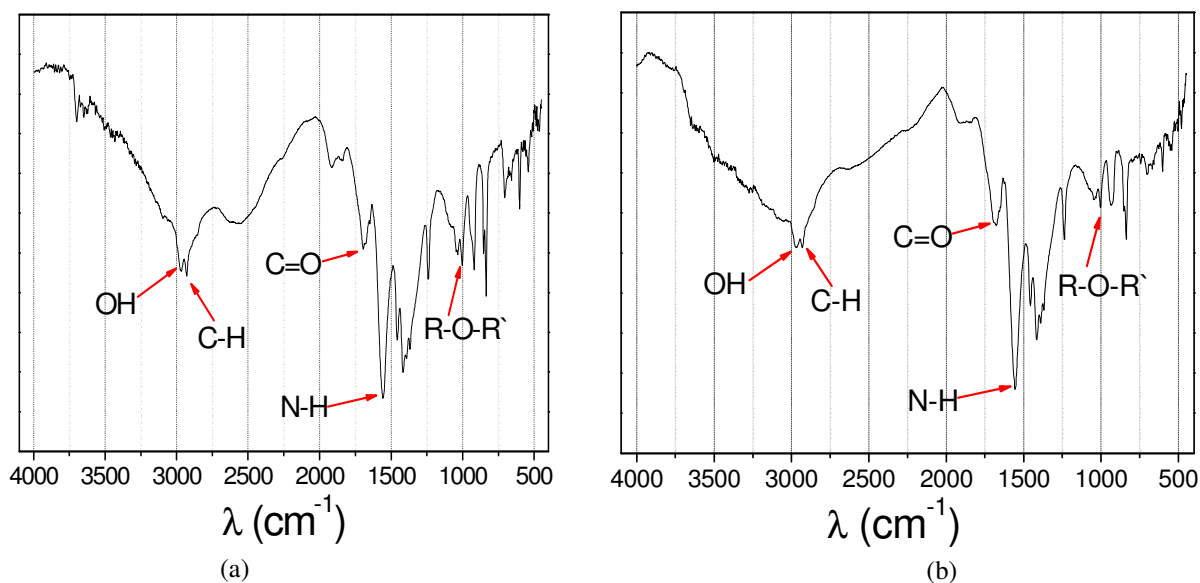


Figura 11: Espectro de Infravermelho com Transformada de Fourier das amostras de Substâncias Húmicas Aquáticas referente aos períodos: (a) seca e (b) chuva.

A Figura 12 (a e b) apresenta os espectros obtidos da Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear para as amostras de Substâncias Húmicas aquáticas extraídas do Rio Preto referente ao período de seca e chuva. Pode ser verificado para ambos os períodos amostrados

um intervalo de picos: 13 a 20 ppm que é atribuído a presença de carbonos alquilas de grupos metilenos; 120 a 143 ppm que é atribuído a presença de grupos aromáticos substituídos por Oxigênio e Nitrogênio, tais como: éter aromático e fenóis; e pico em 129 ppm é atribuído a presença de carbonos insaturados ou carbonos de arilas com carbonos aromáticos protonados e de 164 a 181 ppm que é atribuído a presença de grupos carboxílicos e carbonílicos na estrutura das SHA (GONZÁLEZ-VILA et al. 2001; FRANCIOSO et al. 2002; ESTEVES et al. 2009; SPACCINI; PICCOLO, 2009; GIOVANELA et al. 2010, MAO et al. 2011; MAZZEI; PICCOLO, 2012).

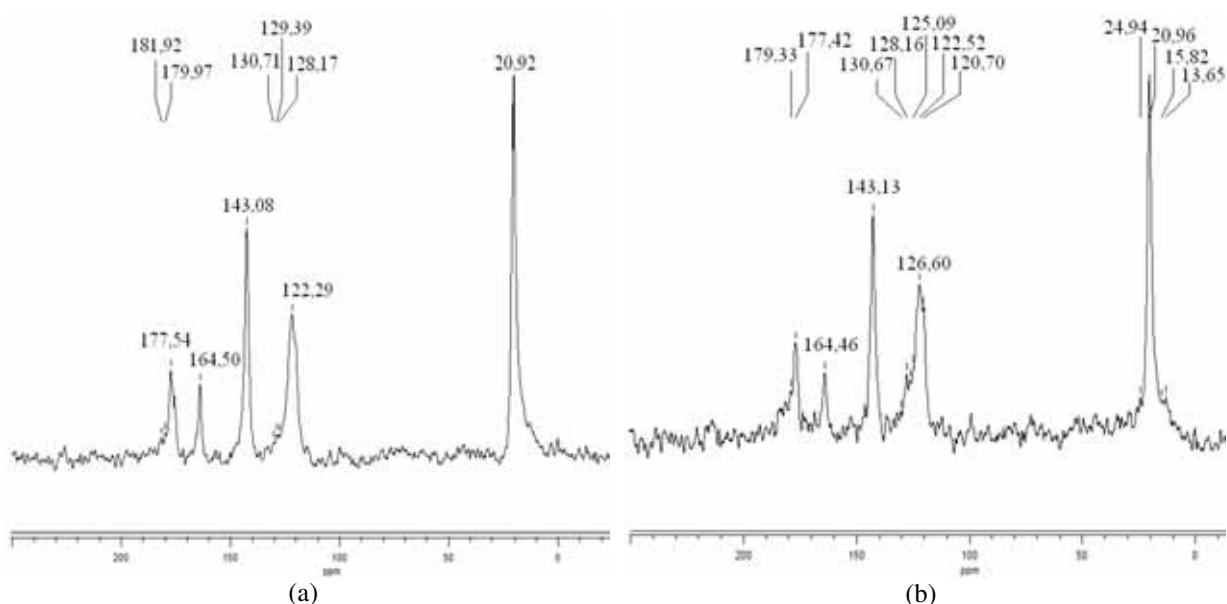


Figura 12: Espectros de Ressonância Magnética Nuclear das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do Rio Preto, os quais se referem (a) período de seca e (b) período de chuva.

A partir dos espectros de RMN das amostras de SHA do Rio Preto foi possível estimar a concentração relativa dos grupos presentes nas estruturas das SHA, conforme apresentado na Tabela 2. Pode-se observar que a região de 145 a 110 ppm a qual atribuí-se a presença de grupos aromáticos foi a que apresentou maior porcentagem para ambas as amostras 37,2% e 38,1% para SHA do período de seca e chuva, respectivamente. Em seguida, a região a ser destacada foi a de 0 a 45 ppm associada a presença de carbonos alifáticos. Outra região de destaque nos espectros de RMN das SHA para ambos os períodos amostrados foi a de 160 a

190 ppm a qual pode ser atribuída a presença de C=O de carbonos de grupos carboxílicos e cetônicos.

Tabela 2: Porcentagem relativa dos grupos presentes nas estruturas das SHA do Rio Preto para os períodos de seca e chuva.

Atribuição do espectro (ppm)	Porcentagem (%)	
	Período de SECA	Período de CHUVA
190 – 160	15,4	16,4
160 – 145	3,3	3,8
145 – 110	37,2	38,1
110 – 60	6,2	4,1
60 – 45	1,8	3,1
45 – 0	36,0	34,5

Ao reportar a literatura os valores obtidos das porcentagens relativas de C obtidas por RMN para as amostras de Substâncias Húmicas Aquáticas do rio Preto (Tabela 2), para ambos os períodos foram maiores do que aqueles observados por outros pesquisadores (CHEN et al. 2002; SPACCINI; PICCOLO, 2009; MAO et al. 2011), permitindo inferir que as SHA do Rio Preto é rica em grupamentos aromáticos, carboxílicos e cetônicos, os quais evidenciam principalmente uma maior participação de carboidratos e derivados de ligninas. Estes resultados foram confirmados nos cromatogramas obtidos por Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio utilizando o GC-MS, corroborando com os resultados obtidos utilizando as técnicas de Espectroscopia de UV/Vis e Espectroscopia de Fluorescência Molecular (Tabela 1 e Figura 10, respectivamente). Segundo Malcon (1990) a porcentagem de aromaticidade foi determinada empregando a Equação 6, obtendo-se as porcentagens de 41,1% e 42,3%, respectivamente, para SHA referente ao período de seca e chuva.

$$\text{Aromaticidade (\%)} = \frac{(\text{Integração de 112 a 163 ppm})}{(\text{Integração de 0 a 190 ppm})} \times 100 \quad (\text{Equação 6})$$

A Figura 13 (a e b) apresenta o cromatograma obtido no GC/MS para a amostra de Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do Rio Preto referente ao período de seca aplicando o processo pirolítico usando Hidróxido de Tetrametilamônio, também conhecido como

Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio utilizando o GC-MS. Pode-se observar que durante 60 minutos de análise houve o aparecimento de 34 picos em diferentes tempos de retenção, os quais foram classificados e nomeados de acordo com os espectros de massa e comparados aos compostos presentes no banco de dados do próprio software (NIST, 2002).

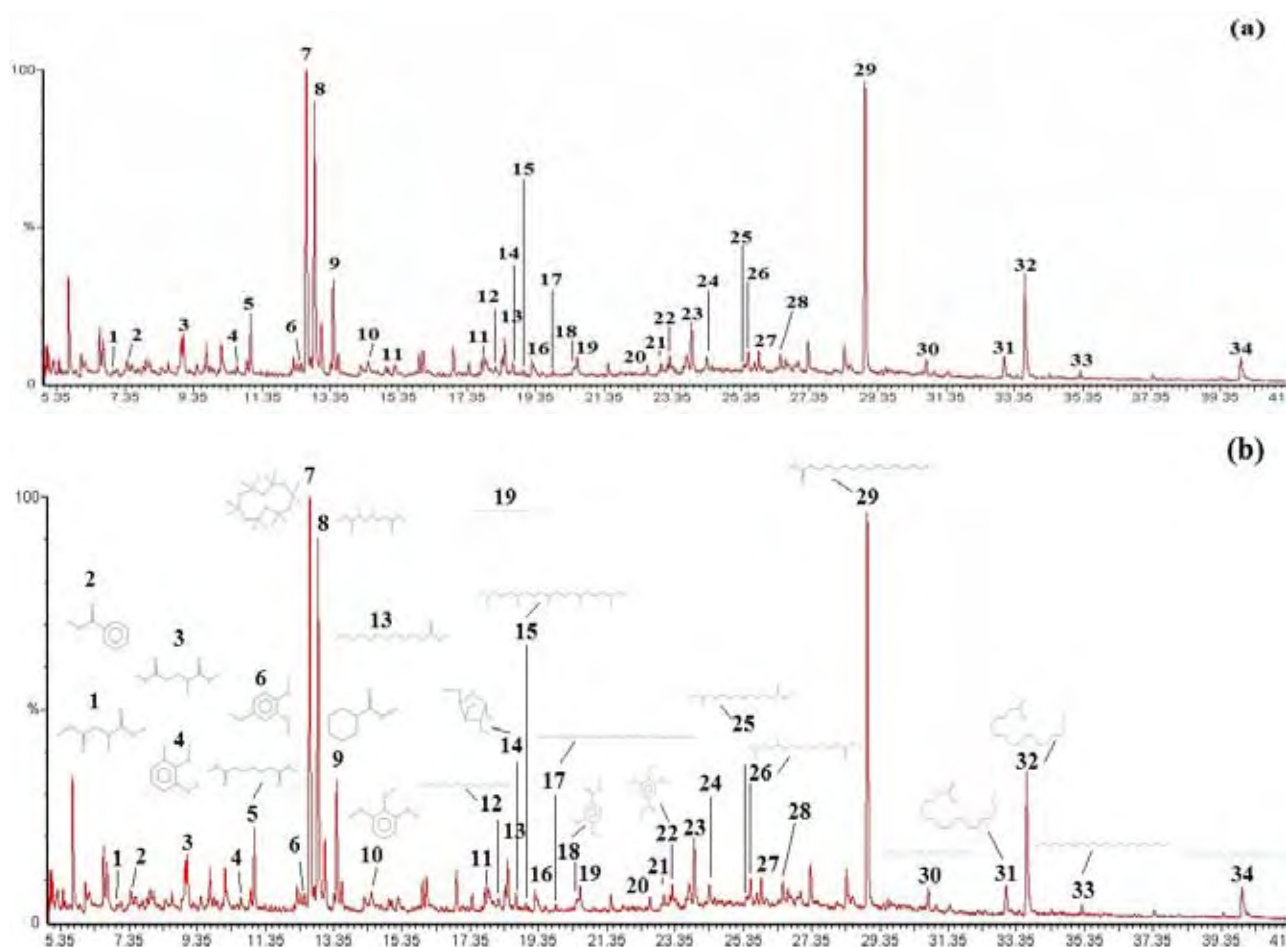


Figura 13: Cromatograma obtido no GC/MS para a amostra de SHA do Rio Preto referente ao período de seca, onde (a) com os picos, (b) com os principais compostos.

Na Figura 13 (a e b), é possível verificar que foram apontados 57 picos, sendo que os principais compostos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Principais compostos obtidos por GC-MS das SHA do Rio Preto referente ao período de seca.

Pico (n°)	Nome do composto	Origem
1	Ácido Butanodióico, metal, dimetil ester	FAME
2	Ácido Benzóico , metal ester	Lipídeo
3	Ácido Pentanodióico dimetil ester	FAME
38	2,4 dimetil dimetil ester ácido pentanodióico	FAME
4	2,3-Dimetóxi tolueno	Lignina
5	Ácido Heptanodióico dimetil Ester	FAME
6	4 etil-1,2-dimetoxi benzeno	Lignina
39	2,4 dimetil ácido nonanodióico dimetil Ester	FAME
7	Ácido Heptanodióico – 2,4 dimetil dimetil ester	FAME
8	Ácido hexenodióico -2,5 dimetil dimetil Ester	FAME
9	Ciclo hexano	Lipídeo
40	Ácido Octanoico heptadecil Ester	FAME
10	1,2,3-Trimetóxi-benzeno	Lignina
11	Ácido benzoico-4metóxi, metil Ester	Lipídeo
12	Octadecano 2,6,10,14 Tetrametil	Quebra de alcano
41	1,3 benzendicarboxílico dimetil Ester	Lipídeo
14	Alpha D-Xylofuranoside Metil 2,3 Dimetil	Lipídeo
13	Ácido dodecanóico metil Ester	FAME
15	Eicosano 2,6,10,14,18 Pentametil	Quebra de alcano
42	2 H pyran 2 carboxylic acid 3,6 dihydro 6 propoxy ethyl ester	Compostos com N
16 e 17	Tetrapentacontano	Quebra de alcano
18	3,4-Dimetóxi-, Metil ester ácido benzoico	Lignina
19	Hexadecano	Quebra de alcano
43 e 44	5,9 acido tetradecadienodióico 5,6,9,10 tetrametil dimetil ester	FAME
20	Hexatriacontano	Quebra de alcano
21	Octadecano 2,6,10,14 Tetrametil	Quebra de alcano
22	Benzoico Acid, 3,4,5-Trimetóxi-, Metil Ester	Lipídeo
23	Tetradecanoico Acido Metil Ester	FAME
24	Hexatriacontano	Quebra de alcano
45	Benzoico 2 amino 4 hidroximetil metil Ester	Lipídeo
46	2 H pyran 5,6 dicarboxylic acid 3,4 dimethyl 2 oxo dimethyl ester	Proteína
25	Acido Iso-Pentadecanoico Metil Ester	FAME
26	Acido Anteiso-Pentadecanoico Meil Ester	FAME
27	Octadecano	Quebra de alcano
28	Acido Pentadecanoico Metil Ester	FAME
29 e 47	Acido Hexadecanoico Metil Ester	FAME
30	Eicosano	Quebra de alcano
31 e 32	Acido Octadecenoico Metil Ester	FAME
48	Acido Hexadecanoico 14 metil metil Ester	FAME
33	Docosano	Quebra de alcano
49	1 octandecanol	Lipídeo
51	Phenol 2,2` methylenebis [6 (1,1 dimethylethyl) 4 methyl]	Lignina
34	Tetracosano	Quebra de alcano
52	Dibenzilamina N Nitro	Compostos com N
53	1,2 acido benzendicarboxíco mono (2 ethilhexil)ester	Lipídeo
54	Tetracontano	Quebra de alcano
55	Escaleno	Quebra de alcano
56	Tritetracontano	Quebra de alcano
57	Hentriacontano	Quebra de alcano

FAME (Ácidos Graxos de Metil Ésteres)

Pode-se observar que as SHA do Rio Preto referente ao período de seca apresentaram na sua composição estruturas aromáticas, grupamentos aminídicos, ésteres de ácidos graxos, hidrocarbonetos de cadeia longa e ramificada com grupos metílenos e carbono aquilas, os quais remetem a maior participação e a contribuição de restos de vegetais, principalmente de derivados de lignina (CHALLINOR, 2001; GONZÁLEZ-VILA et al. 2001; FRAZIER et al. 2003; DEPORT et al. 2006; SPACCINI; PICCOLO, 2009). Cabe ressaltar que a presença de compostos tais como: Hexadecanoico, Octadecanoico e ácidos graxos “velhos” como *iso* e *anteiso* (grupo metila ocorre no antepenúltimo carbono da cadeia) pentanoico (picos 25 e 26) podem ser observados na Tabela 3, e segundo Jader e colaboradores (2003) esses compostos são tipicamente encontrados em efluentes domésticos, visto que a área de estudo encontra-se inserida em crescente centro urbano, sofrendo influência de fontes pontuais e difusas nesse corpo aquático.

Guiganrd e colaboradores (2005) realizaram a pirólise para amostras de ácido húmico e Humina empregando o TMAH como reagente pirolítico, e conforme os resultados obtidos os autores concluíram que os principais produtos obtidos nessas amostras foram hidrocarbonetos e ácido graxos de metil ésteres, denominados FAME. Esses autores propuseram que o FAME ocorra naturalmente em estruturas húmicas como moléculas aprisionadas.

Challinor (2001) analisando três diferentes materiais, sendo estes, bambu, pino e favo de mel empregando a Pirólise off-line, o pesquisador obteve diferentes compostos: derivados de p-hidroxifenol (Bambu), Guaicil – derivado da lignina (Pino) e Guaicil e Siringil – derivado da lignina (Favo de mel). O mesmo estudo foi realizado para ácidos húmicos de solo e este mostrou uma série de alifáticos, ricos em ácidos graxos de ésteres metílicos, aromáticos derivados de cadeia de lignina e unidades de guaicil e siringil.

Deport e colaboradores (2006) analisaram empregando a Pirólise off-line Substâncias Húmicas extraídas de turfa de Marais Poitevin, oeste da França. Os autores observaram a maior participação de compostos aromáticos, ácidos graxos de metil ésteres e hidrocarbonetos lineares, a presença de hidrocarbonetos (alcanos e alcenos) que tem sido reportado como indicativo de biopolímeros alifáticos resistentes, tais como cutina e suberina, os quais são constituintes presentes na parede celular das plantas (NIEROP, 2001); e hidrocarbonetos

saturados de $C_{21} - C_{33}$ e $C_{14} - C_{19}$ relacionados a ácidos estereáticos, os quais indicam uma contribuição de bactérias e $C_{20} - C_{32}$ de resíduos de plantas.

A Figura 14 (a e b) apresenta o cromatograma obtido no GC/MS para a amostra de Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do Rio Preto referente ao período de chuva. Pode-se observar que durante 60 minutos de análise apareceram 30 picos em diferentes tempos de retenção, os quais foram analisados empregando a própria base de dados do software (NIST, 2002).

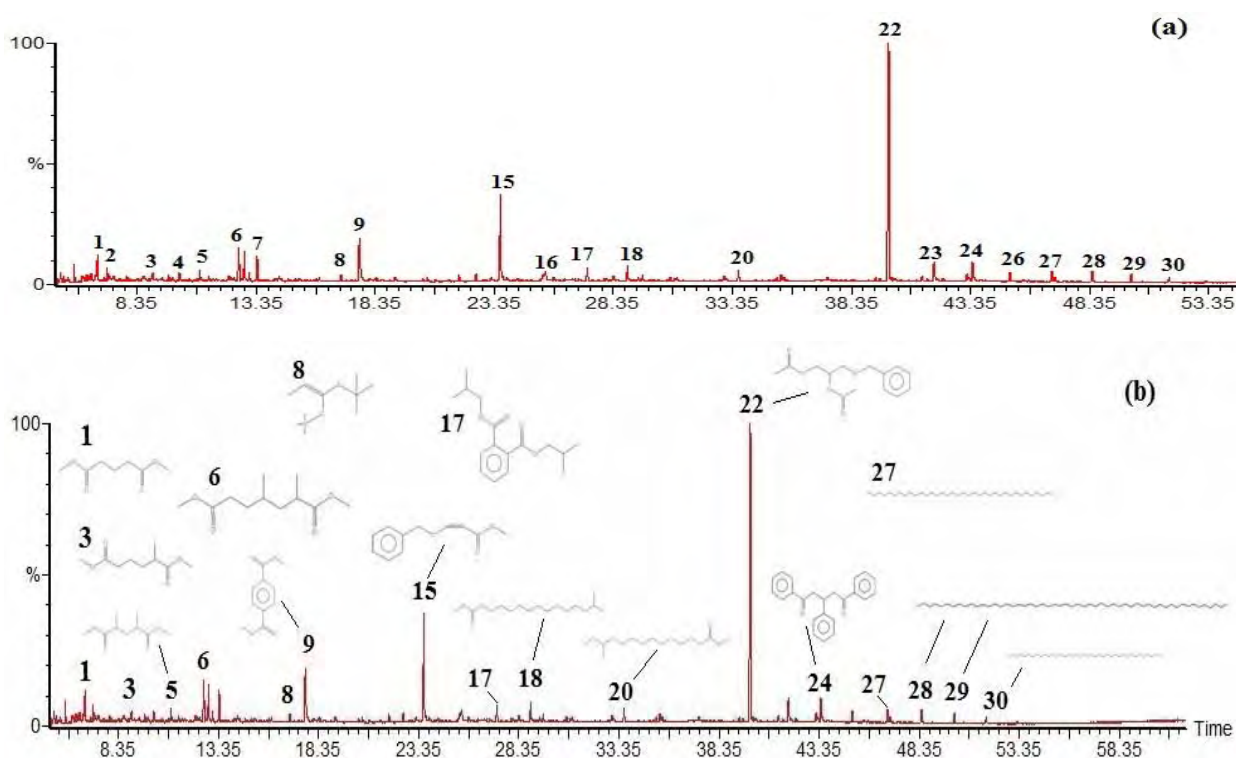


Figura 14: Cromatograma obtido no GC/MS para a amostra de SHA do Rio Preto referente ao período de chuva, onde (a) com os picos, (b) com os principais compostos.

A partir dos cromatogramas obtidos na Figura 14 (a e b) foi possível obter informações dos compostos presentes na estrutura das SHA do período de chuva, os quais foram apresentados na Tabela 4. Pode-se notar que houve diferença em função da sazonalidade, devido à incorporação de novos compostos, porém com a mesma origem quando comparados aos obtidos no período de seca e verifica-se que para o período de chuva não houve a participação de derivados de lignina, remetendo que as SHA para o período de chuva possuem em sua estrutura menores quantidades de grupos aromáticos os quais

corroboraram com as análises de UV-Vis, Fluorescência Molecular e RMN (Tabela 1, Figura 10 e Tabela 2, respectivamente).

Tabela 4: Principais compostos obtidos por GC-MS das SHA do Rio Preto referente ao período de chuva.

Picos (nº)	Nome dos compostos	Origem
1	Acido pentanedioico, dimetil Ester	FAME
2	Acido butanedioico etil dimetil Ester	FAME
3	Dimetil 2 metil adipato	Carboidrato
4	Acido pentanedioico 2,4 dimetil dimetil Ester	FAME
5	Acido pentanoico 2,4 dimetil 4 nitro metil ester	FAME
5	5,9 Acido pentacosadienoico metil Ester	FAME
6	(2S, 4S) - 2,4 Dimetilheptanedioico acid dimetil ester	FAME
7	1 - Chlorosulfonyl 3 methyl 1 azaspiro [3.5] nonan-2-one	---
8	Silano[[1(1,1 dimetiletil)ti]1 propenil)oxi]trimetil	---
9	1,3benzenedicarboxílico acido dimetil Ester	Lipídeo
10	2 H Piran-2-carboxilico acido 3,6 dihidro 6 propxi etil ester	Lipídeo
11	Tetracontano	Quebra de alcano
13	1-Cloro 6 fenilhexano	---
14	5,9 Tetradecadienedioico acido 5,6,9,10 tetrametil dimetil ester	FAME
15	3 - Benziltioacrilico acido metil Ester	Lipídeo
16	Tetradecanoico acido 12 metil metil ester (S-)	FAME
16	Acetico acido 2,2 Di (2 Butenil) 2 fenilsulfonil metil ester (E,E-, E,Z-, Z,Z-)	FAME
17	1,2 - Benzenedicarboxilico acido, bis (2 metilpropil ester)	Lipídeo
17	Tetratriacontano	Quebra de alcano
18	Pentadecanoico acido, 14 metil - metil Ester	FAME
19	Hexatriacontano	Quebra de alcano
20	Acetico acido, cloro octadecil Ester	FAME
21	D- mannitol 1 decilsulfonil	Carboidrato
22	1,2 Propanediol, 3 - benziloxi - 1,2 - diacetil	---
23	1,2 benzenedicarboxylic acid mono (2 etilhexil) ester	Lipídeo
24	Hexatriacontane	Quebra de alcano
26	Tetracontane	Quebra de alcano
25	Cyclononasiloxane, octadecamethyl	Quebra de alcano
27	Hexatriacontane	Quebra de alcano
28	Tetrapentacontane	Quebra de alcano
29	Tetrapentacontane	Quebra de alcano
30	Tetracontane	Quebra de alcano

FAME (Ácidos Graxos de Metil Ésteres) --- origem não encontrado

Ao empregar a Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio utilizando o GC-MS como método de caracterização pode-se inferir que a as SHA do rio Preto tem presente em sua estrutura à presença de hidrocarbonetos alifáticos resistentes, tais

como cutina e suberina presentes na parede celular, demonstrando a contribuição de derivados de lignina e de ácidos graxos de metil ésteres, e este resultado pode estar associado ao uso e ocupação do solo, visto que apesar do local de amostragem estar em uma região urbana, a nascente do referido corpo aquático está numa região considerada a de maior cultivo de cana-de-açúcar do estado de São Paulo. Vale destacar que o bagaço da cana de açúcar apresenta na sua estrutura 40% de glucose um polímero da celulose, 30 % de hemicelulose e 18% de lignina e o restante (12%) consiste de cera, proteínas e outros compostos (SUN et al. 2004; RIBEIRO et al. 2012). Desde modo, pode-se concluir que as Substâncias Húmicas Aquáticas do Rio Preto para ambos os períodos amostrados (seca e chuva), possuem na sua estrutura grupamentos aromáticos, carboxílicos, carbonílicos, ácidos graxos de metil ésteres, derivados de polissacarídeos, biopolímeros alifáticos derivados de plantas, hidrocarbonetos de cadeia longa e ramificada com grupos metílenos e carbono aquilas, resultados estes que foram evidenciados nos espectros de UV-Vis, Infravermelho com Transformada de Fourier, Ressonância Magnética Nuclear e Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio utilizando o GC-MS (Tabela 1, Figuras 11, 12, 13 e 14).

5.2 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE COMPLEXAÇÃO DAS SHA COM ESPÉCIES DE ÍONS CRÔMIO

Para as quantificações das espécies de crômio foram determinados os limites de detecção do equipamento e os limites de quantificação para os métodos empregados conforme descrito no item 4.3.3, e apresentado na Tabela 5.

Tabela 5: Valores do Limite de Detecção (LD), Limite de Quantificação (LQ) e Concentração Característica (Cc) para os métodos utilizados.

Determinação do metal	Concentração Característica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Limite de Quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)
crômio trivalente	1,37	1,08	3,58
crômio hexavalente	1,15	0,95	3,16

Vale ressaltar que a variação das espécies de crômio em função do pH foi avaliado utilizando o software Hydra/Medusa para simular o equilíbrio químico no ambiente aquático antes dos experimentos de capacidade de complexação. Os resultados indicaram que o íon Cr

(III) é a espécie predominante a pH 5,0, enquanto que em valores de pH superiores a 7, os óxidos e hidróxidos de Cr (III) começam a predominar. Portanto, foram mantidas as soluções contendo SHA sem fracionamento e suas frações de diferentes tamanhos moleculares entre o pH 5,0 e 6,0 para os estudos de capacidade de complexação com os íons Cr (III) e Cr (VI).

A capacidade de complexação (CC) das frações de diferentes tamanhos moleculares e das Substâncias Húmicas Aquáticas sem o fracionamento com as espécies de crômio trivalente e hexavalente foram obtidos representando graficamente a concentração do metal livre (mmol L^{-1}) *versus* a concentração do metal total (mmol L^{-1}), conforme ilustrado na Figura 15 (a e b) e nos Anexos (4 a 11).

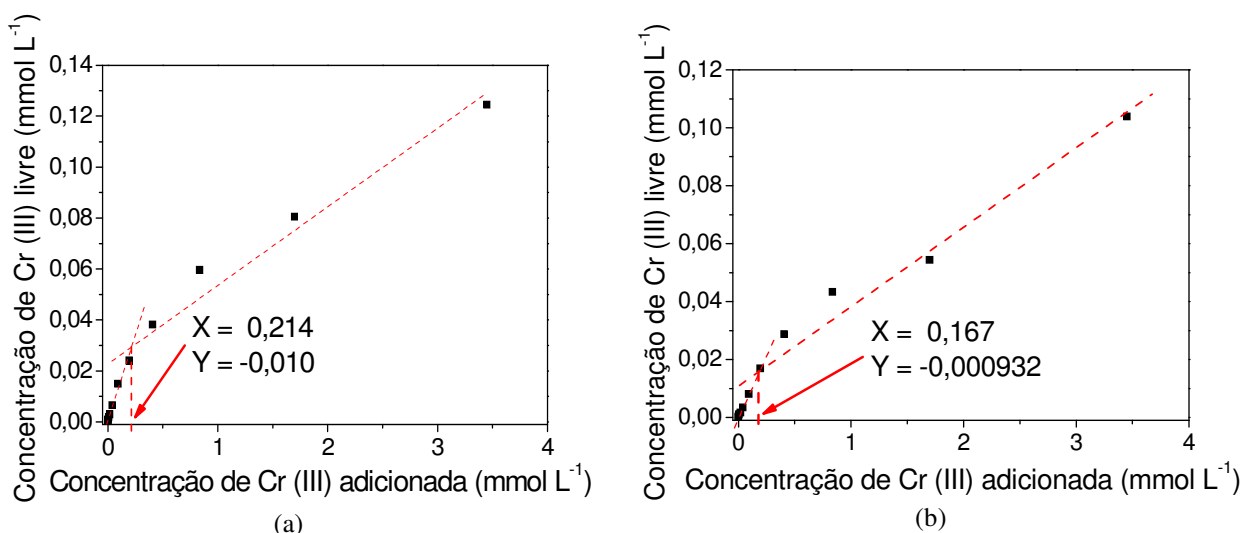


Figura 15: Capacidade de Complexação das frações Substâncias Húmicas Aquáticas com o íon Cr (III): (a) <10 kDa e (b) 10 – 30 kDa empregando o Sistema de Ultrafiltração com fluxo Tangencial, referente ao período de chuva (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L^{-1} de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07).

Na Tabela 6 são apresentados os valores das capacidades de complexação para cada fração de Substâncias Húmicas Aquáticas extraída do rio Preto normalizado em função da concentração de Carbono Orgânico Dissolvido. Pode-se observar que a fração de 10-30 kDa possui a maior capacidade de complexação para o íon Cr (VI) (2,20 $\text{mmol de Cr (VI) g}^{-1}$ de Carbono), e a fração de tamanho molecular <10 kDa possui maior capacidade de complexação para o íon Cr (III) (5,26 $\text{mmol de Cr (III) g}^{-1}$ de Carbono) para o período de seca. Estes valores foram superiores aos obtidos por Van den Bergh e colaboradores (2001) com SHA extraída de rios na Alemanha (0,04 a 0,92 $\text{mmol de Cr (III) g}^{-1}$ de Carbono), bem

como em estudo realizado por Santos e co-autores (2007) com a SH extraída de amostra de turfa, cujo valor da CC foi de 4,63 +/- 0,06 mmol de Cr (VI) g⁻¹ de Carbono. Quando comparada a CC da SHA do rio Preto com as espécies Cr (III) e Cr (VI) a maioria das frações de SHA exibiram maior capacidade de complexar o íon crômio trivalente com exceção das frações: <10 kDa e 30-50 kDa.

No entanto, valores inferiores foram obtidos para o período de chuva, destacando as frações >100 kDa e SHA para o íon Cr (III) (0,64 e 0,54 mmol de Cr (III) g⁻¹ de Carbono, respectivamente) e as frações 30 – 50 kDa e <10 kDa para o íon Cr (VI) (0,26 e 0,24 mmol de Cr (VI) g⁻¹ de Carbono, respectivamente) conforme apresentado na Tabela 6, o que está associado ao efeito da sazonalidade.

Tabela 6: Capacidade de Complexação das frações de SHA extraída do rio Preto com os íons Cr (III) e Cr (VI).

Amostras	Capacidade de Complexação (mmol metal g ⁻¹ COT)			
	SECA		CHUVA	
	Cr (III)	Cr (VI)	Cr (III)	Cr (VI)
SHA	0,02	0,02	0,54	0,22
<10 kDa	5,26	0,23	0,21	0,24
10 – 30 kDa	0,63	2,20	0,17	0,22
30 – 50 kDa	1,56	1,29	0,12	0,26
50 – 100 kDa	0,09	2,14	0,13	0,12
>100 kDa	0,35	0,40	0,64	0,13

Vale destacar que maiores valores de CC para as espécies de crômio trivalente e hexavalente foram observados para as frações <10 e 10 – 30 kDa e >100 e 30 – 50 kDa para o período de seca e chuva, respectivamente, os quais podem estar associados à maior presença de grupos aromáticos na sua estrutura visto que essas mesmas frações foram a que obtiveram maiores grau de aromaticidade, conforme apresentado na Tabela 1 e discutido anteriormente.

5.3 DETERMINAÇÃO DA CONSTANTE DE TROCA COM OS ÍONS Cr (III) e Cr (VI)

Na Tabela 7 estão apresentados os valores obtidos da constante de troca das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanhos moleculares (<10, 10-30, 30-50, 50-100 e >100 kDa) com às espécies do metal

crômio. Observa-se que os valores obtidos das constantes de troca das SHA extraída do rio Preto referente ao período de seca entre as espécies de crômio foram de 0,39 para o íon Cr (III) e de 0,27 para o íon Cr (VI), permitindo estabelecer a seguinte ordem de estabilidade do complexo formado (SHA-metal): Cr (VI) > Cr (III), das frações de SHA do rio Preto seguiu a seguinte ordem decrescente: Cr (VI) > Cr (III) para o período de seca. Este comportamento pode estar associado às características das SHA, uma vez que para esse período estas apresentaram maior quantidade de estruturas aromáticas. Enquanto que para o período de chuva, vale destacar que as frações de SHA apresentaram maior afinidade pela espécie de Cr (VI), comportamento oposto ao verificado no período de seca, e ressalta-se que as SHA sem fracionamento apresentaram maior constante de troca para o período de chuva com a espécie de crômio trivalente, o qual pode estar associado à forma com que essas espécies de crômio se encontram complexado a SHA, em que o Cr (III) apresenta um número de coordenação de seis e normalmente encontra-se na forma octaédrica, enquanto que a forma Cr (VI) ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$) tende a formar espécies tetraédricas com ligações a serem feitas pelas arestas e faces o que resulta em uma aproximação excessiva dos átomos metálicos obtendo uma menor estabilidade em sua estrutura molecular (DUWARD; ATKINS, 2008). Cabe ressaltar que a fração <10 kDa foi que obteve maior capacidade de complexação com o íon crômio trivalente (Tabela 6), sendo assim observando-se a menor constante de troca conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7: Valores da constante de troca das SHA e das frações de diferentes tamanhos moleculares com as espécies de crômio.

Amostras	Constante de troca (k troca)			
	SECA		CHUVA	
	Cr (III)	Cr (VI)	Cr (III)	Cr (VI)
SHA	0,39	0,27	0,78	0,08
<10 kDa	0,0002	0,0006	0,09	0,03
10 – 30 kDa	0,08	5,96	0,89	0,95
30 – 50 kDa	0,01	0,59	0,50	0,04
50 – 100 kDa	0,03	0,11	0,27	0,14
>100 kDa	0,20	0,41	1,31	0,67

*Parte II: Proposta de um
indicador de Matéria
Orgânica Lábil (MOL)*

Capítulo 6: Parte Experimental



Rio Preto - São José do Rio Preto

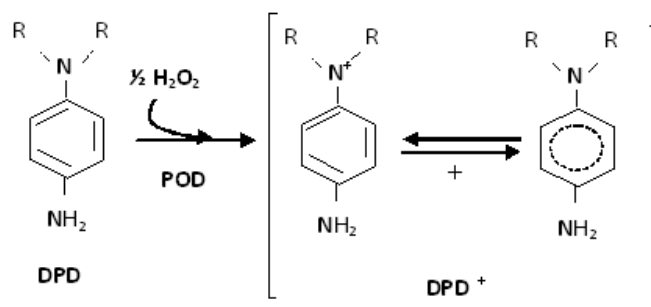
6.1 CINÉTICA DE CONSUMO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

6.1.1 Coleta das Amostras de Água Superficial do Rio Preto

O local de estudo foi descrito no item 4.1.1 (*Parte I: Caracterização e Estudos da Capacidade de Complexação das SHA*), rio Preto, localizado na região noroeste do estado de São Paulo, situado na cidade de São José do Rio Preto. As amostras de água superficial do rio Preto foram coletadas mês a mês, durante um ciclo hidrológico (Outubro de 2011 a Outubro de 2012). Os parâmetros temperatura, pH, condutividade elétrica, turbidez, oxigênio dissolvido e COD foram quantificados conforme descrito no item 4.1.3., e os valores obtidos estão mostrados na Tabela 13, Anexo 2. Os procedimentos de coleta, preservação e transporte das amostras do campo para o laboratório seguiu as recomendações do Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostra (2011).

6.1.2 Quantificação de Peróxido de Hidrogênio

Para a quantificação do H_2O_2 foi empregado uma adaptação do método proposto por Bader e seus colaboradores (1988), utilizando o sulfato de N,N-dietil-p-feniletilediamina (DPD). Segundo esses autores, o H_2O_2 oxida a enzima peroxidase (POD), que em seguida proporciona a oxidação da DPD em DPD^+ (conforme apresentado na Reação 4), cujo o cátion radical (DPD^+) possui coloração estável e com absorvância máxima no comprimento de onda de 551 nm. Para isto, retirou-se uma alíquota de 20,0 mL da amostra de água coletada do rio Preto transferindo-a para um béquer de 100 mL contendo uma barra magnética. Em seguida, o mesmo foi colocado sob agitação em agitador magnético, e os reagentes foram adicionados na seguinte ordem: 3,0 mL de solução tampão KH_2PO_4/K_2HPO_4 , pH=6,0; 50,0 μ L de solução de DPD e 50,0 μ L da solução da enzima peroxidase (POD). Aguardou-se 10 segundos, e a solução foi transferida para uma cubeta de vidro de 10 cm de caminho óptico para que a quantificação fosse feita no Espectrofotômetro UV/VIS da marca Femto, modelo 700 Plus, no comprimento de onda de 551 nm.



(4)

(Adaptado de BADER et al. 1988)

O mesmo procedimento foi realizado com os padrões, na qual construiu-se uma curva analítica de 0,00; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 e 0,50 mg L⁻¹, por meio da transferência de alíquotas de 0,00; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25 e 2,50 mL de solução estoque de peróxido de hidrogênio 10,0 mg L⁻¹ com auxílio de micropipetas, em balões volumétricos de 50,0 mL completando-se o volume com água deionizada. O Limite de Detecção (LD) foi calculado de acordo com o descrito por Miller e Miller (1993). Vale ressaltar que o peróxido de hidrogênio empregado nas análises foi padronizado empregando o permanganato de potássio (0,1 mol L⁻¹) conforme descrito em Morita e Assumpção (2001).

6.1.3 Cinética de Consumo do H₂O₂ nas Amostras de Água do Rio Preto em Função da Sazonalidade

Foram empregados quatro frascos plásticos de 2,0 L, sendo que dois destes receberam a adição de 1,5 L de amostras de água do rio Preto e em outros dois frascos adição do mesmo volume de água deionizada (amostra controle). Um grupo foi mantido na presença de luz (Figura 16 a) e o outro grupo na ausência de luz (Figura 16 b). Cada frasco recebeu a adição de uma solução estoque de peróxido de hidrogênio de 10,0 mg L⁻¹ obtendo uma concentração final de 0,24 mg L⁻¹ de H₂O₂ em cada amostra. A cinética de consumo de peróxido de hidrogênio foi acompanhada em função do tempo de acordo com procedimento descrito no item 6.1.2. Vale ressaltar que os experimentos em microcosmos foram mantidos em uma sala com temperatura (24 - 25 °C) e luminosidade controlada.

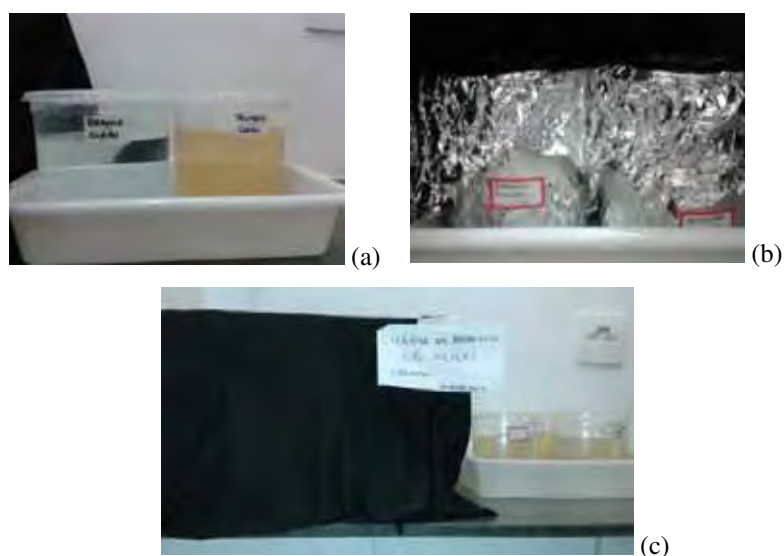


Figura 16: (a) Experimentos em microcosmo na presença de luz, (b) Experimentos em microcosmo mantido na ausência de luz, para a cinética de consumo do Peróxido de Hidrogênio e (c) Visão de todo o estudo cinético na presença e ausência de luz.

6.1.4 Proposta de um Indicador de Matéria Orgânica Lábil e Recalcitrante

Os experimentos foram baseados no monitoramento da concentração do peróxido de hidrogênio presente em cada microcosmo. Para isto, em 8 frascos plásticos de 2,0 L foram adicionados diferentes concentrações de ácido ascórbico empregado como modelo de Matéria Orgânica Lábil, os quais variaram de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ à $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido ascórbico e um grupo controle (apenas com água destilada). E após o preparo das diferentes amostras foram adicionados a essas soluções 36,0 mL de solução estoque de 10 mg L^{-1} de H_2O_2 obtendo uma concentração final de $0,24 \text{ mg L}^{-1}$ de H_2O_2 na amostra. A cinética de consumo de peróxido de hidrogênio foi acompanhada em função do tempo de acordo com procedimento descrito no item 6.1.2. Vale ressaltar que os experimentos em microcosmos foram mantidos em uma sala com temperatura (variação de $1,0^\circ\text{C}$) e luminosidade controlada. O mesmo experimento empregando as mesmas concentrações foi realizado utilizando o ácido húmico como modelo de Matéria Orgânica Recalcitrante. Vale destacar que os valores das concentrações empregadas foram baseados nos valores de Carbono Orgânico Total quantificado nas amostras de água superficial do rio Preto.

6.1.5 Cálculo para Determinação da Ordem de Reação

A ordem de reação foi determinada matematicamente, segundo apresentado na Tabela 8 e detalhado conforme descrito no item 2.3.3 (AVERY, 1997; MOORE, 2000; LEVINE, 2008).

Tabela 8: Leis cinéticas e determinação dos tempos de meia-vida.

	Equação integrada	Gráfico	Tempo de meia vida
Ordem Zero	$[A_0] - [A]$	$t \times [A_0] - [A]$	$t_{1/2} = [A_0]/2ka$
Ordem Primeira	$\ln([A])/\ln([A_0])$	$t \times \ln([A])/\ln([A_0])$	$t_{1/2} = \ln 2/ka$
Ordem Segunda	$1/[A] - 1/[A_0]$	$t \times (1/[A] - 1/[A_0])$	$t_{1/2} = 1/[A_0].ka$

[A₀]: a concentração inicial de um dado reagente; ka: o coeficiente angular da reta propiciada pela expressão gráfica e [A]: concentração determinado tempo para um dado reagente.

Capítulo 7: Resultados e Discussão



Rio Preto - São José do Rio Preto

7.1 CINÉTICA DE CONSUMO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

7.1.1 Adaptação do Método Empregado

O limite de detecção do equipamento para o método proposto neste trabalho foi de 0,005 mg L⁻¹ de H₂O₂ e o limite de quantificação do método foi 0,017 mg L⁻¹ de H₂O₂ determinado conforme descrito no item 6.1.2.

A Figura 18 apresenta uma curva analítica típica empregada para o estudo da cinética de consumo do peróxido de hidrogênio.

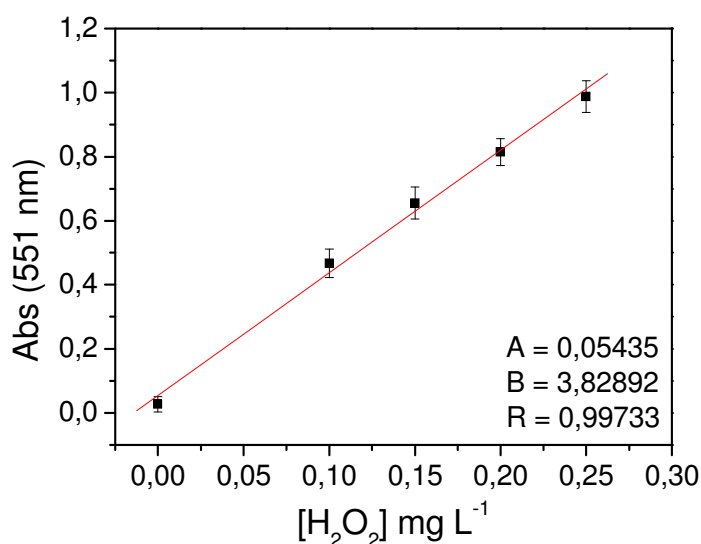


Figura 17: Curva analítica típica utilizada na quantificação de peróxido de hidrogênio.

7.1.2 Cinética do Consumo de Peróxido de Hidrogênio em Amostra de Água do Rio Preto em Função da Sazonalidade

A Figura 18 (a e b) ilustra a cinética de consumo de peróxido de hidrogênio (0,24 mg L⁻¹) para o grupo controle, na presença e na ausência de luz, onde pode-se observar um decréscimo na concentração de peróxido de hidrogênio com o decorrer do tempo até atingir concentração abaixo do limite de detecção do método em 8800 minutos (148 horas).

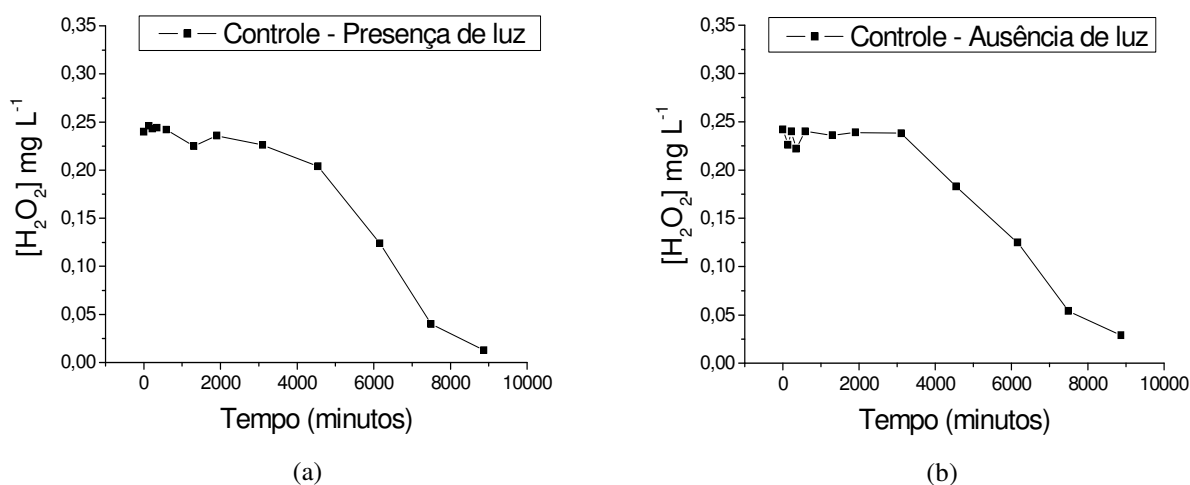


Figura 18: Cinética do consumo de peróxido de hidrogênio para uma concentração inicial de $0,24 mg L^{-1}$ de H_2O_2 (grupo controle): (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz.

Um tratamento matemático dos dados obtidos para o grupo controle foi realizado conforme descrito no item 2.3.3., para determinar qual a ordem da reação. As Figuras 19 (a, b e c) refere-se ao experimento na presença de luz. O mesmo tratamento foi aplicado para amostra controle na ausência de luz. Observou-se que o consumo de peróxido de hidrogênio seguiu uma cinética de ordem zero ($R = 0,99$).

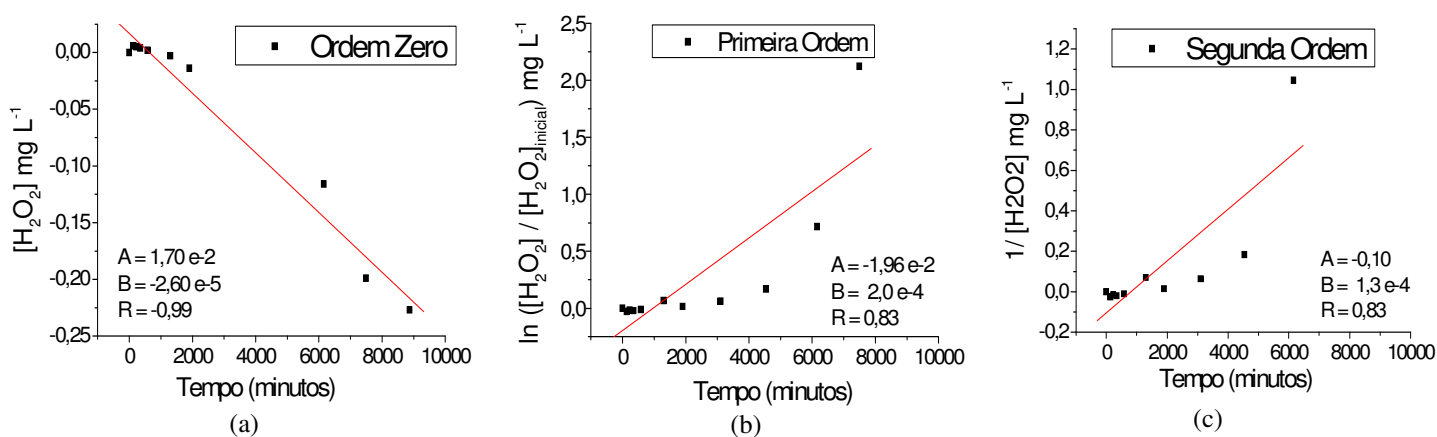


Figura 19: Aplicação das leis da Cinética para amostra controle (água deionizada com $0,24 mg L^{-1}$ peróxido de hidrogênio) mantida na presença de luz: (a) ordem zero, (b) primeira ordem e (c) segunda ordem.

Assim, o cálculo do tempo de meia-vida do controle, foi determinado de acordo com a equação prevista para ordem zero, onde $t_{1/2} = [H_2O_2]_{inicial} / 2 * k$ para os dados apresentados na

Figura 20 (a e b), cujos tempos de meia-vida foram de 4.615 minutos (77 horas) na presença de luz e 5.085 minutos (85 horas) na ausência de luz. Estes dados representam a degradação do peróxido de hidrogênio. Cabe ressaltar que os tempos de meia-vida das amostras de todos os grupos controle preparados nos experimentos desenvolvidos neste trabalho foram de 4.615 a 7.033 minutos (77 a 117 horas) na presença de luz e de 5.085 a 6.506 minutos (85 a 108 horas) na ausência de luz.

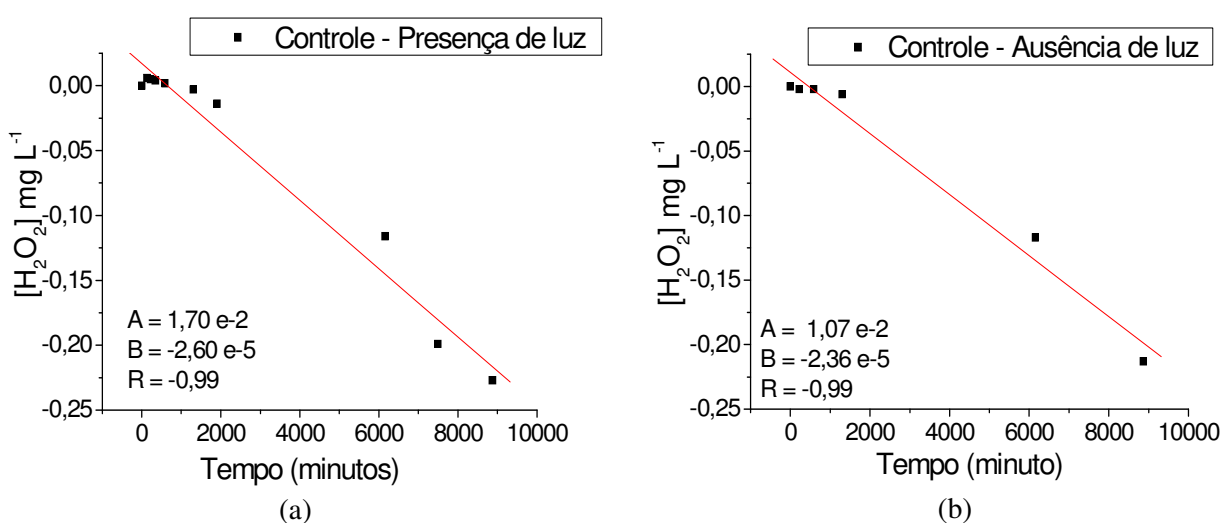


Figura 20: Cinética do consumo de peróxido de hidrogênio do grupo controle de ordem zero (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz.

A Figura 21 (a e b) ilustra a cinética de consumo de peróxido de hidrogênio ($0,24 mg L^{-1}$) para as amostra de água do rio Preto referente ao mês de outubro de 2011 (pluviosidade acumulada de 13 mm), para os experimentos mantidos na presença e ausência de luz. Pode-se observar que o consumo de peróxido de hidrogênio foi mais rápido do que quando comparado ao obtido para o grupo controle, o qual refere-se à própria decomposição do H_2O_2 (Figura 18 a e b).

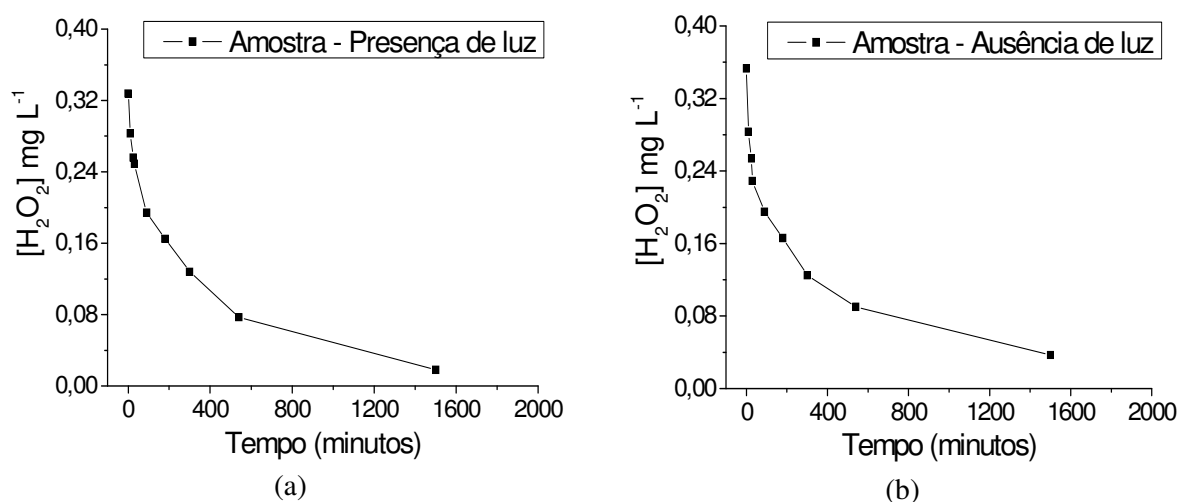


Figura 21: Cinética do consumo de peróxido de hidrogênio com uma concentração inicial de $0,24 \text{ mg L}^{-1}$ de H_2O_2 para amostra de água do rio Preto: (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz, ambas referentes ao mês de outubro de 2011.

O mesmo tratamento matemático foi aplicado para as amostras de água do rio Preto para o experimento para a coleta realizada no mês de outubro de 2011, conforme apresentado na Figura 22 (a, b e c). Pode-se observar pelos dados obtidos que a cinética de consumo de peróxido de hidrogênio seguiu uma cinética de primeira ordem como mostrado na Figura 24(b) ($R = 0,9924$). Comportamento semelhante foi observado para a amostra de água do rio Preto para o experimento mantido na ausência de luz. Deste modo, os cálculos dos tempos de meia-vida das amostras de água do rio Preto, foram determinados de acordo com a equação prevista para primeira ordem, onde $t_{1/2} = \ln 2/k$ (AVERY, 1997; MOORE, 2000; LEVINE, 2008), conforme mostrado na Figura 23 (a e b).

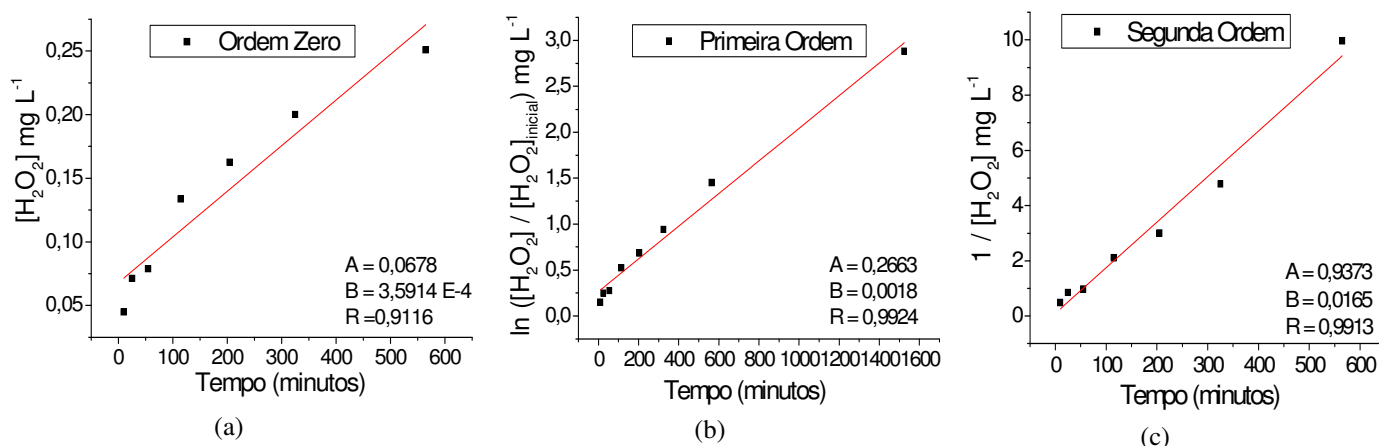


Figura 22: Aplicação das leis da Cinética para amostra de água do rio Preto mantida na presença de luz: (a) ordem zero, (b) primeira ordem e (c) segunda ordem.

A Figura 23 (a e b) apresenta os dados aplicando a cinética de primeira ordem para amostras de água do rio Preto, cujos tempos de meia-vida foram 398,41 minutos (6,49 horas) para o experimento mantido na presença de luz e de 537,32 minutos (8,96 horas) para o experimento mantido na ausência de luz.

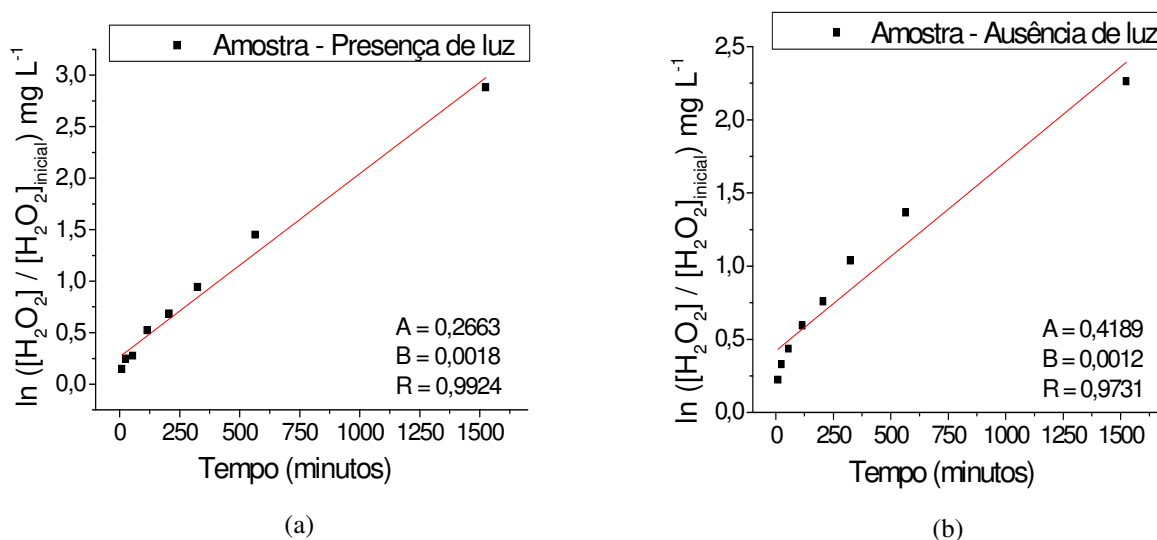


Figura 23: Cinética de primeira ordem para amostra de água do rio Preto para o experimento mantido no: (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz, referente ao mês de outubro de 2011.

A Tabela 9 apresenta os valores dos tempos de meia-vida para os experimentos realizados para as amostras coletadas durante o período de Outubro de 2011 a Outubro de

2012, completando um ciclo hidrológico (AVERY, 1997; MOORE, 2000; LEVINE, 2008). Os demais resultados mês a mês, bem como o tratamento cinético estão apresentados nos Anexos 12 a 24.

Tabela 9: Valores dos tempos de meia – vida das amostras de água coletadas no rio Preto referente ao período de Outubro de 2011 a Outubro de 2012.

Mês	Tempo de meia vida (horas)		Ordem da Reação
	Ausência de luz	Presença de luz	
Outubro - 2011	9,0	6,5	Primeira
Novembro - 2011	5,0	4,8	Primeira
Dezembro - 2011	5,6	5,2	Primeira
Janeiro - 2012	15,8	13,9	Primeira
Fevereiro - 2012	3,1	3,0	Primeira
Março - 2012	4,6	4,0	Primeira
Abril - 2012	9,6	6,1	Primeira
Mai - 2012	10,5	8,9	Primeira
Junho - 2012	34,0	30,2	Primeira
Julho - 2012	23,9	21,0	Primeira
Agosto - 2012	25,1	20,1	Primeira
Setembro - 2012	16,5	14,4	Primeira
Outubro - 2012	8,1	7,5	Primeira

Conforme pode ser observado na Tabela 9, os tempos de meia-vida de consumo de peróxido de hidrogênio variaram em função dos meses de amostragem e se o experimento foi mantido na presença ou ausência de luz. Os valores observados de tempo de meia-vida foram inferiores aqueles que indicam a decomposição do peróxido de hidrogênio, induzindo que o peróxido de hidrogênio oxida a matéria orgânica presente no rio Preto, sendo este fenômeno intensificado na presença de luz, o que pode estar relacionado à geração de radicais hidroxilas.

Neste trabalho lançou-se a hipótese de que a Matéria Orgânica Natural recém-incorporada ao corpo aquático seja lábil e, conseqüentemente, seria oxidada mediante a redução do peróxido de hidrogênio. Na Figura 24 estão apresentados os valores dos tempos de meia-vida para a cinética de consumo de peróxido de hidrogênio nas amostras de água superficial do Rio Preto, para o período de Outubro de 2011 a Outubro de 2012 em função da pluviosidade acumulada (AVERY, 1997; MOORE, 2000; LEVINE, 2008).

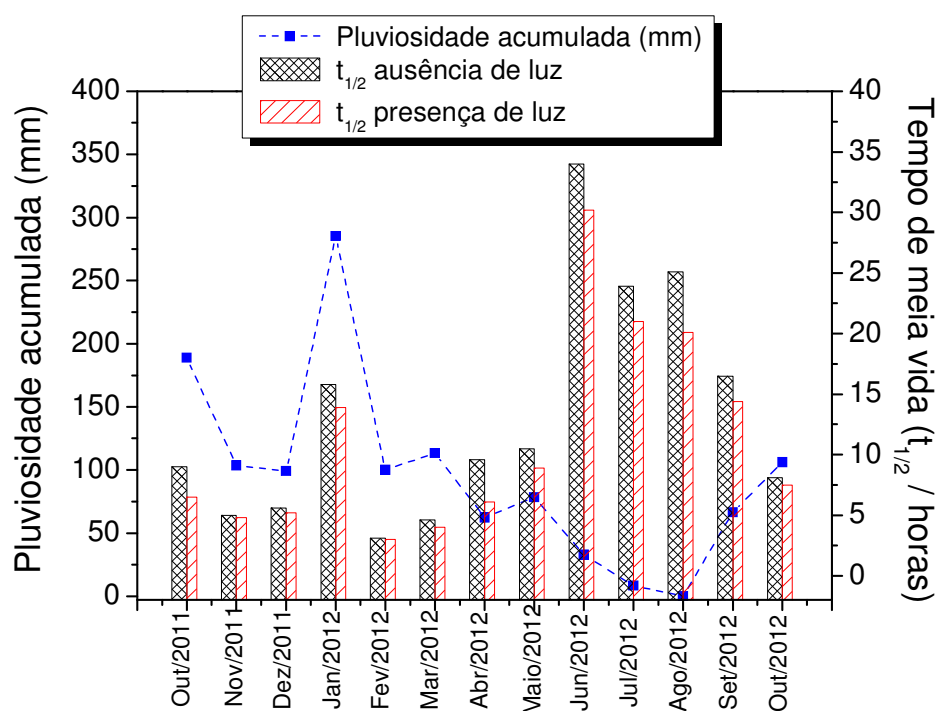


Figura 24: Gráfico de correlação dos tempos de meia-vida para os experimentos em microcosmos na presença e ausência de luz em função da pluviosidade.

Conforme pode ser observado na Figura 24, os tempos de meia-vida de consumo de peróxido de hidrogênio foram menores para os meses de maior pluviosidade indicando a presença de Matéria Orgânica Lábil. Nos meses de Julho e Agosto de 2012 (menor pluviosidade acumulada) foram observados os maiores tempos de meia-vida, indicando que há uma maior quantidade de Matéria Orgânica Recalcitrante. Vale esclarecer que no mês de Junho de 2012, houve um evento isolado de pluviosidade (32,8 mm), sendo que a coleta da amostra para a referida análise se deu anterior ao evento de chuva. Na maioria dos casos a coleta sempre foi realizada após 3 dias de estiagem.

A Figura 25 (a e b) apresenta o espectro Excitação empregando a Fluorescência Molecular da Matéria Orgânica Natural do rio Preto referente à Outubro de 2012. Podem-se verificar picos no intervalo de 425 a 525 nm os quais podem ser atribuídos a presença de compostos aromáticos, presentes nas estruturas de ácidos húmicos. Cabe ressaltar a influência da cinética de consumo do peróxido de hidrogênio nas amostras de água contendo a MON do rio Preto, visto que na intensidade de fluorescência é suprimida com o decorrer da cinética evidenciando a degradação da Matéria Orgânica. O mesmo comportamento foi observado

para os resultados apresentados na Figura 26 (a e b), a qual apresenta o espectro de UV-Vis da MON do Rio Preto, para o mesmo período.

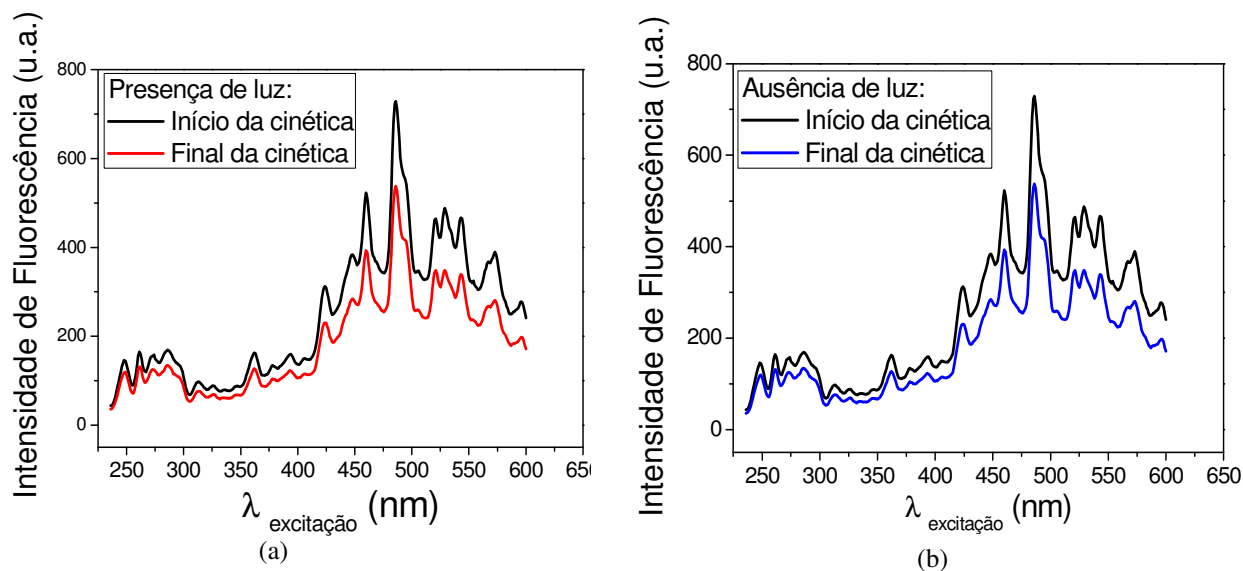


Figura 25: Espectro de Fluorescência Molecular da amostra de água do rio Preto de outubro de 2012, sendo que: (a) cinética na presença de luz e (b) cinética na ausência de luz (Início da Cinética corresponde ao tempo zero e Final da cinética corresponde ao tempo em 15.840 minutos).

Como demonstrado na Figura 26 (a e b), pode-se verificar o decréscimo da intensidade com o decorrer da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio, no qual pode-se averiguar que após 3 horas da adição de $0,24 \text{ mg L}^{-1}$ de H_2O_2 a intensidade manteve-se constante com o início da cinética, e sendo possível verificar uma diferença de intensidade de absorvância após 24 horas da adição do peróxido de hidrogênio, o qual manteve-se constante até o final da cinética, o que pode estar relacionado a degradação da MO, visto que o maior consumo de peróxido de hidrogênio mantém-se dentro do período de 24 horas do início da cinética, após esse período é observado uma cinética mais lenta.

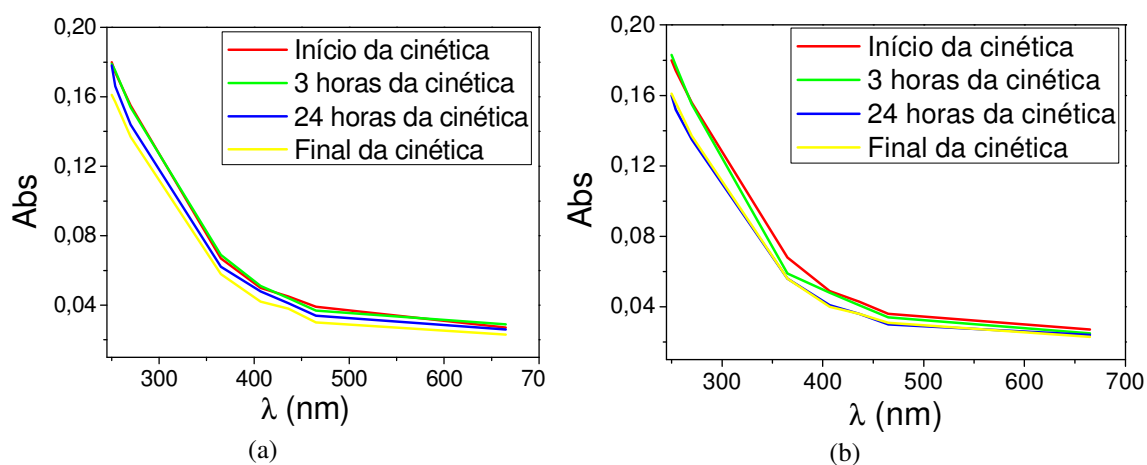


Figura 26: Espectro de varredura da amostra de água do rio Preto de outubro de 2012 em diferentes tempos durante a cinética, sendo que (a) Presença de luz e (b) Ausência de luz (Início da Cinética corresponde ao tempo zero e Final da cinética corresponde ao tempo em 15.840 minutos).

7.2 PROPOSTA DE UM INDICADOR DE MATÉRIA ORGÂNICA LÁBIL E RECALCITRANTE

7.2.1 Matéria Orgânica Recalcitrante: Ácido húmico

A Figura 27 (a e b) apresenta o resultado obtido empregando diferentes concentrações de ácido húmico (AH), a fim de propor um indicador de Matéria Orgânica Recalcitrante, em acordo a definição de Rocha e Rosa (2003).

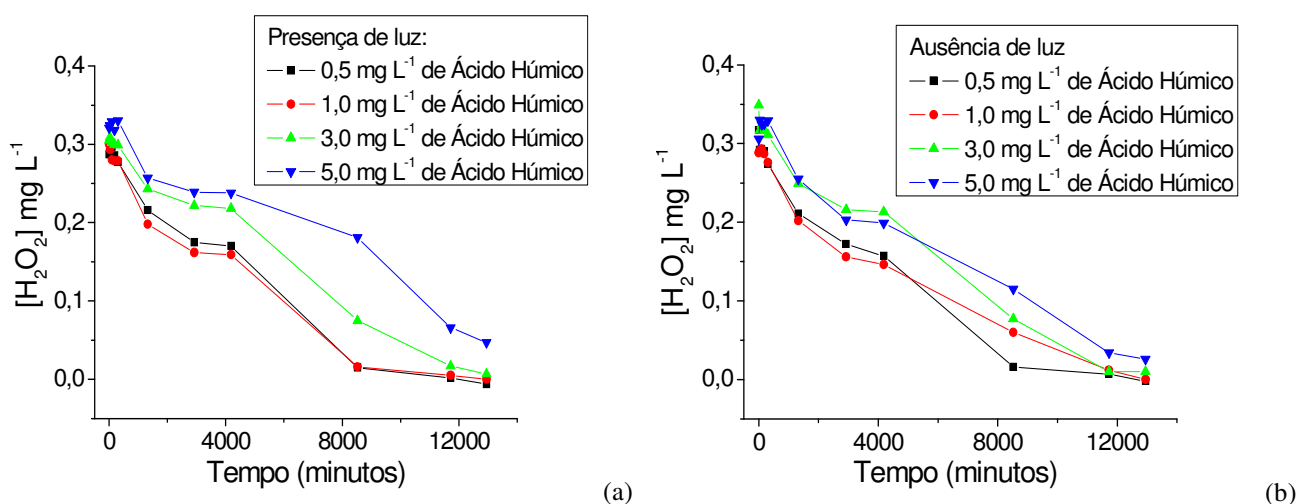


Figura 27: Experimento com diferentes concentrações de ácido húmico (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz (Condições: pH das amostras variaram entre 9 a 10 e Temperatura entre 24 - 25 °C).

Um tratamento matemático dos dados obtidos aplicando as leis da cinética foi realizado, sendo que o modelo que melhor se ajustou foi à cinética de ordem zero, sendo os tempos de meia-vida apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Valores dos tempos de meia-vida da amostra de ácido húmico, mantidas na presença e ausência de luz.

Concentração de COT nas amostras de ácido húmico (mg L ⁻¹)	Tempo de meia-vida (horas)	
	Presença de luz	Ausência de luz
Controle	97,2	97,7
0,5	250,7	254,2
1,0	255,8	256,3
3,0	308,8	381,0
5,0	357,4	392,8

De maneira geral os tempos de meia-vida para o consumo de peróxido de hidrogênio foram maiores para as amostras com maiores concentrações de ácido húmico, quando comparadas ao grupo controle. Pode-se observar no estudo, em geral, que o AH atuou como uma Matéria Orgânica com caráter recalcitrante uma vez que os tempos de meia-vida foram superiores ao grupo controle. Assim, esse composto parece ter potencial para ser empregado como um modelo de Matéria Orgânica Recalcitrante. No entanto, outros estudos como a alteração na estrutura do AH no início e final do experimento podem ser interessantes para conclusões mais exatas.

7.2.2 Matéria Orgânica Lábil: Ácido ascórbico

A Figura 28 (a e b) apresenta o resultado obtido empregando diferentes concentrações de ácido ascórbico (AA), como modelo para Matéria Orgânica Lábil. Vale destacar que foi observado um aumento da concentração de peróxido de hidrogênio no intervalo de 0 a 1.630 minutos na presença de luz e 0 a 3.000 minutos na ausência de luz, indicando a produção do peróxido de hidrogênio.

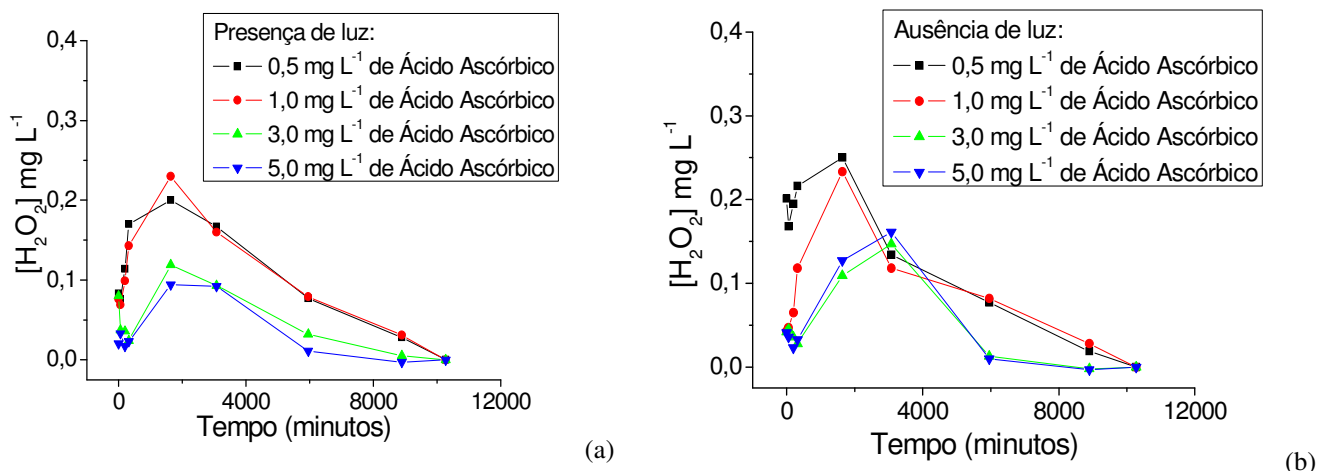


Figura 28: Cinética de consumo de peróxido de hidrogênio com diferentes concentrações de ácido ascórbico (a) na presença de luz; (b) na ausência de luz (Condições: pH das amostras variaram entre 6 - 7, e Temperatura entre 24 - 25 °C).

Um tratamento matemático dos dados obtidos foi realizado aplicando as leis da cinética a partir de 1.600 minutos de onde verificou-se o consumo do peróxido de hidrogênio observando uma cinética de primeira ordem ($R = 0,999$), e o tempo de meia-vida calculados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Valores dos tempos de meia-vida da amostra de ácido ascórbico (AA), mantidas na presença e ausência de luz.

Concentração de COT nas amostras de ácido ascórbico (mg L ⁻¹)	Tempo de meia-vida (horas)	
	Presença de luz	Ausência de luz
Controle	31,2	32,0
0,5	27,5	38,6
1,0	27,0	38,9
3,0	29,6	36,0
5,0	26,1	32,0

Conforme apresentado na Tabela 11, os microcosmos contendo diferentes concentrações de ácido ascórbico apresentaram tempos de meia-vida próximos aos encontrados para o grupo controle, visto que estes valores foram inferiores ao observados empregando o ácido húmico (Tabela 10). Os menores tempos de meia-vida de consumo de peróxido de hidrogênio obtidos para o AA sugerem que o H₂O₂ esteja sendo consumido durante a oxidação do AA (modelo de Matéria Orgânica Lábil).

Capítulo 8: Conclusão



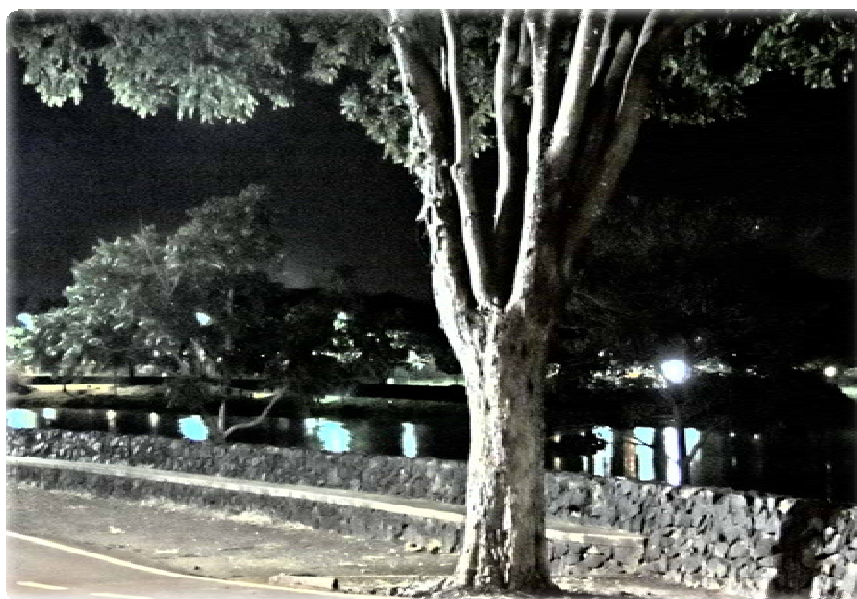
Rio Preto - São José do Rio Preto

Em vista do que foi abordado nesse trabalho, pode-se concluir que a fração de 10-30 kDa possui maior capacidade de complexação para o íon Cr (VI) (2,20 mmol de Cr (VI) g⁻¹ de Carbono), e a fração de tamanho molecular <10 kDa possui maior capacidade de complexação para o íon Cr (III) (5,26 mmol de Cr (III) g⁻¹ de Carbono) para o período de seca. A capacidade de complexação variou em função da sazonalidade.

Outro fator importante foi que as Substâncias Húmicas Aquáticas do rio Preto para ambos os períodos amostrados (Seca e Chuva), possuem na sua estrutura grupamentos aromáticos, carboxílicos, carbonílicos, ácidos graxos de metil ésteres, derivados de polissacarídeos, biopolímeros alifáticos derivados de plantas, hidrocarbonetos de cadeia longa e ramificada com grupos metilenos e carbono aquilas, resultados estes que foram evidenciados nos espectros de UV-Vis, Infravermelho com Transformada de Fourier, Ressonância Magnética Nuclear e Pirólise off-line empregando o Hidróxido de Tetrametilamônio utilizando o GC-MS, e uma maior presença de ácido húmico na sua estrutura o qual foi evidenciado por Espectrofluorimetria de Luminescência.

Com relação ao estudo da cinética de consumo do peróxido de hidrogênio nas amostras de águas superficial do rio Preto, conclui-se que no período de chuva foram observados os menores tempo de meia-vida indicando a presença de Matéria Orgânica Lábil e, no período de seca os maiores tempos de meia-vida observados podem estar associados à presença de Matéria Orgânica Recalcitrante. Os compostos modelos (ácido ascórbico e húmico) de Matéria Orgânica Recalcitrante e lábil parecem apresentar potencial para a proposta de um indicador de labilidade de matéria orgânica.

Capítulo 9: Referências Bibliográficas



Rio Preto - São José do Rio Preto

ABATE, G; **Isolamento, Purificação e Estudo de Complexação de Substâncias Húmicas**. 1998. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 1998.

ABBT-BRAUN, G.; LANKES, U.; FRIMMEL, F. H. Structural characterization of aquatic humic substances – The need for a multiple method approach. **Aquatic Science**, v. 66, p. 151-170, 2004.

ALBERTS, J.J., TAKÁCS, M. Total luminescence spectra of IHSS standard and reference fulvic acids, humic acids and natural organic matter: comparison of aquatic and terrestrial source terms. **Organic Geochemistry**, v. 35, p. 243-256, 2004.

ALLARD, B. A comparative study on the chemical composition of humic acids from forest soil, agricultural soil and lignite deposit Bound lipid, carbohydrate and amino acid distributions. **Geoderma**, v. 130, p. 77–96, 2006.

ARAÚJO, A. B.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; ROMÃO, L. P.; Distribuição de metais e caracterização das constantes de troca entre espécies metálicas e frações húmicas aquáticas de diferentes tamanhos moleculares. **Química Nova**, v.25, p.1103-1107, 2002.

ASPERGER, A.; ENGEWALD, W.; FABIAN, G. Thermally assisted hydrolysis and methylation – a simple and rapid online derivatization method for the gas chromatographic analysis of natural waxes. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 61, p. 91-109, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 9898**: preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores, Rio de Janeiro, 1987.

ASTER, B.; BURBA, P.; BROEKAERT, J. A. C. Analytical fractionation of aquatic humic substances and their metal species by means of multistage ultrafiltration. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 354, p. 722-728, 1996.

ATKINS, P.; JONES, L. Princípios de Química: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente. **Porto Alegre: Bookman**, 3 ed., p. 968, 2006.

EVERY, H. E. Cinética química básica y mecanismos de reaccion. **Barcelona: Reverte**, 1997.

AZEVEDO, J. C. R; NOZAKI, J; Análise de fluorescência de substancias húmicas extraídas da água, solo e sedimento da Lagoa dos Patos – MS. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1324-1329, 2008.

BADER, H.; SIURZENEGGER, V.; HOIGNÉ, J.; Photometric method for the determination of low concentrations of hydrogen peroxide by the peroxidase catalyzed oxidation of N, N-diethyl-1,4-phenylenediamine(DPD). **Water Research**, v. 22, n. 9, p. 1109-1115, 1988.

BATLEY, G. E., APTE, S. C., STAUBER, J. L. Speciation and bioavailability of trace metals in water: Progress since 1982. **Australian Journal Chemistry**, v. 57, p. 903-919, 2004.

BISINOTI, M. C.; **Biogeoquímica aquática do mercúrio orgânico na Bacia do Rio**

Negro, Amazônia. 2005. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 2005.

BUFFLE, J. Characteristics of aquatic organic compounds. In: BUFFLE, J. COMPLEXATION REACTIONS IN AQUATIC SYSTEMS AN ANALYTICAL APPROACH. New York: Ellis Horwood, 1990.

BURBA, P.; ROCHA, J. C.; KLOCKOW, D. Labile complexes of trace metals in aquatic humic substances: Investigations by means of an ion exchange-based flow procedure. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 349, p. 800-807, 1994.

_____ ; VAN DEN BERGH, J.; KLOCKOW, D. On-site characterization of humic-rich hydrocolloids and their metal loads by means of mobile size fractionation and exchange techniques. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 371, p. 660-669, 2001.

BUTCHER, D. J.; SNEDDON, J. A Practical Guide to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Wiley Interscience**, v. 149, p. 250, 1998.

CAMPOS, S. X.; VIERA, E. M. Estabilidade de frações de Substâncias Húmicas de Turfa obtidas em um Equipamento comercial de Ultrafiltração. **Ciências Exatas Terra, Ciência Engenharia Agrônômica**, v. 15, p. 19-24, 2009.

CAVOSKI, I.; ORAZIO, V. D.; MIANO, T. Interactions between rotenone and humic acids by means of FT-IR and fluorescence spectroscopies. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 395, p. 1145-1158, 2009.

CHALLINOR, J. M. Review: the development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 61, p. 3-34, 2001.

CHEN, J.; BAOHUA, GU.; EUGENE, J. LEBOEUF.; HONGJUN, P.; SHENG, D. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, v. 48, p. 59-68, 2002.

CHENG, K. L. Separation of humic acid with XAD resins. **Mikrochimica Acta**, v. 2, p. 389-396, 1977.

CHRISTL, I., KNICKER, H., KOGEL-KNABNER, I., KRETZSCHMAR, R. Chemical heterogeneity of humic substances: characterization of size fractions obtained by hollow-fibre ultrafiltration. **European Journal of Soil Science**, v. 51, p. 617-625, 2000.

CLESCERL, L. S.; GREENBERG, A.E.; EATON, A.D.; Standard Methods for the Examination of water and waste water. 20th Ed., **Washington, APHA, AWWA, WEF**, 1998.

COBLE, P. G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. **Marine Chemistry**, v. 51, p. 325-346, 1996.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB) - **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar, primeiro levantamento, abril/2012.** Brasília, 2012. Available in: <http://www.conab.gov.br/>. Accessed 20 August 2012.

CONTE, P.; SPACCINI, R.; SMEJKALOVA, D.; NEBBIOSO, A.; PICCOLO, A. Spectroscopic and conformational properties of size-fractions separated from a lignite humic acid. **Chemosphere**, v. 69, p. 1032–103, 2007.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI, I. JR. Humificação e mineralização de macrófitas aquáticas: uma revisão sobre esses processos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 4, p. 665-676, 2009.

DEPORT, C.; LEME, L.; AMBLE, S, A. Comparison between humic substances from soil and peats using TMAH and TEAAc thermochemolysis. **Organic Geochemistry**, v. 37, p. 649-664, 2006.

DUARTE, R. M. B. O.; SANTOS, E. B. H.; DUARTE, A. C. Spectroscopic characteristics of ultrafiltration fractions of fulvic and humic acids isolated from an eucalyptus bleached Kraft pulp mill effluent. **Water Research**, v. 37, p. 4073-4080, 2003.

DURAND, C.; RUBAN, V.; AMBLE, A. Characterisation of complex organic matter present in contaminated sediments from water retention ponds. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 73, p. 17-28, 2005.

DUWARD, F. S.; ATKINS, P. Química Inorgânica. **Porto Alegre: Bookman**, 2008.

EINAX, J.; KUNZE, C. Complexation capacity of aquatic systems in dependence on different ligands and heavy metals electroanalytical investigations and statistical evaluation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry, Heidelberg**, v. 354, n. 7-8, p. 895-899, 1996.

ESTEVES, V. I., OTERO, M., DUARTE, A. C. Comparative characterization of humic substances from the open ocean, estuarine water and fresh water. **Organic Geochemistry**, v. 40, p. 942-950, 2009.

FADINI, P.S.; **Comportamento do ciclo biogeoquímico do mercúrio na Bacia do rio Negro (AM)**. 1999. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 1999.

FAUSTINO, A. S. **Estudos físico-químicos do efluente produzido por fossa séptica biodigestora e impacto do seu uso no solo**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, 2007.

FILELLA, M.; PARTHASARATHY, N.; BUFFLE J. Humic and Fulvic Compounds, in “Encyclopedia of Analytical Science”, Worsfold P. J., Townshend A., and Poole C. F. **Elsevier, Oxford**, 2nd ed., v. 4, p. 288-298, 2005.

FLAIG, W. Comparative chemical investigations of natural humic compounds and their model substances. **Scientific Processing Royal Dublin Society**, v. 4, p. 149, 1960.

FONTANA, A. **Fracionamento da Matéria Orgânica e Caracterização dos Ácidos Húmicos e sua utilização no Sistema Brasileiro de Classificação de solos**. 2009. Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, 2009.

FRANCIOSO, O., SANCHEZ-CORTES, S., CASARINI, D., GARCIA-RAMOS, J. V., CIAVATTA, C., GESSA, C., J. Spectroscopic study of humic acids fractionated by means of tangential ultrafiltration. **Journal of Molecular Structure**, v. 609, p. 137-147, 2002.

FRAZIER, S. W.; NOWACK, K. O.; GOINS, K. M.; CANNON, F. S.; KAPLAN, L. A.; HATCHER, P. G. Characterization of organic matter from natural waters using tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis GC-MS. **Journal Analytical Apply Pyrolysis**, v. 70, p. 99-128, 2003.

FREINBICHLER, W.; COLIVICCHI, M. A.; STEFANINI, C.; BIANCHI, L.; BALLINI, C.; MISINI, B.; WEINBERGER, P.; LINERT, W.; VARESLIJA, D.; TIPTON K. F.; CORTE, L. D. Highly reactive oxygen species: detection, formation, and possible functions. **Cellular and Molecular Life Science**, v. 68, p. 2067–2079, 2011.

FUENTES, M., GONZÁLEZ-GAITANO, G., GARCÍA-MINA, J. M. The usefulness of UV-visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts. **Organic Geochemistry**, v. 37, p. 1949-1959, 2006.

FUKUSHIMA, M.; NAKAYASU, K.; TANAKA, S. Chromium (III) binding abilities of humic acids. **Analytical Chimica Acta**, v. 317, p. 195-206, 1995.

GARG, S.; ROSE, A. L.; WAITE, D. T. Photochemical production of superoxide and hydrogen peroxide from natural organic matter. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 75, p. 4310-4320, 2011.

GIOVANELA, M.; CRESPO, J. S.; ANTUNES, M.; ADAMATTI, D. S.; FERNANDES, A. N.; BARISON, A.; DILVA, C. W. P.; GUÉGAN, R.; MOTELICA-HEINO, M.; SIERRA, M. M. D. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids extracted from the bottom sediments of a Brazilian subtropical microbasin. **Journal of Molecular Structure**, v. 981, p. 111–119, 2010.

GONZÁLEZ-VILA, F. J., LANKES, U., DEMANN, H. D. L. Comparison of the information gained by pyrolytic techniques and NMR spectroscopy on the structural features of aquatic humic substances. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 58/59, p. 349–359, 2001.

GOVEIA, D.; LOBO, F. A.; BURBA, P.; FRACETO, L. F.; DIAS FILHO, N. L.; ROSA, A. H. Approach combining on-line metal exchange and tangential-flow ultrafiltration for in-situ characterization of metal species in humic hydrocolloids. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, p. 851-860, 2010.

GRASSI, M. T. **Fotoprodução de peróxido de Hidrogênio em águas naturais sob ação da luz solar**. 1994. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 1994.

GUIA NACIONAL DE COLETA E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRA (2011) – Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/publicacoes/guia-nacional-coleta-2012.pdf>.

GUIGNARD, C.; LEME, L.; AMBLE`S, A. Lipid constituents of peat humic acids and humin. Distinction from directly extractable bitumen components using TMAH and TEAAc thermochemolysis. **Organic Geochemistry**, v. 36, p. 287-297, 2005.

HAINES, N.; BURBA, P.; LAMBERT J.; KLOCKOW, D. Spectroscopic Characterization of Humic-Like Substances in Airborne Particulate Matter. **Journal of Atmospheric Chemistry**, v. 29, p. 45–54, 1998.

JARDE, E.; MANSUY, L.; FAURE, P. Characterization of the macromolecular organic content of sewage sludges by thermally assisted hydrolysis and methylation-gas chromatography-mass spectrometer (THM-GC/MS). **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 68, n. 69, p. 331-350, 2003.

JARDIM, W. F.; BISINOTI, M. C.; FADINI, P. S.; SILVA, G. S. Mercury Redox Chemistry in the Negro River Basin, Amazon: The Role of Organic Matter and Solar Light. **Aquatic Geochemistry**, v. 16, p. 267-278, 2010.

JUNIOR, E. S.; ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; ZARA, L. F.; SANTOS, A.; Substâncias Húmicas Aquáticas: Fracionamento Molecular e Caracterização de Rearranjos Internos após Complexação com Íons Metálicos. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 339-344, 2001.

KAREUS, S. A.; KELLEY, C.; WALTON, H. S.; SINCLAIR, P. R. Release of Cr(III) from Cr(III) picolinate upon metabolic activation. **Journal of Hazardous Materials**, v.84, p. 163–174, 2001.

KHALAF, M., KOHL, S. D., KLUMPP, E., RICE, J. A., TOMBÁČZ, E. Comparison of sorption domains in molecular weight fractions of a soil humic acid using solid-state ¹⁹F NMR. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 2855-2860, 2003.

KONONOVA, M. M. Soil organic matter: its nature role in soil formation and in soil fertility. **New York: Pergamon Press**, 1966.

LANDGRAF, M. D.; ALVES, M. R.; SILVA, S. C.; REZENDE, M. O. O. Caracterização de Ácidos Húmicos de Vermicomposto de esterco bovino compostado durante 3 e 6 meses. **Química Nova**, v. 22, p. 483-486, 1999.

LEVINE, I. N. Physical Chemistry. 6ª Ed. New York: McGraw-Hill Science, 2008.

LI, LI ZHAO, Z., HUANG, W., PENG, P.; SHENG, G.; FU, J. Characterization of humic acids fractionated by ultrafiltration. **Organic Geochemistry**, v. 35, p. 1025-1037, 2004.

LI, Y.; GARY, K.C.; LOW; SCOTT, J. A; AMAL, R. The role of iron in hexavalent chromium reduction by municipal landfill leachate. **Journal of Hazardous Materials**, v. 161, p. 657-662, 2009.

LIAO, C. H.; GUROL, M. D. Chemical oxidation by photolytical decomposition of hydrogen peroxide. **Environmental Science Technology**, v. 29, p. 3007-3014, 1995.

LINDELL, J. J.; GRANÉLI, W.; TRANVIK, L. J. Enhanced bacterial growth in response to photochemical transformation of dissolved organic matter. **Limnology and Oceanography**, v 40, p. 195-199, 1995.

LU, Q.; JOHNSON, W. D.; HOWE, R. F.; CHEN, Y. Y. Reaction of aquatic humic substances with manganese and chromium. **Australian Journal of Chemistry**, v. 50, p. 173-180, 1997.

MALCON, R. L. The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. **Analytica Chimica Acta**, v. 232, p. 19, 1990.

MAO, J.; CHEN, N.; CAO, X. Characterization of humic substances by advanced solid state NMR spectroscopy: Demonstration of a systematic approach. **Organic Geochemistry**, v. 42, p. 891-902, 2011.

MARTIN-NETO, L.; COLNAGO, L. A.; BONAGAMBA, T. J.; PANEPUCCI, H. C.; VIEIRA, E. M.; MIYAZAWA, M. Uso de Ressonância Magnética Nuclear na Caracterização de Ácidos Húmicos de Solos sob Diferentes Manejos. Pesquisa em andamento, **EMBRAPA**, nº 8, p. 1-5, 1996.

_____ ; SPOSITO, G.; VIEIRA, E. M. Mechanism of atrazine sorption by humic acids: a spectroscopy study. **Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 11, p. 1867-1873, 1994.

MATTOS, I. L.; SHIRAIISHI, K. A.; BRAZ, A. D.; FERNANDES, J. R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. **Química Nova**, v. 26, p. 337- 380, 2003.

MAZZEI, P; PICCOLO, A. Quantitative Evaluation of Noncovalent Interactions between Glyphosate and Dissolved Humic Substances by NMR Spectroscopy. **Environmental Science Technology**, v. 46, p. 5939–5946, 2012.

_____ ; FRANCESCA, N.; MOSCHETTI, G.; PICCOLO, A. NMR spectroscopy evaluation of direct relationship between soils and molecular composition of red wines from Aglianico grapes. **Analytica Chimica Acta**, v. 673, p. 167–172, 2010.

MCDONALD, S., BISHOP, A.G., PRENZLER, P.D., ROBARDS, K. Analytical chemistry of freshwater humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 527, p. 105-124, 2004.

MCINTYRE, C.; MCRAE, C.; BATTIS, B. D.; PICCOLO, A. Structural characterisation of groundwater hydrophobic acids isolated from the Tomago Sand Beds, Australia. **Organic Geochemistry**, v. 36, p. 385–397, 2005.

MCKNIGHT, D., THURMAN, E. M., WERSHAW, R. L., HEMOND, H. Biogeochemistry of aquatic humic substances in thoreau's bog, Concord, Massachusetts. **Ecology**, v. 66, p. 1339-1352, 1985.

MELO, C. A.; TOFFOLI, A. L; MOREIRA, A. B.; BISINOTI, M. C. Solar Radiation Effect on the Complexation Capacity of Aquatic Humic Substances with Metals. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 23, n. 10, p. 1871-1879, 2012.

_____. **Caracterização e Dinâmica de metais em rios da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande**. 2010. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, IBILCE/UNESP, 2010.

MENDONÇA, A. G. R. **Turfa**: interações com espécies metálicas e estudo de parâmetros que influenciam na utilização em setores agrícolas. 2010. Tese (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

MILLER, J. C., MILLER, J.N.; Statistics for Analytical Chemistry. **Editora Ellis Honwood PTR Prentice Hall**, p. 115, 1993.

_____ ; MORAN, M. A.; Interaction of photochemical and microbial processes in the degradation of refractory dissolved organic matter from a coastal marine environment. **Limnology and Oceanography**, v. 42, p. 1317-1324, 1997.

MOORE, W, J. Físico-Química. **Rio de Janeiro: Edgar Blucher**. 4 ed, vol 1 e 2, 2000.

MORAN, M. A.; ZEPP, R. G; Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. **Limnology and Oceanography**, v. 42, p. 1307-1316, 1997.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M.V. Manual de soluções, reagentes e solventes: Padronização, preparação e purificação. **São Paulo: Edgar Blücher**, 2001.

NAKAYASU, K.; FUKUSHIMA, M.; SASAKI, K.; TANAKA, S.; NAKAMURA, H. Comparative studies of the reduction behavior of chromium (VI) by humic substance and their precursors. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 18, p. 1085-1090, 1999.

NEBBIOSO, A.; PICCOLO, A. Basis of a Humeomics Science: Chemical Fractionation and Molecular Characterization of Humic Biosuprastructures. **Biomacromolecules**, v. 12, p. 1187-1199, 2011.

NIEROP, K. G. J. Temporal and vertical organic matter differentiation along a vegetation succession as revealed by pyrolysis and thermally assisted hydrolysis and methylation. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 61, p.111-132, 2001.

NOVOTNY, E. H. **Estudos Espectroscópicos e Cromatográficos de Substâncias Húmicas de Solos sob diferentes sistemas de preparo**. 2002. Tese (Doutorado) - Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2002.

O'SULLIVAN, D.W.; NEALE, P. J.; COFFIN, R. B.; BOYD, T. J.; OSBURN, C. L.; Photochemical production of hydrogen peroxide and methylhydroperoxide in coastal waters. **Marine Chemistry**, v. 97, p. 14-33, 2005.

OHRA-AHO, T., ROPPONEN, J., TAMMINEN, T. Thermochemolysis using TMAAc and TMAH reagents as means to differentiate between free acids and esters. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, in press 2012.

OLIVEIRA, L. C; **Substâncias Húmicas Aquáticas do Rio Negro-AM: Influencia da Sazonalidade nas Características Estruturais, Distribuição de Carbono e Capacidade de Complexação por Íons Hg (II) em Função do Tamanho Molecular**. 2007. Tese (Doutorado) - Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2007.

PANTANO, G.; TADINI, A. M.; BISINOTI, M. C.; MOREIRA, A. B.; SANTOS, A.; OLIVEIRA, L. C.; MARTIN, C. S. Development of a Simple and Versatile Ultrafiltration System for the Fractionation of Aquatic Humic Substances. **Organic Geochemistry**, v. 43, p. 156-161, 2012.

PÉDROT, M., DIA, A., DAVRANCHE, M. Dynamic structure of humic substances: Rare earth elements as a fingerprint. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 345, p. 206–213, 2010.

PERTUSATTI, J. **Aspectos físico-químicos da protonação e desprotonação da superfície do ácido húmico**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Brasília (UNB), Brasília, 2007.

PEURAVUORI, J.; MONTEIRO, A.; EGLITE, L.; PIHLAJA, K. Comparative study for separation of aquatic humic-type organic constituents by DAX-8 and DEAE sorbing solids and tangencial ultrafiltration: elemental composition, size exclusion chromatograph, UV-VIS and FT-IR. **Talanta**, v. 65, p. 408-422, 2005.

_____ ; PIHLAJA, K. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 337, p. 133-149, 1997.

_____ ; KOIVIKKO, R.; PIHLAJA, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Water Research**, v. 36, p. 4552-4562, 2002.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. **Soil Science**, v. 166, p. 810-832, 2001.

_____ ; CONTE, P.; COZZOLINO, A. Chromatographic and spectrophotometric properties of dissolved humic substances compared with macromolecular polymers. **Soil Science**, v. 166, p. 174-185, 2001.

_____ ; _____ ; TRIVELLONE, E. ; VAN LAGEN, B. Reduced heterogeneity of a lignite humic acid by preparative HPSEC following interaction with an organic acid. Characterization of size-separates by Pyr-GC-MS and ¹H-NMR spectroscopy. **Environmental Science Technology**, v. 36, p. 76-84, 2002.

POMPÊO M. L. M. (Ed). Aspectos do processo de decomposição ecossistemas aquáticos continentais. In: PERSPECTIVAS DA LIMNOLOGIA NO BRASIL. São Luís: União, 1999.

PULCHAN, K. J.; HELLEUR, R.; ABRAJANO, T. A. TMAH thermochemolysis characterization of marine sedimentary organic matter in a Newfoundland fjord **Organic Geochemistry**, v. 34, p. 305-317, 2003.

RIBEIRO, M. A.; OIKAWA, H.; MORI, M. N.; NAPOLITANO, C. M.; DUARTE, C. L. Degradation mechanism of polysaccharides on irradiated sugarcane bagasse. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 84, p. 115-118, 2012.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; CARDOSO, A. A.; Introdução a Química Ambiental. **Porto Alegre: Ed. Bookman**, 2004.

_____ ; ROSA, A. H.; Substâncias Húmicas Aquáticas: interações com espécies metálicas. **São Paulo: Ed. UNESP**, 2003.

RODRÍGUEZ, F. J.; NÚÑEZ, L. A. Characterization of aquatic humic substances. **Water and Environment Journal**, v. 25, p. 25163-170, 2011.

ROMÃO, L. P. C; ROCHA, J. C; Utilização da Ultrafiltração em Fluxo Tangencial na Determinação das Constantes de Troca entre Substâncias Húmicas e Íons Cu (II). **Revista Fapesp de Pesquisa e Extensão**, v. 2, p. 25-36, 2005.

_____ ; **Utilização da Ultrafiltração em Fluxo Tangencial como Nova Metodologia para a Determinação da Capacidade de Complexação e Constantes de Equilíbrio de Íons Cu (II) Complexados por Matéria Orgânica Natural**. 2003. Tese (Doutorado) - Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2003.

_____ ; ARAÚJO, A. B.; ROSA, A. H., ROCHA, J. C. Redução de Crômio hexavalente por substâncias húmicas aquáticas imobilizadas em aminopropil sílica. **Eclética Química**, v. 27, p. 383, 2002.

RONTANI, J. F. Visible light-dependent degradation of lipidic phytoplanktonic components during senescence: a review. **Phytochemistry**, v. 58, p. 187–202, 2001.

ROSA, A. H.; 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.

_____ et al. Estudo da labilidade de Cu(II), Cd(II), Mn(II) e Ni(II) em Substâncias Húmicas Aquáticas utilizando-se membranas celulósicas Organomodificadas. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 59-65, 2007.

RYAN, D.K. Liquid Chromatography: Humic Substances, in Encyclopedia of Separation Science. **Academic Press, London**, p. 3032-3039, 2000.

SAAB, S.C., MARTIN-NETO, L. Anéis aromáticos condensados e relação E4/E6: estudos de ácidos húmicos de gleissolos por RMN 13-C no estado sólido utilizando a técnica CP/MAS desacoplamento defasado. **Química Nova**, v. 30, p. 260-263, 2006.

SAADI, I., BORISOVER, M., ARMON, R., LAOR, Y. Monitoring of effluent DOM biodegradation using fluorescence, UV and DOC measurements. **Chemosphere**, v. 63, p. 530–539, 2006.

SANCHES, S. M., CAMPOS, S. X., VIEIRA, E. M. Caracterização das frações das substâncias húmicas de diferentes tamanhos moleculares. **Eclética Química**, v. 32, p. 49-56, 2007.

SANTOS, A.; BELLIN, I. C.; CORBI, P. P.; CUIN, A.; ROSA, A. H.; REZENDE, M. O.; ROCHA, J. C.; MELNIKOV, P. Competition between humic substances and alpha-amino acids by metal species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 437-440, 2004.

_____ et al. Interaction between Humic Substances and Metallic Ions: a Selectivity Study of Humic Substances and their Possible Therapeutic Application. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 824-830, 2007.

_____ ; LOURENÇO, S. R.; OLIVEIRA, A. F. Caracterização das substâncias húmicas aquáticas com uso de espectroscopia de UV-VIS. **Revista Tecnológica**, v. 17, p. 28-38, 2008.

SARGENTINI JR, E.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; SIMÕES, M. L.; MARTIN-NETO, L.; SILVA, W. T. L.; SERUDO, R. L.; OLIVEIRA, L. C. The influence of seasonalness on the structural characteristics of aquatic humic substances extracted from

Negro River (Amazon State) waters: interactions with Hg(II). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 860-868, 2007.

_____ ; ROCHA, J. C., ROSA, A. H., ZARA, L. F., DOS SANTOS, A. Substâncias húmicas aquáticas: fracionamento molecular e caracterização de rearranjos internos após complexação com íons metálicos. **Química Nova**, v. 24, p. 339-344, 2001.

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

SENESI, N.; MIANO, T. M.; PROVENZANO, M. R.; BRUNETTI, G. Spectroscopic and Compositional Comparative Characterization of I.H.S.S. Reference and Standard Fulvic and Humic Acids of Various Origin. **The Science of the Total Environment**, v. 81 e 82, p. 143-156, 1989.

SHADKAMI, F.; HELLEUR, R. Review: Recent applications in analytical thermochemolysis. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 89, p. 2–16, 2010.

SHKINEV, V. M., FEDOROVA, O. M., SPIVAKOV, B. Y., MATTUSCH, J., WENNRICH, R., LOHSE, M. Speciation of metals associated with natural water components by on-line membrane fractionation combined with inductively coupled plasma atomic emission and mass spectrometries. **Analytica Chimica Acta**, v. 327, p. 167-174, 1996.

SIERRA, M.M.D.; GIOVANELA, M.; PARLANTI, E.; SORIANO-SIERRA, E.J. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. **Chemosphere**, v. 58, p. 715-733, 2005.

SIMPSON, A. J.; KINGERY, W. L.; SWAW, D. R.; SPRAUL, M.; HUMPFER, E.; DVORTSAK, P. Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environmental. **Naturwissenschaften**, v. 89, p. 84-88, 2002.

SLOBODA, E. Influência do tamanho molecular aparente das Substâncias Húmicas Aquáticas na eficiência da coagulação com sulfato de alumínio e cloreto férrico. 2007. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, 2007.

_____ ; VIEIRA, E. M.; DANTAS, A. D. B.; BERANDO, L. D. Influência das características das substâncias húmicas aquáticas na eficiência da coagulação com o cloreto férrico. **Química Nova**, v. 32, n. 4, 976-982, 2009.

SODRÉ, F. F. **Especiação de Cobre em Águas Naturais: Influência de Fatores Associados à Urbanização**. 2005. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, 2005.

_____ ; GRASSI, M. T.; Assessment of Anthropogenic Influences on Copper Complexation by Aquatic Dissolved Organic Matter using Synchronous Fluorescence. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 1136-1144, 2007.

SOUTHWORTH, B. A.; VOELKER, B. M. Hydroxyl Radical Production via the Photo-Fenton Reaction in the Presence of Fulvic Acid. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 1130-1136, 2003.

SPACCINI, R.; PICCOLO, A. Molecular Characterization of compost at increasing stages of maturity.2. Thermochemolysis-GC-MS and ¹³C-CPMAS-NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 2303-2311, 2007.

_____ ; _____. Molecular characteristics of humic acids extracted from compost at increasing maturity stages. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 41, p. 1164–1172, 2009.

_____ ; _____. Spectroscopic Characterization of Compost at Different Maturity Stages. **Clean**, v. 36, n. 2, p. 152–157, 2008.

SPERLING, M. Chromium. **University of Muenster, Muenster, Germany**, p. 113–125, 2005.

STACKHOUSE, R. A.; BENSON, W. B. The influence of humic acid on the toxicity and bioavailability of selected trace metals. **Aquatic Toxicology**, v. 13, p. 99–108, 1988.

STEVENSON, F. J. Extraction, Fractionation, and general chemical composition of soil organic matter. In: STEVENSON, F. J. *Humus chemistry: genesis, composition and reaction*. **New York: John Wiley**, 1982.

_____. *Humus chemistry: genesis, composition and reaction*. 2nd Edition. **New York: John Wiley & Sons**, 1994.

SUMMER, R. S.; CORNEL, P. K.; ROBERTS, P. V. Molecular size distribution and Spectroscopic Characterization of Humic Substances. **The Science of the Total Environment**, v. 62, p. 27-37, 1987.

SUN, J. X.; SUN, X. F.; ZHAO, H.; SUN, R. C. Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse. **Polymer Degradation and Stability**, v. 84, p. 331-339, 2004.

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

TONIETTO, A. E. **Especiação Química de Cobre e Zinco nas águas do Reservatório do Iraí**: Efeitos da Matéria Orgânica e interações com Microalgas. 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, 2006.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA)____. **Method 1669**: Sampling Ambient Water for Determination of Trace Metals at EPA Water Quality Criteria Levels, U. S. EPA: Washington DC, 1996. Acessado: http://www.epa.gov/caddis/pdf/Metals_Sampling_EPA_method_1669.pdf

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Method 200.9**: Determination of Trace Elements by Stabilized Temperature Graphite Furnace Atomic Absorption, 1994. Acessado: http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2007_07_10_methods_method_200_9.pdf

VAN DEN BERGH, J.; JAKUBOWSKI, B.; BURBA, P. Investigations on the conditional kinetic and thermodynamic stability of aquatic humic substance – metal complexes by means of EDTA exchange, ultrafiltration and atomic spectrometry. **Talanta**, v. 55, p. 587-593, 2001.

VANLOON, G. W.; DUFFY, S. J. Organic matter in water. In: _____. **Environmental Chemistry: a global perspective**, 2 ed. Oxford, 2005.

VERCOUTERE, K.; COMELIS, R. Chromium speciation in environmental and biological samples. Quality Assurance for Environmental Analysis Ed. **Quevauviller, Maier, Griepink**, Cap. 8, p. 195-213, 1995.

VIEYRA, F.M., PALAZZI, V.I., DE PINTO, M.I.S., BORSARELLI, C.D. Combined UV-VIS absorbance and fluorescence properties of extracted humic substance-like for characterization of composting evolution of domestic solid wastes. **Geoderma**, v. 151, p. 61-67, 2009.

WEI, Y. L.; LEE, C. L.; HSIEH, H. F. XANES study of Cr sorbed by a kitchen waste compost from water. **Chemosphere**, v. 61, p. 1051-1060, 2005.

WEISHAAR, J., AIKEN, G. R., BERGAMASCHI, B. A., FRAM, M. S., FUJIL, R., MOPPER, K. Evaluation of Specific Ultraviolet Absorbance as an Indicator of the Chemical Composition and Reactivity of Dissolved Organic Carbon. **Environmental Science Technology**, v.37, p. 4702-4708, 2003.

WELZ, B.; SCHLEMMER, G.; MUDAKAVI, J.R. Palladium Nitrate – Magnesium nitrate modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry Part 2. Determination of arsenic, cadmium, copper, manganese, lead, antimony, selenium and thallium in water. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 3, p. 695-701, 1988.

WU, F. C; KOTHAWALA, R. D; DILLON, P. J; CAI, Y. R; Relationships between DOC concentration, molecular size and fluorescence properties of DOM in a stream. **Applied Geochemistry**, v. 22, p. 1659-1667, 2007.

YANG, J. K.; LEE, S. M. Removal of Cr (VI) and humic acid by using TiO₂ photocatalysis. **Chemosphere**, v. 63, p. 1677-1684, 2006.

ZARA, L. F., ROSA, A. H., TOSCANO, I. A. S., ROCHA, J. C. A structural conformation study of aquatic humic acid. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 17, p. 1014-1019, 2006.

ZHANG, Y.; HAN, G.; JIANG, T.; HUANG, Y.; LI, G.; GUO, Y.; YANG, Y. Structure characteristics and adhesive property of humic substances extracted with different methods. **Journal of Central South University**, v. 18, p. 1041–1046, 2011.

ZÚÑIGA, U. F. R. **Avaliação da influência de fatores ambientais na estrutura, dinâmica, propriedades ópticas das Substâncias Húmicas Aquáticas do rio Negro**. 2006. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, 2006.

Capítulo 10: Anexos



Rio Preto - São José do Rio Preto

ANEXO 1 – Dados da amostra de água superficial do rio Preto para extração das Substâncias Húmicas Aquáticas

Tabela 12: Parâmetros físico-químicos da amostra de água superficial coletadas do rio Preto para a extração das SHA no período de Março de 2011 a Janeiro de 2012.

pH	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Turbidez (FTU)	OD (mg L^{-1})	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Condições ambientais	COD (mg L^{-1})
6,35	16	105	9	27,7	Ensolarado	2,81
5,3	18	12,5	3	24,3	Ensolarado	2,96
5,08	18	12,46	2,57	25	Ensolarado com nuvens	1,03
5,80	16	8,08	4,03	24,4	Encoberto com nuvens	1,83
6,08	16	7,54	3,9	21,8	Ensolarado e poucas nuvens	1,37
6,50	18	8,25	*	21,2	Ensolarado, sem nuvem	1,31
6,90	17,5	18,22	8,55	27,6	Ensolarado, sem nuvem	2,11
5,80	19	8,87	5,25	21,7	Ensolarado, sem nuvem	3,15
7,06	110,2	10,51	3,08	26,1	Ensolarado com nuvens	3,07
6,31	25	15,98	2,87	27,9	Ensolarado, sem nuvem	3,16
6,07	29	62	5,56	25,7	Ensolarado, sem nuvem	3,47

*parâmetro não quantificado na amostra; OD: Oxigênio Dissolvido, COD: Carbono Orgânico Dissolvido.

ANEXO 2 – Dados da amostra de água superficial do rio Preto

Tabela 13: Parâmetros físico-químicos da amostra de água superficial coletadas do rio Preto para os estudos cinéticos durante um ciclo hidrológico (Outubro de 2011 a Outubro de 2012).

Período	pH	Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	Turbidez (FTU)	OD (mg/L)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	COD inicial (mg/L)
Outubro 2011	7,06	110,2	10,51	3,08	26,1	3,07
Novembro 2011	5,39	25	14,53	2,42	25,9	17,13
Dezembro 2011	6,36	19	29,84	3,19	30,7	3,16
Janeiro 2012	6,07	29	62	5,56	25,7	3,47
Fevereiro 2012	7,03	30	12,36	4,42	27,9	2,62
Março 2012	6,19	19	13,27	4,77	26,3	2,17
Abril 2012	6,68	28	15,91	2,75	23,7	2,26
Mai 2012	6,52	15	12,9	5,76	21,7	1,47
Junho 2012	6,91	*	61	5,15	*	4,34
Julho 2012	6,92	84	8,49	5,12	25	1,31
Agosto 2012	7,28	98,28	9,51	5,4	24,4	1,11
Setembro 2012	6,96	110,5	12,39	7,2	*	2,33
Outubro 2012	7,01	112,4	6,03	4,34	25,9	1,16

*parâmetro não quantificado na amostra; OD: Oxigênio Dissolvido, COD: Carbono Orgânico Dissolvido início e no final da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio.

ANEXO 3 – Espectros de varredura das SHA para os períodos de seca e chuva

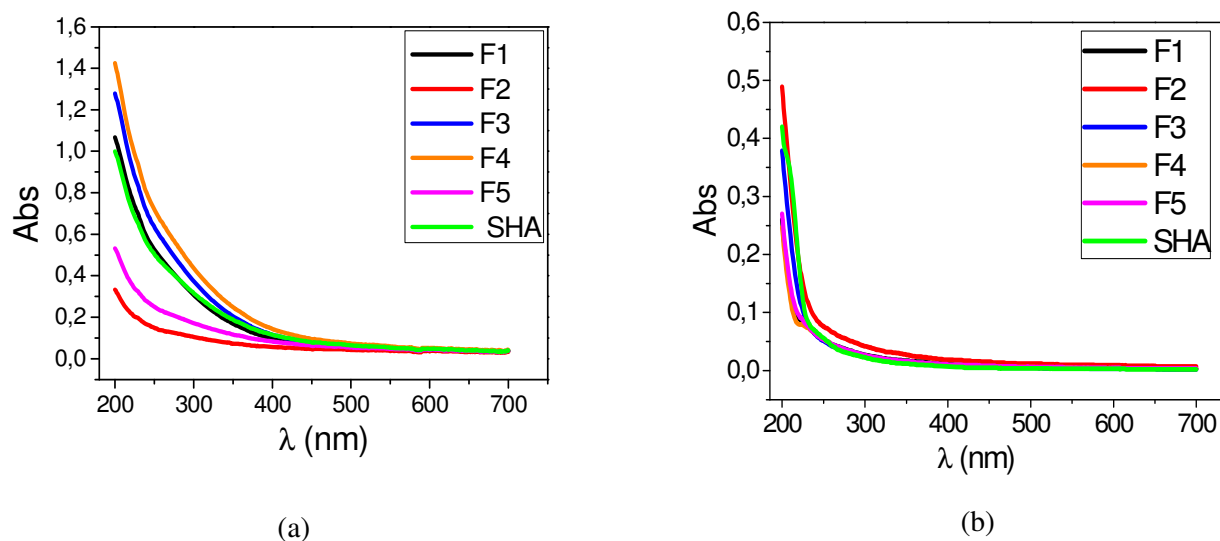


Figura 29: Espectro de varredura das frações de SHA de diferentes tamanhos moleculares e SHA do rio Preto, sendo que (a) refere-se ao período de Seca e (b) ao período de chuva.

ANEXO 4 – Tempo de Complexação Cr (III) para o período de seca

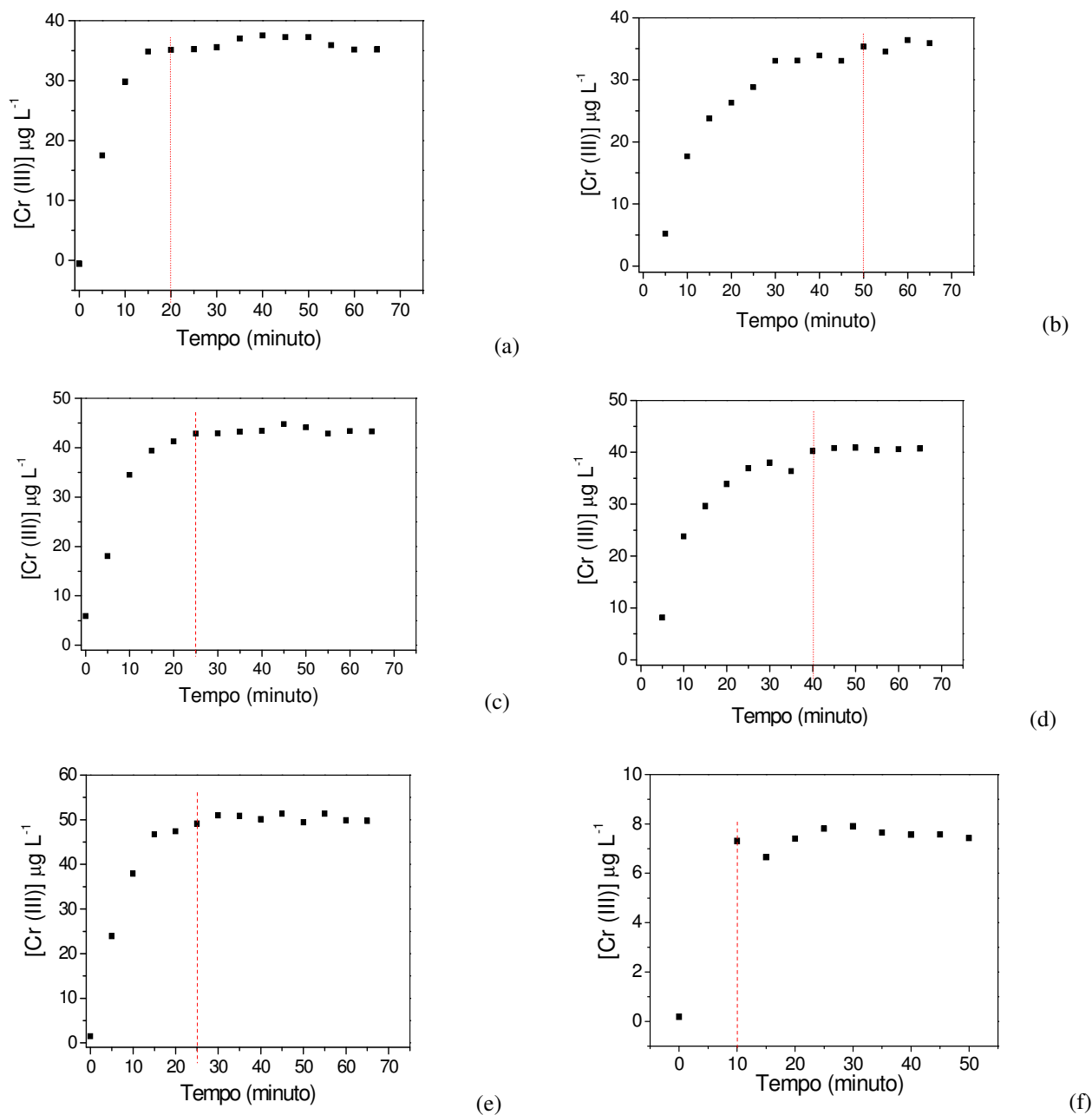


Figura 30: Estudo do tempo de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanhos moleculares referente ao período de seca com crômio trivalente (Cr (III)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,19).

ANEXO 5 – Capacidade de Complexação Cr (III) para o período de seca

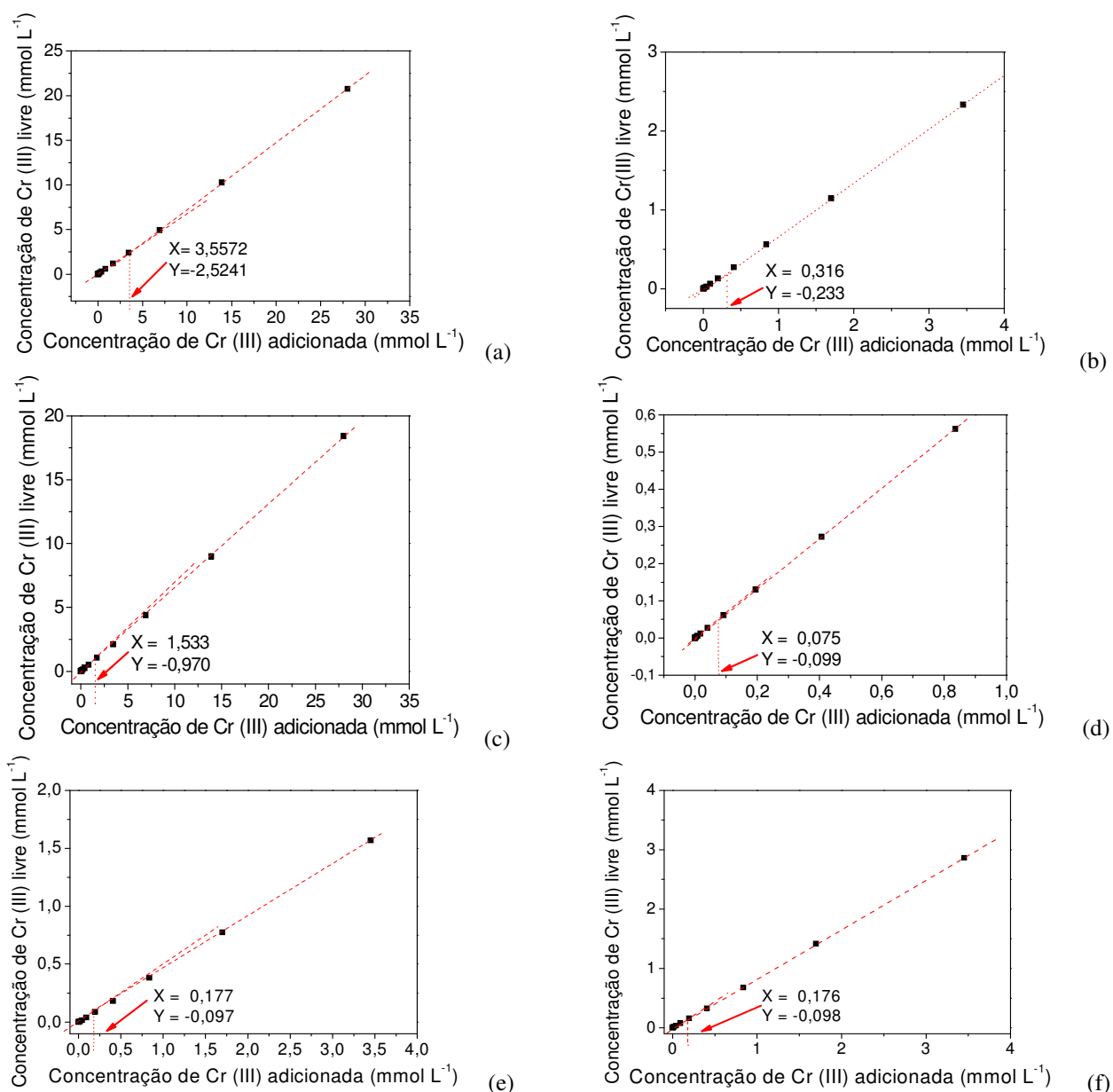


Figura 31: Estudo da Capacidade de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanhos moleculares referentes ao período de seca com cromo trivalente (Cr (III)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,19).

ANEXO 6 – Tempo de Complexação Cr (VI) para o período de seca

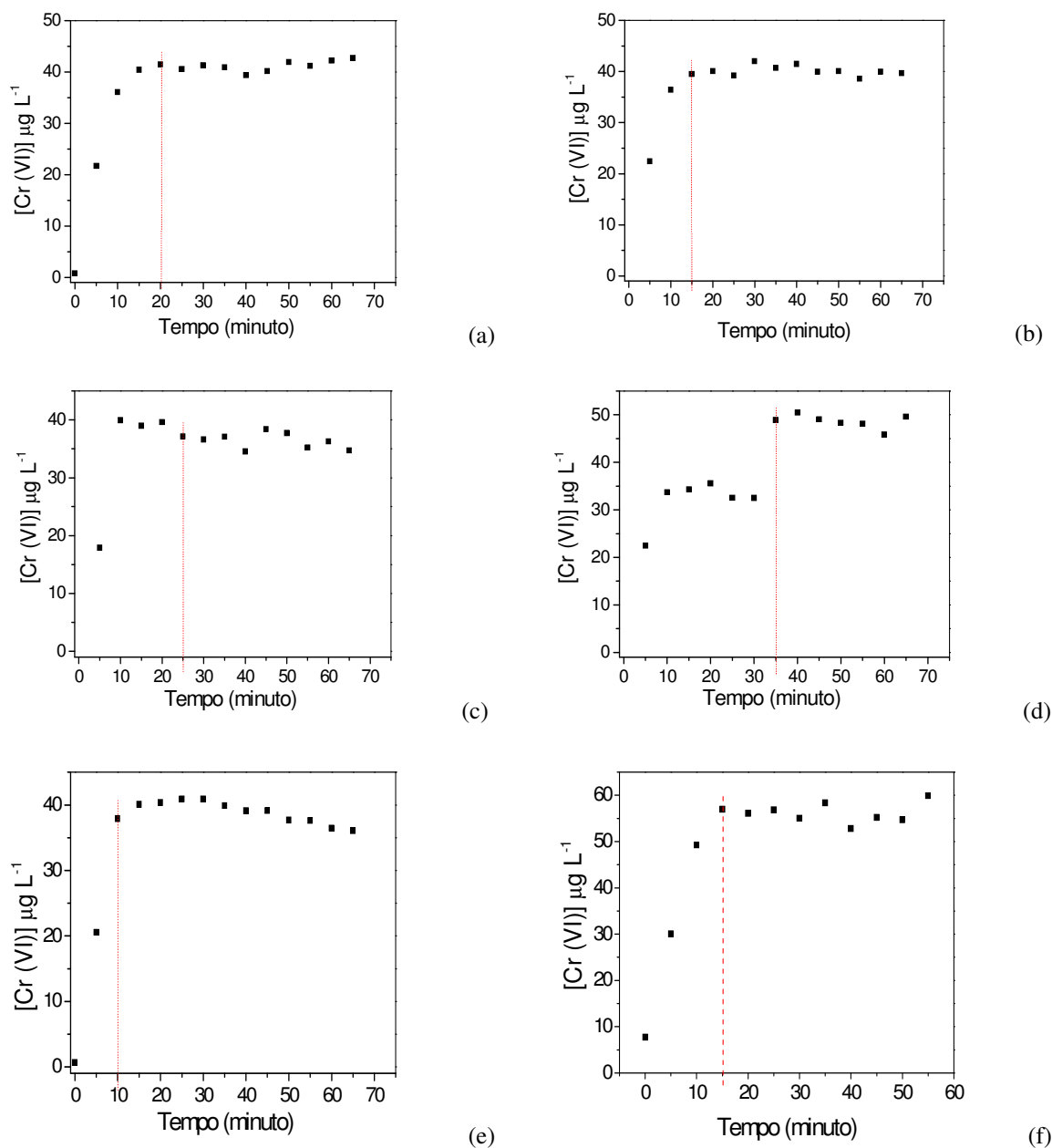


Figura 32: Estudo do Tempo de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanhos moleculares referente ao período de seca com crômio hexavalente (Cr (VI)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,19).

ANEXO 7 – Capacidade de Complexação Cr (VI) para o período de seca

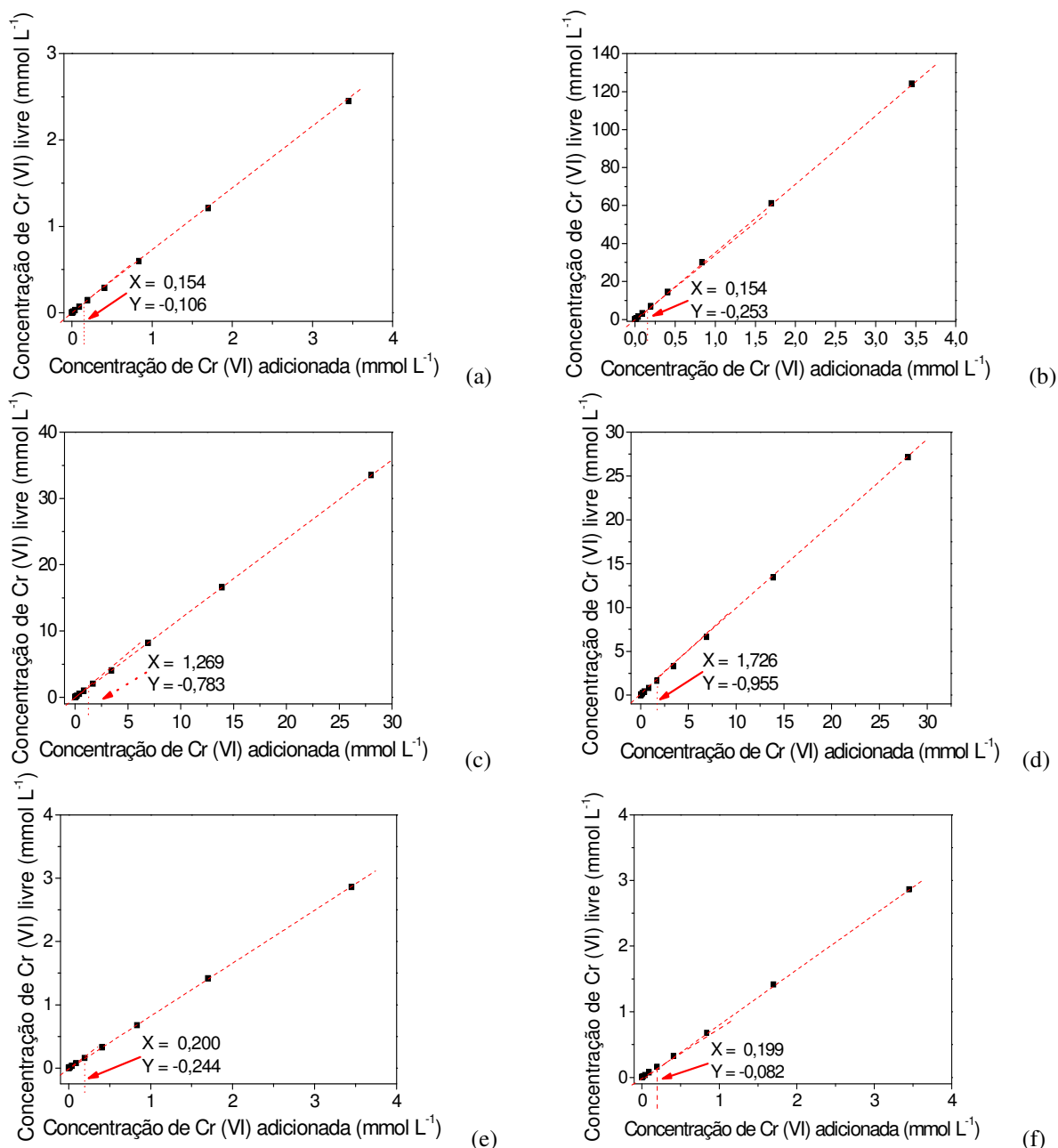


Figura 33: Estudo da Capacidade de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de seca com crômio hexavalente (Cr (VI)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,19).

ANEXO 8 – Tempo de Complexação Cr (III) para o período de chuva

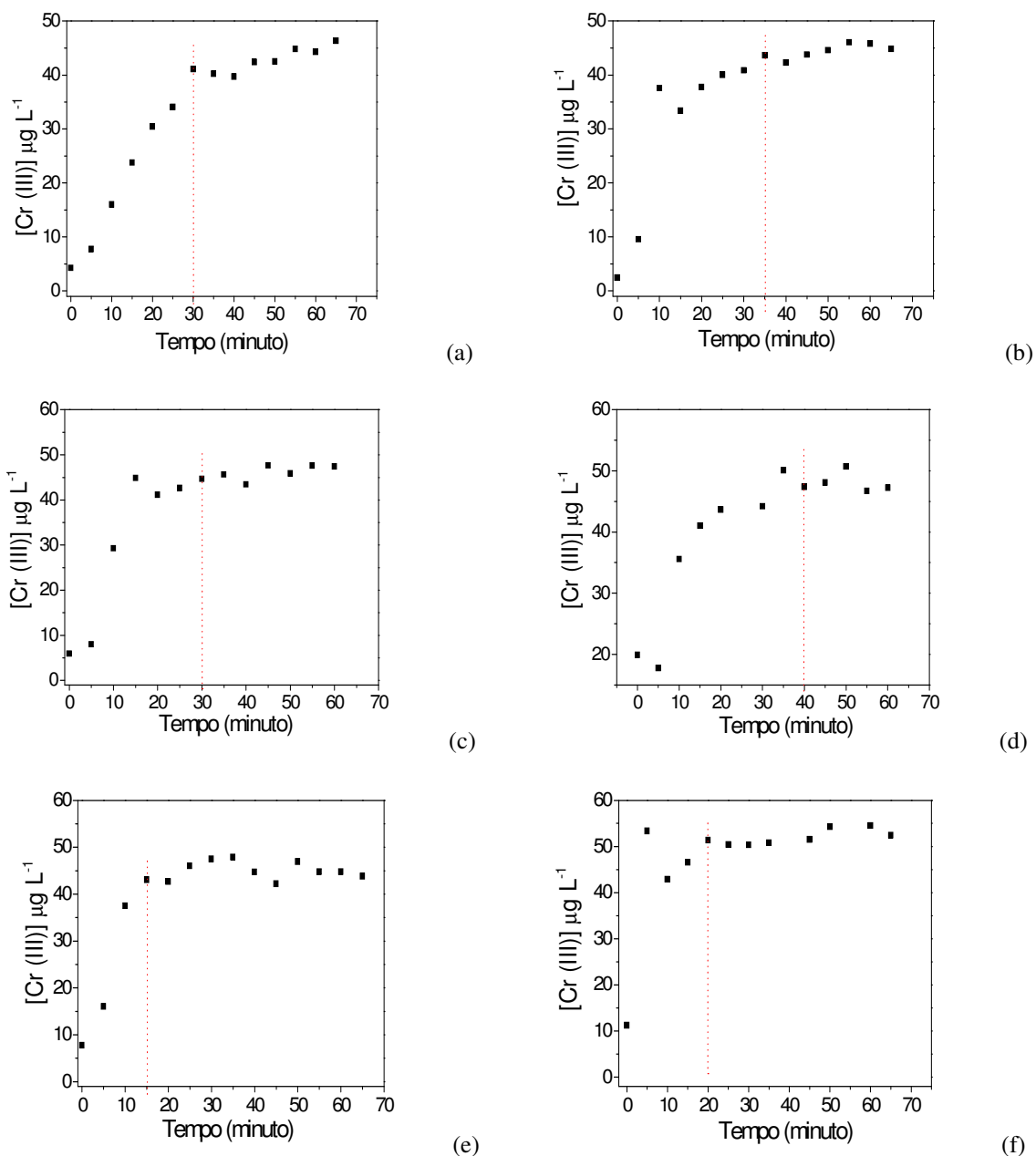


Figura 34: Estudo do Tempo de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de chuva com crômio trivalente (Cr (III)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07).

ANEXO 9 – Capacidade de Complexação Cr (III) para o período de chuva

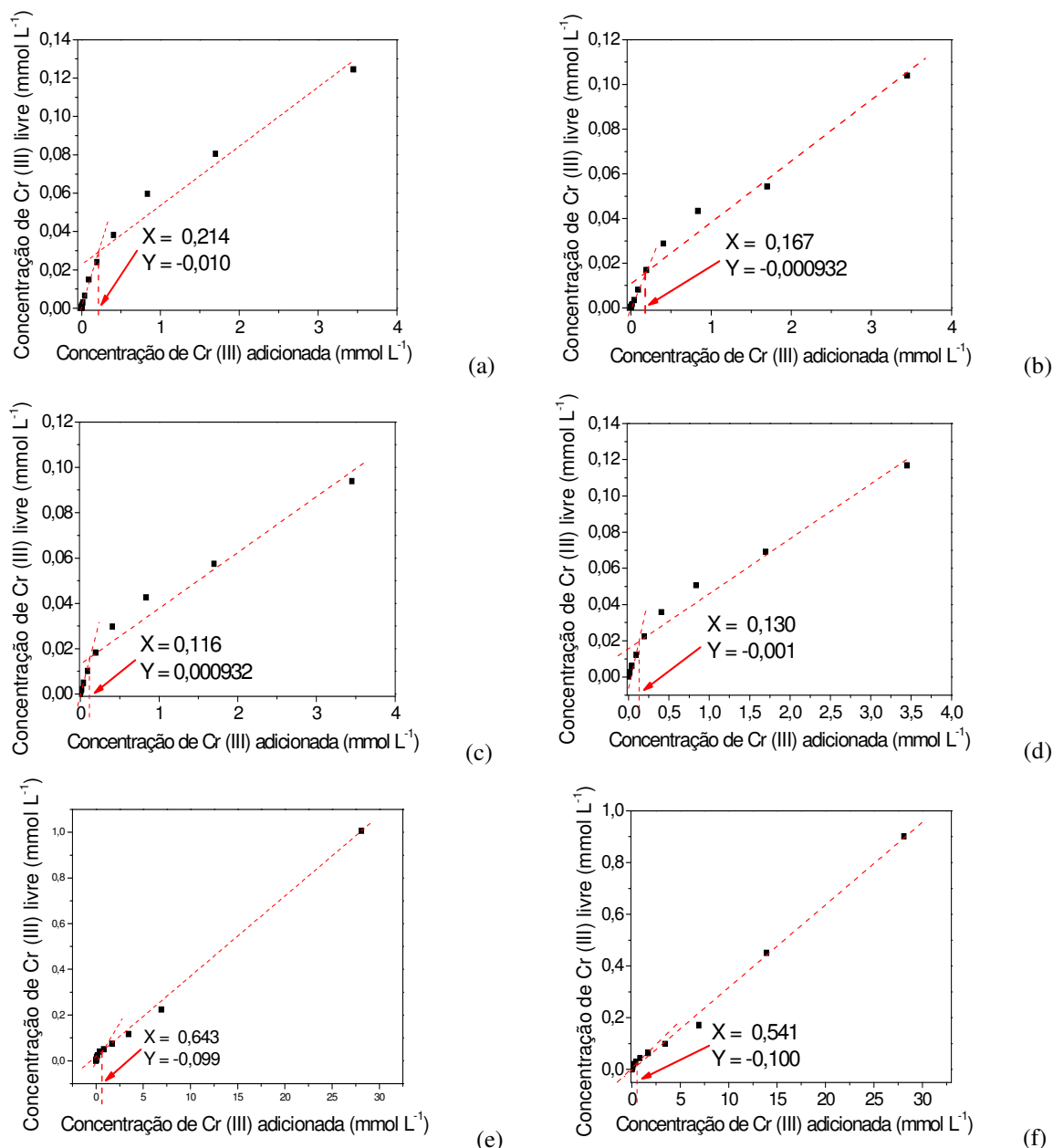


Figura 35: Estudo da Capacidade de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de chuva com cromo trivalente (Cr (III)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07).

ANEXO 10 – Tempo de Complexação Cr (VI) para o período de chuva

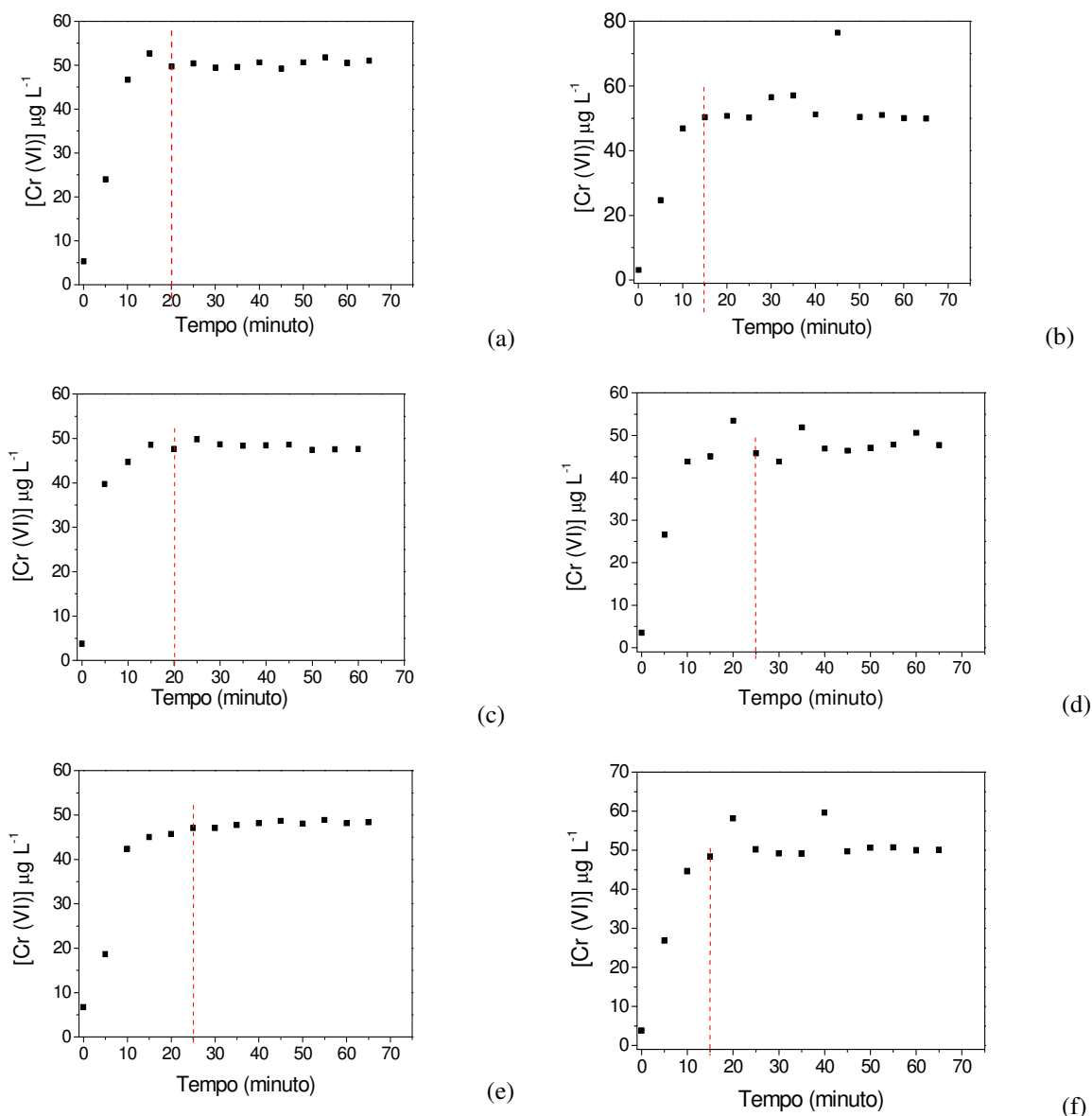


Figura 36: Estudo do Tempo de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de chuva com crômio hexavalente (Cr (VI)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07).

ANEXO 11 – Capacidade de Complexação Cr (VI) para o período de chuva

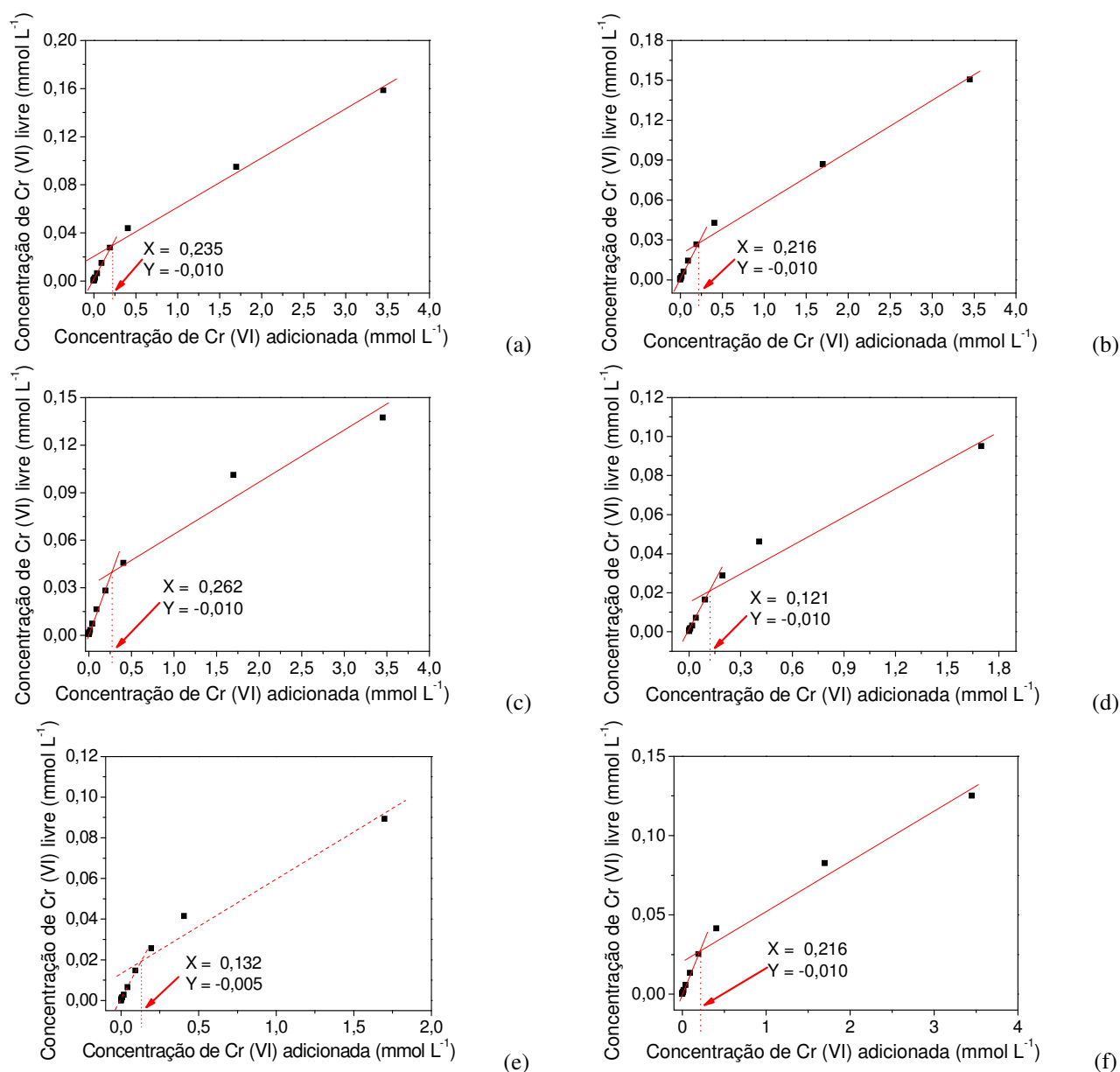


Figura 37: Estudo do Capacidade de Complexação das Substâncias Húmicas Aquáticas extraídas do rio Preto e de suas frações de diferentes tamanho molecular referente ao período de chuva com crômio hexavalente (Cr (VI)), onde: (a) Fração Menor 10 kDa; (b) Fração de 10 – 30 kDa; (c) Fração de 30 – 50 kDa; (d) Fração de 50 – 100 kDa; (e) Fração Maior 100 kDa e (f) Substâncias Húmicas Aquáticas sem fracionamento (Condições: 100,0 mL de solução continha 1,0 mg L⁻¹ de SHA ou de suas frações e pH entre 5,0 e 6,07).

ANEXO 12 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Outubro de 2011

Tabela 14: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Outubro de 2011.

Tempo (minuto)	Ausência de Luz		Presença de Luz	
	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,287	0,353	0,272	0,328
10	0,227	0,283	0,251	0,283
25	0,245	0,254	0,254	0,256
55	0,254	0,229	0,253	0,249
115	0,259	0,195	0,255	0,194
205	0,256	0,166	0,256	0,165
325	0,251	0,125	0,254	0,128
565	0,254	0,090	0,255	0,077
1525	0,251	0,037	0,249	0,018
2995	0,251	0,058	0,250	0,095
5395	0,241	0,095	0,237	0,060
8275	0,237	0,090	0,244	0,099
12595	0,182	0,058	0,224	0,089
18355	-0,040	0,066	0,123	0,044

Tabela 15: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Outubro de 2011.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Controle	0,910	0,06	0,00002	0,922	0,00	0,00003	0,914	0,15	0,0002
	Amostra do rio Preto	0,947	0,10	0,00033	0,973	0,42	0,00129	0,998	0,30	0,0155
Presença de luz	Controle	0,889	0,02	0,00001	0,872	0,14	0,00004	0,837	0,61	0,0002
	Amostra do rio Preto	0,962	0,07	0,00036	0,992	0,27	0,00178	0,991	0,09	0,0165

ANEXO 13 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Novembro de 2011

Tabela 16: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Novembro de 2011.

Tempo (minuto)	Ausência de Luz		Presença de Luz	
	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,287	0,336	0,299	0,338
10	0,281	0,313	0,281	0,315
30	0,282	0,301	0,281	0,302
60	0,280	0,281	0,275	0,276
120	0,281	0,254	0,279	0,273
210	0,280	0,225	0,282	0,221
330	0,285	0,187	0,281	0,203
570	0,270	0,120	0,261	0,118
1170	0,270	0,042	0,269	0,046
2835	0,244	0,078	0,279	0,065
4275	0,112	0,077	0,230	0,087

Tabela 17: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Novembro de 2011.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Controle	0,911	0,02	0,00004	0,968	0,02	0,0001	0,970	0,02	0,0001
	Amostra do rio Preto	0,960	0,04	0,00025	0,995	0,06	0,0024	0,864	7,09	0,0074
Presença de luz	Controle	0,961	0,04	0,00024	0,013	0,44	0,0000	0,945	1,32	0,0003
	Amostra do rio Preto	0,713	0,01	0,00004	0,976	0,07	0,0023	0,985	0,05	0,0035

ANEXO 14 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Dezembro de 2011

Tabela 18: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Dezembro de 2011.

Tempo (minuto)	Ausência de Luz		Presença de Luz	
	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,242	0,318	0,240	0,288
30	0,091	0,276	0,105	0,263
75	0,107	0,238	0,118	0,246
135	0,226	0,225	0,246	0,213
225	0,243	0,161	0,240	0,176
345	0,222	0,149	0,244	0,140
585	0,240	0,097	0,242	0,108
1305	0,236	0,072	0,225	0,074
1905	0,239	0,091	0,236	0,119
7065	0,226	0,139	0,238	0,115
8505	0,183	0,061	0,204	0,098
10065	0,125	0,011	0,124	0,110
13065	0,054	0,057	0,040	0,104
14505	0,029	0,215	0,013	0,107

Tabela 19: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Dezembro de 2011.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Controle	0,994	0,17	0,00003	0,901	0,99	0,00036	0,929	30,69	0,0038
	Amostra do rio Preto	0,848	0,07	0,00017	0,980	0,08	0,00207	0,993	3,14	0,0117
Presença de luz	Controle	0,943	0,02	0,00003	0,837	0,98	0,00034	0,877	97,57	0,0106
	Amostra do rio Preto	0,879	0,05	0,00016	0,990	0,00	0,00223	0,995	3,44	0,0103

ANEXO 15 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Janeiro de 2012

Tabela 20: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Janeiro de 2012.

Tempo (minuto)	Ausência de Luz		Presença de Luz	
	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,183	0,324	0,181	0,281
10	0,166	0,296	0,173	0,276
40	0,169	0,257	0,173	0,258
85	0,171	0,225	0,171	0,211
145	0,173	0,198	0,176	0,186
235	0,169	0,160	0,169	0,163
355	0,173	0,154	0,173	0,145
595	0,164	0,115	0,161	0,111
1375	0,166	0,111	0,158	0,089
2875	0,130	0,119	0,129	0,096
4315	0,115	0,102	0,116	0,093
5935	0,094	0,115	0,094	0,115
8965	0,069	0,136	0,082	0,115
10405	0,042	0,134	0,072	0,135
11845	0,033	0,134	0,049	0,116
12805	0,006	0,058	0,021	0,048
14245	-0,009	0,066	0,010	0,070
18565	-0,015	0,058	-0,003	0,053
20125	-0,013	0,067	-0,008	0,025

Tabela 21: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Janeiro de 2012.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Controle	0,993	0,01	0,00001	0,875	0,46	0,00022	0,581	328,80	0,0217
	Amostra do rio Preto	0,901	0,05	0,00032	0,824	0,30	0,00073	0,985	0,42	0,0091
Presença de luz	Controle	0,976	0,03	0,00001	0,891	0,34	0,00017	0,729	773,33	0,0509
	Amostra do rio Preto	0,826	0,05	0,00013	0,900	0,19	0,00083	0,783	23,34	0,0026

ANEXO 16 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Fevereiro de 2012

Tabela 22: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Fevereiro de 2012.

Tempo (minutos)	Ausência de Luz	Presença de Luz
	Amostra (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,284	0,266
10	0,248	0,244
40	0,196	0,179
100	0,136	0,122
190	0,095	0,093
310	0,086	0,085
1330	0,092	0,092
1780	0,095	0,095
2835	0,095	0,097
4275	0,086	0,087
6075	0,067	0,081
11870	0,109	0,097
16070	0,061	0,063
20630	0,070	0,067
21830	0,071	0,054
24830	0,042	0,044
26150	0,093	0,044
35870	0,098	0,000
40670	0,058	-0,002
46190	0,008	-0,002

Tabela 23: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Fevereiro de 2012.

	Amostra do rio Preto	Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Amostra do rio Preto	0,762	0,04	0,000605	0,866	0,17	0,00388	0,935	0,52	0,0274
Presença de luz	Amostra do rio Preto	0,932	0,13	0,000004	0,822	0,17	0,00372	0,961	0,66	0,0270

ANEXO 17 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Março de 2012

Tabela 24: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Março de 2012.

Tempo (minutos)	Ausência de Luz	Presença de Luz
	Amostra (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,265	0,253
10	0,252	0,244
40	0,220	0,211
85	0,178	0,178
145	0,147	0,145
235	0,110	0,105
355	0,082	0,094
475	0,070	0,080
1933	0,047	0,052
3388	0,039	0,068
5188	0,046	0,049
6328	0,050	0,060
10948	0,026	0,057
12408	0,122	0,059
13848	0,061	0,057
15288	0,095	0,073
22524	0,044	0,070
26844	0,066	0,053
28524	0,034	0,065
34314	0,040	0,020
35634	0,060	0,030
37089	0,004	0,019

Tabela 25: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Março de 2012.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Amostra do rio Preto	0,873	0,03	0,0004	0,964	0,09	0,0029	0,844	2,73	0,0063
Presença de luz	Amostra do rio Preto	0,847	0,03	0,0004	0,929	0,10	0,0025	0,835	1,86	0,0076

ANEXO 18 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Abril de 2012

Tabela 26: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Abril de 2012.

Tempo (minutos)	Ausência de Luz	Presença de Luz
	Amostra (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,271	0,269
10	0,267	0,267
40	0,239	0,250
100	0,213	0,212
190	0,181	0,187
310	0,160	0,146
1030	0,077	0,039
2470	0,086	0,046
4172	0,081	0,042
5312	0,096	0,038
9592	0,083	0,012
12737	0,064	0,019
14017	0,035	0,004

Tabela 27: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Abril de 2012.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Amostra do rio Preto	0,962	0,028	0,00018	0,968	0,08	0,0012	0,998	0,02	0,01
Presença de luz	Amostra do rio Preto	0,912	0,021	0,00022	0,999	0,01	0,0019	0,991	0,06	0,01

ANEXO 19 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Maio de 2012

Tabela 28: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Maio de 2012.

Tempo (minutos)	Ausência de Luz	Presença de Luz
	Amostra (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,253	0,259
10	0,256	0,250
40	0,225	0,217
85	0,209	0,207
145	0,177	0,174
235	0,146	0,139
1615	0,029	0,041
3076	0,039	0,039
5716	0,024	0,039
8697	0,006	0,032
10137	0,012	0,029

Tabela 29: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Maio de 2012.

	Amostra do rio Preto	Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Amostra do rio Preto	0,962	0,008	0,00049	0,983	0,08	0,0013	0,997	0,65	0,02
Presença de luz	Amostra do rio Preto	0,971	0,002	0,00047	0,954	0,14	0,0011	1,000	0,07	0,01

ANEXO 20 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Junho de 2012

Tabela 30: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Junho de 2012.

Tempo (minutos)	Ausência de Luz	Presença de Luz
	Amostra (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,337	0,329
10	0,313	0,296
40	0,297	0,292
85	0,294	0,286
145	0,292	0,279
235	0,276	0,252
355	0,257	0,241
535	0,230	0,221
2835	0,106	0,114
5715	0,105	0,134
7535	0,085	0,133
13295	0,165	0,163
16655	0,131	0,132
19415	0,033	0,010
23735	0,019	0,020
28055	0,006	0,019

Tabela 31: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Junho de 2012.

	Amostra do rio Preto	Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Amostra do rio Preto	0,957	0,037	0,00007	0,977	0,10	0,00038	0,998	0,17	0,0022
Presença de luz	Amostra do rio Preto	0,854	0,042	0,00006	0,950	0,13	0,00034	0,992	0,31	0,0019

ANEXO 21 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Julho de 2012

Tabela 32: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Julho de 2012.

Tempo (minutos)	Ausência de Luz	Presença de Luz
	Amostra (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,141	0,135
10	0,135	0,136
40	0,133	0,134
85	0,125	0,127
145	0,117	0,114
235	0,106	0,101
355	0,087	0,086
1975	0,028	0,045
3475	0,007	0,019
4915	0,000	0,027
10795	0,001	0,030
13495	-0,021	0,009
14875	-0,018	0,009

Tabela 33: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Julho de 2012.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Amostra do rio Preto	0,837	0,020	0,00003	0,996	0,05	0,00085	0,974	0,05	0,012
Presença de luz	Amostra do rio Preto	0,837	0,020	0,00004	0,979	0,06	0,00055	0,982	0,24	0,007

ANEXO 22 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Agosto de 2012

Tabela 34: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Agosto de 2012.

Tempo (minuto)	Ausência de Luz		Presença de Luz	
	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,217	0,270	0,233	0,262
30	0,217	0,256	0,234	0,250
90	0,217	0,241	0,234	0,237
180	0,218	0,229	0,237	0,228
300	0,217	0,221	0,234	0,213
480	0,217	0,188	0,235	0,179
1920	0,218	0,053	0,237	0,045
5040	0,178	0,026	0,203	0,030
6540	0,137	0,039	0,155	0,035
10890	0,020	0,028	0,027	0,030
12270	0,012	0,021	0,009	0,031

Tabela 35: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Agosto de 2012.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Controle	0,971	0,055	0,00002	0,893	1,04	0,00030	0,913	58,01	0,010
	Amostra do rio Preto	0,979	0,016	0,00011	0,996	0,12	0,00048	0,991	0,38	0,007
Presença de luz	Controle	0,965	0,069	0,00002	0,851	1,18	0,00032	0,474	110,96	0,016
	Amostra do rio Preto	0,980	0,014	0,00011	0,845	0,14	0,00046	0,936	0,21	0,006

ANEXO 23 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Setembro de 2012

Tabela 36: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Setembro de 2012.

Tempo (minuto)	Ausência de Luz		Presença de Luz	
	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,273	0,298	0,255	0,289
30	0,263	0,282	0,261	0,275
90	0,262	0,260	0,246	0,270
1050	0,224	0,098	0,252	0,087
1350	0,195	0,072	0,231	0,077
2490	0,064	0,048	0,188	0,068
3990	0,030	0,062	0,111	0,059
4350	0,028	0,050	0,102	0,051
5250	0,014	0,051	0,077	0,057
8550	0,004	0,069	0,025	0,065
12510	0,010	0,049	0,008	0,058
13950	0,006	0,058	0,006	0,063

Tabela 37: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Setembro de 2012.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Controle	0,940	0,002	0,00007	0,981	0,06	0,0005	0,731	27,75	0,025
	Amostra do rio Preto	0,823	0,032	0,00011	0,929	0,11	0,0008	0,993	0,00	0,007
Presença de luz	Controle	0,909	0,007	0,00003	0,996	0,35	0,0003	0,945	72,10	0,015
	Amostra do rio Preto	0,760	0,028	0,00010	0,810	0,13	0,0007	0,876	0,67	0,005

ANEXO 24 – Análise da cinética de consumo de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto para o mês de Outubro de 2012

Tabela 38: Valores da concentração de peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao ensaio cinético para o mês de Outubro de 2012.

Tempo (minuto)	Ausência de Luz		Presença de Luz	
	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)	Controle (mg L ⁻¹)	Amostra (mg L ⁻¹)
0	0,226	0,269	0,224	0,276
30	0,226	0,231	0,220	0,230
90	0,217	0,190	0,218	0,191
180	0,218	0,161	0,220	0,174
360	0,245	0,147	0,244	0,183
960	0,226	0,045	0,235	0,052
1200	0,225	0,044	0,238	0,040
1500	0,218	0,032	0,233	0,040
2820	0,160	0,050	0,212	0,035
5640	0,053	0,067	0,113	0,055
7140	0,024	0,055	0,079	0,045
8640	0,015	0,069	0,057	0,040
11460	0,006	0,045	0,022	0,023
15840	0,004	0,051	0,001	0,013

Tabela 39: Aplicação das leis cinética para cinética de consumo do peróxido de hidrogênio na amostra de água do rio Preto referente ao mês de Outubro de 2012.

		Ordem Zero			Primeira Ordem			Segunda Ordem		
		R	A	B	R	A	B	R	A	B
Ausência de luz	Controle	0,990	0,036	0,00003	0,946	0,25	0,00031	0,982	146,88	0,0264
	Amostra do rio Preto	0,868	0,051	0,00014	0,968	0,15	0,00142	0,975	0,71	0,0183
Presença de luz	Controle	0,892	0,016	0,00002	0,872	1,88	0,00044	0,718	2.493,1	0,2593
	Amostra do rio Preto	0,880	0,048	0,00015	0,965	0,09	0,00155	0,953	0,86	0,0170